



Techniques de diagnostic pour la Peste des petits ruminants

(formation dispensée en anglais)

Responsables scientifiques

A.BATAILLE - G. LIBEAU
(Cirad UMR ASTRE)



4 jours

Du 18 au 21 novembre 2019

La Peste des petits ruminants (PPR) est une infection virale hautement contagieuse affectant les petits ruminants domestiques et sauvages. Dans les zones d'élevage où la maladie est enzootique, elle occasionne des pertes économiques importantes du fait des taux de morbidité et de mortalité parfois élevés. La PPR affecte près d'un milliard de petits ruminants dans le monde.

L'agent étiologique est le PPRV appartenant au genre *Morbillivirus*, dans la famille des *Paramyxoviridae*. Le diagnostic sérologique est réalisé de façon classique par ELISA de compétition (cELISA). L'isolement du virus étant difficilement envisageable en moins de trois semaines, l'identification rapide du virus directement à partir d'échantillons de terrain est possible par d'autres méthodes, incluant l'amplification génique, très sensibles et spécifiques. Il s'agit de la transcription reverse-PCR (RT-PCR), méthode dite conventionnelle et de la RT-PCR en temps réel (rRT-PCR) pour la quantification des charges virales. La RT-PCR conventionnelle produit des matrices suffisamment longues pour permettre le séquençage et l'analyse phylogénétique subséquente.

Objectifs pédagogiques

La formation porte sur l'enseignement des différentes méthodes classiques mises en œuvre pour le diagnostic sérologique et le diagnostic moléculaire du virus de la peste des petits ruminants. Cette formation présente des protocoles et des procédures standardisés ainsi que le mode d'emploi des équipements nécessaires.

Les objectifs spécifiques sont les suivants :

- Formation au diagnostic sérologique de PPRV ;
- Connaissance des méthodes sérologiques de référence de l'OIE (séroneutralisation et cELISA),
- Formation au diagnostic moléculaire de PPRV ;
- Connaissance des méthodes RT-PCR conventionnelles et en temps réel ;
- Informations sur le séquençage et l'analyse phylogénétique de PPRV.

A l'issue de cette formation, les participants doivent pouvoir établir un diagnostic dans leur laboratoire, reproduire les techniques apprises, former et encadrer du personnel de laboratoire.



Public concerné

Les participants doivent être impliqués de manière active dans le diagnostic des maladies animales et posséder une expérience en biologie moléculaire. Une connaissance théorique minimale de la PCR est requise.

Les candidats doivent en outre maîtriser correctement la langue anglaise, ou à défaut française. Le nombre de participants est strictement limité à six.

Sur demande, des sessions délocalisées au sein d'institutions partenaires peuvent être organisées dès lors qu'un nombre suffisant de participants est réuni et que l'agenda du laboratoire de référence le permet.



Coût de la formation

- Frais pédagogiques : 1 600 €
- Voyage vers Montpellier : à chiffrer
- Hébergement / séjour : prévoir un minimum de 90€ / jour

Si nécessaire, et notamment en cas de suivi de plusieurs modules, un devis personnalisé peut être établi sur simple demande.

Important

Le CIRAD n'est pas en mesure d'accorder des bourses. Il convient donc d'introduire, le plus tôt possible, une demande auprès des autorités compétentes nationales en charge de l'élevage et/ou de l'octroi des bourses ; des Services de Coopération et d'Action Culturelle des Ambassades de France (SCAC) ; des ambassades d'autres pays ; d'organismes internationaux (FAO, PNUD, Union européenne, AIEA, BID...) ; de projets de développement ou d'organisations non gouvernementales.

Modalités de candidature

Les candidatures comprenant un CV détaillé, une lettre de motivation, le questionnaire ci-joint et des indications sur l'organisme de gestion de la bourse, doivent être adressées si possible

avant le 30 juin 2019

par mél à : formation-emvt-fvi@cirad.fr



Consultez nos autres formations : <http://formation-elevage-suds.cirad.fr>

Le Cirad est centre collaborateur OIE pour le diagnostic et le contrôle des maladies animales en régions tropicales. L'organisation d'actions de formation dans ce domaine fait partie du mandat attaché à ce titre.



Programme

- La formation alterne des présentations théoriques et des sessions de travaux pratiques (sérologie, titrage viral, PCR conventionnelle et PCR en temps réel).



FORMATION diagnostic PPR : QUESTIONNAIRE D'EVALUATION PRATIQUE



1 - Avez-vous une compétence technique en Biologie Moléculaire ?

- OUI
- NON

Si oui, nombre de mois d'expérience en précisant l'année

.....

2 - Quel type d'équipement avez-vous l'habitude d'utiliser ?

- Marque et type de machine
- Aucun

3 - Faites vous régulièrement des diagnostics par PCR ?

- OUI
- NON

Si oui :

- Sur quelles maladies ?
- Quels gènes amplifiez-vous ?

4 - Donnez un des principaux avantages et inconvénients de la PCR conventionnelle ?

- Inconvénient :
- Avantage :

5 - Paul a reçu au laboratoire 4 échantillons suspectés contaminés par *Mycoplasma pneumoniae*.

Il a préparé un mix PCR et réalisé la PCR selon le tableau suivant :

<u>MIX PCR pour 1 réaction</u>		<u>Conditions de la réaction de PCR</u>		
Tampon PCR 10X	5 μ l	94°C	2 min	1 cycle
Mix dNTP contenant 10mM de chaque dNTP):	0,5 μ l	94°C	30 sec	30 cycles
primer spécifique sens 20 μ M	1 μ l	55°C	30 sec	
primer spécifique reverse 20 μ M	1 μ l	72°C	30 sec	
Enzyme Taq DNA polymérase	0,5 μ l			
ADN	2 μ l	72°C	7 min	
H2O	40 μ l	4°C	over night	

Après la migration de 10 μ l de la réaction de PCR, tous les résultats sont négatifs, y compris le contrôle positif. A la place de Paul, quelle serait votre première hypothèse pour expliquer ce résultat inattendu ?

.....
.....
.....
.....
.....