



« Diagnostic moléculaire pour la détection précoce des virus de l'Influenza aviaire de type A et de la maladie de Newcastle »

du 6 au 10 juin 2011

1 semaine

Responsable scientifique

Emmanuel Albina

Problématique

Le virus de la Maladie de Newcastle (MN) et le virus de l'Influenza de type A sont responsables de pertes sérieuses dans l'industrie volaillère. L'Influenza Aviaire Hautement Pathogène (IAHP), connu sous le nom de grippe aviaire et causé par le sous-type H5N1 d'origine asiatique, est une menace publique et économique pour de nombreux pays en Asie, Afrique, Moyen-Orient et Europe et pose un risque sérieux pour la santé humaine.

La détection précoce de l'IAHP ou de la MN est essentielle pour un contrôle rapide de ces maladies. De nombreuses méthodes peuvent être utilisées pour cette détection, mais le diagnostic moléculaire par transcription inverse suivie par la réaction en chaîne de la polymérase (RT-PCR) est la méthode la plus rapide, la plus sensible et la plus spécifique.

La RT-PCR est une méthode qui peut amplifier des séquences spécifiques d'acides nucléiques viraux pour réaliser un diagnostic précis. Deux techniques différentes peuvent être utilisées : la procédure conventionnelle qui nécessite plusieurs étapes, et une nouvelle technologie appelée RT-PCR en temps réel (rRT-PCR) qui donne des résultats en un temps plus court.

Le séquençage du site de clivage inclus dans la région amplifiée du gène de l'hémagglutinine est recommandé pour l'identification des souches pathogènes et pour le suivi épidémiologique des virus isolés.

Afin d'être réalisés correctement, ces tests moléculaires nécessitent du personnel spécialisé, des protocoles et des équipements particuliers.

Objectifs pédagogiques

L'objectif général du cours est d'apporter une formation pratique en diagnostic moléculaire de l'Influenza aviaire et de la Maladie de Newcastle et d'enseigner différents protocoles et procédures de RT-PCR traditionnelle ou en temps réel. Cette formation inclura des protocoles et des procédures standardisés ou recommandés ainsi que des modes d'emploi d'équipements et de diagnostics.

Objectifs spécifiques

- Formation en diagnostic moléculaire de l'IAHP et de la MN
- Connaissance de différents protocoles de RT-PCR
- Connaissance de différents protocoles de rRT-PCR
- Informations sur le typage moléculaire et l'analyse phylogénétique de l'IAHP et de la MN

A la fin de la formation, les participants seront capables d'établir des méthodes de diagnostic, de former et de suivre en permanence le personnel de laboratoire.

Organisation

La formation sera organisée et coordonnée par l'unité de recherches « Contrôle des maladies animales exotiques et émergentes » du CIRAD (TA A-15/G, Campus international de Baillarguet, 34398 Montpellier Cedex 5, France)

Le programme alternera des présentations théoriques et des sessions de travaux pratiques. La première partie sera focalisée sur la PCR conventionnelle et la seconde partie s'intéressera à la PCR en temps réel. La formation sera ouverte à un maximum de 8 participants.

Pré-requis pour les participants

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.

La formation se déroulera en anglais ou en français suivant l'origine des participants.

Coût de la formation :

Frais pédagogiques : **1 300 €**
Voyage vers Montpellier : à chiffrer
Hébergement séjour (environ) : prévoir un minimum de 80 € par jour

Si nécessaire, un devis personnalisé peut être établi sur simple demande.

Procédure d'inscription

Les candidatures, comprenant un CV détaillé, une lettre de motivation, le questionnaire ci-joint et éventuellement des indications sur l'organisme de gestion de la bourse, doivent être adressées si possible **avant le 10 avril 2011** par e-mail ou courrier à l'adresse suivante :

**CIRAD Enseignement en Elevage et Médecine Vétérinaire Tropicale
TA A-15/B
Campus international de Baillarguet
34398 MONTPELLIER Cedex 5
France
Tel : 33 (0) 4.67.59.39.02
Fax : 33 (0) 4.67.59.37.97
E-mail : marie-caroline.estienne@cirad.fr**

Enseignement en Elevage et Médecine Vétérinaire Tropicale
http://www.cirad.fr/ur/formation_elevage

FORMATION INFLUENZA : QUESTIONNAIRE D'EVALUATION PRATIQUE

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

- OUI
- NON

Si oui, nombre de mois d'expérience.....

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	5µl	94°C	2 min	1 cycle
Mix dNTP Mix contenant 10mM de chaque dNTP):	0,5µl	94°C	30 sec	} 30 cycles
primer spécifique sens 20µM	1µl	55°C	30sec	
primer spécifique reverse 20µM	1µl	72°C	30sec	
Enzyme Taq DNA polymérase	0,5µl			
		72°C	7 min	
ADN	2µl	4°C	over night	
H2O	40µl			

Après la migration de 10 µl 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 ?

.....

.....

.....

.....

.....

.....