Cultures Cellulaires en Virologie

La culture cellulaire est l'ensemble de techniques de biologie utilisées pour le développement et l'accroissement des cellules hors de leur organisme (ex-vivo) ou de leur milieu d'origine.

La première culture cellulaire a été réalisée à partir de cellules du myocarde de poulet par ALEXIS CARREL (prix Nobel de médecine en 1912). Depuis, les cultures cellulaires ont permis un développement considérable de la virologie (l'étude des virus, substances anti-virales et production de vaccins).



Figure. ALEXIS CARREL

Les cultures cellulaires sont de nature et d'origine multiples en fonction de la sensibilité des virus.

Techniques de culture cellulaire

Les cellules sont issues de tissus dissociés par trypsination, la culture cellulaire est réalisée sur un support solide en plastique ou en verre.

Le milieu de culture composé d'ions indispensables, des sels minéraux, acides aminés, vitamines, glucose, facteurs de

croissance dans un sérum de veau fœtal. Des Antibiotiques et des Antifongiques sont rajoutés pour la culture des virus. Le milieu est tamponné à pH= 07 en présence d'un indicateur de PH (rouge de phénol).

La Température d'incubation est de 37°C, L'atmosphère est enrichie en $CO_{2.}$

Les cellules se multiplient dans ce milieu jusqu'à formation d'un tapis cellulaire, et leur croissance s'arrête par inhibition à l'aide d'un inhibiteur de contact.

Un nouveau cycle de multiplication si nécessaire est redémarré après trypsination et transport d'une fraction des cellules dans un milieu de culture neuf.

Les manipulations de cultures cellulaires se font dans des postes de sécurité de microbiologie à flux laminaire vertical et le PSM est choisi en fonction des virus à manipuler

Les différents types de culture cellulaire

Les cultures primaires

Par prélèvement direct à partir d'un tissu ou d'un organe :

Chez l'homme : cellules amniotiques;

Chez l'animal : rein de singe, fibroblaste de poulet;

Les cultures primaires étaient les premières à être utilisées mais abandonnées car très onéreuses.

Les lignées diploïdes

Ceux sont des cellules diploïdes qui peuvent supporter 30 à 50 passages on parle de cellules à durée de vie limitée (D.V.L.)

elles sont issues des cultures primaires après trypsination.

Exemples:

Lignée WI38 (cellules embryonnaire de poumon humain);

Lignée MRC5 (cellules fibroblastiques).

Les lignées continues

Ceux sont des cellules hétéroploïdies à durée de vie illimitée. Elles peuvent provenir de Cellules cancéreuses telles que les cellules HELA (carcinome du col utérin) ou des Cellules transformées spontanément ou par un agent chimique comme les cellules VERO qui proviennent de rein de singe.

Applications des cultures cellulaires

Mise en évidence des virus : après avoir choisi les cellules en fonction de la sensibilité du virus, le prélèvement est inoculé, les cultures cellulaires sont incubées et contrôlées tout les jours si la couleur du milieu change, l'inoculation est à refaire.

La présence de virus entre 24h à 20 jours est mise en évidence en recherchant l'effet cytopathogéne (ECP) en regardant au microscope optique directement ou après fixation et coloration des cellules à la recherche d'une lésion ou une déformation de la cellule.

La présence de virus dans une culture cellulaire et mise en évidence en utilisant des anticorps monoclonaux spécifiques du virus. La liaison virus – Ac est révélée par des techniques enzymatique ou d'immunofluorescences.

2- Production des anticorps monoclonaux

3- Traitement des grands brûlés (implantation de tissus après culture)

4- Perspectives : traitement des maladies dégénératives du système nerveux central. Traitement des diabétiques (îlots de Langherans).