



Organisation mondiale
de la santé animale
Fondée en 1924



Formation des points focaux nationaux pour la santé des animaux aquatiques (Cycle IV)

8 - 10 juillet 2024 Tunis, Tunisie





Improving IRVT diagnostic capacity for Viral Encephalopathy and Retinopathy of marine fish

Projet de jumelage IZSVe-IRVT

*Dr. Emna Ayari Fakhfakh
Institut de la Recherche Vétérinaire de Tunisie*



Institut de la Recherche Vétérinaire de Tunisie



Histoire

Année 1897: SOCIETE D'ELEVAGE

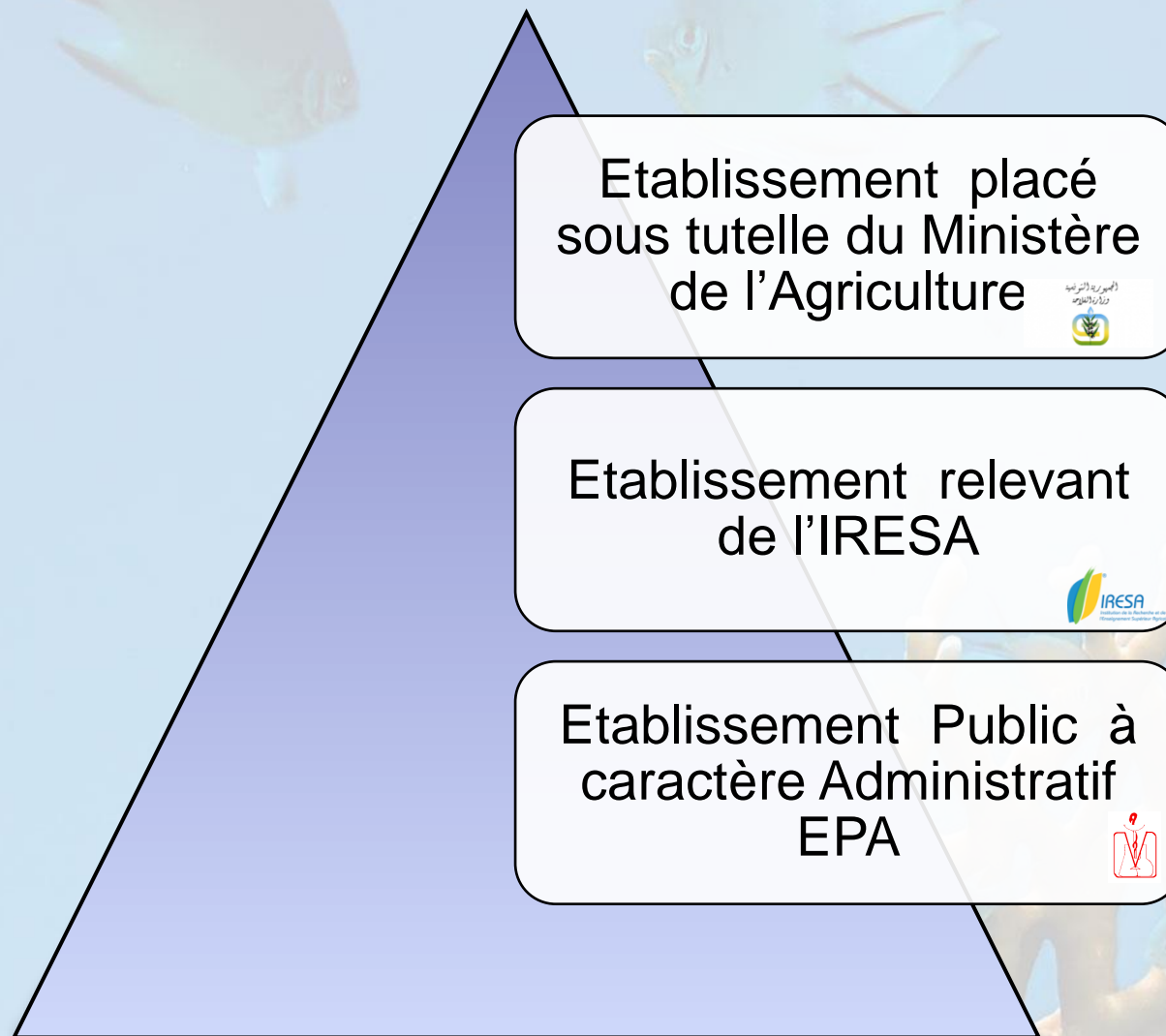
Année 1912: INSTITUT ARLOING

Année 1961: INSTITUT NATIONAL DE RECHERCHES VETERINAIRES
Appui / Encadrement technique à l'élevage et à la santé animale

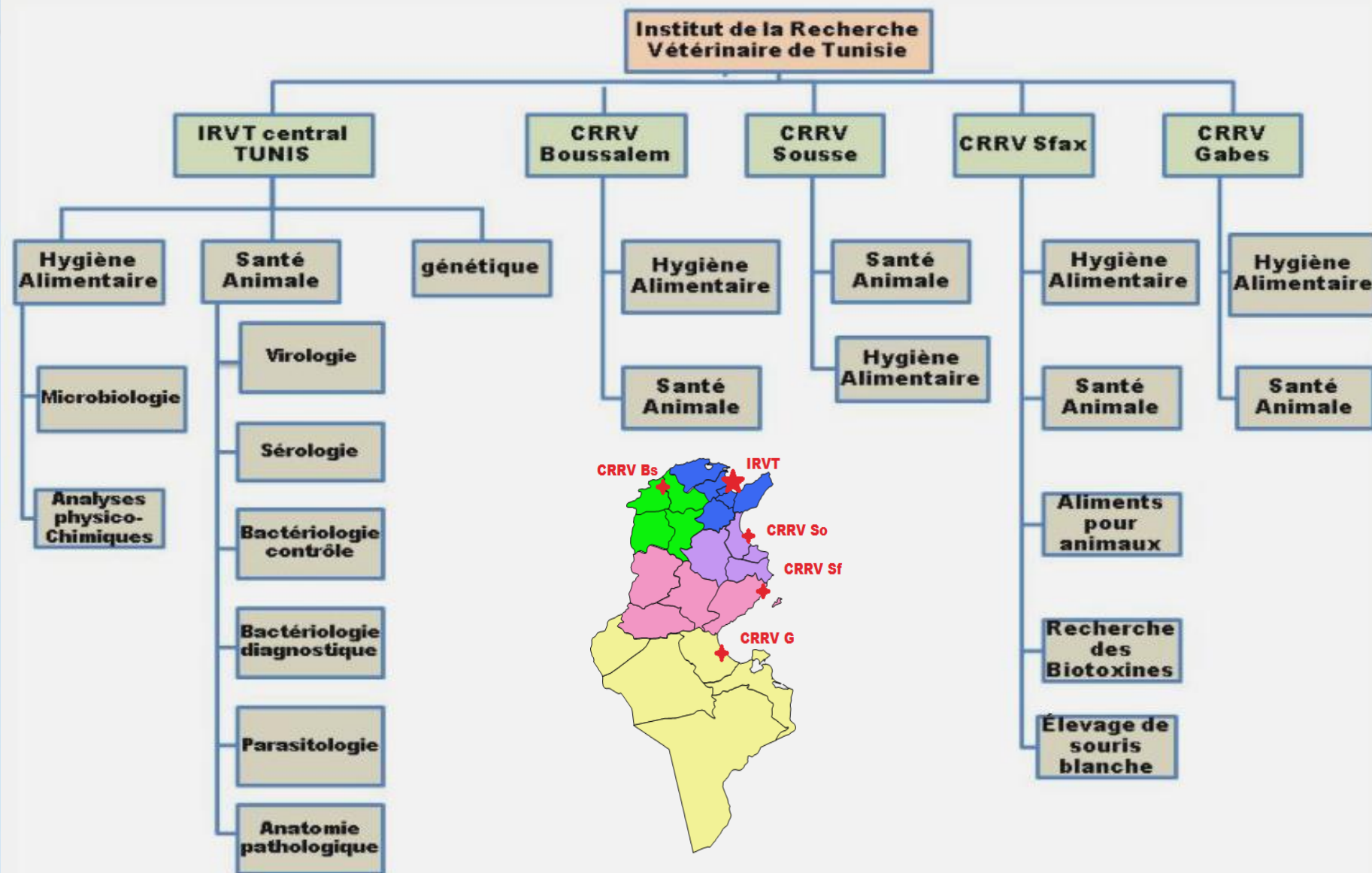
Année 1970: INSTITUT DE LA RECHERCHE VETERINAIRE DE TUNISIE
Contrôle officiel- Diagnostic biologique

Année 1987: INSTITUT DE LA RECHERCHE VETERINAIRE DE TUNISIE
Réfection de l'institut (crédits-programme de formation-programme de recherche...)

Structure (1)



Structure (2)



Les principaux Laboratoires de diagnostic de l'IRVT



Réception centrale



Laboratoire LDA



Laboratoire de virologie



Laboratoire de génétique



Laboratoire de santé animale



Laboratoire d'HistoAnapath

Missions (1)

- **Diagnostic biologique**

AnatomoHistopathologie

Bactériologie

Sérologie

Parasitologie

Virologie

- **Contrôle**

Contrôle officiel (Contrôle au frontière)

Autocontrôle

Pathologies d'élevage

Denrées alimentaires (origine animale + eau

- Qualité microbiologique

- Qualité physico chimique

- **Epidémiosurveillance**

Suivi de la situation épidémiologique FA PPR et BT

Surveillance active de la FA et BT au sein de gouvernorats sentinelles

Participation au programme d'épidémiologie établi à l'encontre de l'Influenza aviaire

Participation au réseau de surveillance microbiologique des mollusques bivalves

Participation au réseau de surveillance des biotoxines marines dans les mollusques bivalves

Demandeurs de Prestations

DGSV

Médecins Vétérinaires libre praticiens

Exportateurs et Importateurs

Eleveurs

Etablissements d'industrie agro-alimentaire

Groupements interprofessionnels

Missions (2)

- **Formation (rôle de l'IRVT formateur)**

Formation d'une délégation de vétérinaires libyens : Diagnostic en virologie vétérinaire (Mai – juin 2010)

Formation dans le cadre de l'OADA : Virus des poissons (Septembre 2014)

Formation dans le cadre de l'OADA : Diagnostic de la PPR et de la Fièvre aphteuse (Avril 2018)

Formation dans le cadre de l'AIEA : Diagnostic de la PPR et des infections à capripoxvirus la Fièvre aphteuse (Octobre 2023)

- **Encadrement**

PFE, Thèse vétérinaire, Master et PhD

Publication des résultats dans des revues internationales

- **Recherche et Coopération internationale**

Pilotage et participation à des projets de recherche scientifique

Participation à des projets de jumelage

Coopération entre l'Europe et la Tunisie

- **Nationale**

UTM
ENMV
ESIA
ISBAT
INSAT
LCAE
IPT

- **Internationale**

ANSES et CIRAD (France)
CERVA (Belgique)
IZS-IZSve (Italie)
INIAA (Espagne)
IAEA

Les Perspectives De L'Institut de Recherche Vétérinaire de Tunisie

-ACCREDITATION DES LABORATOIRES DE
L'IRVT

-LABORATOIRE DE REFERENCE POUR LA
REGION COMESA

-CENTRE COLLABORATEUR AIEA

-POLE DE RECHERCHE A L'ECHELLE
NATIONAL /REGIONAL/INTERNATIONAL

Projet de jumelage IZSVe-IRVT



Les principales dates dans le déroulement du projet

AVANT

2012: réflexion à propos d'un jumelage avec l'IZSVe (Dr.Giovanni)
2013: projet rédigé et suivi de procédure administrative
2014: soumission du projet à l'OIE
2015: réponse de l'OIE : projet approuvé avec apport de modification
2016-2017: contact avec Dr Anna Toffan et relancement du projet

AU COURS

01/02/2018: Début du projet
28/02/2018: Réunion d'ouverture du projet à Tunis
18/06-28/06: formation sur les pathologies des poissons
21/06-12/06: formation sur l'isolement du virus (ERV)
5/11-9/11: formation sur la qualité
5/11-23/11: formation sur le diagnostic moléculaire de la ERV
7/04/2019: visite de l'équipe IZSVe à l'IRVT
10/06-14/06: formation en épidémiologie QGIS
29/10/2019: réunion de clôture du projet
31/10/2019: Fin du projet



**L'amélioration des capacités de l'IRVT dans le diagnostic
de laboratoire de l'encéphalopathie et rétinopathie virale
qui touche le secteur de l'aquaculture en Tunisie**



Formation n°1: Etude des lésions macroscopiques et microscopiques de l'Encéphalopathie et Rétinopathie Virale(18-28/06/2018)

Tobia Pretto (IZSVe)

- Apprentissage théorique: identification des lésions spécifiques (rétine, cerveau..)
- Technique d'autopsie et prélèvement des organes cibles
- Visite d'élevage atteint de la REV
- Technique d'histochimie pour visualisation des lésions histologiques typiques du virus de l'ERV avec envoi d'une liste de réactifs



Mounira Hammami(IRVT)

- Rédaction de procédure adaptée au condition du laboratoire d'anatomohistopathologie

Formation n°2: Techniques d'isolement du virus de l'Encéphalopathie et Rétinopathie Virale(21/06/18-12/07/18)

Anna Toffan, Rosita (IZSVe)

- Préparation des échantillons pour isolement et diagnostic moléculaire
- Culture des cellules de poissons, SSN1-E11
- Inoculation des cellules et observation de l'ECP du virus de l'ERV
- Technique de titrage viral
- Technique d'Immunofluorescence directe pour différencier entre les génotypes
- Technique de séroneutralisation
- Technique ELISA
- Microscopie électronique
- Technique de concentration du virus à partir de l'eau de mer



Emna Fakhfakh et Aida Krichen(IRVT)

- Constitution d'une banque de cellules de poissons, SSN1
- Rédaction de procédures

Formation n°2: Techniques d'isolement du virus de l'Encéphalopathie et Rétinopathie Virale

Exemple d'application de la procédure de préparation des échantillons au laboratoire de virologie de l'IRVT



1-D.Labrax moribond



2-Examen des viscères



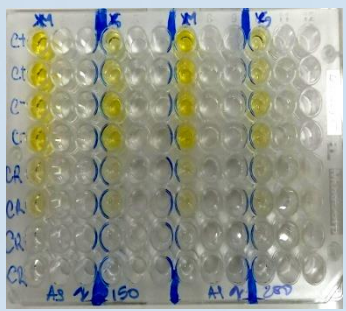
3-Extraction du cerveau



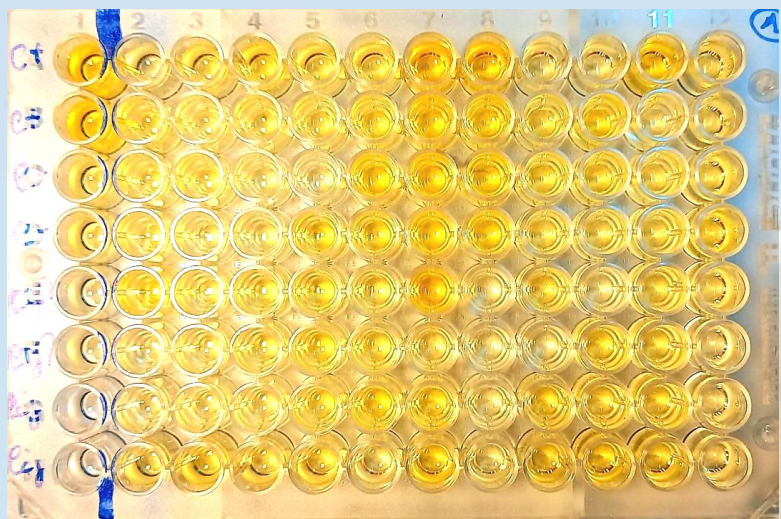
Analyse moléculaire
Isolement viral

Mise en pratique au laboratoire de virologie de l'IRVT de la technique ELISA pour la détection des Acs anti bétanodavirus chez le *Dicentrachus Labrax* infecté et /ou vacciné

Optimisation 1
ELISA betanodavirus



Pr11458	Sec1492	BL H			
ABS	ABS	ABS	ABS	ABS	ABS
0.0066294	0.0022222	0.005	0.2250	0.004	0.005
0.0071216	0.0022222	0.003	0.2750	0.001	0.001
0.0111111	0.0022222	0.004	0.4640	0.003	0.004
0.0111111	0.0022222	0.005	0.3900	0.005	0.002
0.0111111	0.0022222	0.001	0.1223	0.001	0.001
0.01477	0.0022222	0.003	0.2250	0.001	0.001
0.01477	0.0022222	0.001	0.047	0.001	0.001
0.0066294	0.0022222	0.004	0.2033	0.004	0.003
0.0066294	0.0022222	0.002	0.288	0.001	0.001
0.0055555	0.0022222	0.005	0.232	0.005	0.005
0.0055555	0.0022222	0.006	0.071	0.005	0.005
0.0055555	0.0022222	0.001	0.022	0.001	0.001
0.0055555	0.0022222	0.001	0.043	0.001	0.001



Collaboration entre IRVT-IZSve-
ENMV-Ministère de la Défense

Publication en cours.....

Formation n°3: Techniques d'identification moléculaire du virus de l'Encéphalopathie et Rétinopathie Virale(05/11/18-23/11/18)

Miriam Abbadi (IZSVe)

- Préparation des échantillons pour diagnostic moléculaire
- Méthode d'extraction par extracteur automate de l'ARN viral
- RT-PCR real time pour détection viral
- RT-PCR conventionnelle pour déterminer le génotype viral
- Séquençage par la méthode de Sanger pour détermination du génotype viral
- Méthode de quantification des nodavirus par PCR real time
- Détection moléculaire du virus TILV



Emna Fakhfakh et Sofien Sghaier(IRVT)

- Mise en place des deux PCR pur la détection et la détermination du génotype viral
- Participation à 3 EILA au cours de la période du jumelage
- Séquençage (plateforme en cours d'essai à l'IRVT)
- Rédaction de procédures

Résultat du 2^{ème} EILA NODAVIRUS

VIR	FORMULAIRE	Code: FOR-VIR-03
IRVT	Fiche de suivi analytique pour l'extraction de l'acide nucléique	Version: 00 Date: 04/01/13 Page 1 sur 1

Date: 10/04/19 - Suspicion: EILA/Nodavir - Operateur: ...

Nature acide nucléique: ARN Simple ARN Double ADN

Protocole utilisé: Kit d'extraction Trizol Trizol + Kit

Echantillons	Codes	Echantillons	Codes
1	A1	7	A7
2	A2	8	A8
3	A3	9	A9
4	A4	10	A10
5	A5	11	A11
6	A6	12	A12

Remarques: Extraction réalisée @ parties sur un panel de 10 échantillons (échantillons) dans de tubes qui ont été pré-traités par un sérum de diagnostic de Nodavirus à l'aide d'un virus de référence.

RT (date et signature): ...

Fiche de suivi signalétique d'extraction

VIR	FORMULAIRE	Code: FOR-VIR-04
IRVT	Fiche de suivi analytique PCR / R-PCR / qRT-PCR	Version: 00 Date: 04/01/13 Page 1 sur 1

Date: 10/04/19 - Suspicion: EILA/Nodavir - Operateur: ...

Nature acide nucléique: ARN Simple ARN Double ADN

Kit utilisé: ...

Echantillons	Codes	Résultats	Echantillons	Codes	Résultats
1	A1	+	9	A9	+
2	A2	+	10	A10	+
3	A3	+	11	A11	+
4	A4	+	12	A12	+
5	A5	+	13		
6	A6	+	14		
7	A7	+	15		
8	A8	+	16		

Composition du Mix: (N = 12) Quantité d'ARN/ADN = 5 µl

Réactifs	Volume par échantillon	Volume pour N échantillons
Buffer:	20.5	246
Primer 1:	0.5	6
Primer 2:	0.5	6
DNTP:	2.0	24
Enzyme:	0.5	6
DEPC:	0.5	6

Programme: Nombre de cycles: ...

Photos de Gel/ rapport thermocycleur: ...

RT (date et signature): ...

Fiche de suivi signalétique pour la qPCR d'extraction

Sample	CT (Mean)
Target: Target 1 †	
Sample 1	14.8272
Sample 10	14.9435
Sample 2	13.8087
Sample 3	15.5642
Sample 4	31.9647
Sample 5	28.0563
Sample 6	27.1914
Sample 7	33.3083
Sample 8	30.953
Sample 9	24.4921

Résultat de la qPCR

VIR	FORMULAIRE	Code: FOR-VIR-04
IRVT	Fiche de suivi analytique PCR / R-PCR / qRT-PCR	Version: 00 Date: 04/01/13 Page 1 sur 1

Date: 10/04/19 - Suspicion: EILA/Nodavir - Operateur: ...

Nature acide nucléique: ARN Simple ARN Double ADN

Kit utilisé: ...

Echantillons	Codes	Résultats	Echantillons	Codes	Résultats
1	A1	+	9	A9	+
2	A2	+	10	A10	+
3	A3	+	11	A11	+
4	A4	+	12	A12	+
5	A5	+	13		
6	A6	+	14		
7	A7	+	15		
8	A8	+	16		

Composition du Mix: (N = 10) Quantité d'ARN/ADN = 5 µl

Réactifs	Volume par échantillon	Volume pour N échantillons
Buffer:	20.5	205
Primer 1:	0.5	5
Primer 2:	0.5	5
DNTP:	2.0	20
Enzyme:	0.5	5
DEPC:	0.5	5

Programme: Nombre de cycles: ...

Photos de Gel/ rapport thermocycleur: ...

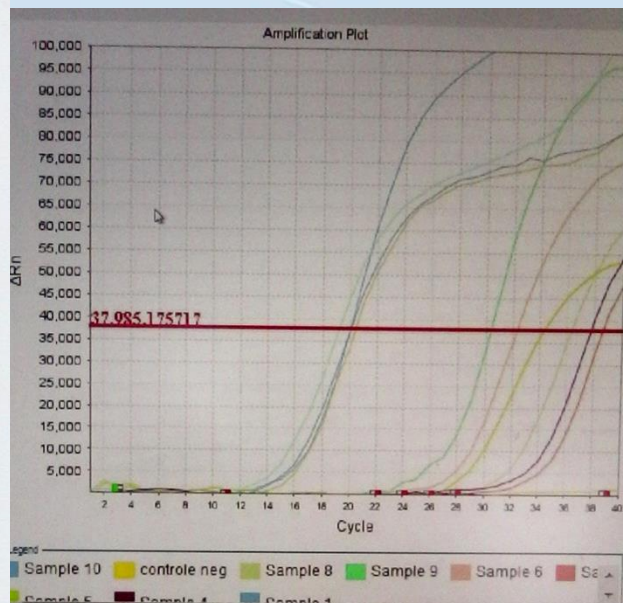
RT (date et signature): ...

Fiche de suivi signalétique de la PCR de génotypage et résultat



Résultat du 3^{ème} EILA NODAVIRUS

Sample	Target	Task	Cr
text1	Target 1	UNKNOWN	Undetermined
Sample 2	Target 1	UNKNOWN	18.5415
Sample 3	Target 1	UNKNOWN	29.0515
Sample 4	Target 1	UNKNOWN	15.0207
text2	Target 1	UNKNOWN	Undetermined
Sample 6	Target 1	UNKNOWN	Undetermined
Sample 7	Target 1	UNKNOWN	34.5971
text3	Target 1	UNKNOWN	37.1837
text4	Target 1	UNKNOWN	Undetermined
Sample 10	Target 1	UNKNOWN	31.7919
Sample 11	Target 1	UNKNOWN	Undetermined
Sample 12	Target 1	UNKNOWN	Undetermined
text5	Target 1	UNKNOWN	Undetermined
Sample 14	Target 1	UNKNOWN	29.439
Sample 15	Target 1	UNKNOWN	16.362
text6	Target 1	UNKNOWN	7.106
pos	Target 1	UNKNOWN	27.7485



Résultat de la qPCR

1-Participation du laboratoire de virologie
à chaque VER-IPT proposé par IZSVe

2-Mise en place du diagnostic
moléculaire du TiLV

Formation n°4: Epidémiologie des pathologies marines QGis(10/06/19-14/06/19)

Nicola Ferré et al.(IZSVe)

- Une introduction de l'épidémiologie appliquée à la collecte et à l'interprétation de données sur l'aquaculture marine
- Utilisation du SIG et son application dans le secteur de l'aquaculture marine

-Séances pratiques:

- 1-la création de cartes numériques avec QGIS
- 2-Apprentissage de techniques de base pour effectuer des analyses spatiales dans le secteur de l'aquaculture marine



Emna Fakhfakh et InesTliba (IRVT)

- Acquisition de connaissances de base sur l'épidémiologie des pathologies des animaux aquatiques marins

Formation n°5: Qualité (5/11/18-8/11/18)

Paola Carnieletto RQ (IZSVe)

- Aperçu sur l'ISO 17025: 2018
- Flux de travail et traçabilité des échantillons
- Contrôle qualité en métrologie
- Visite BSL3 - Aperçu de la biosécurité

Aida Tlatli , Yosra Ayari (IRVT)

- Suivi du système qualité informatisé
- Fonctionnement d'un système de suivi métrologique en interne
- Organisation de la qualité au sein du laboratoire
- Traçabilité des échantillons

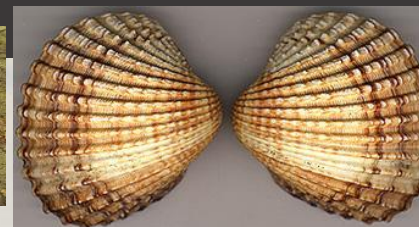
Laboratoire des Denrées Alimentaires



ACCREDITATION par TUNAC

-LDA IRVT TUNIS:
Recherche de *E.Coli* et *Salmonella*
(mollusques bivalves)

-LDA de Biotoxine CRV SFAX
Recherche de biotoxine ASP
(mollusques bivalves)



Laboratoire de Virologie en cours d'accréditation

Maladies des Ruminants:

- ✓ Bluetongue
- ✓ **Fièvre aphteuse**
- ✓ Peste des petits ruminants
- ✓ Fièvre de la vallée de rift
- ✓ Shmallenberg
- ✓ EHDV
- ✓ Lumpy skin disease
- ✓ Le sheeppox
- ✓ Le goatpox
- ✓ Le pseudocowpox

Maladies des Equidés:

- West Nile
- Anémie infectieuse
- Peste équine
- Rhino pneumonie du cheval

Maladies Aviaires:

- ✓ **Influenza aviaire**
- ✓ Maladie de Newcastle
- ✓ West Nile

Maladies des Poissons:

- ✓ **Encéphalopathie Rétinopathie Virale**
- ✓ **Identification moléculaire du LCDV**
- ✓ **Identification moléculaire du TiLV**



Conclusion/Remerciements

Compétences et savoir faire acquis Collaboration correctement entretenue entre IZSVe/IRVT

Organisation Mondiale de la santé animale

Laboratoire de référence IZSVe

La Direction Générale des Services Vétérinaires

La Direction Générale de l'IRVT

Toute l'équipe du projet de jumelage



Formation des points focaux nationaux pour la santé des animaux aquatiques (Cycle IV)

8 - 10 juillet 2024 Tunis, Tunisie



Je vous remercie pour votre attention

