

**UNIVERSITE DE BLIDA-1**  
**Institut des Sciences Vétérinaires**

**THESE DE DOCTORAT**

en Sciences Vétérinaires

Spécialité : Epidémiologie appliquée à la santé animale

**ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DE MYCOBACTERIES  
RESPONSABLES DE LA TUBERCULOSE CAMELINE DANS LA  
REGION SUD D'ALGERIE**

Par

**Razika BOUKERT**

Devant le Jury composé de :

M. LAFRI	Professeur	ISV de Blida-1	Président
M. HAMIROUNE	MCA	Université de Djelfa	Examineur
R. BAAZIZI	MCA	ENSV Alger	Examinatrice
B.BAAISSA	MCA	ENS Ouargla	Examineur
N. SAHRAOUI	Professeur	ISV de Blida-1	Directrice
A. BERBER	Professeur	ISV de Blida-1	Co-directeur

Blida, Mars 2021

## RESUME

La tuberculose cameline est une zoonose majeure très ancienne, elle est connue par son caractère infectieux, contagieux, et sa chronicité. L'objectif de cette étude est de déterminer la prévalence de la tuberculose cameline dans trois abattoirs de la région sud de l'Algérie à partir des lésions macroscopiques suspectes de tuberculose, d'isoler et d'identifier les agents responsables de cette affection. Pour cela un total de 3342 dromadaires a été inspecté dont 102 carcasses ont été déclarées suspectes de tuberculose (3,05%) (IC : 2,05-3,69), la lésion pulmonaire constitue l'atteinte majeure (62,74%), suivie par la lésion hépatique (36,27%) et enfin 0,98% au niveau des ganglions lymphatiques. Une différence significative a été relevée ( $P=0,03$ ) avec OR : 40,33(1,43-1139). La bacilloscopie a indiqué 04 frottis positifs, soit une proportion de 3.92% (IC 95%:1,08-9,73) et 06 cultures positives soit 5,88% (IC95% : 2,19-12,36). La prévalence de ces lésions n'est influencée ni par l'âge, ni par le sexe de dromadaire ( $p>0.05$ ). La caractérisation moléculaire par PCR des extraits d'ADN a montré un signal positif, ce qui signifie que les souches isolées appartiennent au *Complexe Mycobacterium Tuberculosis*. La restriction enzymatique réalisée sur les mêmes extraits d'ADN a indiqué la présence de l'une des deux espèces (*M.Bovis* ou *M.Tuberculosis*). La technique de spoligotypage sur les 06 extraits d'ADN a indiqué la présence de quatre souches de *M.bovis* avec le même spoligotype SB0941 et une nouvelle souche phylogénétiquement proche de précédente portant le spoligotype SB2561. La dernière souche a été considérée comme une mycobactérie atypique identifiée comme *Mycobacterium virginiensis* MO-233 par la méthode de séquençage 16SrDNA. Par conséquent, notre étude a permis de confirmer la présence de la tuberculose dans la population cameline étudiée, le *M.bovis* a été isolé de même que les mycobactéries non tuberculeuses dans trois abattoirs du sud de l'Algérie.

**Mots clés** : Abattoir, Dromadaire, *M.bovis*, *M.virginiensis*, Tuberculose.

## Abstract

Camel tuberculosis is a very old major zoonosis; this illness is known for its infectious and contagious nature, and its chronicity. The objective of this study is to determine the prevalence of camel tuberculosis in three slaughterhouses in the southern region of Algeria from suspicious macroscopic lesions of tuberculosis, to isolate and identify the agents responsible for this affection. For this a total of 3342 dromedaries were inspected, 102 carcasses were declared suspect of tuberculosis. (3.05%) (CI: 2.05-3.69). The pulmonary lesion constitutes the major affection (62.74%), followed by hepatic lesion (36.27%) finally 0.98% found in the lymph nodes. A significant difference was noted ( $P = 0.03$ ) with OR: 40.33 (1.43-1139). Bacilloscopy indicated 04 positive smears (3.92%) (95% CI: 1.08-9.73) and 06 positive cultures (5.88%) (95% CI: 2.19-12.36). The prevalence of these lesions is not influenced by age, sex of camel ( $p > 0.05$ ). PCR Molecular characterization of extracted DNA showed a positive signal, which means that the isolated strains belong to the *Mycobacterium Tuberculosis Complex*; the enzymatic restriction carried out on the same DNA extracts indicated the presence of one of the two species (*M. Bovis* or *M. Tuberculosis*). The spoligotyping technique on the 06 DNA extracts indicated the presence of four strains of *M. bovis* with the same spoligotype: SB0941 and a new strain phylogenetically close to the previous one carrying the spoligotype: SB2561. The aforementioned strain was considered as an atypical mycobacterium identified as *Mycobacterium virginiense* MO-233 using the 16srDNA sequencing method. Therefore, our study confirmed the presence of tuberculosis in the studied camel population. *M. bovis* was isolated as well as the non-tuberculosis mycobacteria in three slaughterhouses in the south of Algeria.

**Key words:** Slaughterhouse, Dromedary, *M. bovis*, *M. virginiensis*, Tuberculosis.

## ملخص

يعتبر سل الإبل مرض حيواني المنشأ قديم جدا، وهو معروف بطبيعته المعدية والمزمنة. الهدف من هذه الدراسة هو تحديد مدى إنتشار مرض سل الإبل في ثلاثة مذابح جنوب الجزائر من خلال الأضرار العينية المشتبه بإصابتها بالسل، من أجل عزل و تحديد العوامل المسؤولة عن هذا المرض .

لهذا الغرض، تم فحص مجموعة 3342 من الجمال، وتم الإعلان عن 102 ذبيحة مشتبه بإصابتها بالسل (3.05%: 2.05-3.69) IC و تشكل الأضرار الرئوية النسبة الأكبر (62.74%)، و تليها الأضرار الكبدية (36.27%) و أخيرا (0.98%) في الغدد اللمفاوية . لوحظ فرق كبير (P=0.03) مع (RO=40.33 (1.34-1193) . أشار الفحص المجهرى إلي وجود 04 مسحات إيجابية بنسبة 3.92% (95%: CI=9.73\_1.08) و 06 زراعات إيجابية 5.88% (: -12.36- IC=12.19) لا يتأثر انتشار هذه الأضرار بالعمر أو جنس الأبل (P>0.05). أظهر التوصيف الجزيئي بواسطة تفاعل سلسلة البوليميراز لمستخلصات الحمض النووي إشارة إيجابية، مما يعني أن السلالات المعزولة تنتمي إلى مجمع الميكوبكتريا السلية و يشير تقييد الإنزيم الذي تم إجراؤه على نفس مستخلصات الحمض النووي إلى وجود أحد نوعين ميكوبكتيريا (م. السلية أو م. البقرية).

أشارت تقنية التنميط على مستخلصات الحمض النووي 06 إلى وجود أربع سلالات ميكوبكتيريا البقرية من نفس النمط 0941SB و سلالة جديدة قريبة نسبيا من السلالة السابقة تحمل النمط 2561SB . تم إعتبار السلالة الأخيرة من الميكوبكتيريا الغير النمطية بواسطة طريقة التسلسل SrDNA16 حيث تم تحديدها على أنها ميكوبكتيريوم فيرجينيسيس MO-233 .

لذلك أكدت دراستنا على وجود مرض السل في فئة الإبل التي تمت دراستها، حيث تم عزل وتشخيص نمط الميكوبكتيريوم البقري و كذلك الميكوبكتريا الغير السلية في ثلاثة مذابح في جنوب الجزائر.

**الكلمات المفتاحية:** مذابح، الإبل، م. البقرية، م. فيرجينيسيس، السل.

## REMERCIEMENTS

### ***À Madame SAHRAOUI N***

Professeur à l'Université Saad Dahleb de Blida, qui m'a permis de réaliser ce travail, pour son encouragement, sa disponibilité ainsi sa rigueur scientifique m'ont été d'une grande aide. Veuillez trouver ici le témoignage de mon affection et de mon estime.

### ***À Monsieur BERBER A***

Professeur à l'Université Saad Dahleb de Blida, d'avoir coencadré ce travail. Hommages respectueux.

### ***À Monsieur LAFRI M***

Professeur à l'université Saad Dahleb de Blida, qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury, qu'il trouve ici l'expression de ma parfaite reconnaissance.

### ***À Monsieur HAMIROUNE M***

Maître de conférences à l'université de Djelfa, qui m'a fait l'honneur de faire partie de mon jury, et de juger mon travail. Sincères remerciements.

### ***À Madame BAAZIZI R***

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'El-Harrach, pour avoir bien voulu examiner mon travail. Sincères remerciements.

### ***À Monsieur BAAISSA B***

Maître de conférences à l'Ecole Normale Supérieure de Ouargla, Pour avoir accepté de participer à mon jury. Sincères remerciements.

***À toute l'équipe de recherche*** du laboratoire des mycobactéries de l'institut Pasteur d'Alger, de l'institut de médecine expérimentale et de l'équipe du

laboratoire de microbiologie de l'université d'Acibadem en Turquie pour leur sympathie et de leur aide dans la réalisation de cette étude.

***Aux inspecteurs vétérinaires des abattoirs (Ghardaia, El Oued et Ain salah)*** pour leur patience, leur disponibilité et leur aide, merci !

***Mes remerciements*** sont aussi présentés à tous ceux qui, de près ou de loin, par leur participation ou leur soutien, ont contribué à la réalisation de ce travail.

***Enfin, mes plus vifs remerciements vont à mes chers parents,*** parce qu'ils sont la source de tout. Pour leur soutien inconditionnel tout au long de ces années ; qu'ils trouvent ici la preuve de ma sincère reconnaissance.

# TABLE DES MATIERES

**RESUME**

**REMERCIEMENTS**

**TABLE DES MATIERE**

**LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX**

**INTRODUCTION..... 16**

**CHAPITRE 1 : TUBERCULOSE CAMELINE 19**

1.1. Généralités ..... 19

1.2. Définition..... 20

1.3. Historique..... 20

1.4. Importance de la tuberculose..... 21

1.4.1. Hygiénique..... 21

1.4.2. Economique..... 22

1.4.3. Réglementaire..... 22

**CHAPITRE 2 : MYCOBACTERIES 23**

2.1. Classification..... 23

2.1.1. Mycobactéries pathogènes tuberculeuses..... 24

❖ Complexe *Mycobacterium tuberculosis* (CMT)..... 24

❖ Mycobactéries responsables de la lèpre..... 25

2.1.2. Mycobactéries atypiques ou non tuberculeuses (MNT)..... 25

❖ Mycobactéries Opportunistes..... 25

❖ Mycobactéries Saprophytes..... 26

2.2. Caractères bactériologiques..... 29

2.2.1. Caractères Morphologiques..... 29

2.2.2. Caractères cultureux..... 31

2.2.2.1. Caractère cultureux du *M.bovis*..... 31

2.2.3. Caractères génétiques.....	35
2.2.4. Caractères biochimiques.....	36
2.3. Résistance aux agents physiques et chimiques.....	37

### **CHAPITRE 3 : PATHOGENIE, SYMPTOMES ET LESIONS** 39

3.1. pathogénie.....	39
3.1.1. Première phase (primo-infection localisée).....	39
3.1.2. Deuxième phase (tuberculose secondaire).....	41
3.2. Symptômes.....	42
3.3. Lésions.....	43

### **CHAPITRE 4 : DEPISTAGE ET DAIGNOSTIC** 47

4.1. Dépistage.....	47
4.1.1. Dépistage <i>ante-mortem</i> .....	47
4.1.1.1. Dépistage clinique.....	47
4.1.1.2. Dépistage allergique.....	47
4.1.1.3. Dépistage sérologique.....	49
4.1.2. Dépistage <i>post-mortem</i> .....	51
4.2. Diagnostic Expérimental.....	52
4.2.1. Examen Histologique.....	53
4.2.2. Examen Immunohistochimique.....	54
4.2.3. Diagnostic bactériologique.....	56
4.3. Diagnostic moléculaire.....	61
4.3.1. Polymérase Chain Réaction (PCR).....	61
4.3.2. Typage moléculaire.....	64
4.3.2.1. Spoligotypage.....	64
4.3.2.2. MIRU-VNTR.....	70
4.3.2.3. RFLP.....	70

### **CHAPITRE 5: EPIDEMIOLOGIE DE LA TUBERCULOSE** 75

5.1. Epidémiologie descriptive.....	75
a. Dans le monde.....	75

b. En Afrique.....	75
c. En Algérie.....	76
5.2. Epidémiologie Analytique.....	76
5.2.1. Les sources de contagion.....	76
5.2.2. Les modalités de contagion.....	78
5.2.2.1. Les modes de transmission.....	78
5.2.2.1. Les voies de pénétration.....	79
5.2.3. Réservoirs animaux.....	79
5.3. Epidémiologie synthétique.....	80
5.3.1. Modalités de contamination d'un élevage.....	80
5.3.2. Mode de transmission.....	82
<b>CHAPITRE 6: TRAITEMENT ET PROPHYLAXIE</b>	<b>83</b>
6.1. Traitement.....	83
6.2. Prophylaxie.....	84
<b>CHAPITRE 7 : GENERALITES SUR LE DROMADAIRE</b>	<b>86</b>
7.1. Taxonomie.....	87
7.1.1. Genre <i>Camelus</i> .....	87
7.1.2. Genre Lama.....	88
7.1.3. Genre Vicugna.....	88
7.2. Répartition géographiques du dromadaire.....	90
➤ l'échèle mondiale.....	90
➤ en Algérie.....	92
7.3. Effectifs des camelins.....	92
7.4. Populations de dromadaire en Algérie.....	94
7.5. Système d'élevage des dromadaires en Algérie.....	97
7.6. Importance et rôle des dromadaires.....	97
7.7. Contraintes de santé liée à l'élevage camelin en Algérie.....	100
7.8. Les maladies les plus rencontrés chez le dromadaire.....	100

## **CHAPITRE 8 : ETUDE EXPERIMENTALE** 102

8.1. Objectifs.....	103
8.2. Cadre d'étude.....	103
8.2.1. Population cible.....	104
8.2.2. Zone d'étude.....	105
8.2.3. Période d'étude.....	106
8.3. Matériel et Méthodes.....	106
8.3.1. Matériel.....	106
8.3.2. Méthodes.....	107
8.3.2.1. Au niveau des abattoirs.....	107
➤ Recueil des données.....	107
➤ Examen <i>ante-mortem</i> .....	107
➤ Examen <i>post-mortem</i> .....	108
8.3.2.2. Au niveau du laboratoire.....	114
8.3.2.2.1. Laboratoire des mycobactéries de l'Institut Pasteur d'Alger.....	114
a. Traitement des échantillons.....	114
b. Bacilloscopie.....	115
c. Culture bactérienne .....	117
d. Extraction d'ADN.....	119
8.3.2.2.2. Laboratoire de microbiologie médicale.....	120
❖ restriction enzymatique par PCR ( <i>PRA</i> ).....	120
8.3.2.2.3. Institut de médecine expérimentale de l'Université d'Istanbul.....	126
a. Spolygotypage.....	126
b. Séquençage de la région 16s ADN d'un isolat mycobactérien .....	128
c. Analyse des séquences .....	129
d. Analyses statistiques.....	129

## **CHAPITRE 9 : RESULTATS** 131

9.1. Résultats de l'enquête à l'abattoir.....	131
9.1.1. Proportion des cas suspects de tuberculose cameline.....	131
9.1.2. Proportion des cas suspects en fonction des facteurs de variation.....	132
➤ Sexe.....	133

➤ Age.....	134
➤ Localisation des lésions .....	135
9.1.3. Analyse multivariée.....	138
9.2. Au niveau des laboratoires .....	139
9.2.1. Laboratoire de mycobactérie de l'institut pasteur d'Alger .....	139
❖ Examen bactériologique .....	139
9.2.2. Laboratoire de microbiologie et de médecine .....	141
❖ Restriction enzymatique par PCR.....	141
9.2.3. Laboratoire de médecine expérimentale de l'Université d'Istanbul.....	143
❖ Spoligotypage .....	143
❖ Séquençage .....	145
<b>DISCUSSION.....</b>	<b>147</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>156</b>
<b>RECOMMANDATION ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>158</b>
<b>APPENDICES.....</b>	<b>159</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>173</b>

## LISTES DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 2.1 : Représentation schématique des Mycobactéries.	24
Figure 2.2 : Relation évolutive entre les membres du <i>CMTB</i> et les autres espèces de mycobactéries.	26
Figure 2.3 : Observation des BAAR chez un dromadaire.	29
Figure 2.4 : Structure et composition de l'enveloppe des mycobactéries.	30
Figure 2.5 : Colonies de <i>M. bovis</i> .	32
Figure 2.6 : Milieu MGIT 960.	34
Figure 3.1: Représentation schématique de la réponse immunitaire.	40
Figure 3.2 : Evolution du complexe primaire.	41
Figure 3.3 : Pleurésie granulomatoses chez un dromadaire atteint de tuberculose pulmonaire.	44
Figure 3.4 :(a-h) Lésions tuberculeuses dans différents organes de dromadaire.	45
Figure 3.5 : Différentes lésions tuberculeuses chez le dromadaire.	45
Figure 3.6 : Lésions de tuberculose cameline(a) hépatique, (b) pulmonaire.	46
Figure 4.1 : Test intradermique au niveau de l'épaule d'un dromadaire.	48
Figure 4.2 : Test comparatif de la tuberculine à l'abattoir d'Akaki.	49
Figure 4.3 : Nodule pulmonaire chez un dromadaire.	52
Figure 4.4 : Coupe histologique du poumon avec nécrose	53
Figure 4.5 : Granulome central dans un poumon d'un dromadaire.	54
Figure 4.6 : Mycobactéries mises en évidence par immunohistochimie	55

Figure 4.7 : B.A.A.R colorés par la méthode de <i>Ziehl-Neelsen</i> .	57
Figure 4.8 : Coloration des B.A.A.R par la méthode à l'auramine.	58
Figure 4.9 : Culture sur <i>Lowenstein – Jensen</i> chez le dromadaire.	60
Figure 4.10: Technique d'hybridation inverse sur membrane de spoligotypage.	66
Figure 4.11: Principes de la méthode de spoligotypage multiplexée appliquée au système Mag Pix Luminex.	68
Figure 4.12: Résultats de spoligotypage suite à l'analyse des données générées par le logiciel (XPONNENT) du Mag Pix.	68
Figure 4.13: Phylogénie des souches du MTBC.	72
Figure 4.14: Electrophorèse sur gel de <i>PCR</i> positive chez le dromadaire.	73
Figure 5.1: Répartition géographique de la tuberculose bovine chez les animaux domestiques et sauvages dans le monde.	75
Figure 5.2: Représentation schématique de la circulation de <i>M. bovis</i> dans l'environnement agricole.	81
Figure 7.1 : Systématique des Camélidés.	89
Figure.7.2 : Différents espèces des camélidés.	90
Figure 7.3: Aire de dispersion du genre <i>Camelus</i> dans le monde.	91
Figure 7.4: Evolution des effectifs camelins en Algérie.	94
Figure 7.5: Localisation des principales populations camelines en Algérie.	97
Figure 8.1: Air de repos.	104
Figure 8.2: Zones d'études.	105
Figure 8.3: Salle d'abattage.	108
Figure 8.4: Tête tournée vers l'arrière.	108

Figure 8.5: La saignée (abattoir de Ain Salah).	109
Figure 8.6: Dépouillement du dromadaire.	110
Figure 8.7: Parties de carcasse pour l'examen <i>post mortem</i> .	111
Figure 8.8 : (a), (b), (c), (d) Inspection <i>post- mortem</i> par palpation du 5eme quartier.	113
Figure 8.9: Préparation du prélèvement (a) dissection, (b) broyage.	114
Figure 8.10: Préparation du frottis.	115
Figure 8.11: Coloration par la fuchsine.	116
Figure 8.12: Contre coloration par le bleu de méthylène.	117
Figure 8.13: Décontamination.	118
Figure 8.14: Ensemencement.	118
Figure 8.15: La récolte des extraits d' <i>ADN</i> .	120
Figure 8.16: Préparation du <i>PCR</i> .	121
Figure 8.17: Partager le Mix.	122
Figure 8.18: Mélange de l' <i>ADN</i> par vortex.	122
Figure 8.19 :(a-b) Amplification par <i>PCR</i> sur thermocycleur.	123
Figure 8.20: Chauffage par micro-onde.	124
Figure 8.21: Dépôt d' <i>ADN</i> sur gel.	125
Figure 8.22: Champ électrique.	125
Figure 8.23: (a, b) Enregistrement du film.	126
Figure 8.24: Dépôts des microbilles.	128
Figure 8.25: Séquenceur Beckman-Coulter.	129

Figure 9.1 : Cas suspects de tuberculose chez le dromadaire.	132
Figure 9.2: Cas suspects de tuberculose cameline en fonction du sexe.	134
Figure 9.3 : Cas suspects de la tuberculose cameline en fonction de l'âge.	135
Figure 9.4 : Cas suspects de la tuberculose cameline en fonction de localisation des lésions.	136
Figure 9.5 : (a, b, c) Lésions suspectes de tuberculose chez le dromadaire.	137
Figure 9.6 : B.A.A.R colorés par la méthode de <i>Ziehl-Neelsen</i> .	140
Figure 9.7 : Culture positive (a : MCT ; b : MNT).	140
Figure 9.8 : Electrophorèse sur gel de la réaction en chaîne polymérase.	142
Figure 9.9 : Restriction Enzymatique des souches analysées.	142
Figure 9.10 : Résultats des profils isolés par spoligotypage.	144
Figure 9.11: Séquence nucléotidique de <i>Mycobacterium Virginiensis</i> .	146

Tableau 2.1: Comparaison entre les trois groupes de mycobactéries.	27
Tableau 2.2: Différentes espèces de mycobactéries rencontrées chez le dromadaire.	28
Tableau 2.3: Densité et capacité codante de génome Mcobactérien.	36
Tableau 2.4: Caractères cultureux et biochimiques des mycobactéries.	37
Tableau 4.1: Différents tests sérologiques chez les camélidés.	51
Tableau 4.2: Interprétation des résultats de l'examen microscopique.	57
Tableau 4.3: Identification des principales mycobactéries du <i>MTBC</i> par des observations phénotypiques et des tests.	60
Tableau 4.4: Tableau synoptique des divers moyens de mise en évidence de mycobactéries dans un prélèvement	74
Tableau 7.1: Classification zoologique du dromadaire.	88
Tableau 7.2: Effectifs des camélidés dans le monde.	93
Tableau 7.3 : Intérêt socioéconomique du dromadaire.	99
Tableau 9.1: Proportions des cas suspects de tuberculose chez le dromadaire.	131
Tableau 9.2: Cas suspects de la tuberculose cameline en fonction du sexe.	133
Tableau 9.3: Cas suspects de la tuberculose cameline en fonction de l'âge.	134
Tableau 9.4: Cas suspects de la tuberculose cameline en fonction de localisation des lésions.	136
Tableau 9.5: L'analyse statistique multivariée des variables exploratoires.	138
Tableau 9.6: Comparaison entre les résultats de l'examen bactériologique	139
Tableau 9.7: Type et origine des souches identifier par spoligotyping.	143
Tableau 9.8: Spoligotypes identifiés.	144



## Introduction

La Tuberculose reste une maladie importante tant chez l'homme que chez les animaux. C'est une zoonose majeure, elle entraîne une morbidité, une mortalité et des pertes économiques substantielles au niveau mondial [1].

Dans le monde, cette zoonose constitue jusqu'à nos jours l'une des pathologies les plus meurtrières et particulièrement dans les pays en voie de développement [2]. Chez l'homme, elle est responsable chaque année de près de 8,8 millions d'infection et de 2 millions de décès sont enregistrés [3], et plusieurs études ont montré que les pays tropicaux en voie de développement sont les plus touchés par la tuberculose [4].

En Afrique, l'affection tuberculeuse constitue également une sérieuse menace [5]. C'est une zoonose très grave qui doit faire l'objet des mesures strictes de prophylaxie sanitaire pour les espèces animales [6], sachant que c'est une pathologie qui contamine la majorité des espèces animales sans épargner les camélidés, entre autre, les dromadaires et les chameaux [7]. Cette pathologie se produit plus fréquemment chez les dromadaires maintenus généralement à proximité des bovins et des petits ruminants, appelé communément bétail mixte dans les systèmes d'élevage [8], dont le *M. bovis* et le *M. tuberculosis* retrouvé chez le dromadaire [9]. Plusieurs cas de tuberculose cameline ont été déclarés dans des pays africains tel que : la Mauritanie, Nigeria, l'Egypte et l'Ethiopie et parallèlement, dans les pays d'Asie, à savoir, les Emirats Arabes Unis, le Pakistan et l'Inde. Aussi, la pathologie a été décelée en Australie [10].

En Algérie, le dromadaire occupe une place magistrale dans la vie économique et sociale des communautés sahariennes et steppiques. Il revêt une importance particulière du fait qu'il évolue dans des milieux où l'existence d'autres alternatives d'élevages serait aléatoire et onéreux [11]. Dans notre pays, la tuberculose des ruminants domestiques a été bien diagnostiquée et les agents responsables de cette affection ont été identifiés par Sahraoui et coll. La prévalence des lésions tuberculeuses chez les petits ruminants a été déterminé de 4,14% (3,89% et 4,40%)

respectivement chez les caprins et les ovins [12], alors que la prévalence chez les bovins a été rapportée à 3,58 % [13]. Cependant, des études épidémiologiques et des preuves bactériologiques sur la tuberculose chez le dromadaire en Algérie devraient être menées. A notre connaissance, aucune étude n'a été rapportée dans ce sens car plusieurs facteurs peuvent interférer avec la réalisation de telles études, en l'occurrence, la transhumance, les mouvements incontrôlés de cet animal, leur mode d'élevage, l'insuffisance des moyens pour le déplacement des vétérinaires, l'inexistence des moyens de dépistage et de diagnostic [13], surtout les outils de diagnostic moléculaire appropriés constituant une composante essentielle pour identifier la présence et la cause de la maladie, ainsi, déterminer un pronostic approprié, sachant que le développement des méthodes d'épidémiologie moléculaire de la tuberculose au cours des dernières années a largement contribué à une meilleure compréhension de cette maladie et de son agent causal [14].

Dans ce contexte, nous avons opté pour une étude sur la recherche de la tuberculose des dromadaires, l'isolement et l'identification des agents responsables au niveau de la région sud de l'Algérie. La présente étude se fixe comme objectifs :

- ❖ La détermination de la prévalence des lésions suspectes de tuberculose cameline par l'examen *post mortem* dans la zone d'étude (lésions macroscopiques);
- ❖ La mise en évidence des facteurs de risque responsables de cette affection ;
- ❖ L'isolement des agents infectieux de la tuberculose chez le dromadaire ;
- ❖ L'identification des souches isolées par les outils de la biologie moléculaire.

Enfin, ce document structuré en deux parties :

La première partie est une recherche bibliographique qui englobe plusieurs bases concernant la tuberculose cameline, ses agents causaux, ainsi que son tableau symptomatique et lésionnel. Nous abordons successivement les différentes méthodes de diagnostic utilisées, l'épidémiologie de la maladie, le traitement et la prophylaxie envisagés à ce propos.

La seconde partie est l'étude expérimentale qui a été partagée en deux volets :

- ✓ Une étude lésionnelle effectuée au niveau de trois abattoirs de la région sud de l'Algérie (Ghardaia, El Oued, Ain Salah) en effectuant des prélèvements d'organes de dromadaire fraîchement sacrifiés et présentant des lésions macroscopiques suspectes de tuberculose.

- ✓ Une étude microbiologique visant à isoler et identifier les principaux agents responsables des lésions suspectes de tuberculose chez le dromadaire.

# **CHAPITRE 1**

## **TUBERCULOSE CAMELINE**

### 1.1. Généralités

La tuberculose (TB) est une affection connue depuis l'Antiquité [15], dans la littérature, la tuberculose animale a été rapportée chez plus de 70 espèces domestiques et sauvages d'animaux vertébrés qui peuvent être infectées par des bacilles tuberculeux, elle est décrite chez quasiment tous les ruminants et est fréquente chez les bovidés et les cervidés [16], y compris les chameaux [17], [18]. La tuberculose chez les dromadaires a été documentée depuis le 19ème siècle [19] ; [20]; [21].

Ces dernières années, le nombre des cas de tuberculose cameline a augmenté dans certains pays [10] et cela est dû au manque des moyens de contrôle chez le dromadaire par rapport à d'autres espèces tel que : la tuberculination, l'abattage systématique des animaux infectés et aussi la pasteurisation du lait [22]. Toutefois, la tuberculose est rare chez le dromadaire gardé dans des conditions nomades, mais est fréquemment signalée lorsque cet animal est élevé en agriculture intensive ou en contact étroit avec les bovins [23].

Par ailleurs, Abubakar et coll. suggèrent que la maladie émerge avec un taux de morbidité élevé en ferme ainsi que les nomades à travers le monde [24].

Les auteurs ont suggéré que des dromadaires élevés dans le désert auraient pu contracter l'infection par contact avec des excréments de gazelles du désert, et cela suite à la découverte de Tuberculose chez les gazelles de la péninsule arabique a été signalé [25].

La tuberculose cameline a été rapportée dans plusieurs pays tel que : L'Egypte [26], [27], l'Australie [28], et le Pakistan [29]. Par conséquent, l'investigation de cette pathologie et l'identification de son agent causal sont importants pour encourager les efforts, le contrôle de la maladie et aussi de réduire son risque zoonotique de propagation à l'homme et aux autres animaux domestiques [30].

## 1.2. Définition

La tuberculose cameline (TB) est une maladie réémergente provoquée par le complexe *Mycobacterium tuberculosis* [31], commune à l'homme et à de nombreuses espèces animales [15], C'est une zoonose granulomateuse chronique [17], [18]. L'atteinte pulmonaire est la plus fréquente des localisations et représente la source habituelle de la transmission pulmonaire avec plus de 70 % des cas observés [32].

## 1.3. Historique

La présence exclusive de certaines lignées du complexe *Mycobactérium tuberculosis* (MTBC) sur le continent africain suggère que ce dernier aurait émergé en Afrique de l'Est, puis aurait co-évolué avec l'homme et serait répandu dans le monde entier par le biais des migrations humaines en Europe, en Asie et en Afrique continentale [33] et [34]. Et cela est dû à l'isolement et la caractérisation d'un ancien ADN de *M. tuberculosis* datant de 17 000 ans avant J. C. chez une espèce de bison disparue, révélant la présence de la TB en Amérique vers la fin du pléistocène [35].

De même des lésions osseuses de tuberculose «mal de pott » ont été retrouvées sur des squelettes humains datant de l'âge de la pierre et sur des momies égyptiennes dont l'origine est *M. bovis* [36]. Ces momies égyptienne et les momies péruviennes de l'époque précolombienne présentent des lésions vertébrales; cette spondylodiscite est considérée comme pathognomonique de la maladie pour les paléopathologistes [37].

Plusieurs auteurs ont décrit la tuberculose cameline comme une maladie très ancienne à travers le monde, quelques données historiques ont été rapportées sur cette pathologie.

- En 1917 : des épisodes de tuberculose cameline ont été signalés dans un abattoir du Caire (Egypte) et la prévalence de l'infection tuberculeuse a atteint 2,9% des carcasses camelines [7].
- En 1983 : un cas de tuberculose pulmonaire a été rencontré chez un dromadaire à l'abattoir de Nwakchott en Mauritanie [38].

- Entre 1985 et 1986 : un autre cas de tuberculose pulmonaire était décrit chez le dromadaire à Nouakchott (Mauritanie) dont l'agent responsable est le *Mycobacterium bovis* [9].
- En 2009 : un taux d'infection de 5,07% a été constaté au niveau de l'abattoir de Dire Dawa en Ethiopie par MAMO et ces collaborateurs en 2008, dans une étude transversale pour décrire la prévalence et isoler le *Mycobacterium bovis* [8].
- En 2011 : une deuxième étude réalisée toujours par MAMO et al, 2011 avec un taux de prévalence 10.04% enregistré à l'abattoir d'Adissa Baba en Ethiopie [39].
- En 2019 : un taux de prévalence de tuberculose cameline 1,7% a été constaté dans une étude réalisé en Egypte [27].

#### 1.4. Importance de la tuberculose cameline

Des rapports pathologiques sur les Camélidés ont également émergé ces dernières années [40], [41], [42], et le nombre des cas de tuberculose chez le dromadaire a augmenté [10], car la tuberculose reste toujours une menace persistante et majeure en matière de santé publique, c'est la deuxième cause de décès par maladie infectieuse [43]. Pour cela elle est considérée comme une zoonose majeure [43].

La tuberculose a une importance socio-économique dans le monde, en particulier dans les pays en développement [44], et longtemps qualifiée de "fléau d'élevage", la tuberculose animale revêt une triple importance :

##### 1.4.1. Hygiénique

Le potentiel zoonotique de la tuberculose chez les camélidés est également devenu de plus en plus évident, posant principalement un risque pour les vétérinaires [40], et les propriétaires [45], mais aussi un risque pour la santé publique, professionnel, travailleurs ruraux [46]. Cette maladie à également une importance zoonotique importante qui peut se propager à l'homme, généralement par l'inhalation d'aérosols ou l'ingestion de lait non pasteurisé [18]. Les études ont

montrés que les forêts tropicales et les pays en développement sont les plus touchés par la tuberculose dans le monde [4].

#### 1.4.2. Economique

Dans les pays en voie de développement, l'élevage représente l'un des principaux piliers de l'économie nationale. Son importance tient à ses aspects économiques (commerce, épargne, outils de travail...), sociaux (hiérarchie, culture...) et alimentaires (consommation de lait, viande,...). Dans ces pays la tuberculose figure parmi les maladies entraînant des pertes considérables estimées à plusieurs millions de dollars annuellement [47] et les animaux domestiques forment un grand réservoir de bacilles avec l'augmentation de la consommation humaine de lait non pasteurisé dans les pays en voie de développement [5], pour cela la tuberculose est considérée comme l'origine de grande pertes économiques, en viandes (saisies aux abattoirs), en lait et gêne le commerce et l'exportation [15].

#### 1.4.3. Réglementaire

La tuberculose animale est une maladie réglementée de première catégorie chez toutes les espèces de mammifères, lorsqu'elle est due à *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium tuberculosis* ou *Mycobacterium caprae* [15], [5]. En Afrique, on estime à environ 70000 le nombre de cas de tuberculose zoonotique survenus annuellement [48]. Cependant, dans les pays développés, *M. bovis* représente généralement une part insignifiante de l'ensemble des cas de tuberculose chez l'homme [49] et chez le dromadaire [8]. La tuberculose est une maladie légalement réputées contagieuses (MLRC), et les mesures de prophylaxie (dépistage, abattage) sont réglementées [6].

## **CHAPITRE 2**

### **MYCOBACTERIES**

#### 2.1. Classification des Mycobactéries

Les mycobactéries appartiennent au genre *Mycobacterium*, qui comporte actuellement 158 espèces [47], ces bactéries appartenant à :

- la classe des *Actinobacteria* ;
- la sous classe des *Actinobacteridae* ;
- l'ordre des *Actinomycétales* ;
- la famille des *Mycobacteriaceae* ;
- au genre *Mycobacterium*.

Ce dernier est le seul genre de la famille des *Mycobactériaceae* dans l'ordre des *Actinomycétales* auquel appartiennent de nombreux genres [50], [51]. Les bactéries appartenant à ce genre se distinguent par la présence d'acides mycoliques dans leur paroi et par le taux élevé en guanine-cytosine de leur ADN (65.63% chez *M. bovis*) [52], [53] de même que des propriétés tinctoriales particulières liées à la résistance de leur paroi à la décoloration par un mélange alcool-acide (BAAR).

Selon la diversité phénotypique, physiologique, écologique et pathogénique des espèces placées au fur et à mesure de leur découverte dans ce genre a mené à l'élaboration de plusieurs classifications de ces mycobactéries [54].

Le genre *Mycobacterium* regroupe un grand nombre d'espèces, non seulement le complexe *Mycobacterium tuberculosis* (CMT) et *Mycobacterium leprae*, qui sont strictement pathogènes, mais aussi des mycobactéries dites non tuberculeuses (MNT) ou atypiques (C.F figure 2.1) [55]. Ces espèces provoquent la tuberculose chez l'homme et chez d'autres espèces animales [1]. La figure ci-dessous représente une classification des Mycobactéries.

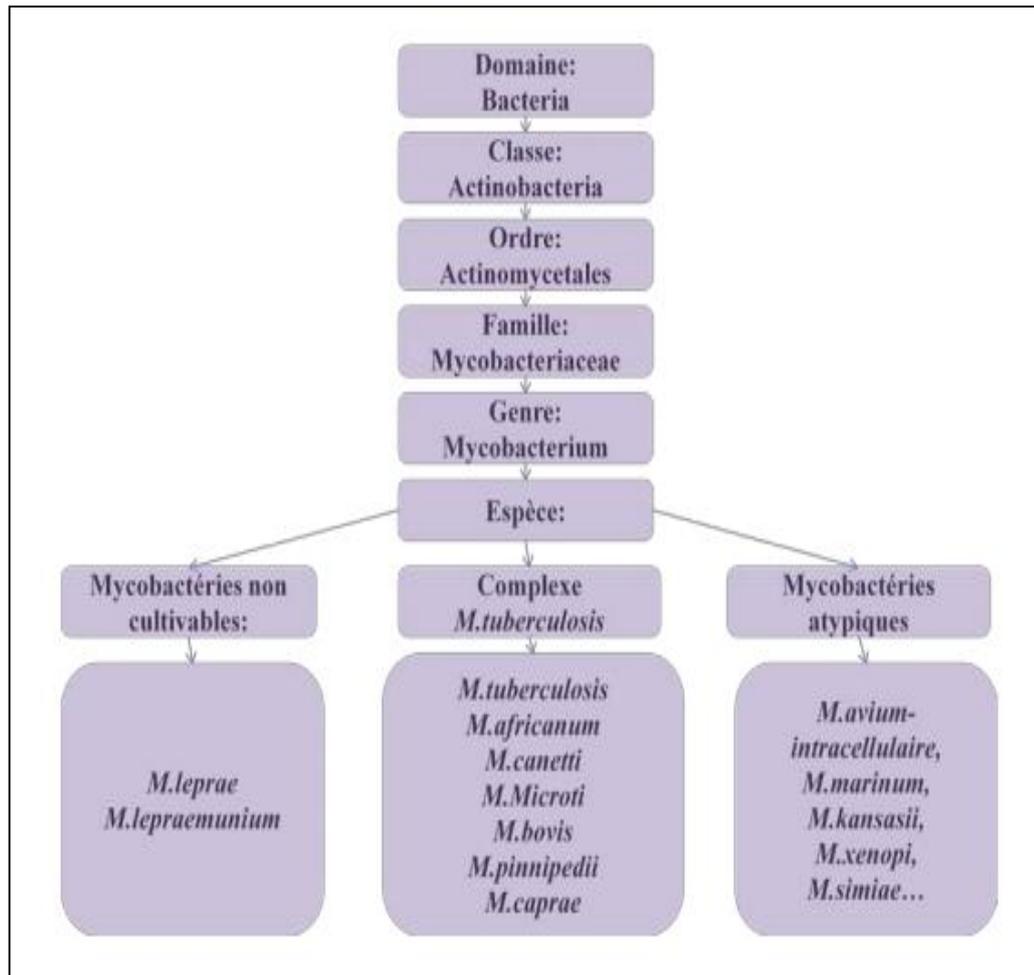


Figure 2.1 : représentation schématique des Mycobactéries [56].

Selon leur pathogénicité, la famille des mycobactéries se distinguent par deux groupes : les mycobactéries pathogènes tuberculeuse et mycobactéries atypiques ou non tuberculeuses (MNT) [16].

#### 2.1.1. Mycobactéries pathogènes tuberculeuses

Deux complexes se trouvent dans ce groupe :

##### ✓ Complexe *Mycobacterium tuberculosis* (CMT)

La tuberculose est provoquée par des bacilles rassemblés en un groupe nommé CMT, qui inclut les mycobactéries partageant plus de 99,9% d'identité au niveau de leur ADN génomique [57]. Ce complexe comprend à ce jour 11

espèces : *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canettii*, *M. caprae*, *M. pinnipedii*, *M. suricattae*, *M. mungi*, *M. orygis* et le *Mycobacterium* *leprae* [58].

✓ Mycobactéries responsables de la lèpre

*Mycobacterium leprae* et *Mycobacterium leprae murium*, les agents de la lèpre, caractérisés par leur incapacité à être cultivés in vitro [59]. Chez l'homme la lèpre ou « maladie de Hansen », est une maladie infectieuse chronique causée par *M. leprae* [60], Par ailleurs, *M. lepraemurium* est l'agent responsable de la lèpre murine, une maladie granulomateuse chronique semblable à la lèpre humaine [61].

2.1.2. Mycobactéries atypiques ou non tuberculeuses (MNT)

Il existe actuellement environ 150 espèces de mycobactéries non tuberculeuses [62]. Parmi celles-ci, différents complexes sont observés dont le plus important est le complexe *Mycobacterium avium* (MAC) [63]. Ces derniers sont des bactéries présentes dans l'environnement et habituellement non pathogènes. Elles sont responsables d'infections opportunistes, simulant ou non à la tuberculose, appelées mycobactérioses [64].

Les MNT sont classées en deux catégories :

- Mycobactéries Opportunistes

Ces mycobactéries peuvent provoquer des maladies peu ou pas contagieuses, donnant lieu à des formes habituellement bénignes, cliniquement identiques à la tuberculose chez l'Homme et les bovins (mais il existe des exceptions) [15].

Parmi ces mycobactéries:

- Complexe *Mycobacterium avium* : comprend deux espèces génétiquement distinctes *M. avium* et *M. intracellulaire*.
- *M. gordonae* : responsable de thélite nodulaire tuberculoïde de la vache laitière [15].
- *M. marinum* : est un pathogène des poissons et autres animaux aquatiques [65].

- Mycobactéries Saprophytes

Elles sont très nombreuses dans la nature: eau, sol, herbe, tube digestif, peau, muqueuses et lait [15], [66]. Ce sont des mycobactéries non pathogènes et dans la majorité des cas présentant une croissance rapide [67]. Cette catégorie est composée de nombreuses espèces mycobactériennes, telles que *M. phlei*, *M. vaccae*, *M. smegmatis*, *M. terrae*, *M. triviale*, *M. flavescens*, *M. goodnae* [68]. La figure ci-dessous montre une relation évolutive entre les membres du *MTBC* et les autres espèces de mycobactéries.

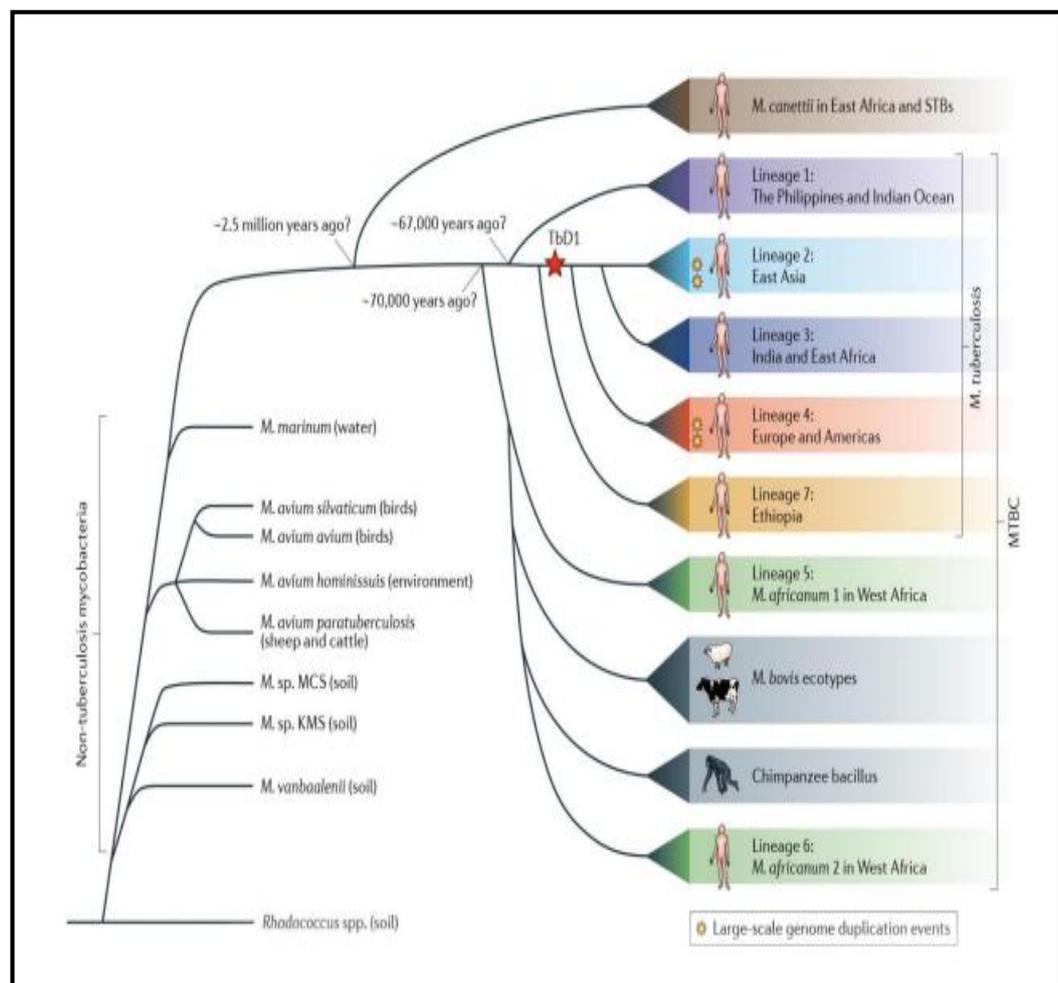


Figure 2.2: Relation évolutive entre les membres du MTBC et les autres espèces de mycobactéries [69].

Selon leur vitesse de croissance, le genre *Mycobacterium* est divisé en deux groupes [70] :

- ✓ Mycobactéries à croissance rapide ;
- ✓ Mycobactéries à croissance lente.

Le tableau ci-dessous montre une comparaison entre les trois groupes de mycobactéries.

Tableau 2.1 : Comparaison entre les trois groupes de mycobactéries [66].

<i>Mycobactérie</i>	<i>Pathogènes</i>	<i>Opportunistes</i>	<i>Saprophytes</i>
<b>Pouvoir pathogène</b>	<b>Marqué</b>	<b>formes habituellement bénignes</b>	<b>faibles</b>
<b>Contagiosité</b>	<b>Forte</b>	<b>Faible</b>	<b>Quasi-nulle</b>
<b>Lésions tuberculeuses caractéristiques</b>	<b>Oui</b>	<b>Oui</b>	<b>Oui</b>
<b>Pouvoir allergène</b>	<b>Oui</b>	<b>Oui</b>	<b>Oui</b>
<b>Culture sur milieux spécifiques</b>	<b>Oui</b>	<b>Oui</b>	<b>Oui</b>

D'après la littérature le dromadaire peut être affecté par plusieurs espèces de mycobactéries, ces dernières sont citées dans le tableau ci-dessous.

Tableau.2.2 : Différentes espèces de mycobactéries rencontrées chez le dromadaire (modifiée) [71].

Souches des mycobactéries	Travaille par	Hot naturel	Endémique en UK	Potentiel Zoonotique	Camélidés infectés
<i>M.tuberculosis</i>  <i>Fowler and Barvo,2010</i> <i>Posthaus et al,2011</i>	TB complexe	Homme	Oui, mais la plus part des cas sont des porteurs rentrant au Royaume-uni sont endémique	Oui	Possible mais très rare
<i>M.bovis</i>	TB complexe	Bovin, amplification chez le blaireau, les cerfs, les chèvres, et les camélidés	Oui, les causes de la TBB les plus courantes chez les mammifères domestiques et sauvages	Oui	Oui
<i>M.microti</i>	TB complexe	Rongeurs	Oui	Oui	Oui
<i>M.ulcerns</i>	TB complexe	Omnipresent	Pas encore signalé	Oui	Oui
<i>M.capreae</i>	TB complexe	Chèvres	Pas encore signalé	Oui	Oui
<i>M.Kansassi</i>	Complexe non tuberculosis	Omniprésent	Oui	Oui	Possible, mais très rare
<i>M.avium</i> <i>subspecis avium</i> <i>Lucas et al,2003</i>	Complexe intra cellulaire non pulmonaire	Les oiseaux	Oui	Oui	Possible mais très rare
<i>Mycobacterium</i> <i>subspecis paratuberculosis</i>	Complexe intra cellulaire non pulmonaire	Ruminants	Oui	Contesté possible avec la maladie de Crhon	Oui, cause la maladie de Jhone

## 2.2. Caractères bactériologiques

### 2.2.1. Caractères Morphologiques

Les mycobactéries sont des bacilles non sporulés, non flagellés, considérées comme aérobies stricts [72]. Elles se présentent sous forme de bâtonnets droits ou légèrement incurvés ( $0,2- 0,6 \times 1,0-10 \mu\text{m}$ ), non mobiles, les colonies observées sont de couleur blanche à crème, voire jaune à orangée pour les mycobactéries productrices de pigments [73]. La figure ci-dessous présente l'aspect des mycobactéries chez le dromadaire par coloration de *Ziehl-Neelsen*.

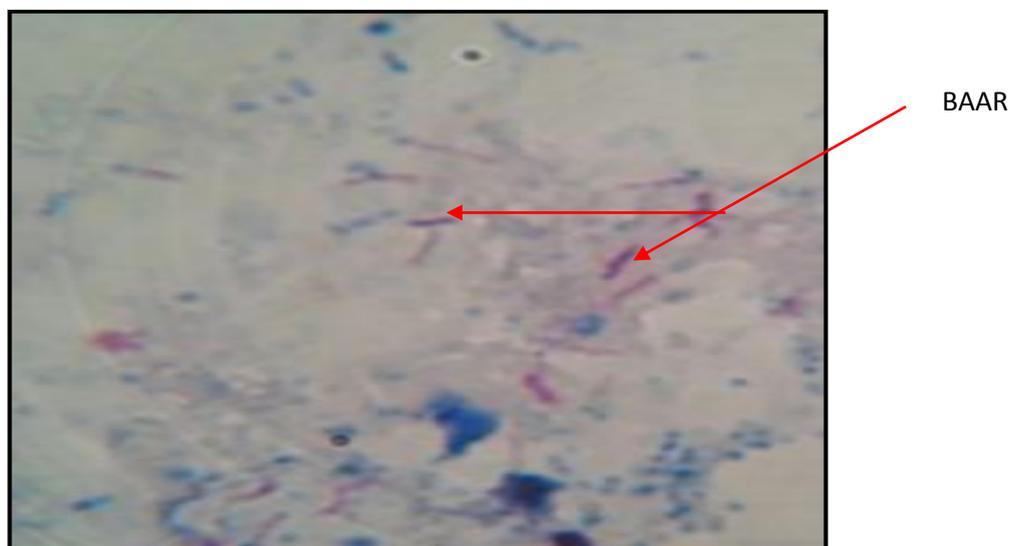


Figure 2.3 : Observation des BAAR chez un dromadaire [74].

Les mycobactéries ont une structure physique commune à celle des autres cellules à paroi bi-membranes : présence de deux membranes superposées, la membrane interne ou membrane cytoplasmique et la membrane externe ou enveloppe cellulaire encore appelée paroi cellulaire (Figure 2.4) [75]. La paroi cellulaire mycobactérienne est une structure complexe nécessaire à la croissance cellulaire, à la résistance aux antibiotiques et à la virulence des bacilles [76].

Elle présente une constitution biochimique exceptionnelle en phospholipides et en lipopolysaccharides [75].

Cette enveloppe se compose de trois macromolécules distinctes dont l'agencement de l'espace péri plasmique vers le milieu extérieur laisse apparaître successivement les macromolécules ou couche de peptidoglycane (PG), d'arabinogalactan (AG) et celle formée par les acides mycoliques, agencées de la sorte, les couches forment une structure vitale pour la cellule dénommée le "complexe mycolylarabinogalactan-peptidoglycan" [77].

La paroi constitue également la première ligne de défense de la mycobactérie contre l'action des antibiotiques par son imperméabilité [77], [78]. Offrant une protection contre les molécules hydrophiles, mais sont également essentielles à la pathogenèse et à la survie des mycobactéries [79]. La capsule forme la couche la plus externe et est principalement composée de protéines et de polysaccharides. [79]. La figure ci-dessous montre la structure et la composition de l'enveloppe des mycobactéries.

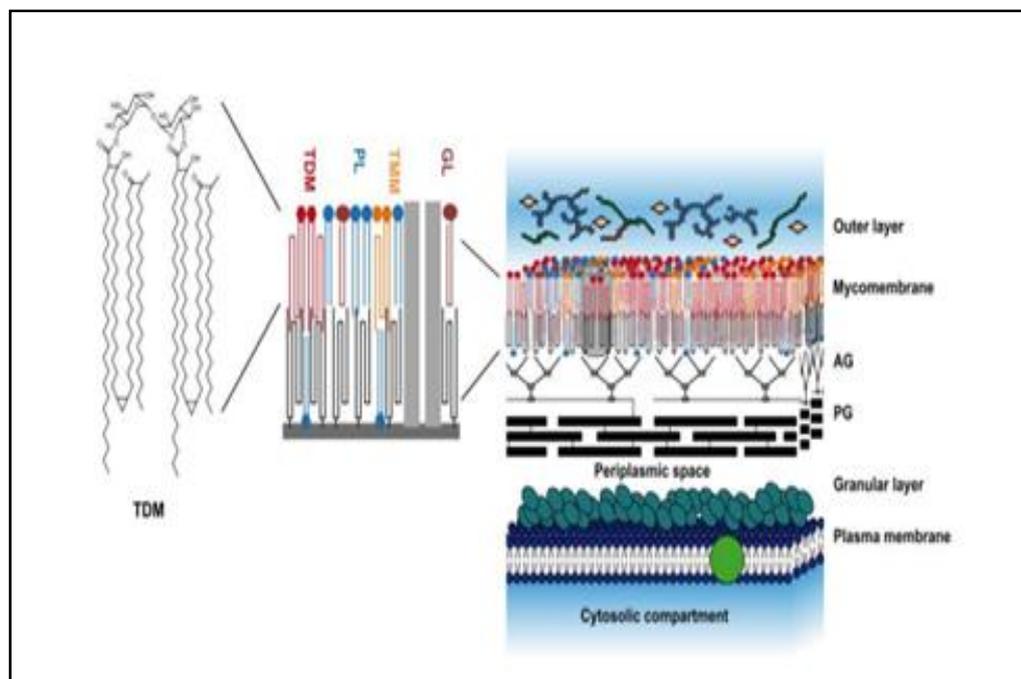


Figure 2.4: Structure et composition de l'enveloppe des mycobactéries [80].

AG :arabinogalactane, PG :peptidoglycane, TDM :tréhalose dimycolate, PL :phospholipides, TMM :tréhalose monomycolate, GL :glycolipides.

### 2.2.2. Caractères cultureux

Les mycobactéries se différencient entre elles par leurs caractères cultureux, selon le groupe de ces bacilles la croissance est rapide ou lente, les colonies pigmentées ou non [6]. Ces bactéries nécessitent l'emploi de milieux bactériologiques spéciaux pour leur croissance et les cultures se développent lentement, 10 jours à 2 mois selon les bacilles tuberculeux [14], [81], donc selon la vitesse de croissance des mycobactéries qu'est très variable, on distingue :

- ❖ Les mycobactéries à croissance rapide dont les colonies sont visibles en moins de 7 jours.
- ❖ Des mycobactéries à croissance lente (>7 jours) : Les bactéries du MTBC sont toutes des mycobactéries à croissance lente avec des temps de génération élevés, de 14 à 15 heures pour *M. tuberculosis* et environ 20 heures pour *M. bovis*.
- ❖ La température optimale de croissance des bactéries du MTBC est de 37°C [82]. alors que les MNT peuvent se multiplier dans un large éventail de températures allant de 4°C pour *M. psychrotolerans* [82] à plus de 45°C, voire à 52°C pour *M. thermotolerans* et *M. phlei* [83], un pH de 6.8 à 7, une pression de CO<sub>2</sub> de 5 à 10% [81].

La plupart des mycobactéries ont des besoins nutritionnels simples et sont capables d'utiliser une gamme de sucres et d'acides organiques comme sources de carbone (ex. le glycérol pour *M. tuberculosis* et le pyruvate sodique pour *M. bovis*) et divers amides et acides aminés comme sources d'azote (ex. l'asparagine, la glutamate, l'alanine et l'aspartate) [84].

#### 2.2.2.1. Caractère cultureux du *M.bovis*

Le *Mycobacterium bovis* est l'agent de la tuberculose bovine, les bovins constituent le réservoir naturel du bacille, mais un grand nombre d'espèces animales domestiques et sauvages peuvent être infectées, ainsi que l'homme [85]. Toutefois le *M.bovis* a été signalé aussi chez le dromadaire par plusieurs auteurs [8], [9], [19]. Sur le plan microbiologique, le *M. bovis* se caractérise par :

- Une croissance très lente sur milieu de *Löwenstein-Jensen* (6 à 10 semaines) ;

- Des colonies de petite taille (1 à 2 mm), plates, lisses « dysgoniques » et achromogènes ; (figure 2.5)
- Sa croissance est améliorée par l'ajout de pyruvate et inhibée par l'ajout de glycérol.

L'aspect des colonies de *M. bovis* est représenté par la figure ci-dessous.



Figure 2.5 : Colonies de *M. bovis* [86].

#### Milieux solide

Parmi les milieux solides de croissance des mycobactéries nous citons :

##### ✓ Löwenstein-Jensen

Le milieu L-J pendant de nombreuses années était le milieu à base d'œuf le plus courant utilisé pour la culture primaire, Il contient des sels minéraux, du glycérol, le vert de malachite et de l'œuf, [85], [87], [88]. Ce dernier permet la neutralisation des agents de décontamination encore présent dans le culot de décontamination [89]. Le milieu de Löwenstein-Jensen enrichi de 02 à 04% de pyruvate de sodium favorise la croissance de *M.bovis* [17].

✓ Coletsos

Ce milieu permet une culture rapide et abondante avec des colonies plus volumineuses que sur *Löwenstein-Jensen*. C'est un milieu beaucoup plus riche que ce dernier. Il permet l'isolement des mycobactéries particulièrement exigeantes (*M. bovis* et *M. africanum*) [88], [90].

✓ Milieus solides gélosés (Middlebrook 7H10 7H11)

Ce sont des milieux transparents qui doivent être incubés sous 5 à 10% de CO<sub>2</sub> dans des sacs plastiques pour conserver l'humidité [88]. Ils permettent de détecter les colonies en 21 jours en moyenne [91]. Ces milieux sont à base de gélose bien définis contenant de l'agar, des composés organiques, des sels, du glycérol et de l'albumine. 7H11 contient également 0,1% d'hydrolysate de caséine, qui est incorporé pour améliorer le taux de récupération et améliorer la croissance de mycobactéries qui présentent une résistance à l'isoniazide [92]. En raison de la croissance lente des mycobactéries, le résultat des cultures n'est obtenu qu'après plusieurs semaines, cela dépend de la charge bactérienne et du milieu utilisé, respectivement compris entre 2 et 6 semaines pour le milieu solide, et 1 et 4 semaines pour le milieu liquide [93], [94].

✚ Milieus liquides

Les milieux liquides sont fabriqués pour la plupart avec la même base (7H9) et doivent être supplémentés avec des facteurs de croissance rendus sélectifs à l'aide d'un mélange d'antibiotiques (afin d'augmenter la spécificité de la culture). Plusieurs techniques de culture en milieu liquide ont été développées tel que :

✓ Le tube MGIT (*Mycobacteria Growth Indicator Tube*)

Le MGIT est basé sur la présence dans le tube d'un sel de ruthénium qui émet une fluorescence (C.F.figure 2.6) visible en lumière violette lorsque la pression partielle en oxygène diminue dans le tube, signant la croissance des micro-organismes [95].

L'automate de culture MGIT (Bactec MGIT 960) effectue une mesure automatisée de la croissance bactérienne, éliminant toute subjectivité de lecture.

Le système Bactec 960 a remplacé le système Bactec 460 avec les mêmes performances tout en évitant l'utilisation de produits radioactifs [96], [97].

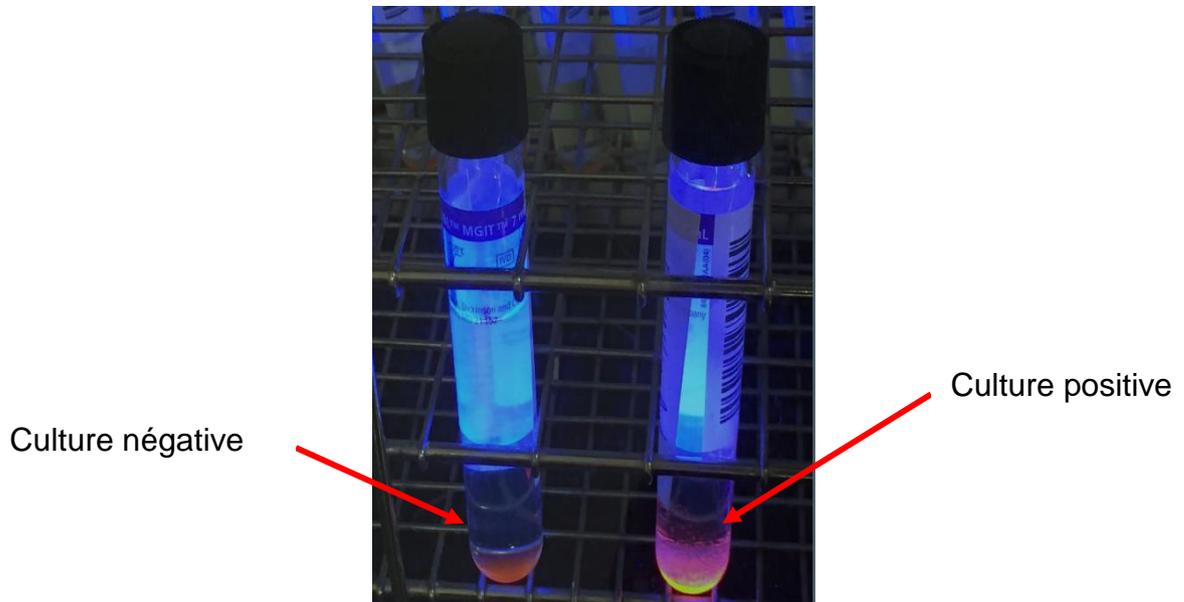


Figure 2.6 : Milieu MGIT 960 [98].

✓ Méthode BacT/Alert

Il s'agit d'une technique automatisée dont le principe repose sur l'acidification du milieu provoquée par le métabolisme bactérien, qui entraîne un virage de l'indicateur coloré contenu dans une pastille au fond du flacon [94].

✓ Méthode Versa TREK (TREK diagnostic system)

Cette méthode automatisée détecte la croissance bactérienne grâce à des capteurs de pression [99].

Ces systèmes en milieu liquide ont une sensibilité d'environ 10 % supérieure aux milieux solides. Cependant, la meilleure performance de la culture réside dans la combinaison des milieux solides et liquides, car certaines souches ne poussent qu'en milieu liquide et d'autres en milieu solide [98], [100], [101].

### 2.2.3. Caractères Génétiques

Les espèces du CMT forment un groupe très compact, Cette homogénéité a été établie avec les premières études de génomique en procédant à des hybridations entre les génomes des cellules de ce groupe [102]. La taille de génome des mycobactéries allant jusqu'à 7 méga paires de bases (Mbp) selon les espèces, sont caractérisés par un fort pourcentage en GC (GC%) [60], ainsi que de nombreux génomes complets de mycobactéries sont actuellement disponibles. Les mycobactéries tuberculeuses telles que *M. tuberculosis*, *M. africanum* et *M. bovis* ont un génome de taille intermédiaire (de 4,3Mpb à 4,5 Mpb) codant pour 3 850 à 4 500 gènes [53] ; [103]. Les deux génomes de *M. bovis* et celui de *M. tuberculosis* se caractérisent par une proportion élevée de guanine+cytosine (G+C), 65,6% [104]. Les résultats obtenus révélaient une complémentarité maximale >95% entre le génome de *M. tuberculosis* et celui de *M.bovis* [103]. De même que le génome de ces deux dernières (*M. tuberculosis* et *M.bovis*) se caractérise par une proportion élevée de guanine+cytosine (G+C), 65,6% [104].

L'identification de l'ADN de *M. bovis* par PCR dans les tissus collectés *post-mortem* permet d'obtenir rapidement des résultats (48 heures) par rapport à la culture bactérienne (plusieurs mois) [86].

- Importance des capacités codantes

Mise à part *M.leprae* qui possède un génome de plus petite taille que les autres Mycobactéries, Il est remarquable que les génomes des espèces du MTC et des MNT aient une capacité codante importante allant, par exemple, de 92,4 % pour *M. smegmatis* à 73,4 % pour *M. ulcerans* (Tableau 2.3) [63].

Tableau.2.3: Densité et capacité codante de génomes Mycobactériens [63].

Espèce du genre <i>Mycobacterium</i>	Référence	Taille du génom (pb)	Nombre de phase ouverte de lecture	Densité codante (pb par gène)	Taille moyenne des gènes (pb)	Capacité codante (%)
<i>M. abscessus</i>	(Ripoll <i>et al.</i> 2009)	5067172	4920	1030	958	93,0
<i>M. avium ssp. paratuberculosis</i>	(Li <i>et al.</i> 2005)	4829781	4350	1112	1012	91,3
<i>M. bovis</i>	(Garnier <i>et al.</i> 2003)	4345492	3953	1099	995	90,6
<i>M. gilvum</i>	(Ripoll <i>et al.</i> 2009)	5619607	5241	1072	986	92,0
<i>M. leprae</i>	(Stinear <i>et al.</i> 2010)	3268203	1605	2036	1010	49,6
<i>M. marinum</i>	(Stinear <i>et al.</i> 2010)	6636827	5424	1233	1101	89,3
<i>M. smegmatis</i>	(Li <i>et al.</i> 2005)	6988209	6897	1013	936	92,4
<i>M. tuberculosis</i>	(Cole <i>et al.</i> 1998)	4411532	3959	1114	1012	90,8
<i>M. ulcerans</i>	(Stinear <i>et al.</i> 2010)	5631606	4160	1353	979	73,4
<i>M. vanbaalenii</i>	(Ripoll <i>et al.</i> 2009)	6491865	5979	1086	988	91,0

#### 2.2.4. Caractères biochimiques

L'étude des caractéristiques biochimiques repose essentiellement sur la recherche de la production d'acide nicotinique, de nitrate réductase et de catalase (Cf. Tableau 2.4). Toutes les mycobactéries du complexe *Mycobacterium tuberculosis* produisent une catalase thermolabile (inactivé à 68°C) [88], par contre, toutes les mycobactéries atypiques possèdent une activité catalase thermorésistante sauf certaines espèces comme *M.malmoense*, *M.gastri*, *M.marinum*, *M.chelonae* et *M.abcessus* qui ont une activité catalasique thermosensible [89]. Seuls *M.bovis* et le *M.bovis BCG* sont sensibles [88].

Les caractères biochimiques sont étudiés selon des techniques de microbiologie classique avec la mise en culture, les tests biochimiques et les colorations. Dans le cas de *M.bovis* l'identification biochimique repose notamment

sur l'absence de production de niacine, l'absence de nitrate réductase, une résistance au pyrazinamide, à la D-cyclosérine (30 mg.mL<sup>-1</sup>) et une croissance favorisée par la présence de pyruvate [105].

Tableau 2.4: Caractères cultureux et biochimiques des mycobactéries du MTC  
[89]

<b>Culture sur L-J</b>	<b><i>M.tuberculosis</i></b>	<b><i>M.africanum</i></b>	<b><i>M.bovis</i></b>	<b><i>BCG</i></b>
<b>Aspect des colonies</b>	<b>Chou-fleur Gross colon Rugueuses</b>	<b>Plate Petites colon Rugueuses</b>	<b>Bombées Petites colon lisses</b>	<b>Chou-fleur Gross colon Rugueuses</b>
<b>Délai de culture</b>	<b>15 à 30J</b>	<b>30 à 60J</b>	<b>30 à 60J</b>	<b>15 à 30J</b>
<b>Type respirat</b>	<b>aérobie</b>	<b>microaérophile</b>	<b>microaérophil</b>	<b>aérobie</b>
<b><i>Cata thermo</i></b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>
<b><i>Niacine</i></b>	<b>+</b>	<b>+/-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b><i>Nitrate</i></b>	<b>+</b>	<b>+/-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b><i>TCH 2ug/ml</i></b>	<b>R</b>	<b>R/S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>
<b><i>D-Cyclos 30ug/ml</i></b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>R</b>

Colon : colonie ; cata : catalase ; *Cyclosérine* : *Cyclos* ; *thermolabile*: *thermo* ; *respiratoire* : *respirat*

### 2.3. Résistance aux agents physico-chimiques

Les mycobactéries peuvent survivre dans l'environnement dans des conditions que la plupart des autres bactéries sont incapables [106], elles sont sensibles [15], [57] :

- à la chaleur (20 minutes à 60°C, 20 secondes à 75°C), d'où l'importance de la pasteurisation et de la stérilisation du lait ;
- Aux rayons ultra-violet ;
- à la lumière ;
- à l'iode ;
- à l'alcool (une suspension de bacille tuberculeux est inactivée en 5 minutes au contact de l'alcool à 90°C);
- aux dérivés phénoliques;
- aux hypochlorites;
- au formol.

Par contre les mycobactéries résistent bien :

- au froid ;
- à la dessiccation, mais peuvent survivre entre cinq jours et quatre semaines dans l'environnement [107], dans les produits d'origine animale (lait).

Concernant les agents chimiques, ce type de bactérie est beaucoup plus résistant que les bactéries usuelles aux antiseptiques et désinfectants chimiques de même que aux antibiotiques usuels (pénicilline, tétracyclines, chloramphénicol) [15], [57].

Dans le cas de *M. bovis*, la durée de la survie varie entre 18 à 332 jours à une température de 12 à 24°C (selon l'exposition au soleil) [108]. Il peut également survivre entre 2 et 6 semaines dans des lésions tuberculeuses macroscopiques de poumons et nœuds lymphatiques des bovins [109]. Mais sa survie peut être prolongée jusqu'à 58 jours dans l'eau contaminée, et jusqu'à 2 ans dans les excréments couverts.

Par contre, *M. tuberculosis* est relativement résistante à la chaleur dont la durée de vie est 2 heures dans l'environnement exposé au soleil [110] de même que les mycobactéries peuvent conserver leur virulence a savoir *M. tuberculosis*, *M. bovis* et *M. canetti* après un séjour de 12 mois dans le sol [111].

## **CHAPITRE 3**

### **PATHOGENIE, SYMPTOMES ET LESIONS**

La tuberculose (TB) est une zoonose granulomateuse chronique à déclaration obligatoire causée par le complexe *Mycobacterium tuberculosis* et affecte de nombreuses espèces animales y compris les dromadaires [17], [18].

#### 3.1. Pathogénie

Ce qui suggère que la voie respiratoire pourrait être la principale voie d'infection chez les dromadaires [112]. Et L'agent responsable de la maladie chez cet animal est dans la majorité des cas *Mycobactéries bovis* [9].

Les animaux risquent de s'infecter mutuellement lorsqu'ils partagent la même aire d'abreuvement et d'alimentation, mais surtout de transmettre cette zoonose à des personnes à risque tels que les enfants et le personnel vétérinaire [113].

Après pénétration du *M. bovis* dans l'organisme, le plus souvent par voie respiratoire, une réponse immunitaire à médiation cellulaire (RIMC) se met en place (C.f figure 3.1) [114].

Pour cela on distingue schématiquement deux phases dans le déroulement de l'infection tuberculeuse : la primo-infection ou étape primaire et l'étape secondaire.

##### 3.1.1. Première phase (primo-infection localisée)

La primo-infection peut être rester latente ou se développer à une tuberculose secondaire, suivant l'interaction entre le bacille et l'hôte [115]. Au cours de l'infection tuberculeuse, de nombreuses cellules jouent un grand rôle dans la réponse immunitaire [116].

Au cours de cette phase qui dure quelques semaines, le bacille est phagocyté par les macrophages dans lesquels il est détruit ou résiste à la lyse macrophagique. Les macrophages ne sont pas les seuls à intervenir dans cette RIMC : les lymphocytes occupent un rôle d'importance [45], [117], [118].

Dans les premiers jours suivant l'infection, ces dernières migrent à leur tour vers le foyer infectieux pour orchestrer la réponse immunitaire [118].

L'ensemble de ces cellules participe à la formation complète du granulome ou « tubercule », qui est un nodule inflammatoire granulomateux jaunâtre circonscrit d'environ 2 à 20 mm de diamètre qui est plus ou moins encapsulé par le tissu conjonctif et contient souvent une nécrose caséuse centrale et une minéralisation [119]. Cette lésion se double, à la faveur du drainage lymphatique des bacilles, d'une lésion tuberculeuse du nœud lymphatique locorégional [15].

Ce phénomène est connu sous le nom de « loi de l'adénopathie satellite de Parrot », cette association entre le chancre d'inoculation et l'adénopathie satellite constitue le complexe primaire. Sa localisation indique le site d'entrée de l'agent pathogène: pulmonaire à 95 % [15].

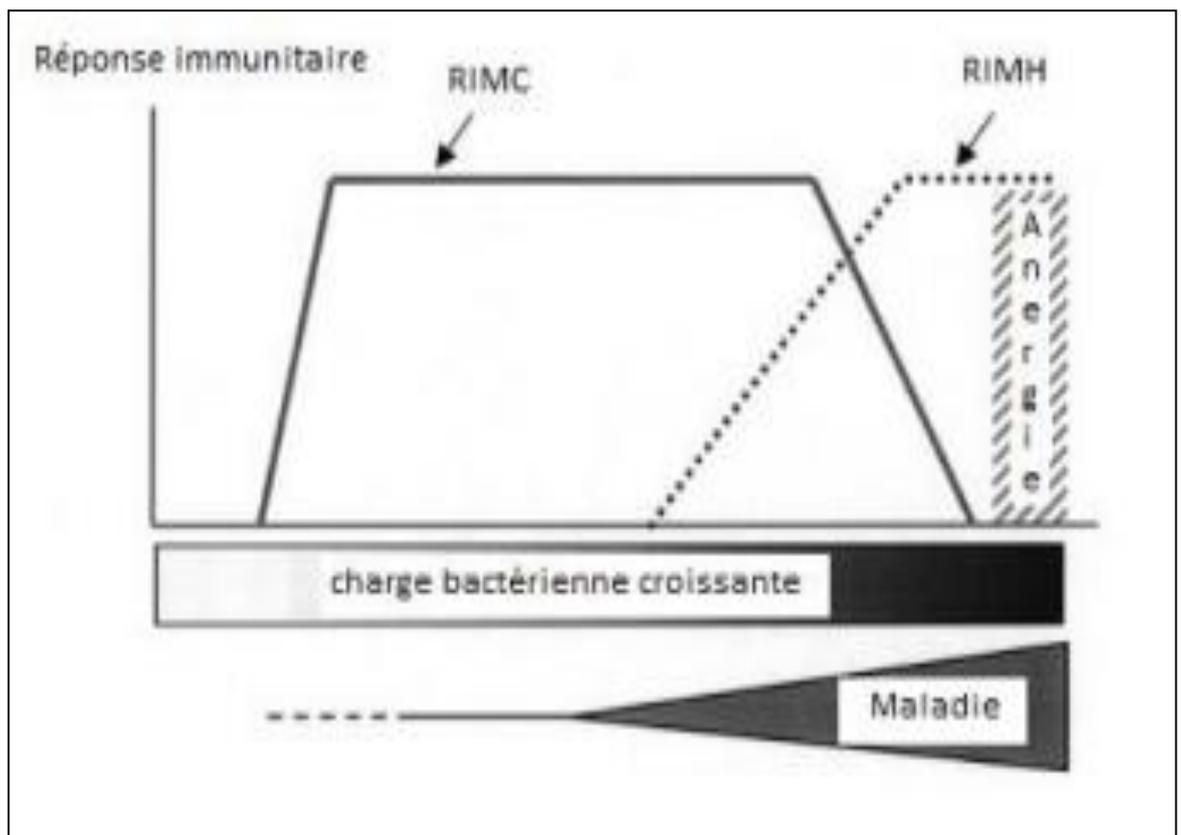


Figure 3.1: Représentation schématique de la réponse immunitaire [120].

### 3.1.2. Deuxième phase (tuberculose secondaire)

C'est la période de surinfection qui fait suite à la primo-infection, pour cela les évolutions possibles de complexe primaire sont : une guérison, une stabilisation ou une généralisation précoce (CF. Figure 3.2) [15], [36], [121]. Cette évolution dépend essentiellement de la quantité de bacilles inoculée, de l'état général de l'animal et de son âge [122].

- ❖ En cas de stabilisation, il sera alors possible de parler de « complexe primaire dissocié » traduisant la disparition du chancre d'inoculation mais la persistance de la lésion du nœud lymphatique. Les lésions sont regroupées dans un seul organe dans le cas d'une tuberculose chronique d'organe. Les lésions, le plus souvent caséuses, peuvent s'ouvrir sur une voie de drainage (formes ouvertes). Cette forme peut se stabiliser ou se généraliser [123].
- ❖ Dans le cas d'un affaiblissement général, la surinfection se propage traduisant une tuberculose de généralisation d'infection ce processus est connu sous le nom de généralisation précoce [112].
- ❖ De même, la généralisation peut se produire dans la phase post-primaire ou après la réinfection et on parle de généralisation tardive [112].

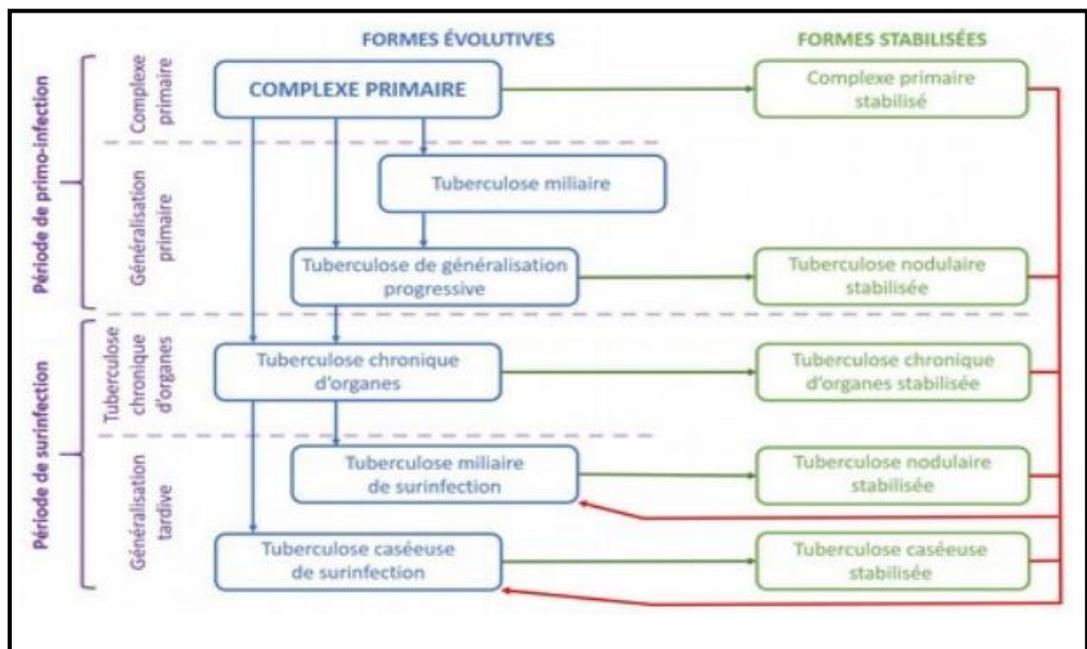


Figure 3.2 : Evolution du complexe primaire [36].

### 3.2. Symptômes

La tuberculose évolue lentement pendant des mois ou des années, les dromadaires peuvent être infectés de manière latente pendant une période prolongée d'où la difficulté de l'examen *ante mortem* de la cette maladie [30], et cela en raison des signes cliniques non spécifiques [31]. Les signes cliniques de cette affection n'apparaissent qu'à un stade tardif de la maladie et dépendent de la localisation des lésions (les tubercules) qui peuvent concerner tous les organes [16], donc elle passe souvent inaperçue pendant longtemps et l'animal tuberculeux conserve toutes les apparences d'une santé parfaite [66].

D'autres animaux peuvent développer une bronchopneumonie chronique, accompagné de toux et de baisse de production laitière. Dans les cas avancés, lorsque les poumons sont très affectés, une dyspnée est marquée [114].

Plusieurs formes de l'infection tuberculeuse ou le *M. bovis* est capable d'infecter tous les organes et les tissus. La forme de l'infection dépend du point d'entrée du micro-organisme [124].

En effet, différents aspects cliniques liés à la localisation des lésions peuvent être observés dont les plus connues sont :

- Tuberculose Pulmonaire

C'est la plus fréquente (80 % des cas) avec de la toux, un jetage (jaunâtre et fétide), une respiration anormale (courte, rapide et saccadée) [125], [126].

- Tuberculose Mammaire

Elle se traduisant à un stade avancé, par une hypertrophie de l'organe qui devient dur et indolore (grosse mamelle de bois) [127], [128].

- Tuberculose Intestinale

C'est une forme généralement asymptomatique ou s'accompagne d'une entérite chronique [114], ou alternance de constipation et de diarrhée [125].

- Tuberculose Génitale

Elle se caractérise chez le male par une tuberculose des organes génitaux (orchivaginalite) pour les mâles ou métrite chronique pour les femelles [114], [128].

### 3.3. Lésions

L'absence des signes cliniques pathognomoniques et des tests suffisants pour les animaux vivants, le diagnostic ne peut être fait que par examen *post-mortem* [31], [129].

La tuberculose cameline est une maladie chronique caractérisée par une pathologie macroscopique appelée «tubercules» se trouve principalement dans les poumons et les ganglions lymphatiques. Cependant, parfois d'autres tissus sont affectés [130].

Les lésions évocatrices de la tuberculose sont recherchés généralement lors des inspections aux abattoirs, la plupart des cas de tuberculose chez les camélidés se caractérisent par des granulomes tuberculeux [39], son aspects varie sur :

1. Le plan macroscopique et selon leur stade évolutif, les tubercules sont gris, miliaires, caséeux (occupé par un centre blanc jaunâtre), caséo-calcaires ou fibreux.
2. Il peut y avoir des infiltrations (territoire ou un organe) et épanchements tuberculeux étendus liés à un exsudat inflammatoire (les cavités séreuses, parfois les articulations ou les méninges) [36], et la grande majorité des lésions (70 à 90 %) se trouve dans la cavité thoracique ou au niveau de la tête et concerne les nœuds lymphatiques bronchiques, trachéobronchiques, rétropharyngiens et médiastinaux et les poumons : cette localisation est reliée au mode de transmission respiratoire et à la pathogénie de *M. bovis*. Les lobes caudaux sont les plus atteints [119].
3. Certains animaux portant des lésions ne présentent pas de symptômes avant d'être abattus, puisqu'il faut une atteinte lésionnelle importante et étendue pour mener à l'expression clinique de la maladie [131].

4. Sur le plan microscopique, la lésion est considérée comme spécifique s'appelle «follicule tuberculeux» [132]. Le tubercule est formé d'un centre nécrotique homogène appelé caséum, entouré de cellules neutrophiles et épithélioïdes, de quelques cellules géantes et de petits lymphocytes [36].

Chez le dromadaire, les organes les plus affectés par les lésions tuberculeuses sont les poumons associés aux ganglions lymphatiques thoraciques (Cf. Figure 3.1) [4], ainsi que le parenchyme pulmonaire, la plèvre diaphragmatique et le péricarde [9] et d'autres organes sont aussi affectés par la tuberculose chez cet animal, ces lésions tuberculeuses se différencient par leurs aspects, tailles et consistances (Cf.figure 3.3), (Cf.figure 3.4), (Cf.figure 3.5), (Cf.figure 3.6).



Figure 3.3 : Pleurésie granulomatoses chez un dromadaire atteint de tuberculose pulmonaire [4].

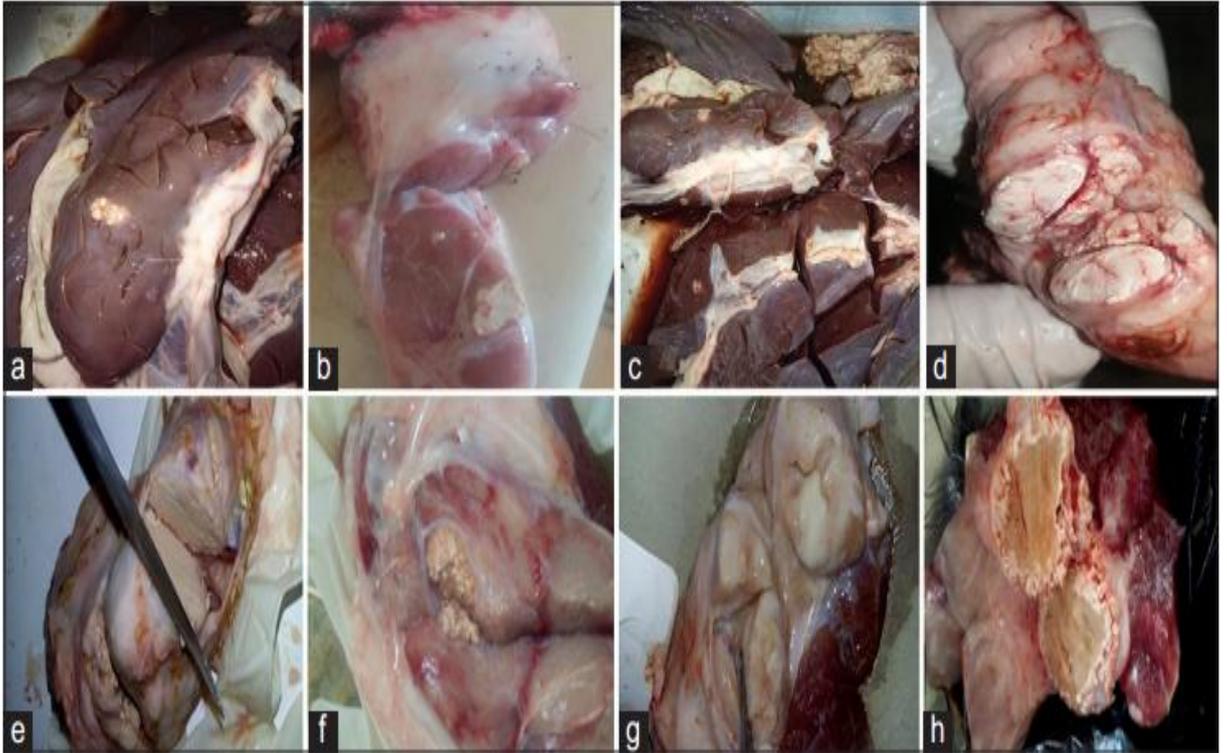


Figure.3.4 :(a-h) lésions tuberculeuses dans différents organes de dromadaire [9].

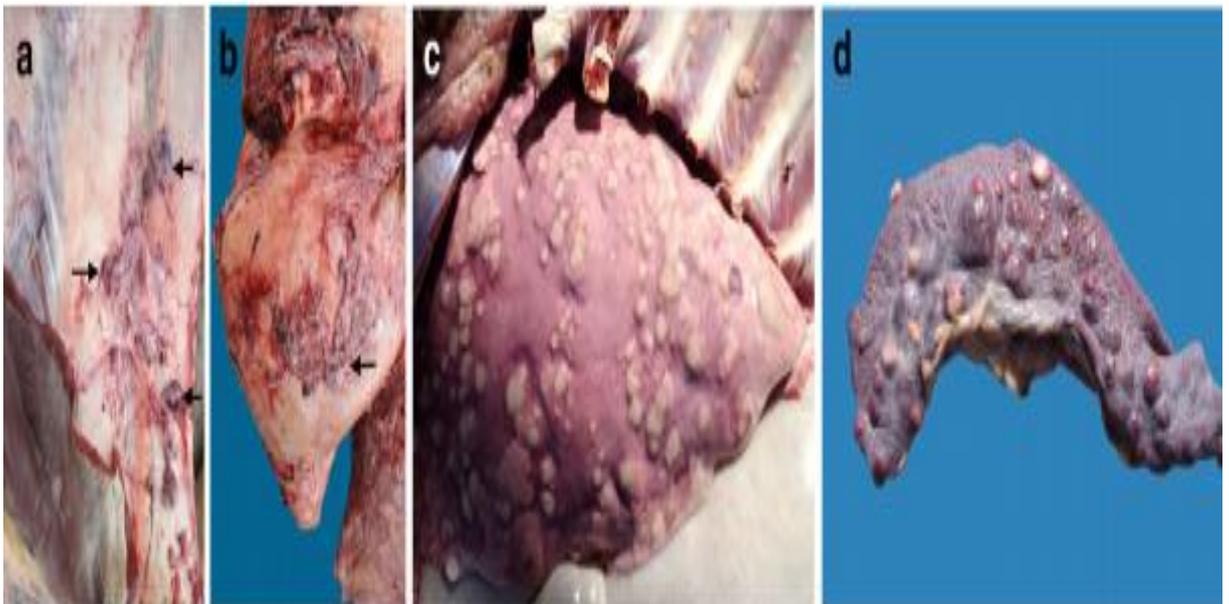


Figure 3.5: Différentes lésions tuberculeuses chez le dromadaire :(a)plèvre  
(b) péricarde(c)poumon(d) rate [30].



Figure 3.6: Lésions hépatiques de tuberculose cameline [74].

## **CHAPITRE 4**

### **DEPISTAGE ET DAIGNOSTIC**

#### 4.1. Dépistage

##### 4.1.1. Dépistage *ante-mortem*

##### 4.1.1.1. Dépistage clinique

La tuberculose est une maladie débilitante chronique, les animaux sont parfois trouvés morts sans signes cliniques antérieurs [41]. Les limites de diagnostic clinique et de la détection directe obligent à mettre au point de nouveaux instruments de diagnostic qui soient utilisables pour une bonne confirmation de la maladie [133].

##### 4.1.1.2. Dépistage allergique

L'intradermo-tuberculation est le test standard pour détecter la tuberculose chez les animaux vivants et l'outil de dépistage de base actuellement disponible pour le bétail [49]. L'intradermo-réaction à la tuberculine (IDR) permet de mettre en évidence une réaction d'hypersensibilité retardée se traduisant par l'apparition 24 à 72 heures après une injection intradermique d'antigènes mycobactériens, elle se traduit par une accumulation des lymphocytes sensibilisés au niveau du point d'injection [134].

Il convient d'indiquer, par ailleurs que des réactions extrêmement variables selon les espèces animales réaction tel que : les méthodes, les sites d'injection, le volume de tuberculine, qualité et quantité d'antigène, de même que la grande variabilité histologique et physiologique du tégument des espèces sauvages empêche parfois la réalisation de l'IDR [133].

Chez le dromadaire, un test tuberculinique s'appelle le tuberculin skin test (*TST*) qui est un test intradermique comparatif utilisé et le site d'inoculation est l'aisselle [45]. Le *TST* est un test de diagnostic classique, produit souvent des réactions non spécifiques chez les camélidés [31], [129].

Pour la réalisation de ce test réglementaire chez le dromadaire, il est préconisé que :

- Les dérivés de protéines purifiées de bovins (*M.bovis*), et tuberculine aviaire ou (*M. avium*) chacun 0,1 ml, sont injectés chez cet animal dans une zone de l'aisselle rasée [49].
- L'épaisseur de la peau est mesurée immédiatement avant et 72 heures après les injections (Figure 4.1) [135]. Il s'agit du même protocole pour les bovins, le gonflement est en plus grande intensité 48 h à 72 h après l'injection [45].
- un résultat positif du TST est indiqué par une augmentation de l'épaisseur de la peau sur le site bovin qui est supérieure à celui du site aviaire [136].
- Ce test appliqué aux animaux naturellement infectés avec *M. bovis* a démontré à plusieurs reprises une faible sensibilité [40], [42], [137], car un manque de fiabilité dans l'interprétation des résultats de l'IDR dans le dépistage de la tuberculose chez les camélidés, pour cela ce test a été interrompu dans certains pays de l'Union européenne [138].

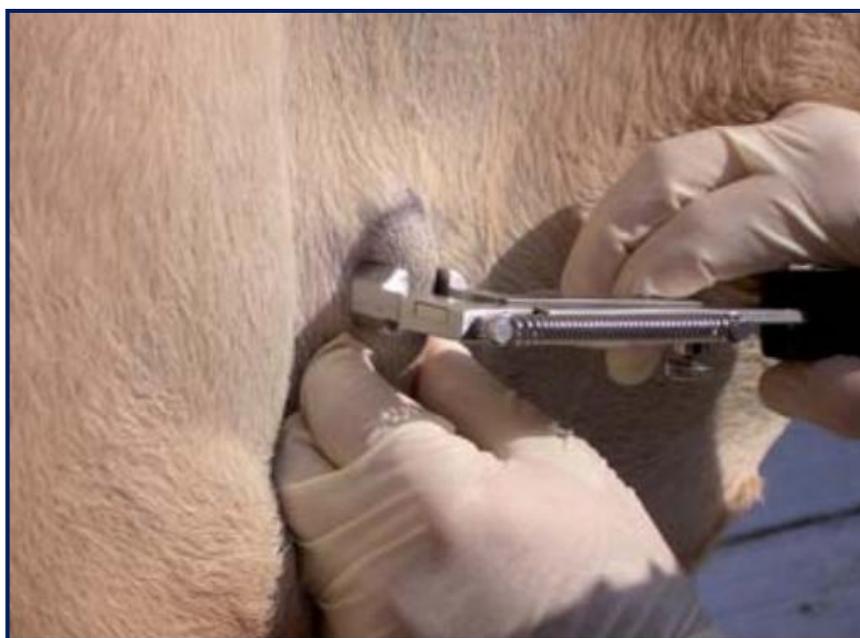


Figure 4.1: Test intradermique au niveau de l'épaule d'un dromadaire [4].

La figure ci-dessous montre la réalisation du test comparatif de la tuberculine chez le dromadaire au niveau de l'abattoir d'AKAKI en Ethiopie.



Figure 4.2 : Test comparatif de la tuberculine à l'abattoir d'Akaki [139].

#### 4.1.1.3. Dépistage sérologique

Les tests sérologiques sont peu utilisés chez les animaux car la production d'anticorps est tardive, limitant ainsi la détection d'animaux récemment infectés, et leur concentration sérique est irrégulière. Les résultats varient selon le stade de l'infection [140]. Parmi les tests les plus récents utilisés chez le dromadaire comprennent :

- ✚ Multi-antigène immunologique MAPIA (*Multi Antigen PrintImmuno Assay*)  
[141] :

C'est une technique permettant d'imprimer sur un support linéaire, (nitrocellulose) une série importante d'antigènes mycobactériens purifiés et de tester la présence de différents anticorps en une seule fois [129].

#### Le vét tuberculose Stat-Pak ou rapide test

C'est un appareil portable à flux latéral, qui fait des analyses chromatographiques, il détecte les camélidés infectés par le complexe *Mucobactérium Tuberculosis*, mais une validation supplémentaire est encore nécessaire avant qu'ils puissent être utilisés de manière fiable pour le diagnostic [38].

#### Dosage de l'interféron gamma

Ce test a été développé dans les années 1980 en Australie, Il se base sur deux étapes :

- ✓ Une prise de sang sur tube héparine doit être réalisée ;
- ✓ Pour que ce test soit réalisable, l'échantillon de sang doit posséder des lymphocytes T viables, d'où un acheminement rapide au laboratoire doit être dans les 8 heures suivant le prélèvement ;
- ✓ Incubation du prélèvement en présence d'antigènes durant une vingtaine d'heures à 37°C ;
- ✓ La production d'interféron gamma par les lymphocytes T est ensuite dosée et comparée avec un échantillon « témoin », non mis en incubation avec des antigènes.
- ✓ La sensibilité et la spécificité du test varient selon les antigènes utilisés. Sa sensibilité est estimée entre 73 % et 100 %, avec une médiane de 87,6 %, et sa spécificité est comprise entre 85 % et 99,6 %, avec une médiane de 96,6 % [45].

Cependant, Martijn et coll. ont indiqués quelques tests sérologique et cellulaire utilisable chez les camélidés cités dans le tableau ci- dessous [71].

Tableau 4.1 : différents tests sérologiques chez les camélidés (modifié) [71]

Le nom du test	Travaille par	Sensibilité (SN) Spécificité(SP)	remarques
Test unique comparative tuberculine cervical	Cellule évoquée a médiation une réaction d'hypersensibilité de type retardé	Varié considérablement d'un auteur a l'autres mais généralement présumés faibles	Protéine purifié ou le complexe mixé utilisé pour ce test
Interféron gamme Rhodes et al, 2012	Réponse a médiation cellulaire	Incertain dans le passé SP a probablement été compromise par des souches de microti chez les camélidés	
IDEXX ELISA Rhodes and Vordemeier, 2012	Réponse sérologique	SN 69,2% SP 97,4%	Antigen MPB83/MPB70(mix)
DPPVetTB Lateral flow Rhodes and Vordemeier, 2012	Réponse sérologique	SN 57,7% SP 96,7%	Antigen MPB83 CFP10/ESAT 6(mix)
IDEXX+DPPVetTB Rhodes and Vordemeier, 2012	Réponse sérologique	SN 81,3% SP 95,8% SN 55,8% SP 99,7%	Parallel Breakdown testing
Rhodes and Vordemeier, 2012	Réponse sérologique	(deux SN 66,7% SP 96,9% (quatre SN 55,1% SP 99,8%	Antigen MPB70 MPB83 MPB70 ESAT6 ESAT10 Alfa-crystalline-2 Rv-36180

#### 4.1.2. Dépistage *post-mortem*

La détection des lésions macroscopiques sur les carcasses des animaux abattus à l'abattoir est utilisée comme une méthode de dépistage des élevages infectés dans la plupart des pays [105]. Il a été constaté que l'inspection de routine de la viande *post-mortem* ne détecte qu'environ 47% des lésions présumées [142]. Malgré le manque de sensibilité, l'inspection *post-mortem* reste une méthode cruciale pour le contrôle de tuberculose animal [143].

Chez le dromadaire, les organes les plus affectés par les lésions tuberculeuses sont les poumons associés aux ganglions lymphatiques thoraciques [4].

Les lésions pulmonaires pouvant être très étendues même en absence de signes cliniques [144], ces lésions peuvent être petites, localisées aux nœuds lymphatiques, et parfois peuvent être passé facilement inaperçues pour cela la sensibilité de l'examen nécropsique est donc également faible [145].

La figure ci-dessous représente des nodules tuberculeux pulmonaires solides de différentes formes et taille chez le dromadaire.



Figure 4.3: nodule pulmonaire chez un dromadaire [146].

#### 4.2. Diagnostic Expérimental :

Le diagnostic de la tuberculose chez le dromadaire vivant pose de nombreuses difficultés car aucun test disponible ne permet de diagnostiquer avec certitude la tuberculose chez cette espèce [129], [31]. Car il y a un manque de données sur la performance du diagnostic de cette maladie ainsi que les tests utilisés sur les camélidés naturellement infectés et non infectés [40]. Pour confirmer toute suspicion de tuberculose (épidémiologique, clinique, nécropsique

ou lors de test de routine), il est indispensable de pouvoir mettre en évidence la présence de bacilles tuberculeux [147].

#### 4.2.1. Examen Histologique

Cet examen consiste en analyse microscopique des claques directs à partir des échantillons cliniques ou sur des tissus préparés. Les lames histologiques sont colorées à l'aide de la coloration hémalun-éosine (HE), complétée par la coloration de *Ziehl-Neelsen*. Le diagnostic histologique permet de mettre en évidence les lésions caractéristiques de la tuberculose [148], mais ce dernier n'est pas spécifique de *M.bovis* car toutes les mycobactéries étant des bacilles acido-alcoolo-résistants identifiables par la coloration de *Ziehl Nielsen* [149], donc les résultats histopathologiques sont similaires pour toutes les lésions à CMT [148]. La figure ci-dessous représente des coupes histologiques du poumon chez le dromadaire.

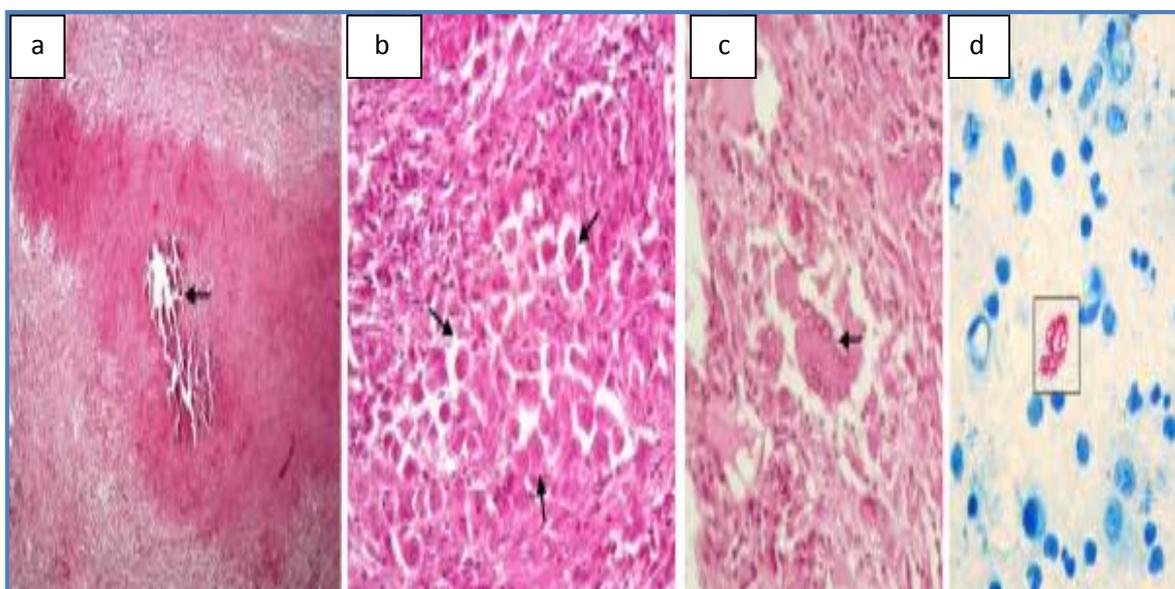


Figure 4.4 : Coupe histologique du poumon avec une nécrose [30].

- (a) une nécrose et minéralisation au centre entourée de macrophages épithélioïdes, lymphocytes et tissus fibreux, (b) Poumon forme pulmonaire montrant une agrégation de macrophages épithélioïdes, (c) : Poumon sous forme disséminée montrant une cellule géante (flèche), (d) : Poumon sous forme disséminée montrant une cellule géante (flèche).

La lésion microscopique considérée comme spécifique de la tuberculose est le follicule tuberculeux, bien qu'il ne soit pas pathognomonique. Il est composé d'un centre nécrotique homogène (ou caséum) où les neutrophiles sont abondants, d'une première couronne de cellules (histiocytes et macrophages épithélioïdes) et d'une seconde couronne entièrement lymphocytaire [112], [16].

Chez le dromadaire, l'histopathologie des poumons est caractérisée par de grands granulomes nécrotiques (centraux calcifiés ainsi que la présence des cellules géantes [150]. La figure ci-dessous représente un granulome central pulmonaire qui est caractéristique chez le dromadaire.

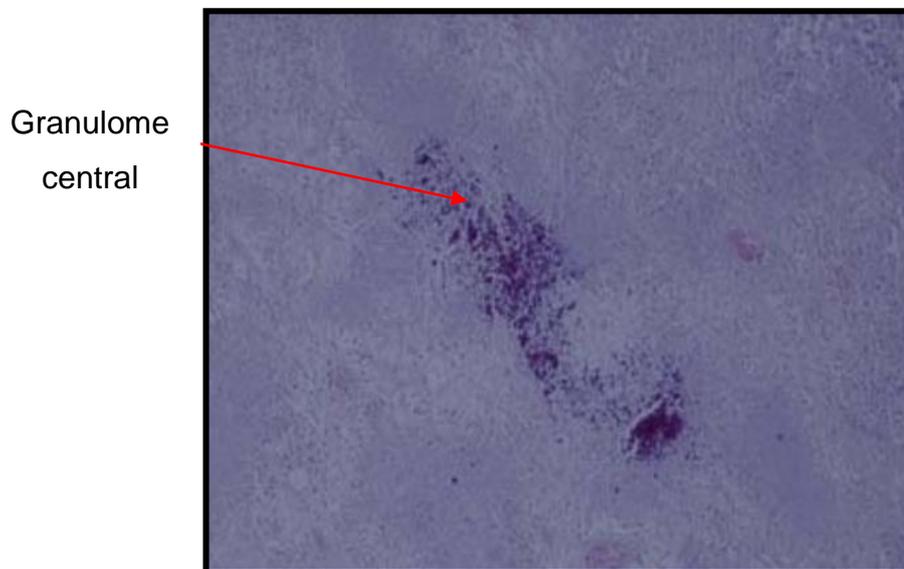


Figure 4.5: Granulome central dans un poumon d'un dromadaire [4].

#### 4.2.2. Examen Immunohistochimique

L'immunohistochimie est une méthode de localisation de certaines protéines au sein d'une coupe de tissu au moyen d'anticorps, le principe de cette technique est basé sur :

- ❖ L'utilisation des anticorps polyclonaux dirigés contre ses antigènes et conjugués à une peroxydase; dans le cas de la recherche de *M. bovis*.

- ❖ Les mycobactéries sont ensuite visualisées grâce à la réaction enzymatique colorée permise par la peroxydase fixée aux anticorps.
- ❖ La longueur de fixation des prélèvements dans le formol ne doit pas excéder 48 heures car elle entraverait la capacité des anticorps de se fixer sur les antigènes [132].

L'immunohistochimie est plus sensible que la coloration de *Ziehl Neelsen* car elle détecte les antigènes mycobactériens dans des coupes de tissus en reconnaissant les bactéries entières et les fragments partiels, pour cela cette technique étant plus onéreuse peut donc être utilisée sur des échantillons provenant de lésions évocatrices de tuberculose négatifs à la coloration de *Ziehl-Neelsen* ou à l'auramine. ; est donc particulièrement pertinente dans les cas où seuls des fragments de mycobactéries sont présents. La figure ci-dessous montre des mycobactéries observées par la technique d'immunohistochimie [132].

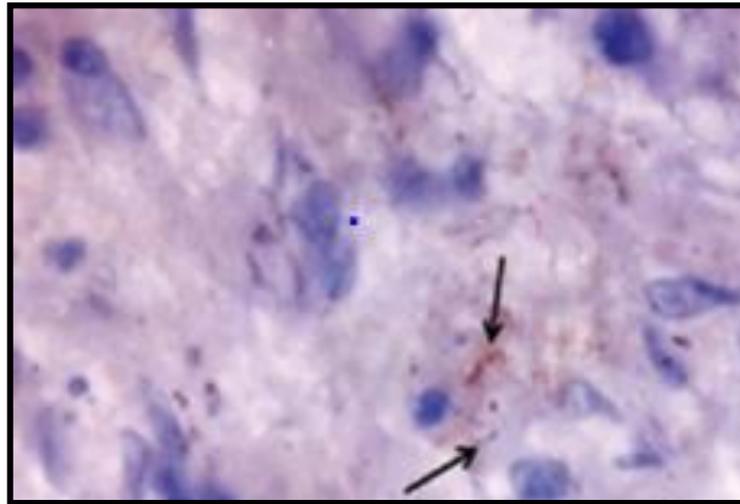


Figure 4.6: Mycobactéries mises en évidence par immunohistochimie

[132].

#### 4.2.3. Diagnostic bactériologique

L'examen bactériologique reste toujours un diagnostic de certitude mais celui-ci trouve ses limites en cas de tuberculoses extra-pulmonaires [93].

Il est basé sur deux examens, à savoir :

##### a. Examen Microscopique

Depuis plus de 125 ans, l'examen microscopique direct demeure un outil très simple et rapide renseignant sur la présence de BAAR dans les échantillons biologiques [151].

Cet examen est souvent le seul pratiqué dans les pays en développement en raison de sa facilité d'accès, son efficacité et son faible coût [152], il permet la mise en évidence de bacilles tuberculeux après coloration [153].

##### Coloration de Ziehl Neelsen

La sensibilité de cette méthode est de 70%, mais sa spécificité est très faible [154]. Elle comporte plusieurs étapes, tout d'abord, les frottis sont colorés par la fuchsine phéniquée à chaud, puis, après une décoloration combinée par l'acide et l'alcool, une contre coloration par le bleu de méthylène.

À l'examen microscopique avec un objectif à immersion (X 100), les BAAR apparaissent comme des bâtonnets rouges sur un fond bleu (Cf. figure 10) [91], et le seuil de détection microscopique est de l'ordre de 10<sup>4</sup> BAAR/ml d'échantillon, chez le dromadaire ces bacilles acido-alcool-résistants des lésions peuvent ne pas être observés, à l'examen microscopique [155], [156].

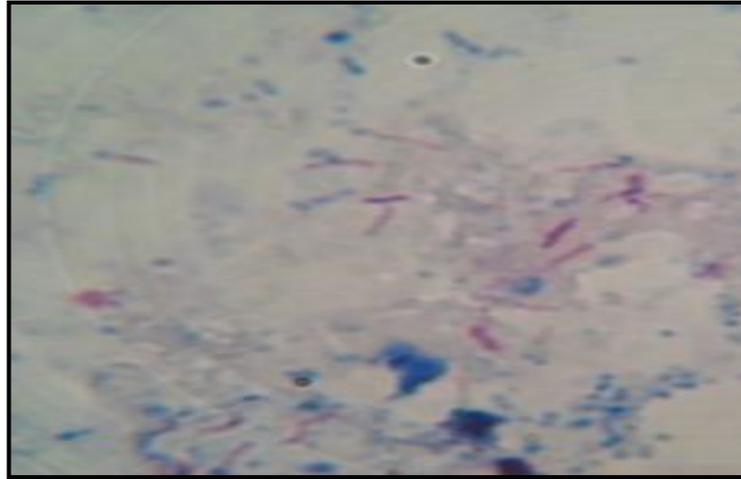


Figure 4.7: B.A.A.R colorés par la méthode de *Ziehl-Nelseen* chez le dromadaire [74]

Selon MAMO et coll. dans une étude réalisée à l'abattoir de Nwakchott, ont indiqués que la coloration de *Ziehl-Nelsen* n'a permis d'observer aucun bacille acido-alcool-résistant dans les différentes lésions tuberculeuses chez le dromadaire [39].

Toutefois l'examen direct positif n'est pas un bon marqueur d'efficacité thérapeutique [157].

#### Coloration fluorescente à l'auramine

C'est une technique microscopique d'immunofluorescence, dans cette dernière, la fuchsine est remplacée par l'auramine [91]. Les bacilles fixent le colorant fluorescent et le conservent après effet de l'acide et de l'alcool [158].

La lecture après cette coloration requiert un microscope à fluorescence utilisant des lampes à mercure supplémentée récemment par l'utilisation de light emitting diode (LED) [159]. Les BAAR apparaissent sous forme des bacilles verts fluorescents sur un fond sombre (Cf. figure 4.8 ) [91].

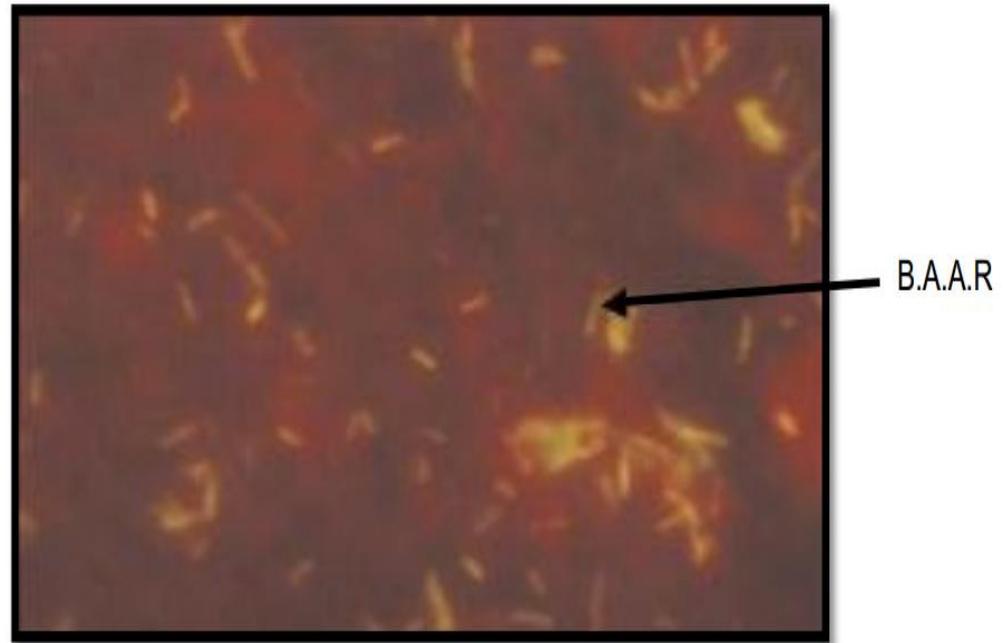


Figure 4.8: Coloration des B.A.A.R par la méthode à l'auramine [153].

Cette méthode est moins coûteuse, plus robuste et de performance identique [159]. Selon les données de l'OMS, la microscopie à l'auramine a montré une sensibilité et une spécificité de 84% et 97% respectivement. La lecture s'effectuant à l'objectif (X25) est beaucoup plus rapide que celle de Ziehl Neelsen [160].

b. Examen de culture :

La culture est le gold standard pour le diagnostic de la tuberculose [161]. Elle est considérée comme un test de référence lors de l'évaluation de nouvelles méthodes diagnostiques [149]. La recherche des mycobactéries par des méthodes basées sur la culture est très standardisée en diagnostic humain et vétérinaire [162]. Cette méthode reste la plus sensible, dont le seuil de détection est de 10 à  $10^2$  bacilles/ml d'échantillon biologique [163].

Pour cela sa spécificité est de 100 % et l'interprétation des résultats se fait avec prudence en raison des défauts de sensibilité de cette méthode [164]. La culture peut se réaliser à partir des prélèvements de diverses natures mais

nécessite le plus souvent une phase de décontamination avant l'ensemencement [165]. Cette décontamination est liée au fait que d'autres germes poussent sur les mêmes milieux [6].

Le bacille tuberculeux nécessite l'utilisation de milieux enrichis tel que le milieu *Löwenstein-Jensen*, la croissance des mycobactéries est lente (en moyenne quatre à six semaines pour *M.bovis*) (C.F.figure 4.9).

Des différents traitements préalables à la mise en culture des échantillons sont préconisés, dans le domaine vétérinaire, les tissus animaux (broyats de ganglions, ou de tissus) sont décontaminés selon les préconisations de l'ANSES et suivent la norme AFNOR NF U47-104 basée sur l'utilisation de l'acide sulfurique et de la soude à 4%. Et Malgré la résistance des mycobactéries aux agents chimiques, la décontamination réduit fortement la population initiale présente dans l'échantillon et abaisse la sensibilité de la culture [166].

Parmi ces méthodes nous citons la méthode de *Petroff*, c'est une technique efficace contre les germes de souillure mais est également corrosive pour les mycobactéries car pouvant tuer environ 70% des bacilles [167]. Elle implique l'utilisation de NaOH à des concentrations comprises entre 2% et 4% [168]. Quelques modifications ont été effectuées sur cette méthode avec toujours l'utilisation de la soude en première intention et neutralisation par d'autres méthodes adaptées hormis la neutralisation par la solution de tampon telle que décrite par Petroff [169]. La sensibilité de l'examen de culture est comprise entre 72,9 % et 82,8 % avec une médiane à 78,1 %. La spécificité est quant à elle relativement élevée, estimée entre 97,1 % et 100 % avec une médiane à 99,1 % [170]. La culture permet aussi d'apprécier la morphologie des colonies, comme leurs textures ou la présence d'une pigmentation, aidant ainsi à l'identification de la bactérie [171].

### c. Identification :

L'identification des isolats est habituellement effectuée par détermination des propriétés culturales et biochimiques.

- Propriétés culturales:

Sur un milieu solide à base de pyruvate approprié, les colonies de *M. bovis* sont lisses et de couleur blanc cassé (chamois). Les organismes poussent lentement à 37°C, mais ne poussent pas à 22°C ou 45°C [125]. Une culture positive sur le milieu de *Lowenstein-Jensen* permet la détection des petites colonies [172].

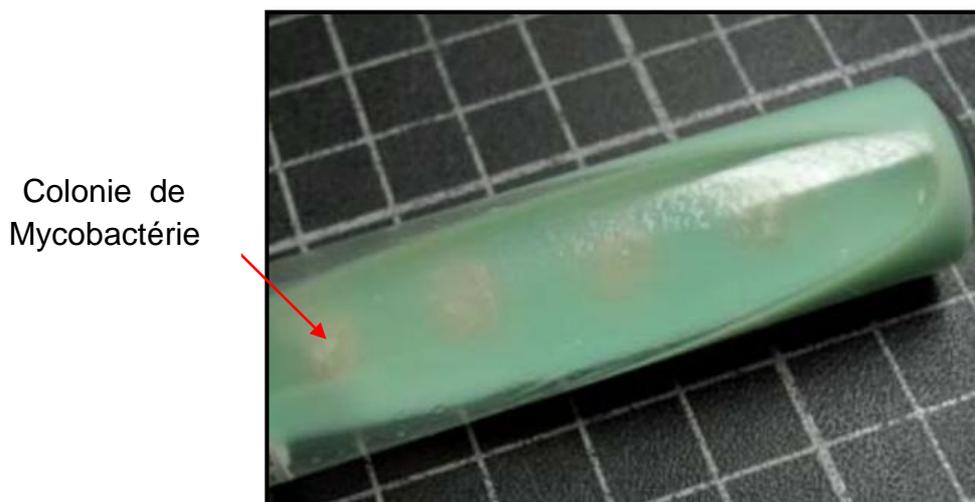


Figure 4.9 : Culture sur *Löwenstein-Jensen* chez le dromadaire [4].

- Propriétés biochimiques

Les tests biochimiques permettent de faire la distinction entre bacilles du complexe *tuberculosis* et mycobactéries non tuberculeuses [173], [174].

Ces tests nécessitent des cultures riches et ne sont donc pas réalisables avant la croissance avancée de la bactérie [54].

Selon Freney et *coll.* cette identification regroupe principalement quatre tests biochimiques à savoir [89] :

- ✓ Niacine ;
- ✓ Nitrate réductase ;

- ✓ La recherche de l'activité catalasique après chauffage pendant 20 minutes à 68°C ;
- ✓ Sensibilité à l'hydrazide de l'acide thiophène-2-carboxylique(TCH) ;
- ✓ La sensibilité et la spécificité de la croissance en présence de *PNB* pour l'identification du complexe *Mycobacterium tuberculosis* étaient 97.8% et 100% respectivement ;
- ✓ La sensibilité de la croissance en présence de *TCH* était 100% ;
- ✓ Les résultats des observations phénotypiques et biochimiques permettant de différencier les principales espèces du *MTBC* [89].

#### 4.3. Diagnostic moléculaire de la tuberculose

Ces méthodes ont pour but de comparer rapidement des souches sur la base de leur génome, les bactéries du MTBC ont une similarité génétique de plus de 99% au niveau de leur génome, on dispose de plusieurs outils moléculaires permettant de fournir un diagnostic plus rapide et plus fiable [175].

De nouvelles techniques moléculaires ont été établies pendant ces 20 dernières années, ces techniques sont utilisées dans les études de génotypage des populations, qui permettent de caractériser les isolats de tuberculose avec précision et de déduire les différentes lignées phylogénétiques qui y sont associées [176].

##### 4.3.1. Polymérase Chain Réaction (PCR)

Cette technique a été décrite comme un outil important pour le diagnostic de la tuberculose, c'est une méthode précise, sensible et efficace et peut être utilisés dans la caractérisation épidémiologique des animaux infectés par la tuberculose animale [177]. En plus, la PCR présente plusieurs avantages tel que :

- Elle évite les problèmes liés à la tentative de culture de ce groupe de bactéries à croissance lente en culture. Par conséquent, elle est considéré un outil important pour la lutte contre la tuberculose zoonotique [178].
- Elle permet de réduire le délai d'obtention des résultats par rapport à la culture, et présente une bonne spécificité, ainsi qu'une sensibilité

équivalente ou supérieure à celle de la culture, La sensibilité d'une PCR est comprise entre 82,5 % et 92,3 % avec une médiane à 87,7 %. Quant à sa spécificité, elle est bien meilleure, se situant entre 94,3 % et 99 % avec une médiane à 97 % [170].

La détection par amplification génétique des espèces du complexe *Mycobacterium tuberculosis* peut être réalisée après la culture ou bien directement effectuée à partir d'échantillons cliniques [179].

❖ Détection des mycobactéries dans les échantillons cliniques :

Cette méthodes sont basées sur l'amplification de fragments cibles d'ADN ou d'ARN mycobactériens uniques par PCR. L'élément d'insertion IS6110 et l'ADNr 16S sont les cibles les plus couramment utilisées [180]. Elle nécessite des charges bactériennes élevées dans les échantillons et les résultats sont variables, et souvent insatisfaisants sur les échantillons contenant peu de bacilles [179].

❖ Identification moléculaire des mycobactéries à partir des cultures :

Plusieurs méthodes sont utilisées :

a. Séquençage basé sur la PCR

C'est une technique de référence pour l'identification des mycobactéries [180]. Elle est considéré comme l'examen de choix parmi les méthodes d'identification par le génie génétique, le séquençage est donc souvent effectué si d'autres méthodes moins coûteuses et plus rapides telles que l'hybridation directe avec une sonde n'ont pas permis d'obtenir un résultat définitif [171].

Cette méthode est basée sur l'amplification par PCR, suivie d'un séquençage des amplicons dans un séquenceur automatique [181].

Le principe de séquençage est de déterminer:

- Des séquences complètes du génome pour plus de quarante espèces dont *M. bovis* et *M. tuberculosis* [53].
- Il est plus pratique pour l'identification de routine de séquencer certaines séquences cibles comme celles codant pour l'ARN 16S ou 23S ;

- L'ADN est d'abord amplifié par PCR avec l'aide d'amorces conçues pour se lier à des séquences conservées retrouvées chez toutes les espèces de mycobactéries ou pour encadrer des régions variables utiles pour les différencier [171] ;
- L'identification d'une souche inconnue est complétée par comparaison de la séquence nucléotidique avec une banque de séquences connues [180] ;
- Les résultats de séquençage peuvent être obtenus assez rapidement (en huit à vingt-quatre heures) après la croissance d'un organisme en culture [171].

Les principales limites du séquençage est le coût des équipements et des réactifs ainsi que l'obligation pour le laboratoire d'avoir des techniciens hautement qualifiés [171].

b. Génotype *Mycobacterium*

La procédure comprend une PCR multiplex, suivie d'une hybridation inverse et d'une technologie de sonde en ligne [182].

c. Polymorphisme de restriction du gène *hsp65*

C'est une méthode basée sur l'amplification du gène codant pour la protéine de choc thermique de 65 kDa, suivie d'un polymorphisme de longueur de fragment de restriction, des isolats de cultures solides et liquides peuvent être utilisés. Les fragments de la digestion par l'enzyme de restriction (*BstEII* et *HaeIII*) sont analysés par électrophorèse sur gel d'agarose et comparés. La détermination de la taille des fragments permet d'identifier une cinquantaine d'espèces de mycobactéries [183].

d. Hybridation directe avec une sonde spécifique

Le système d'hybridation direct avec une sonde le plus utilisé actuellement pour l'identification de plusieurs espèces de mycobactéries est le système *Gen-Probe*. Elle permet l'identification d'une série de mycobactéries cliniquement importantes pour cela plusieurs sondes sont disponibles permettant la détection du complexe *M. tuberculosis*, le complexe *M. avium*, *M. avium*, et certaines mycobactéries saprophytes comme *M. kansasii* ou *M. goodnae* [180], [171].

Plusieurs étapes sont suivies tel que :

- ✓ Les acides nucléiques provenant des bactéries mises en culture sont extraits par un traitement thermique et l'exposition à des ultrasons.
- ✓ Ils sont ensuite mis en présence d'une sonde d'ADN marquée par un ester d'acridinium, spécifique de l'espèce de mycobactérie recherchée [180].
- ✓ Si la séquence de la sonde est complémentaire de l'*ARNr16S* des bactéries présentes dans la culture, une hybridation se produit et l'hybride *ADN-ARN* pourra être détecté et quantifié par chimioluminescence.

Cette méthode ne fait pas intervenir de *PCR* ou d'étape d'amplification génique. L'emploi de cette technique n'est donc pas adapté à la détection directe de mycobactéries à partir de prélèvements car la charge bactérienne y est généralement trop faible [171].

#### 4.3.2. Typage moléculaire

Le typage moléculaire vise à déterminer l'identité d'une bactérie sur la base de variations génétiques de certains gènes [184]. Les méthodes de typage des mycobactéries reposent sur la diversité des structures génétiques de ces micro-organismes [185]. Pour la tuberculose il est devenu un outil précieux dans l'étude épidémiologique de *M.bovis*, ainsi pour déterminer les relations phylogénétiques entre les souches [184].

Plusieurs techniques reposent sur la détection de séquences connues répétitives du génome mycobactérien comme :

##### 4.3.2.1. Spoligotypage (Spoligotyping: Spacer oligonucleotide typing)

C'est une méthode de typage des souches du complexe *Mycobacterium Tuberculosis*, elle est décrite pour la première fois chez *M.bovis BCG* [186], [187]. Le spoligotypage contribue à clarifier l'identification des différents bacilles de la tuberculose et l'on reconnaît des profils caractéristiques de différentes (sous-) espèces [188] et il permet aussi l'identification des génotypes d'importance clinique et épidémiologique [189].

Le spoligotypage constitue aujourd'hui comme une des techniques les plus utilisées dans le monde, car elle est moins chère, moins lourde que les autres méthodes de typage et qui a surtout l'avantage d'être standardisée et reproductible dans tous les laboratoires de biologie moléculaire travaillant sur la tuberculose [190].

Des recommandations de contrôle de qualité ont été également proposées récemment pour les laboratoires travaillant encore sur membrane (Cf. Figure 4.10) [191]. Dans cette version de spoligotypage avec la conception de la membrane et l'exécution du test proprement dit, cette technique est laborieuse, elle requière 2 jours pour le typage de 43 échantillons. Elle repose sur le polymorphisme d'une région génomique particulière appelé locus DR « Direct Repeat » [192], [186]. L'ensemble du locus DR est amplifié par PCR, en utilisant deux amorces inversées marquées à la biotine et complémentaires de la séquence DR. Les produits de PCR sont hybridés perpendiculairement aux oligonucléotides sur une membrane activée. Après l'hybridation, la membrane est incubée dans un conjugué streptavidine-peroxydase ou streptavidine alcaline qui se lie au marqueur biotine des produits de PCR. La détection de l'hybridation est effectuée par un système de détection par chimiluminescence amélioré [180].

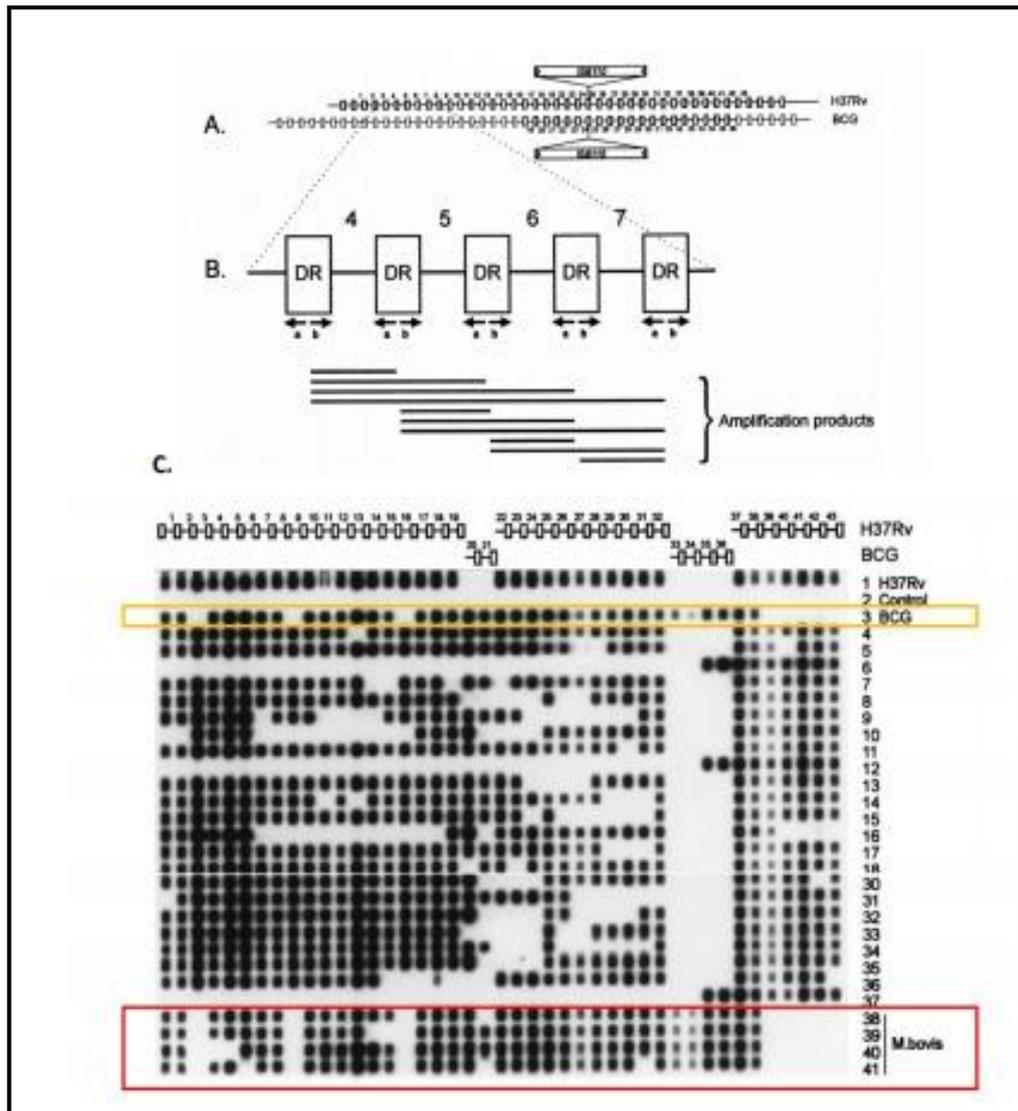


Figure 4.10: Technique d'hybridation inverse sur membrane de spoligotypage [193]. Le spoligotypage A, L'amplification de la région DR ; B, Montage du système d'hybridation inverse ; C, Exemples de spoligotypes.

Cependant, Sola et ces collaborateurs ont mis au point une méthode d'analyse multiplexée mettant à profil la technologie Mag Pix Lumineux (Cf. figure 4.11) [194]. Il s'agit d'une amélioration et une automatisation supplémentaires de spoligotypage ont conduit à l'application de système de détection à base de microbilles [195]. En prenant en compte de l'étape d'amplification, cette méthode permet d'analyser en un seul essai 96 échantillons en moins de 5 heures contre 45 isolats avec le protocole de spoligotypage standard [194], [196].

\*Le principe de cette technique [197]

Les produits PCR obtenus avec les primers Dra-biotinylé et Drb sont mis à hybrider avec les 43 microsphères paramagnétiques fluorescentes grâce à son double système optique, ces microsphères sont préalablement introduites dans les puits d'une plaque de 96 puits ; chaque microsphère est couplée à un oligonucléotide, donc cet outil « Mag Pix Lumineux » est fondé sur le principe de la cytométrie en flux.

- ✓ Une solution de streptavidine-phycoérythrine (SA-PE) (B) est ajoutée, cette dernière se fixe à une ou plusieurs molécules de biotine présentes sur le brin d'ADN biotinylé de l'amplicon ;
- ✓ Les microbilles contenues dans l'échantillon à analyser sont aspirées et injectées dans une veine par le liquide de gaine et passent devant le trajet optique permettant un alignement et un passage individuel des microbilles devant les deux lasers ;
- ✓ Chaque microbille hybridée est donc individuellement excitée à son passage par les deux lasers pour son identification et la détection de la fluorescence à sa surface le laser 1 (L1, rouge) reconnaît la microbille et donc le spacer couplé et la quantifie (B et C), alors que le laser 2 (L2, vert) quantifie la luminosité issue de la réaction enzymatique )
- ✓ À la fin du test, le logiciel génère des valeurs numériques brutes dans un fichier Excel (Cf. figure 4.12) qui seront ensuite traitées statistiquement pour déterminer les positifs et les négatifs et peuvent être facilement interprétés, numérisés et comparés entre différents laboratoires [198].

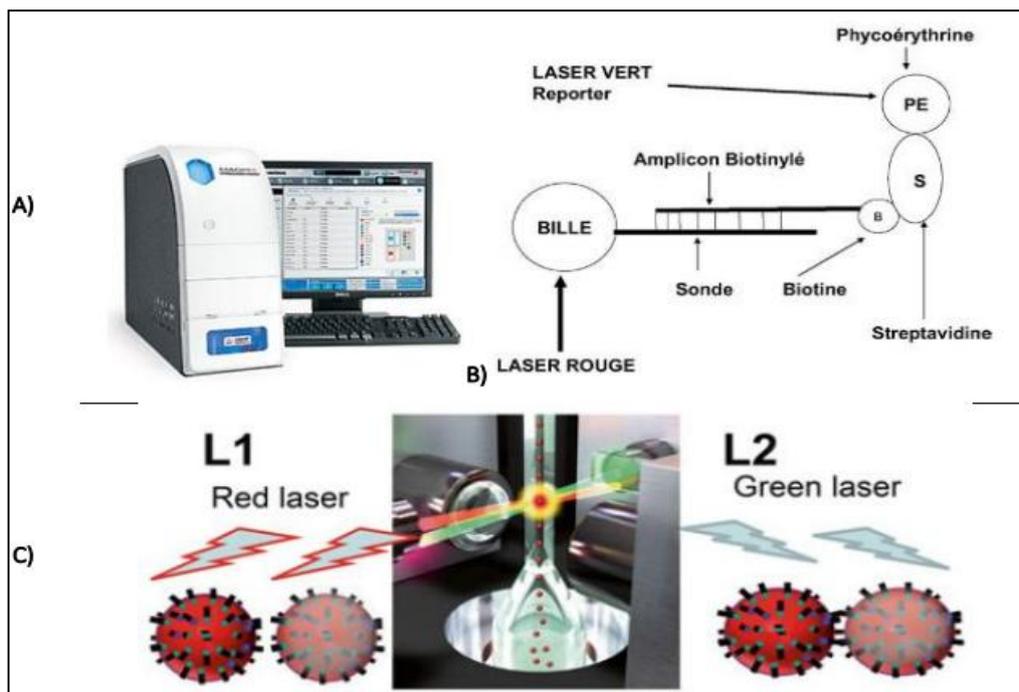


Figure.4.11 : Principe de la méthode de spoligotypage multiplexée appliquée au système Mag Pix Luminex [194].

The screenshot shows the Xponent software interface. The main window displays a large grid of data points for various spoligotypes (A1 to A100) across multiple channels (1 to 48). The data points are color-coded, with red indicating a positive result and green indicating a negative result. The software interface includes a menu bar, a toolbar, and a status bar.

Figure.4.12: résultats de spoligotypage (spoligotypes) suite à l'analyse des données générées par le logiciel (Xponent) du Mag Pix [194].

D'autres méthodes de spoligotypage à savoir le spoligotypage conventionnel ce dernier est un test basé sur une extension d'amorce multiplexée utilisant une spectrométrie de masse automatisée par MALDI-TOF MS [196]. Cette technique offre une plus grande reproductibilité, une facilité d'utilisation et une meilleure analyse des données, mais elle nécessite un équipement coûteux [199]. Les grandes bases de données de spoligotypage disponibles en ligne sont SpoIDB4 ; SITVITWEB ; MIRU-VNTRplus ; *Mbovis.org* [200].

#### Les régions de différence (RD)

La région DR est une région chromosomique particulière, unique et figée, caractérisée par des séquences répétées de 36 pb, appelée locus *Direct Repeat* qui appartient à la famille des ADN répétitifs CRISPR (Clustered Regularly Interspersed Short Palindromic Repeats). Le typage par région de délétion (RD) est utilisé pour la différenciation entre les espèces CMT [201]. Les Régions de Différences (RD1 à RD14) identifiées correspondent à des délétions et des réarrangements génétiques irréversibles et discriminants. Ils sont spécifiques d'une espèce ou communes à plusieurs espèces [202].

Ces DR sont séparés par des espaceurs de 35 à 41 pb dont les séquences sont uniques et polymorphes, par exemple :

- ✓ les espaceurs 3, 9, 16 et 39 à 43 sont absents chez *M. bovis*, *M. caprae*, *M. microti* et *M. pinnipedii* [203] ;
- ✓ La RD9 est utilisé pour différencier *M. tuberculosis* des autres membres du CMT ;
- ✓ La RD4 a été utilisée dans différentes études pour la détection de *M.bovis* dans les échantillons environnementaux et son absence (*RD4*) est spécifique à *M. bovis* et *M. bovis BCG* [201], [204] ;
- ✓ Dans le génome de *M.bovis* BCG un plus grand nombre de RD est observé car sont en nombre de 14 RD par comparaison à *M.tuberculosis* H37Rv [102] ;
- ✓ D'autres RD supplémentaires ont été découverts, à savoir RD2<sup>seal</sup>, RD1<sup>mic</sup>, RD1<sup>das</sup>, RD1<sup>mun</sup> RD12<sup>oryx</sup> et RD1 BCG, pour distinguer *M. pinnipedii*, *M. microti*, *M. dassiebacillus*, *M. mungi*, *M. orygis* et *M. bovis* BCG, respectivement par rapport à d'autres espèces [201].

Dans une étude récente, Santos et *al.* ont associé la détection du *MTBC* par l'*IS6110* à une identification de l'espèce par amplification de deux régions de la région RD12 [164].

#### 4.3.2.2. MIRU-VNTR (Mycobacterial Interspersed Repetitive Units-Variable Number Tandem Repeats)

C'est une technique qui utilise la totalité du génome, elle consiste à amplifier par *PCR* des locus génomiques qui contiennent des séquences répétées en tandem en nombre variable (*VNTR*) suivant les souches [132], [205], le typage *MIRU-VNTR* peut être effectué à l'aide d'une électrophorèse capillaire et d'amorces *PCR* marquées par fluorescence [206].

Le *MIRU-VNTR* offre un grand nombre d'avantages techniques :

- ✓ capacité discriminante, rapide, facile à réaliser, sensible, hautement reproductible ;
- ✓ peut être réalisée dans le cadre d'enquêtes épidémiologiques, génétiques ou évolutives à grande échelle et la combinaison de cette technique et spoligotypage optimise la discrimination des souches pour la phylogénie et aussi les suivis épidémiologiques [207], [208] ;
- ✓ bonne adéquation entre les parentés génétiques des souches de *M.bovis* [208].

Ces éléments contribueront à une meilleure compréhension de la dynamique d'infection de la tuberculose [132].

#### 4.3.2.3. RFLP ou Restriction Fragment Length Polymorphism

Cette méthode a été considérée comme «le gold standard» parmi les moyens de typage applicables au CMT [209]. C'est une méthode d'empreinte d'ADN est basée sur le polymorphisme généré par la variabilité du nombre de copies et des positions sur le chromosome de la séquence d'insertion *IS6110*.

En effet, la capacité de discrimination de celle-ci est liée au nombre de séquences *IS6110*. Cependant, elle a un faible pouvoir discriminant pour les souches contenant moins de 6 copies *IS6110* tels que les souches *M. tuberculosis* d'origine d'Asie et les souches *M.bovis* (1-5 copies). De plus, cette méthode

nécessite une grande quantité (environ 2 à 10  $\mu\text{g}$ ) d'ADN et demande beaucoup de main-ouvre [210].

Malgré son niveau de discrimination très élevé, cette technique présente des inconvénients tels que :

- ✓ utilisation d'une grande quantité d'ADN nécessitant donc de passer par la culture des mycobactéries jusqu'à plusieurs semaines ;
- ✓ la complexité de la technique ;
- ✓ une très difficile standardisation inter-laboratoire a aussi été observée [211].

#### La détection directe de *M.bovis*

Différentes cibles génétiques spécifiques permettant la détection directe de *M.bovis* ou *MTBC* dans des échantillons de tissu animaux ont été développés pour améliorer le diagnostic de la tuberculose [212].

Parmi ces cibles génétiques nous avons :

- ❖ Un fragment de 12.4 kb absent au niveau du génome *M.bovis* et présent *M.tuberculosis* ce fragment permet de différencier entre les deux génomes [213].
- ❖ Un test *PCR* classique multiplex basé sur trois cibles : l'ADNr 16S spécifique du genre *Mycobacterium*, l'ADNr 23S spécifique des espèces *MTBC* et le gène oxy R de *M.bovis*, ces trois cibles permettant de détecter simultanément *Mycobactérium*, le *MTBC* et de différencier *M.bovis* des autres espèces du *MTBC* [214].

La figure ci-dessous montre un Arbre phylogénétique proposé pour l'évolution des bacilles tuberculeux, illustrant les pertes successives d'ADN dans certains lignages.



La figure ci-dessous représente une PCR positive chez le dromadaire.

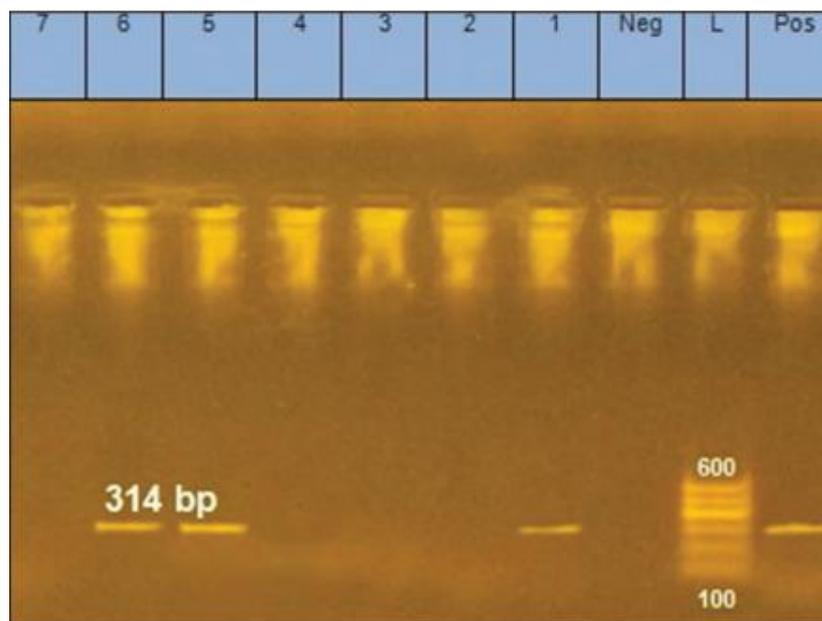


Figure 4.14: Electrophorèse sur gel de *PCR* positive chez le dromadaire [27].

✚ Remarque :

- Aucune analyse de laboratoire n'a une sensibilité ou une spécificité de 100%.
- Certains échantillons permettent l'isolement de mycobactérie mais leur analyse par PCR donne des résultats négatifs (prélèvements paucibacillaires, présence d'inhibiteurs de la polymérase ou absence dans le génome de la séquence recherchée,...).
- D'autres échantillons donnent des résultats positifs en *PCR* sans isolement de mycobactéries (hétérogénéité de la distribution des mycobactéries dans le prélèvement, décontamination trop efficace, détection de génomes bactériens dans les prélèvements précoces au cours de réactivation de tuberculose ancienne avant la détection des bactéries par culture,...).
- Parfois la bacilloscopie et l'histologie seront fortement évocatrices de tuberculose, mais la culture révélera une MOTT).

- L'interprétation doit donc se faire avec prudence en recoupant les données de différentes méthodes d'analyse et en prenant en compte les données épidémiologiques [66].

Le tableau ci-dessous indique différents méthodes de diagnostic de laboratoire de la tuberculose animale.

Tableau.4.4: Tableau synoptique des divers moyens de mise en évidence de mycobactéries dans un prélèvement [16].

<i>Examen</i>	<i>Sensibilité</i>	<i>Résultats</i>
Examen bactériologique direct (Ziehl)	+/-	3 à 24h
Histopathologie	++	5 à 7j
Homogénéisation +concentration Ziehl	++	24 à 48h
Mise en culture sur milieux spéciaux (Après décontamination si nécessaire)	+++++++	10 à 180j
PCR sur broyats	++++	7j
PCR. sur culture en vue d'isolement	++++	14j

*PCR : polymerase chain reaction*

## CHAPITRE 5

### EPIDEMIOLOGIE DE LA TUBERCULOSE CAMELINE

#### 5.1. Epidémiologie descriptive

##### a. Dans le monde

À l'heure actuelle, de nombreux pays en Europe et en Amérique du Nord ainsi que l'Australie sont indemnes de la tuberculose ou proche de son éradication chez le bétail [149]. Chez le dromadaire peu de données publiées sur l'épidémiologie de la tuberculose chez cet espèce, Après la première description de la maladie par Littlewood en 1888 [19]. Ce sont seuls les rapports sporadiques qui ont été documentées, en l'occurrence, ceux établis par MASON en 1912, qui publiait ses observations pathologiques sur une série de 20 cas détectés lors de l'inspection dans un abattoir du Caire [150].

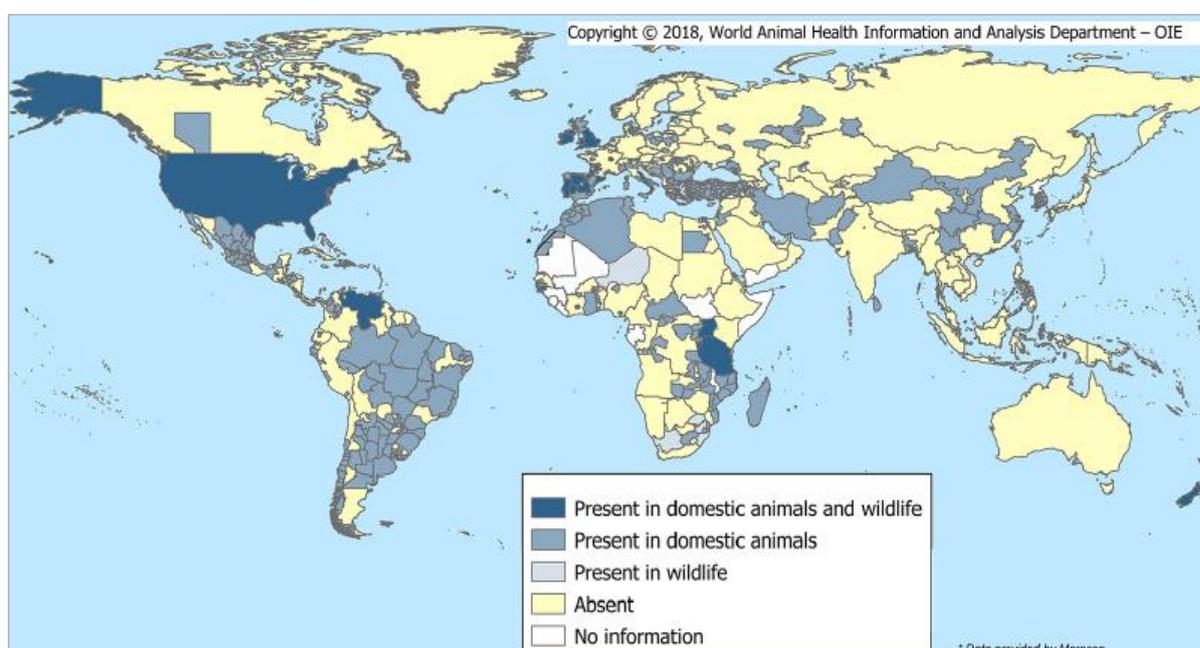


Figure 5.1: Répartition géographique de la tuberculose bovine chez les animaux domestiques et sauvages dans le monde [43].

Ces dernières années de nombreux cas ont été signalés, certains sont associés à une morbidité élevée [41], [40], [217], une des raisons de cette augmentation est que dans le nouveau monde, les camélidés sont de plus en plus élevés dans des zones où la tuberculose est endémique [40], [218], [219].

#### b. En Afrique

L'Afrique est un des continents où la tuberculose à *M. bovis* est la plus répandue, elle demeure un problème majeur de santé publique et vétérinaire surtout au sud du Sahara Africaine, constituant l'une des premières causes des saisies dans les abattoirs, en grande partie alimentés par des bovins issus des élevages transhumants [220].

Cette zoonose a été décrite dans plusieurs pays africains à savoir la Mauritanie, l'Égypte, le Soudan et l'Éthiopie avec des prévalences variables.

#### c. En Algérie

L'Algérie est un pays reconnu infecter par la tuberculose bovine [13]. Alors que la tuberculose cameline n'a jamais été décrite ou documentée dans notre pays car le dromadaire était considéré comme un animal réputé résistant à cette pathologie [211], et l'existence des abattages clandestins complique les études épidémiologiques ainsi que la tâche des pouvoirs publics [221], sans oublier le manque de moyens des services vétérinaires dans les zones rurales accentués à savoir le transport pour le déplacement vers les élevages camelins [222].

### 5.2. Epidémiologie Analytique

#### 5.2.1. Les sources de contagion

Les sources se résument en divers réservoirs d'animaux sauvages qui ont fait l'objet de nombreuses recherches afin de déterminer leur rôle possible dans l'épidémiologie de cette affection [223]. Il a été démontré que les mycobactéries sont capables de survivre pendant de longues périodes, ce qui rend l'infection indirecte dans les champs plausibles, ainsi qu'une possible raison de recrudescence dans les troupeaux [111].

Parmi les sources d'infection on peut citer :

a. Animaux infectés

Bien que la plupart des mammifères domestiqués résistent très bien à l'infection tuberculeuse [224], les animaux infectés (malade ou non) sont les principales sources de contagion de la tuberculose. Le rejet de *M.bovis* est précoce, durable, important (surtout dans la forme ouverte) et irrégulier (l'excrétion varie en intensité dans le temps) [102], les camélidés semblent être très susceptibles au Royaume-Uni [225]. L'infection tuberculeuse peut également être activement introduite en ajoutant un camélidé porteur dans le troupeau [226], pour cela la part de risque de la transmission entre élevages géographiquement proches est plus importante que celle associée à la transmission par le commerce [227]; [228].

Plusieurs études montrent que les camélidés ayant contracté l'infection après avoir été exposés à des bovins ou à des animaux sauvages infectés [4], et l'infection chez cet espèce est souvent causée par les mêmes spoligotypes abondants dans les réservoirs locaux de bovins et d'animaux sauvages, impliquant une source d'acquisition locale [229].

b. Matières virulentes

Elles sont représentées par :

b.1.Les tissus divers :

Les organes et ganglions, le sang, les muscles ou la virulence est conditionnée par deux facteurs ; le premier est la proximité du foyer tuberculeux et le second est la virulence du sang [230].

b.2.Les excréments

Leur rôle est variable selon la localisation du processus tuberculeux parmi ces excréments sont :

- ✓ Le jetage, la salive et les expectorations provoquent la dispersion dans l'atmosphère de gouttelettes contenant quelques bacilles tuberculeux responsables d'une transmission aérienne [231].

- ✓ Les fèces et les urines sont des sources de contagion dans le cas de tuberculose digestive et rénale [232].
- ✓ Le lait et les produits laitiers sont aussi dangereux lors de mammite tuberculeuse. Elle joue un rôle significatif dans la transmission de l'infection aux veaux et à l'homme [231].
- ✓ Les lésions cutanées peuvent parfois constituer des sites riches en bacilles [126].
- ✓ Le sperme n'est virulent qu'en cas de lésion du testicule ou de l'épididyme, ce cas de figure reste très rare, mais n'est pas impossible [47].
- ✓ Les sécrétions utérines sont importantes lors de métrites contagieuses [231].
- ✓ Les sources secondaires de contamination sont présentes dans le milieu extérieur, Cependant, le rôle de ce dernier dans la contagion dépend de la durée de survie des mycobactéries [232].

### 5.2.2. Modalités de contagion

#### 5.2.2.1. Modes de transmission

##### a. Transmission Horizontale

###### a.1. Transmission Directe

La tuberculose cameline a été signalée par la cohabitation du dromadaire avec des bovins tuberculeux (système d'élevage mixte égyptien). Ce facteur peut être généralisé aujourd'hui à la plupart des systèmes transhumants où la mixité des espèces semble redevenir la règle en particulier lors des séjours communs en saison sèche, ainsi qu'aux nouveaux systèmes périurbains plus intensifs (logement) [4].

###### a.2. Transmission Indirecte

Ce mode est fréquent chez le dromadaire lors des pratiques communes d'abreuvement. Aussi par l'intermédiaire des locaux, pâturages, véhicules de transport, aliments (pierre à lécher, front d'ensilage en libre-service), mobilier d'élevage (abreuvoirs, palette d'abreuvoir automatique), eaux contaminées ou des produits d'origine animale virulents [16].

## b.Transmission Verticale

Cependant la tuberculose survient par l'ingestion du lait tuberculeux chez le chamelon [233]. Un cas de tuberculose généralisée, chez un veau nouveau-né âgé de 15 jours soupçonné d'origine congénitale (infection par inspiration du liquide amniotique dans l'utérus) [234]. Ce résultat été rapporté par les scientifiques turcs, mais la transmission verticale n'a jamais été réellement prouvée [36], et d'après *Chamoiseau et coll.* la transmission in utero est absente [36].

### 5.2.2.2. Les voies de pénétration

- Voie respiratoire : est alors décrite comme la voie principale de pénétration chez le dromadaire [60]. L'introduction du bacille se fait par inhalation de microparticules qui se déposent dans les alvéoles où les défenses immunitaires sont les plus faibles et par conséquent où les bacilles vont se multiplier [235], [236].
- Voie digestive : Elle est considérée comme secondaire, avec des formes de lésions méésentériques retrouvées en nombre faible. La contamination s'effectue par ingestion d'aliments, comme le lait, l'herbe contaminée par des doses bacillaires massives [237].
- Autres voies: d'autres voies ont été rapportées, à savoir : la voie vénérienne, cutanée, et conjonctivale [16]

### 5.2.3. Réservoirs animaux

La maladie a été signalée chez beaucoup d'animaux domestiques et sauvages [238], les bovins constituent le réservoir principal de *Mycobacterium bovis* [239], [240], [241].

Des isollements de *M.bovis* ont été faits à partir du dromadaire d'après plusieurs travaux réalisées a travers le monde [9] et serait la mycobactérie la plus fréquemment en cause [36]. Des flambées d'infection à *M. bovis* ont été de plus en plus signalées au cours des dernières décennies, en particulier dans les zones où une prévalence élevée de tuberculose chez les bovins est observée [242], [217], [144].

D'autre mycobactéries ont été isolées chez le dromadaire tel que :

- *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. pinnipedi*, *M. caprae* et *M. Microti* [242], [243], [244], [245].
- Des mycobactéries atypiques ont également été isolées à partir de camélidés; ainsi, *M. kansasii* a été associé à des signes cliniques et des lésions pathologiques similaires à celles de la tuberculose classique [246].

### 5.3. Epidémiologie synthétique

#### 5.3.1. Modalités de contamination d'un élevage

Au sein d'un troupeau, plusieurs mécanismes peuvent expliquer l'origine d'une infection par la tuberculose ; ils sont résumés sur la figure 5.2 et on peut citer trois mécanismes primordiaux de la circulation de *M.bovis* (Figure 5.2).

##### ❖ Introduction

L'introduction d'un animal infecté représente un important facteur de risque d'apparition de la tuberculose dans un cheptel indemne. Cette introduction peut être due à l'achat d'un animal infecté en provenance d'un marché de bétail ou d'une autre ferme d'élevage infecté ou bien au prêt d'un animal tuberculeux [16], [247].

##### ❖ Voisinage

Le voisinage proche (<3 mètres) de pâtures avec des troupeaux ayant été récemment infectés a été identifié comme un facteur de risque [248].

##### ❖ Proximité

La proximité des élevages facilite les contacts entre bovins, qu'ils soient directs (mélanges, divagation et prêts d'animaux), ou indirects (prêts de matériel, partage de points d'eau, épandage sur les pâtures du fumier d'un autre élevage) [249].

##### ❖ Résurgence

La résurgence d'une infection ancienne, c'est-à-dire la réapparition de la tuberculose dans un élevage atteint puis assaini sans nouvelle introduction de *M. bovis* [250].

L'importance respective de chacun de ces mécanismes dépend des conditions épidémiologiques locales [16].

Le délai d'incubation de la maladie, sa variabilité et du mécanisme de propagation dans la population, par la transmission entre les individus; celle-ci est d'autant facilitée que les animaux excréteurs ne sont le plus souvent pas détectés cliniquement et que la transmission aérienne et digestive est d'une redoutable efficacité, conjuguée à la répétition des contaminations résultants de la cohabitation [16].

Les élevages mixtes et les systèmes des puits collectifs utilisés comme source d'abreuvement chez le dromadaire favorisant l'apparition de la maladie [164] et l'évolution de cette dernière peut être explosive, à la suite de la contamination d'un grand nombre d'animaux à une source commune particulièrement contagieuse [16].

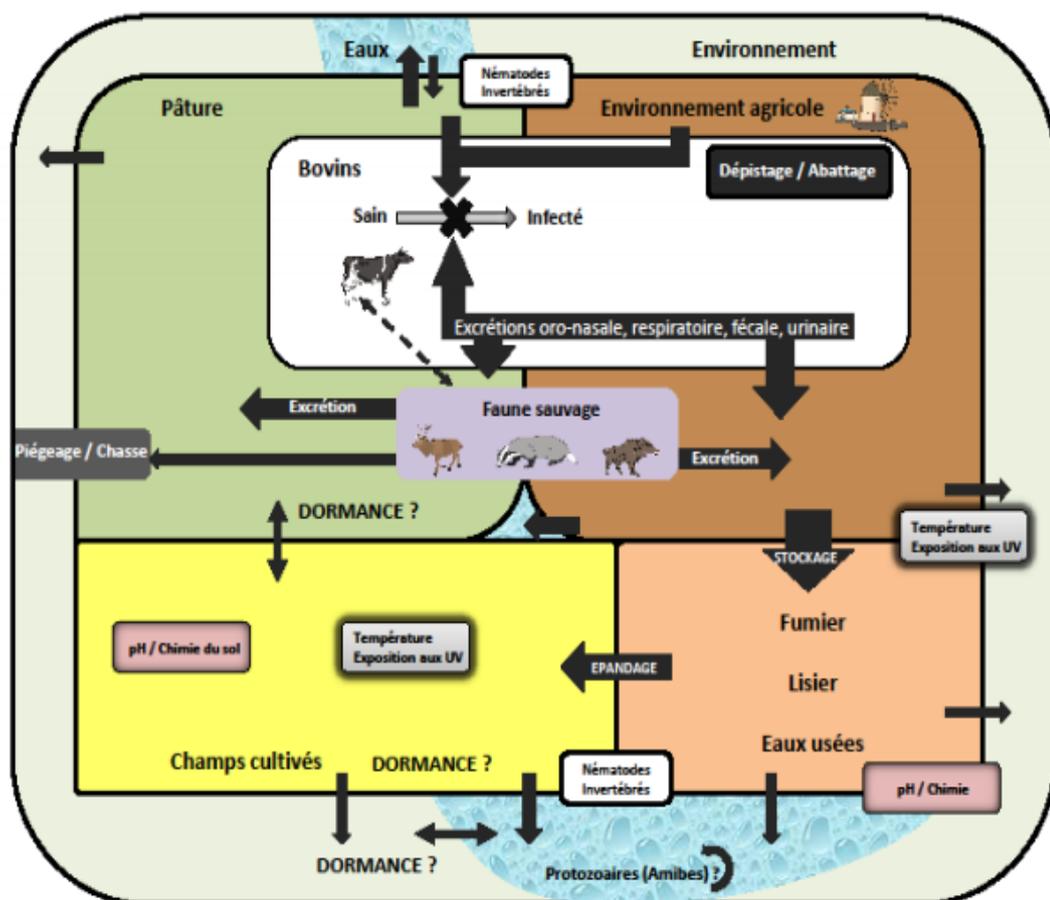


Figure 5.2: Représentation schématique de la circulation de *M. bovis* dans l'environnement agricole [251].

### 5.3.2. Mode de transmission

L'agent responsable de la maladie est dans la majorité des cas *M. bovis*, sa pénétration dans l'organisme animal peut se faire par contact direct entre l'animal malade et ceux étant en bonne santé. Les animaux infectés exhale les bactéries en respirant, en toussant ou en éternuant [5].

Les dromadaires d'élevage et à proximité des bovins, qui sont principalement touchés par *Mycobacterium bovis* [16], [38].

La transmission de ce dernier entre animaux se produit principalement par aérosols, contact direct, partage du même aliment, eau et allaitement [91], les dromadaires librement dans la zone de pâturage où les gazelles du désert et le nilgai ou le taureau bleu (*Boselaphustrago Camelus*) sont en abondance, ils peuvent être infecté par les excréments de gazelles du désert malades agissant comme une source d'infection car le dromadaire est de nature coprophage [22].

D'autres modalités de transmission peuvent exister [252] :

- ✓ L'introduction d'animaux porteurs (IDR négatif) de temps à autre dans un troupeau soumis à des programmes d'amélioration peut être une autre source d'infection [22] ;
- ✓ contact direct entre des tissus infectés et une peau lésée ;
- ✓ voie digestive, notamment par consommation de lait cru, de viande ou d'abats contaminés (voie orale) [253] ;
- ✓ cette maladie est transmise à l'homme par inhalation d'aérosols contaminés (voie respiratoire) ou par ingestion de lait cru ou produits laitiers non pasteurisés [46].

## **CHAPITRE 6**

### **TRAITEMENT ET PROPHYLAXIE**

Dans la plupart des pays d'Afrique, la tuberculose cameline reste répandue et les mesures préventives tel que les activités de surveillance à savoir l'abattage des animaux infectés et la pasteurisation du lait ne sont pas largement pratiqués [254]. Pour cela la mise en œuvre des mesures appropriées est une condition essentielle pour prévenir et maîtriser cette zoonose à sa source animale et empêcher sa transmission à l'homme ou entre animaux [255].

#### **6.1. Traitement**

En médecine vétérinaire, on ne traite pas la tuberculose ; les animaux malades ou infectés doivent être isolés et abattus. En effet, la guérison bactériologique en matière de tuberculose n'est jamais sûre et le traitement ne donne aucune garantie vis-à-vis de la transmission à l'Homme ; bien qu'il y ait des rapports de médicaments anti-tuberculose qui peuvent être utilisés chez les animaux sauvages en captivité [256].

Une étude réalisée sur 17 chameaux ou le traitement prophylactique de ces derniers était basé sur l'isoniazide incorporé dans des aliments en granulés à une dose de 2,4 mg / kg, administré à volonté, le résultat de cette étude est que plusieurs chameaux sont morts probablement en raison de la toxicité de l'isoniazide [138].

Par ailleurs, c'est très loin de réaliser le traitement de la tuberculose à cause de sa longueur, de son coût, de son caractère astreignant s'ajoutent les risques de rechutes (donc de contagion), donc aucun traitement de la tuberculose ne doit être entrepris car outre la difficulté, voir l'impossibilité de stabiliser l'organisme ce qui assure la conservation des porteurs de germes en source de contamination pour l'homme et les animaux [257], [258].

## 6.2. Prophylaxie

Chez l'animal la prophylaxie de la tuberculose doit se préoccuper de toutes les espèces pouvant servir de relais à la contagion, donc elle est fondée sur l'application de mesures exclusivement sanitaires [16].

Il est devenu évident que tout programme de contrôle de la tuberculose cameline basé uniquement sur le *TST* fait face à de sévères limitations [136].

Cependant, il est difficile de suivre les dromadaires car le test intradermique à la tuberculine et le test d'interféron gamma ne sont pas fiables chez cette espèce [4].

La prévention et la lutte contre la tuberculose chez les animaux d'élevage et les espèces sauvages dépendent de la détection et de l'élimination par l'abattage des animaux infectés [4].

L'emploi de la vaccination (BCG) est strictement interdit. Elle a été utilisée dans le passé, en particulier chez les bovins, avec des résultats pas trop encourageants car :

- ✓ Elle sensibilise les animaux qui fournissent une réponse positive à la tuberculination ;
- ✓ Elle réduit le risque d'infection sans le supprimer;
- ✓ Les propriétaires sachant leurs animaux vaccinés négligent les prescriptions sanitaires favorisant ainsi leur contamination [259].

L'immunité n'étant que partielle et relative, il apparaît extrêmement dangereux, pour des raisons épidémiologiques et hygiéniques, de prescrire chez l'animal une vaccination contre la tuberculose [16].

A partir des différents principes épidémiologiques se sont émergées les mesures suivantes:

- ✓ mise en quarantaine et contrôle des animaux introduits (examen clinique et tuberculination);
- ✓ éviter le contact avec des lots de bovins reconnus infectés ou d'état sanitaire inconnu ou à risque ;
- ✓ un cheptel assaini est toujours exposé à un certain risque de résurgence [260].
- ✓ pour cette raison, tout élevage reconnu infecter de tuberculose doit faire l'objet d'une surveillance rapprochée [126].

D'autres mesures à établir tel que :

- ✓ Déterminer l'origine de la contamination ;
- ✓ L'importance d'effectuer des examens bactériologiques ;
- ✓ Etablir des enquêtes épidémiologiques (origine des animaux infectés, nourriture, déchets d'abattoirs) [16].

## CHAPITRE 7

### GENERALITES SUR LE DROMADAIRE

En valorisant au mieux les espaces pastoraux en territoire saharien, le dromadaire est par excellence l'unique espèce à s'adapter à la rudesse écologique locale et demeure le seul animal convertisseur d'une végétation maigre en produits vitaux [261].

Pour cela sa présence dans les zones sahariennes a un rôle très important, vu sa grande capacité de transformation des ressources alimentaires médiocres (plantes halophytes et épineuses) en produits comestibles (lait et viande) qui sont souvent inexploitable par les autres espèces animales domestiques [262].

Cet animal a un intérêt particulier, pouvant vivre, se reproduire et produire malgré les conditions de sécheresse, au même titre que d'autres ruminants. Ses productions, sa contribution aux ressources, son lait, sa viande et son travail sont très appréciés par son éleveur [263].

Officiellement, la grande majorité de la population cameline (84%) sont des dromadaires (*Camelus dromedarius*), le reste (6%) est des chameaux (*Camelus bactrianus*) occupant les régions froides de l'Asie [264]. Ces deux espèces sont différentes morphologiquement (une ou deux bosses) mais on considère que *Camelus dromedarius* et *Camelus bactrianus* sont deux sous-espèces d'une espèce unique [265].

En Algérie, les dromadaires sont d'origine nord-américaine, puis rentré en Afrique, où ils ont survécu pour donner naissance aux espèces modernes [266].

Le nom dromadaire est dérivé du dromos (route ou chemin en grec) pour ce qui concerne son utilisation dans le transport [267]. Sa hauteur peut atteindre jusqu'à 2,25m, son poids entre 450 et 900kg [268]. Alors que l'espérance de vie du chameau est estimée à 100 ans, celle du dromadaire n'est que de 35 à 40 ans et rarement 50 ans [269].

D'après des études cytologiques, les espèces camelines sont très proches génétiquement les unes des autres avec 37 paires de chromosomes ( $2n = 74$ ).

Mais les formes de ce chromosome diffèrent d'une espèce à l'autre, avec trois groupes de forme [270], [271].

L'hybridation entre Bactriane et dromadaire est fréquente dans le sud du Kazakhstan où la cohabitation entre Bactriane, dromadaire et hybrides peut exister au sein d'une même exploitation.

Selon le type d'hybridation, on distingue au Kazakhstan, une grande variété d'hybrides possédant différents signes phénotypiques, parmi ces types d'hybrides, il y a la race kazakhe, cette dernière est distinguée depuis le 19ème siècle par la sélection traditionnelle locale visant à choisir les animaux les plus « enveloppés » pour la reproduction [272].

### 7.1. Taxonomie

Les camélidés sont des mammifères vertébrés ongulés, ils appartiennent à l'embranchement des vertébrés, classe des mammifères ongulés et sous classe des placentaires [273], [274], [275], appartenant à l'ordre des artiodactyles sous-ordre des tylopodes [276]. Cette dernière ne comporte que trois genres (Camelus, Lama et Vicugna) [277].

#### 7.1.1. Genre Camelus

Ce genre *Camelus* occupe les régions désertiques de l'Ancien Monde (Afrique, Asie et Europe), il comporte deux espèces:

- *Camelus dromedarius* (dromadaire à une seule bosse), C'est un tylopode, digitigrade, herbivore et ruminant [263].
- *Camelus bactrianus* (chameau de Bactriane à deux bosses) vivants en Afrique et en Asie.

Le tableau ci-dessous représente la taxonomie du dromadaire.

Tableau 7.1 : Classification zoologique du dromadaire [276].

<b>Taxonomie</b>	
Règne	Animal
Embranchement	Vertébrés
Classe	Mammifères
Sous classe	Placentaires
Ordre	Artiodactyles
Sous ordre	Tylopodes
Famille	<i>Camelidae</i>
Genre	<i>Camelus</i>
Espèce	<i>Camelus dromedarius</i>

### 7.1.2. Genre Lama

Il est spécifique au nouveau monde, plus spécifiquement dans les Cordillères des Andes (Amérique du sud), ce genre comporte trois espèces (Cf.figure 7.1):

- ✓ *Lama glama* (lama) ;
- ✓ *Lama guanicoe* (guanaco) ;
- ✓ *Lama pacos* (alpaga ou alpaca).

### 7.1.3. Genre Vicugna :

Il comporte une espèce nommée *Vicugna vicuna* (vigogne) vivant en Amérique du sud [277].

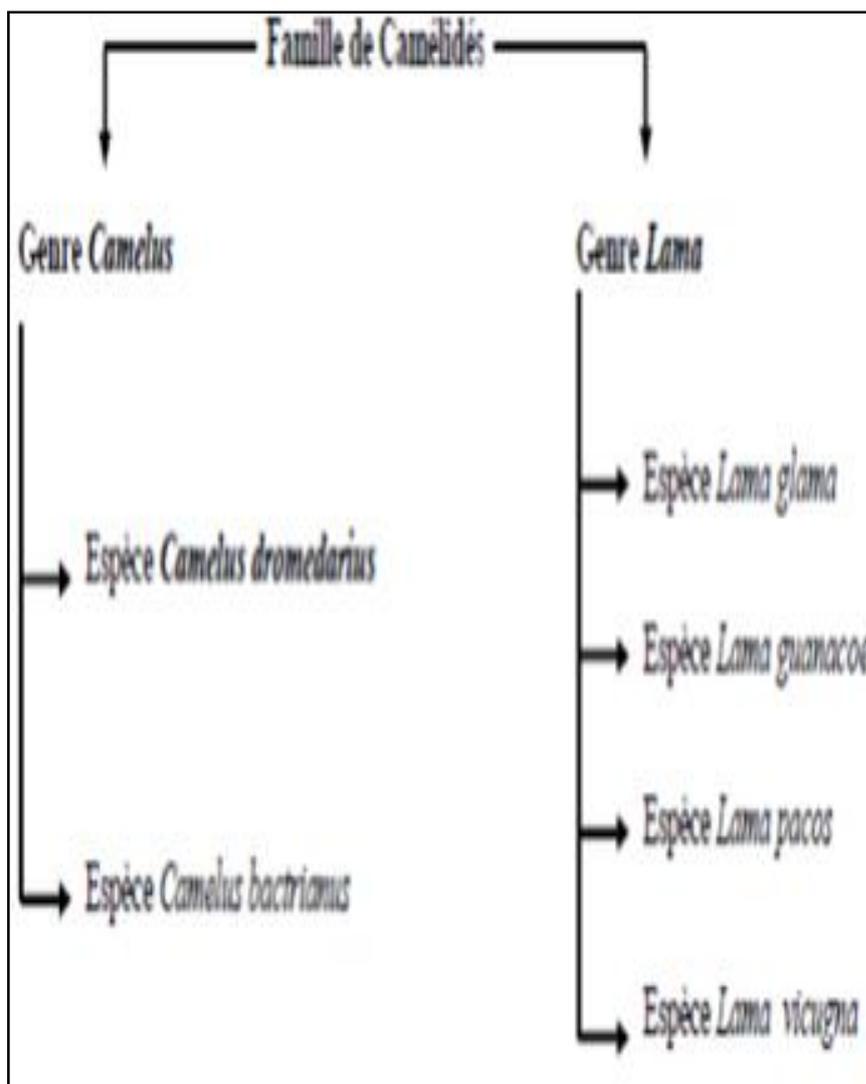


Figure 7.1 : Systématique des Camélidés [263].

Les différentes espèces des camélidés sont représentées dans la figure 7.2.

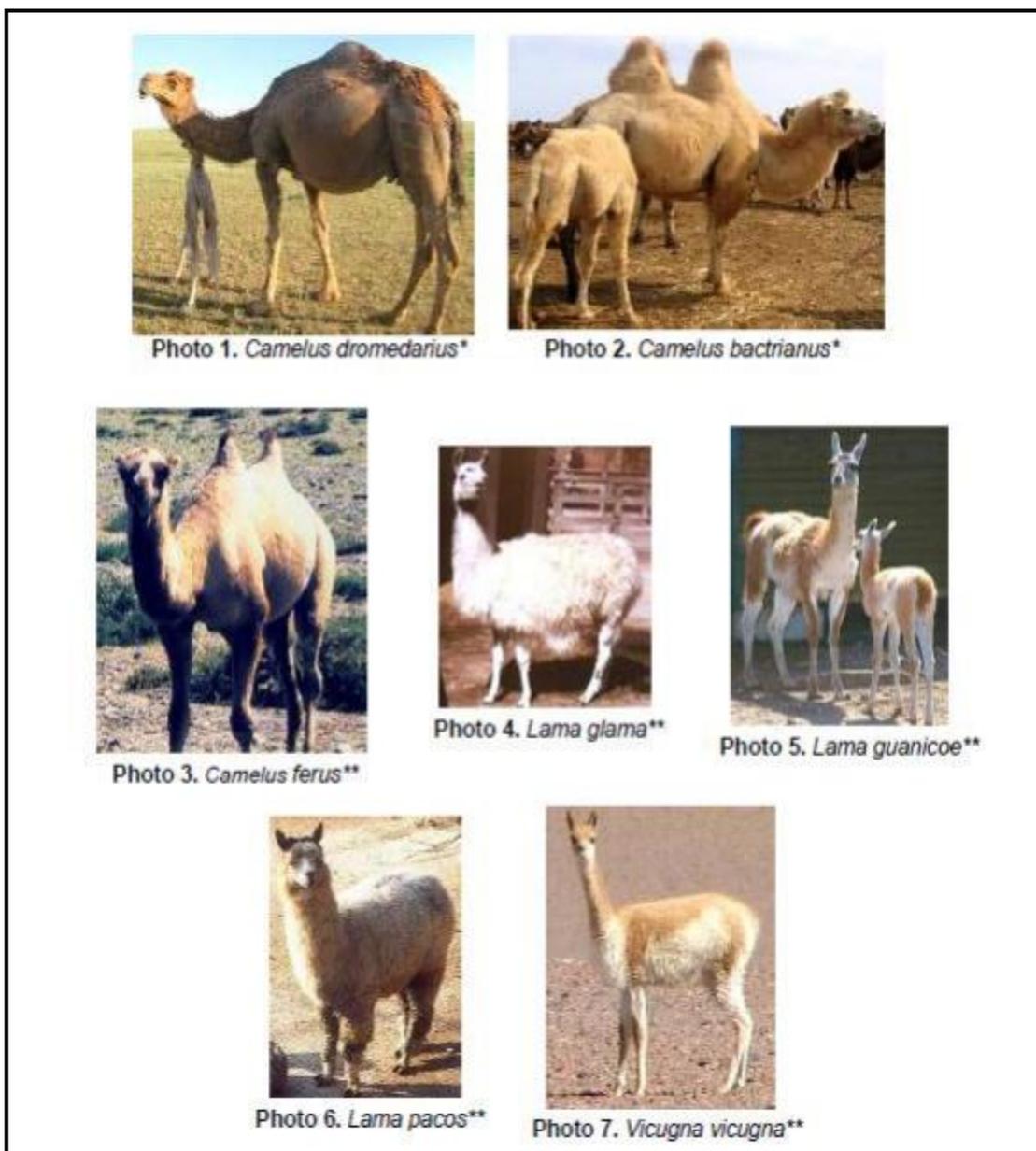


Figure.7.2 : Différents espèces des camélidés [272].

## 7.2. Répartition géographique du dromadaire

### ❖ l'échèle mondiale

La population cameline occupe une place très importante en Afrique, au Moyen-Orient et dans le subcontinent indien [278], avec de nombreuses tentatives d'introduction du dromadaire dans d'autres régions du monde ont été réalisées au cours des siècles, à savoir, l'Afrique du sud, l'Amérique du sud, l'Australie, le Sud-

Ouest des Etats Unis, les caraïbes et même l'Europe [263], mais les seuls véritables réussites se résument aux Iles canaries et l'Australie.

Selon Faye et coll. la croissance des effectifs camelins n'est pas uniforme dans tous les pays [279] et cinq (5) types de tendances sont distingués:

- ✓ Pays à forte croissance récente (Algérie, Tchad, Mali, Mauritanie, Oman, Qatar, Syrie, Émirats arabes unis, Yémen, Ethiopie et Erythrée) ;
- ✓ Pays à croissance régulière (Bahreïn, Burkina Faso, Djibouti, Egypte, Iran, Kenya, Niger, Nigéria, Pakistan, Arabie saoudite, Somalie, Soudan, Tunisie et Sahara occidental) ;
- ✓ Pays ayant un nombre stable (Liban, Libye et Sénégal) ;
- ✓ Pays avec une diminution du nombre de dromadaires (Afghanistan, Chine, Inde, Jordanie, Mongolie et ex-URSS) ;
- ✓ pays, à haut déclin du nombre de dromadaires (Irak, Maroc et Turquie) [279].

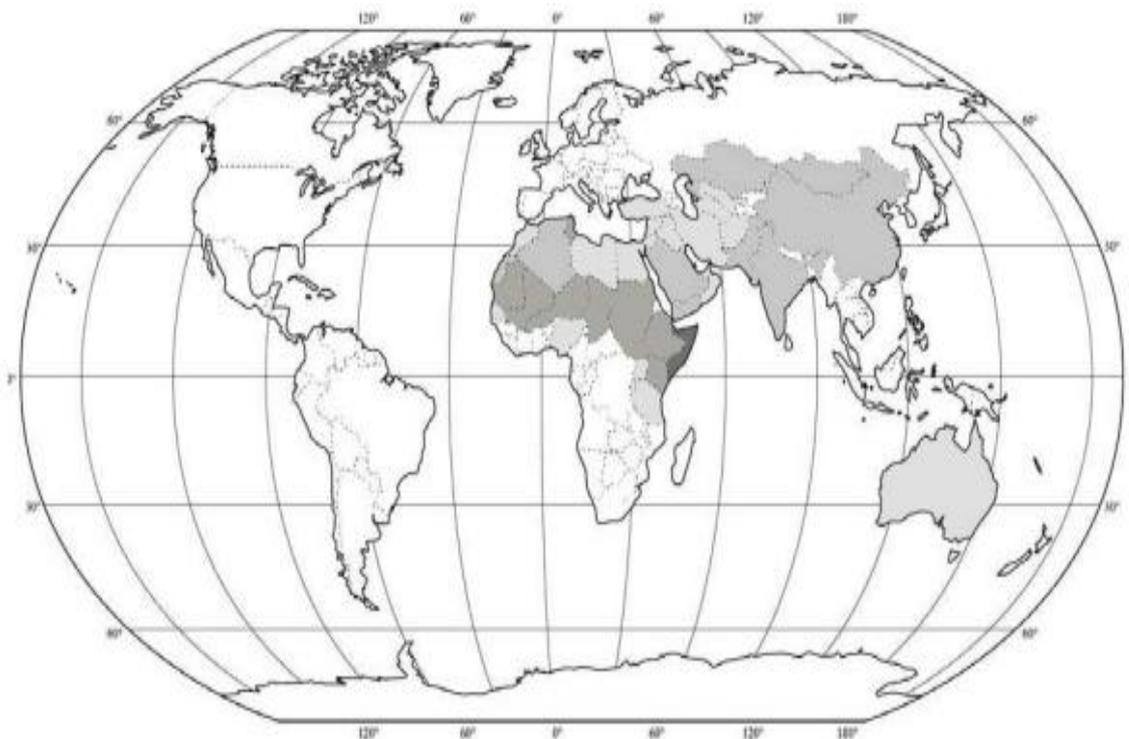


Figure 7.3 : Aire de dispersion du genre *Camelus* dans le monde, (la couleur foncée indique une grande population cameline) [280].

❖ En Algérie

Le dromadaire est présent dans 17 Wilayas (8 sahariennes et 9 steppiques). Le cheptel camelin est réparti sur trois principales zones d'élevage : le sud est, le sud-ouest et l'extrême sud avec respectivement 52 %, 18 % et 30 % de l'effectif total [281], [264] et d'après Senoussi et coll. 83% sont cantonnés dans 8 wilayas sahariennes en Ouargla, Ghardaïa, El-Oued, Tamanrasset, Illizi, Adrar, Tindouf et Béchar et 17 % dans 9 wilayas steppiques, à savoir Biskra, Tebessa, Khenchela, Batna, Djelfa, El-Bayad, Naâma, Laghouat et M'sila [11].

7.3. Effectifs des camelins

✓ Dans le monde

Il est difficile de déterminer exactement le nombre de dromadaire dans le monde tout d'abord, parce qu'il s'agit principalement d'un animal de populations nomades qui se déplacent fréquemment, de plus ces animaux ne sont généralement pas soumis à la vaccination obligatoire. Un total de 25,89 millions de chameaux a été estimé dans le monde par la FAO où 89 % de cette population sont représentés par les dromadaires alors que le reste est représenté par les chameaux [282], [283]. Près de 80 % de la population de dromadaires se situe en Afrique où l'essentiel des effectifs est concentré dans les pays de la Corne (Somalie, Ethiopie, Djibouti, Kenya, et Soudan) qui abritent environ 60 % du cheptel camelin mondial [284].

La Somalie, à elle seule, avec ses 6 millions de dromadaires, possède près de 50 % du cheptel africain, ce qui lui vaut vraisemblablement l'appellation de "pays du chameau" [284], suivie du Soudan avec 20% et du Kenya avec 12%.

Le tableau ci-dessous représente l'effectifs des camélidés dans le monde.

Tableau 7.2 : Effectifs des camélidés dans le monde [285].

Rang	Pays	Production (par têtes)
1	Somalie	7150000.0
2	Soudan	4792000.0
3	Kenya	2937262.0
4	Niger	1720185.0
5	Tchad	1550000.0
6	Mauritanie	1525000.0
7	Ethiopie	1164100.0
8	Pakistan	1015000.0
9	Mali	998500.0
10	Yémen	460000.0
14	Algérie	354465.0

✓ En Algérie

L'Algérie est classée parmi les pays dont l'effectif camelin connaît une croissance élevée récente [286].

L'effectif camelin algérien a été estimé par la FAO à 345000 têtes jusqu'à l'année 2013, ce chiffre situe tout de même l'Algérie au 14ème rang mondial et au 6ème rang du monde arabe, alors que durant ces dernières années, les effectifs camelins ont connu une évolution très nette avec une augmentation allant jusqu'aux 379094 têtes en 2016 [286].

Ceci s'explique probablement par la démarche adoptée par l'état pour le soutien et le développement de l'espèce depuis la fin des années 1990. Cette démarche consiste en une prime à la naissance, ce qui a obligé les chameliers à déclarer

avec exactitude leurs effectifs [287]. La figure ci-dessous représente l'évolution des effectifs camélins en Algérie pendant la période 1961-2016.

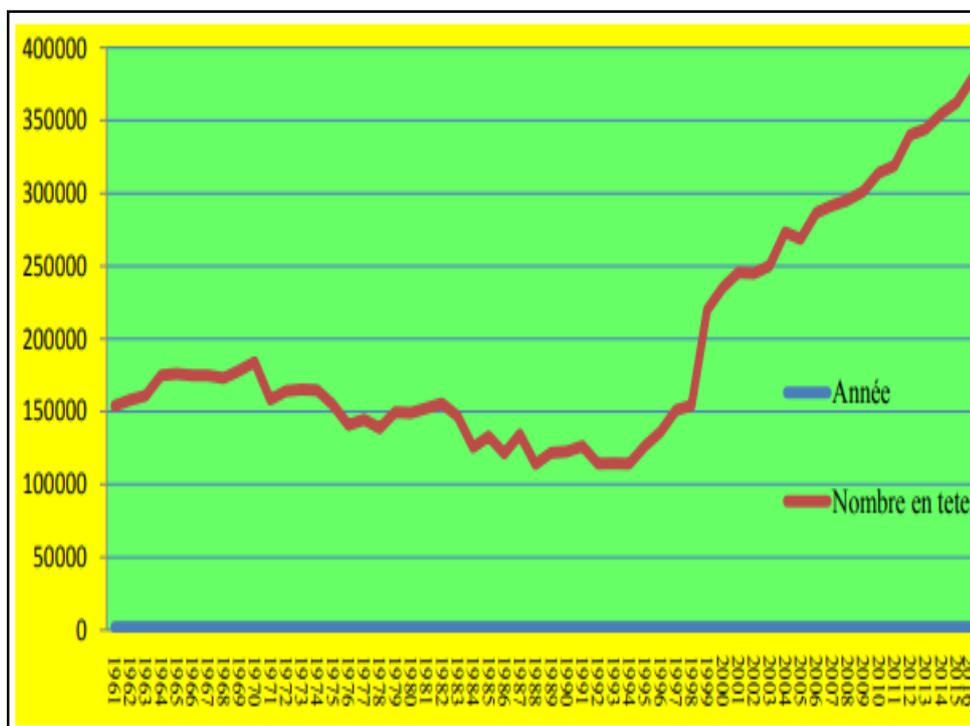


Figure 7.4: Evolution des effectifs camélins en Algérie [11].

#### 7.4. Populations de dromadaire en Algérie

Les populations camelines algériennes sont mal décrites et les seules indications étaient fondées sur des études réalisées pendant la période coloniale [288], [289]. Contrairement aux autres espèces domestiques, notamment dans les régions tempérées, les races de dromadaires sont vraisemblablement plus proches des populations naturelles que de produits issus des sélections raisonnées.

De nouveaux travaux parlent aussi de population cameline et non pas de race, car cette dernière ne se base pas sur des critères scientifiques génétiques, et le nom des populations attribué à des groupes d'animaux varie en fonction des pays et des ethnies qui vivent dans ces zones [290], [291].

Parmi ces populations [265] :

➤ Dromadaires des steppes

C'est un dromadaire commun, petit bréviligne. Il est utilisé pour le nomadisme rapproché [292]. Cette population cameline se caractérise par la quantité et la qualité de poils produits par rapport aux autres populations algériennes. Son aire de répartition s'étend entre le Sahara septentrional et la steppe.

➤ Ouled Sid cheikh

C'est un animal assez grand de taille moyenne variant entre 1.80 m et 1.83 m. Ces animaux sont robustes et plus adaptés aux sols caillouteux qu'aux sols sablonneux [265]. C'est un animal de selle ou de bât [292]. Les poils sont de couleur foncée. Son aire de répartition se trouve au niveau de la zone des Hauts plateaux dans le Nord du Grand Erg Occidental.

➤ Chaambi

Les individus de cette population sont de très bons animaux de selle et de transport, ils sont robustes, possèdent une grande musculature et un fort squelette osseux. Sa hauteur à l'épaule peut atteindre 1.65 m. Ces animaux présentent généralement des poils courts et de couleur foncée. Leurs aire de répartition est très vaste. Il est localisé entre les deux Grands Erg (Occidental et Oriental) [265].

➤ Sahraoui

C'est le résultat du croisement de la race Chaambi avec celle d'Ouled sidi cheikh. Dromadaire d'une hauteur et d'une largeur moyenne, robuste et résistant. Sa taille est de 1,85 m environ. Les poils ont une longueur moyenne parfois courte et ondulée avec une couleur foncée. On trouve ces animaux entre le Sahara Centrale et le Grande Erg Occidental.

➤ Ait khebache

Animaux robustes généralement forts, présentant des muscles bien développés avec des poils courts et ondulés et une couleur foncée. On le trouve dans le Sud-ouest du pays.

➤ Reghibi

Animaux de selle et de course, de taille moyenne, et les femelles sont des bonnes laitières par rapport aux autres populations camelines de l'Algérie. Ils se localisent au Sahara Nord Occidental.

➤ Barbari

Très proche du Chaambi et d'Ouled Sidi Cheikh, c'est un dromadaire de forme fine, avec une arrière main bien musclée, rencontré surtout dans les zones sahariennes et telliennes [292].

➤ Targui (race des touaregs du Nord)

Ce sont des animaux habitués aussi bien au rude climat du tassili et du massif central du Hoggar, qu'au sable et aux Tanezrouft qui entourent leurs montagnes, C'est un animal longiligne, de deux mètres de haut, énergique, noble et élégant. C'est un excellent Méhari, animal de selle par excellence souvent recherché au Sahara comme reproducteur. Il est réparti dans le Hoggar et le Sahara Central, on le retrouve aussi dans d'autres pays tels que le Niger et le Mali qui apprécient pour ses qualités [292].

➤ Ajjer

Dromadaire bréviligne de petite taille adapté à la montée. Bon marcheur est utilisé pour le transport et le tourisme. Il est présent dans le Tassili d'Ajjer [292].

➤ Afouth

Il est utilisé comme un dromadaire de trait et de bât. On le trouve dans la région de Tindouf et Bechar. Le terme *Aftouth* est un terme générique qui regroupe plusieurs types de dromadaires de la région du Sahara occidental et se caractérise par une grande variété de la couleur de robe allant de jaune clair à presque noir [292], [293].

La plus grande concentration du dromadaire en Algérie se trouve dans les wilayas frontalières du Sahara central (figure 7.5).

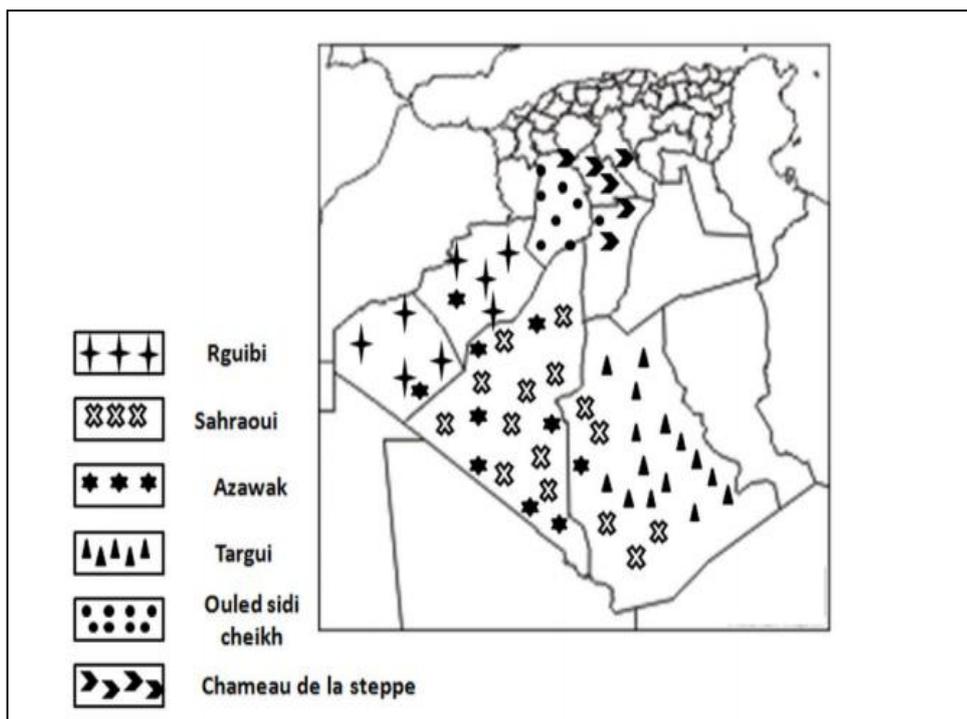


Figure 7.5 : Localisation des principales populations camelines en Algérie [294].

### 7.5. Système d'élevage des dromadaires en Algérie

En grand terme, il existe deux modes d'élevage: l'élevage en extensif (communément suivi, pratiqué dans des parcours et des vastes superficies et qui se base sur la végétation naturelle) et l'élevage en intensif (en limitation et qui se base sur l'utilisation des complémentations alimentaires). A la limite de ces deux modes s'ajoute un autre système d'élevage, c'est le mode semi-intensif [295].

#### ❖ Nomadisme

Les pasteurs nomades n'ont pas d'habitats fixes permanant et toute la famille suit les déplacements du troupeau, parfois sur de longues distances (des centaines de kilomètre). Ils se déplacent à la tête de troupeau, considérables pour certains, dont ils ne sont pas toujours propriétaires mais gardiens. Ces systèmes d'élevage compte plusieurs problèmes tels que les accidents de la circulation routière ; la commercialisation de cette richesse sans contrôle vers les payes voisins ; l'abattage non contrôlé ; l'absence de suivi sanitaire ; l'intoxication par les déchets des entreprises pétrolières ; l'exposition aux chiens errants ; les conflits

avec les nouvelles exploitations agricoles qui sont installées dans le cadre de la mise en valeurs des terres agricoles [296].

#### ❖ Transhumance

La transhumance fait référence à une pratique de déplacement des troupeaux, saisonnier, pendulaire, selon des parcours bien précis, répétés chaque année. Elle existe sous diverses modalités et au sein de différents types de systèmes d'élevage pastoral en fonction des objectifs donnés par les éleveurs. Parfois, les routes de transhumance sont modifiées chaque année, en fonction de la disponibilité en pâturage et des conditions d'accès aux ressources.

Le système transhumant est extensif basé sur l'utilisation presque exclusive des ressources des parcours et le troupeau sont souvent confiés à des bergers. Le savoir-faire du berger est basé sur la tradition, ce qui est un atout en termes de connaissance d'utilisation du milieu naturel, mais qui est insuffisant en termes de zootechnie. Les problèmes sont donc liés à l'insuffisance ou à la baisse de qualité saisonnière des disponibilités fourragères, ou au défaut de suivi du troupeau, sur le plan de l'alimentation, de la reproduction et de la santé [271]; [295].

#### ❖ Sédentaires

L'élevage sédentaire indique que les troupeaux se déplacent, souvent sur de longues distances, mais qu'ils reviennent chaque soir au village. Ce système semble se développer ces dernières années, suite à l'augmentation des prix des viandes rouges et a été signalé particulièrement chez les éleveurs du chott El Hodna [296]. Compte tenu des zones écologiques dans lesquelles il vit, les deux derniers systèmes sont de loin les plus fréquents avec toute fois prédominant.

### 7.6. Importance et rôle des dromadaires

Le dromadaire joue un rôle socio-économique particulièrement important au sein de la population steppique et désertique [297]. Et l'élevage du dromadaire dans le monde est orienté vers son utilisation pour le transport, la production de viande, de peau et surtout de lait [298]. En Algérie, l'élevage du dromadaire est surtout orienté vers la production laitière. Le lait produit est généralement consommé à l'état cru ou fermenté, ou sert pour sevrer les jeunes chamelons

[299]. Ce dernier possède des qualités diététiques, nutritionnelles, voire « thérapeutiques » [300], [301]. De même que la viande de dromadaire, réputée pauvre en cholestérol [302], et riche en méthionine [303]. Le tableau ci-dessous représente l'intérêt socioéconomique du dromadaire.

Tableau 7.3 : Intérêt socioéconomique du dromadaire [304].

Produits	Intérêt
Viande	Le dromadaire possède un potentiel pour la production d'une viande de qualité qui pourrait satisfaire les besoins alimentaires des populations des régions du sud, sachant que la croissance pondérale des chamelons est de l'ordre de 190 à 310 g par jour au cours de la première année.
Lait	Les chamelles laitières sont caractérisées généralement, par une production laitière supérieure à 2500 litres/lactation. La production journalière moyenne s'élève à 2 à 6 litres en élevage extensif, et à 12 à 20 litres en élevage intensif.
Dromadaire à vocation mixte	Ces animaux peuvent produire une quantité importante de lait (1000-1500 kg/lactation). Ils ont aussi une croissance relativement élevée
Laine et cuir	Le poil du jeune dromadaire est le plus recherché, sa qualité étant supérieure à celle de l'adulte. Le cuir du dromadaire est de faible valeur commerciale, cependant c'est un produit utile dans la sellerie et la fabrication de lanières. Il peut produire 3 kg de toison.
Travail	Les performances du dromadaire comme animal de bât sont bien connues, ce dernier se déplace lentement, à une vitesse comprise entre 4 et 5 km/h, voire moins en fonction, Il est capable de marcher 40 à 50 km par jour.
Source de sport et de loisirs	Le dromadaire figure toujours en bonne place dans tous les aspects de la vie sociale des nomades (fêtes, jeux, mariages. des courses sont organisées au cours desquelles le dromadaire fait preuve de performances importantes).

### 7.7. Contraintes de santé liée à l'élevage camelin

Plusieurs contraintes de santé ont été signalées en Algérie tel que :

- Les années de sécheresse prolongée a eu des conséquences néfastes sur les animaux (amaigrissement, non-résistance aux agents pathogènes).
- Le nombre de vétérinaires affectés qui reste au dessous des normes nationales (à titre d'exemple, le calcul ratio donne un vétérinaire pour 3750 dromadaires dans la région de Tindouf) et en l'absence de vétérinaires spécialisés en pathologie cameline.
- Le peu d'encadrement existant est concentré dans les chefs-lieux de Wilaya (inspections vétérinaires), avec des moyens souvent très limités (absence de moyens de transport appropriés) [287].

Tous ces facteurs rendent difficile la mission des inspections vétérinaires qui se voient ainsi réduite à des campagnes de vaccination sporadiques aux quelles n'adhèrent que très peu d'éleveurs, mais cette contrainte ne semble pas trop inquiéter les chameliers qui comptent sur leur savoir-faire, ayant recours aux traitements empiriques [305].

### 7.8. Les maladies les plus rencontrés chez le dromadaire

Les références relatives à la pathologie cameline représentent 25 % et celles concernant l'élevage et la zootechnie à peine 20 %. Cette situation peut s'expliquer par des considérations économiques et certaines contraintes matérielles [306].

Le dromadaire est adapté aux climats arides, dispose de particularités physiologique, biologique et métabolique qui lui confèrent une légendaire réputation à survivre dans les conditions extrêmes des milieux désertiques considérées restrictives pour les autres ruminants [307]. L'incroyable résistance de cet animal à l'environnement rude du désert a fait l'objet d'une étude qui s'est penché sur ce sujet, qui par la suite a réussi à identifier des gènes clés impliqués dans l'adaptation du dromadaire à l'environnement du désert. Cette découverte peut avoir des applications dans les programmes de sélection et peut fournir des perspectives pour la recherche à la résistance aux maladies [308].

La connaissance des pathologies de cette espèce repose essentiellement sur des observations ponctuelles relevées dans les abattoirs, dans les cabinets vétérinaires et/ou dans les parcoures (lieu d'élevage). Chez le dromadaire, à l'instar d'autres animaux domestiques, les maladies respiratoires sont fréquemment décrites et leur étiologie est également variée (virus, bactéries, parasites, champignons) [307].

Les maladies parasitaires sont les pathologies les plus fréquentes chez le dromadaire, la trypanosomose est la première maladie du dromadaire. Ils sont également sensibles à d'autres maladies infectieuses telles que la fièvre charbonneuse, la brucellose, la septicémie hémorragique, la peste à *Yersinia pestis*, la salmonellose, **la tuberculose**, la paratuberculose, la leptospirose, les infections à Staphylocoques, la fièvre Q et la rage [309].

Il résulte que les maladies camelines sont essentiellement traitées par des méthodes traditionnelles, à cause du déplacement permanent des cheptels camelins et l'éloignement des services vétérinaires.

# PARTIE EXPERIMENTALE

## **CHAPITRE 8**

### **ETUDE EXPERIMENTALE**

La tendance à la sédentarité de nos élevages camelins associée à leur cohabitation avec d'autres espèces animales telles que les ovins, caprins et surtout bovins, pourrait favoriser l'apparition et l'extension de la tuberculose chez le dromadaire. Nous avons mené cette étude pour confirmer ou infirmer la présence de cette affection dans le cheptel camelin Algérien au niveau de trois grands abattoirs de la région sud ayant en recours à des examens de laboratoire nécessaires pour obtenir un diagnostic de certitude, pour cela nous nous sommes assainiés les objectifs cités ci-dessous.

#### **8.1. Objectifs**

Notre étude vise à une étude prospective transversale de type descriptive, sur la tuberculose chez le dromadaire et devant le besoin d'élargir nos connaissances sur cette maladie, nous avons fixé les objectifs suivants :

- Déterminer la prévalence de la tuberculose cameline dans la zone d'étude ;
- Mettre en évidence des facteurs de risque de cette pathologie ;
- Isoler les agents responsables de cette affection ;
- Identifier des souches isolées par les outils moléculaires.

#### **8.2. Cadre d'étude**

Dans le cadre de la réalisation des différents travaux de notre thèse, plusieurs établissements ont été sollicités :

- ✚ Les abattoirs des trois wilayas (Ghardaïa ; Ain Salah; El Oued) de la région sud de l'Algérie, pour la recherches des lésions suspectes de tuberculose cameline.
- ✚ Laboratoire de mycobactériologie de l'Institut Pasteur d'Alger situé au niveau de la rue 01 du Dr Laveran - El Hamma - Alger où nous avons effectué le diagnostic bactériologique sur les échantillons suspects de tuberculose cameline.

- ✚ Laboratoire de microbiologie et biotechnologie médicale de l'université: « Acibadem Mehmet Ali Aydinlar University » situé en Icerenkoy Mah. Kayisdagi Cad. 32 Atasehir, Istanbul, Turkey où nous avons réalisé le diagnostic moléculaire des souches isolées.
- ✚ Laboratoire de l'institut de médecine expérimentale de l'université d'Istanbul : Situé a Vakif Gureba Caddesi 34280, Sehremeni Istanbul où nous avons effectué l'identification des souches isolées par les deux techniques moléculaire "spoligotypage et séquençage".

### 8.2.1. Population cible

La population de cette étude est basée sur tous les dromadaires de tout âge, race et sexe confondus rentrants aux abattoirs pour abattage sanitaire ou autres (C.figure 8.2) pendant la période de ce travail. Au total, 3342 sujets ont été examinés au cours de la période d'étude.



Figure 8.1 : Air de repos abattoir Ain salah (photo personnelle)

### 8.2.1. Zone d'étude (C.figure.8.2)

Cette étude s'est déroulée au niveau de trois abattoirs de différentes régions sahariennes de l'Algérie, le choix de ces établissements était en fonction de leurs accessibilités et aussi vu de l'importance d'effectifs des animaux abattus.

Ces abattoirs sont :

- Abattoirs de Metlili : Situé au niveau de la commune de metlili 45 Km de la wilaya de Ghardaïa.
- Abattoirs d'El Oued : C'est un nouvel abattoir appelé « l'abattoir royal » situé au niveau de la commune d'El oued.
- Abattoir d'Ain Salah : Situé au niveau de la région El BARKA à 5 Km d'Ain Salah wilaya de Tamanrasset.

Chaque abattoir est doté d'un inspecteur vétérinaire, un docteur vétérinaire, un égorgeur et un personnel chargé par le nettoyage et le transport.



Figure.8.2: Zone d'étude.

### 8.2.3. Période d'étude

Le présent travail s'est étalé sur une période de deux ans allant du mois de janvier 2016 jusqu'au mois de décembre 2018.

## 8.3. Matériel et Méthodes

### 8.3.1. Matériel

- Matériel biologique (prélèvements)

Nous avons fait nos prélèvements à partir des lésions suspectes de tuberculose cameline. Ces lésions siégeaient sur les différents organes principalement au niveau du poumon, principaux ganglions (trachéo-bronchiques et médiastinaux) et le foie. Les échantillons récoltés ont été identifiés par SING et ses collaborateurs en 2011, car ils ont recommandé que le prélèvement doit être effectué à partir de toute formation d'aspect nodulaire, de consistance caséuse ou calcifiée de couleur blanche, grise ou jaune était considérée comme lésion suspecte de tuberculose détectée lors de l'inspection *post mortem* de l'animal abattu [310].

- Matériel non biologique

Nous avons utilisé plusieurs types de matériel tel que :

- ✓ Registres des abattoirs ;
- ✓ Matériels pour la réalisation des prélèvements au niveau de l'abattoir tel que : Bistouris, pots stériles, gants, habillement, glacière ;
- ✓ Matériel nécessaire pour le diagnostic de la tuberculose (*cf.*appendice C) ;
- ✓ Les équipements utilisés pour le diagnostic moléculaire (*cf.*appendice F).

### 8.3.2. Méthodes

D'après *MAMO et coll.* la plupart des enquêtes visent à étudier la mise en évidence des agents de la Tuberculose et ses caractéristiques, utilisant l'examen post-mortem, la mise en culture, l'histopathologie et la réaction PCR [8].

Pour la présente étude, nous avons exploré plusieurs méthodes où nous allons les exposer par ordre.

#### 8.3.2.1. Au niveau des abattoirs

Plusieurs méthodes ont été réalisées au niveau des structures d'abattage.

##### ➤ Recueil des données

Le recueil des données de chaque animal s'est fait par l'exploration minutieuse des registres des trois abattoirs et cela afin de déterminer toutes les informations nécessaires des camelins abattus durant notre étude.

##### ➤ Examen ante-mortem

Il s'est réalisé dans la salle d'attente de l'abattoir après le repos (long trajet) des dromadaires (*cf.* appendice A) où nous avons procédé à l'examen *ante-mortem* des sujets.

Les renseignements recueillis ont été retirés, en prenant en considération les éléments suivants :

- a) l'âge : par dentition, nous avons classé les animaux en trois tranches d'âge ; jeunes moins de 5 ans (< 5ans), adultes entre cinq et dix ans (5 - 10 ans) et âgés pour les sujets de plus de dix ans (>10ans) [16].
- b) Sexe : mâle ou femelle.
- c) Provenance des animaux.
- d) Examen clinique de chaque animal dans le but de détecter des animaux malades.
- e) Exploration rectale a été pratiquée systématiquement chez toutes les chamelles pour éviter l'abattage des femelles gestantes.

➤ Examen post-mortem

Nous avons effectué l'inspection proprement dite des carcasses et du 5ème quartier en vue de rechercher les lésions suspectes de tuberculose. D'abord les dromadaires sont dirigés vers la salle d'abattage (figure 8.3). Ensuite les sujets sont mis en décubitus sternal, la tête tournée vers l'arrière (figure 8.4).

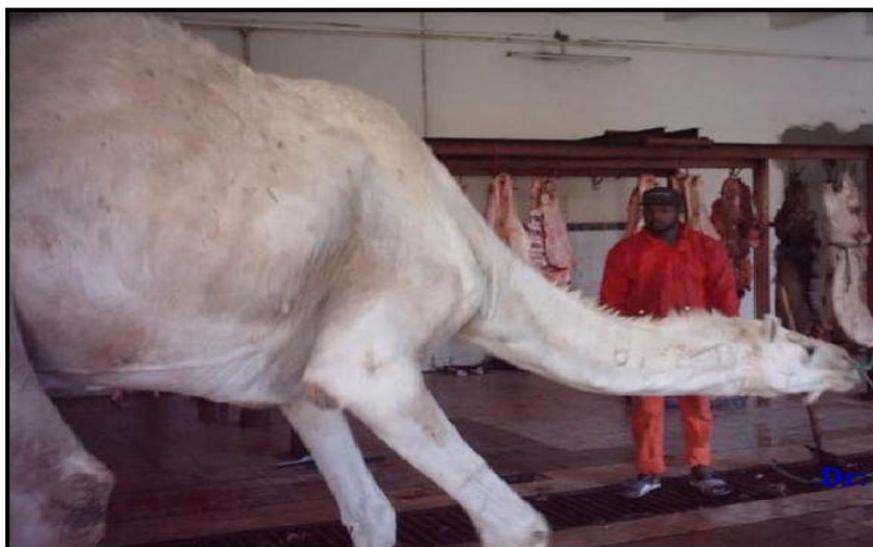


Figure 8.3 : Salle d'abattage (photo personnelle).



Figure 8.4: Tête tournée vers l'arrière (photo personnelle).

L'examen *post mortem* commence de la saignée jusqu'à l'inspection des carcasses qui nous intéresse le plus dans notre étude, les différents étapes d'abattage sont cités dans la partie ci-dessous.

❖ La saignée

L'animal orienté vers la Mecque selon le rituel islamique. L'encolure est repliée le long du corps sur le flanc gauche. C'est la mise à mort de l'animal en position stérno-abdominale, pour cela; une contention suffisante est nécessaire. Le geste doit être rapide et précis pour couper les veines jugulaires et les artères carotides les plus profondes. Ceci permet une saignée complète et brève, provoquant une hypoxie quasi-instantanée du cerveau induisant une perte de conscience en quelques secondes.



Figure 8.5: La saignée abattoir de Ain Salah (photo personnelle).

❖ Dépouillement

Contrairement à toutes les autres espèces classiquement abattues, le dromadaire, du fait de la présence de la bosse, est dépecé en commençant par le dos. De fait, le premier élément anatomique retiré dans le cadre de la découpe traditionnelle ou même industrielle, est la bosse (ainsi d'ailleurs que l'ensemble tête-cou avant même le dépeçage).

Celle-ci se présente par un paquet de tissu adipeux (la bosse contient 98% de matières grasses) rattaché à la partie dorsale de la colonne vertébrale du dromadaire, la peau est détachée progressivement sur les flancs afin de dégager la carcasse et d'utiliser le revêtement cutané comme un support hygiénique permettant de poursuivre la découpe sans souiller la carcasse par des déjections et impuretés présentes sur le sol (figure 8.6).



Figure 8.6: Dépouillement (photo personnelle).

Après les différentes étapes d'abattage, nous procédons à l'inspection proprement dite afin de rechercher les lésions suspectes de tuberculose cameline, pour cela, une inspection approfondie de tous les organes et les nœuds lymphatiques

avec une incision de 2cm d'épaisseur pour faciliter la détection des lésions tuberculeuses avec lames chirurgicales stériles [310].

La carcasse de dromadaire doit être coupée en différentes parties pour faciliter l'inspection *post mortem* (figure 8.7).



Figure 8.7 : Parties de carcasse pour l'examen *post mortem* (photo personnelle).

Cette inspection englobe; l'examen visuel, la palpation et l'incision d'organes elle est effectuée en suivant les étapes de la chaîne d'abattage :

- D'abord la tête, la trachée, les poumons, l'œsophage, le cœur et les ganglions qui les drainent ;
- Ensuite estomacs et intestins, par examen visuel et palpation ;
- les ganglions gastriques et mésentériques sont systématiquement incisés ;
- La carcasse et les reins en plus de l'examen visuel, les principaux ganglions de la carcasse sont recherchés et incisés, les prés scapulaires, les sus sternaux, les rénaux, les inguinaux, les prés cruraux, les iliaques et les poplités.

Les figures ci-dessous montrent une inspection *post mortem* de l'appareil respiratoire (a), poumon (b), coeur (c) et foie(d).



(a)



(b)



(c)



(d)

Figure 8.8 : (a), (b), (c), (d) Inspection *post-mortem* par palpation (abattoir de Ain salah et Metlili) (photos personnelles).

➤ Recherche, collecte et expédition des prélèvements

Nous avons ciblé les lésions suspectes de tuberculose sur les carcasses de dromadaire pour réaliser des prélèvements, 102/3342 échantillons ont été collectés de manière aseptique dans des flacons universels stériles à usage unique, pré étiquetés pour l'isolement des agents responsables de cette affection. Les échantillons ont été acheminés sous glace au laboratoire à +4°C et parfois conservés à -20°C.

La culture mycobactériologique a été réalisée dans le service de mycobactérie de l'IPA. Ces flacons étaient fermés hermétiquement, pour éviter tout risque de contamination lors du transport, chaque flacon est accompagné d'une fiche de renseignements (*cf.* appendice B) de l'animal, chaque fiche portait un numéro qui est reporté sur les prélèvements indiquant la date du prélèvement, nom de l'abattoir, âge estimé, sexe et organe prélevé.

### 8.3.2.2. Au niveau du laboratoire

#### 8.3.2.2.1. Laboratoire des mycobactéries

La première étape du diagnostic a été effectuée au service des mycobactéries institut pasteur d'Alger où nous avons procédé à l'examen bactériologique, toutes les étapes de ce diagnostic ont été réalisées sous une hotte de biosécurité. Les prélèvements ont été traités en suivant plusieurs étapes, nous avons commencé par le traitement des échantillons; la bacilloscopie et ensuite la culture bactérienne.

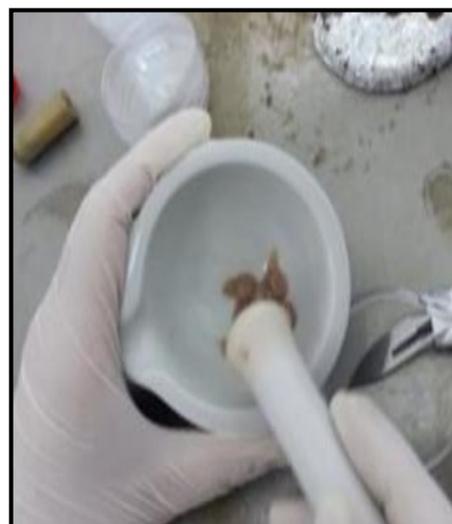
##### a. Traitement des échantillons

Environ 5 g de chaque échantillon ont été coupés dans une boîte de Pétri stérile à l'aide d'une lame et une pince stériles pour obtenir des pièces fines (figure 8.9). Tous les échantillons ont été homogénéisés avec un mortier et un pilon stérile on rajoute une petite quantité du sable stérile. Cette dernière est utilisée pour assurer le bon écrasement du tissu prélevé. Cette portion a servi pour les deux examens bacilloscopie et culture bactérienne.

Lésion  
tuberculeuse  
dans le poumon



(a)



(b)

Figure 8.9: Préparation du prélèvement. (a) dissection, (b) broyage

(Photos personnelles).

## b. Bacilloscopie

L'examen direct des bacilles (La bacilloscopie) sur un produit pathologique est la première étape du diagnostic bactériologique de la tuberculose, cet examen est réalisé après coloration des frottis par la méthode de *Ziehl-Neelsen*. Cette technique est basée sur le caractère fondamental des mycobactéries qui est l'acido-alcool-résistance, permettant ainsi la mise en évidence des B.A.A.R par microscopie, elle consiste:

- Préparation des frottis

On prélève une parcelle purulente de l'échantillon, A l'aide d'une anse de platine rigide, préalablement flambée et refroidie, le contenu de l'anse est étalé d'une façon homogène en couche mince au centre de la lame, cette dernière est préalablement identifiée sur au moins 2/3.

Les frottis ont été séchés à l'air pendant 15 minutes, puis fixés à chaud par 3 ou 4 passages rapides au-dessus de la flamme du bec de bunsen (figure 8.10).



Figure 8.10: préparation du frottis (photo personnelles).

- Coloration de Ziehl-Neelsen

Cette technique est basée sur l'utilisation des réactifs de la coloration des Ziehl (cf. appendice). Elle comporte trois temps de coloration à savoir :

**1<sup>er</sup> temps** : coloration par la fuchsine à chaud.

- ✓ D'abord placer la lame sur un support ;
- ✓ Ensuite la recouvrir en totalité de fuchsine phéniquée de *Ziehl* filtré sur un papier ;
- ✓ Chauffer trois fois toutes les 3 minutes pendant 10 minutes jusqu'à émission de vapeur tout en évitant l'ébullition et le dessèchement du colorant (rajouter du colorant s'il s'évapore trop) (Cf. figure .8.11) ;
- ✓ Rejeter le colorant et rincer la lame à l'eau ordinaire.

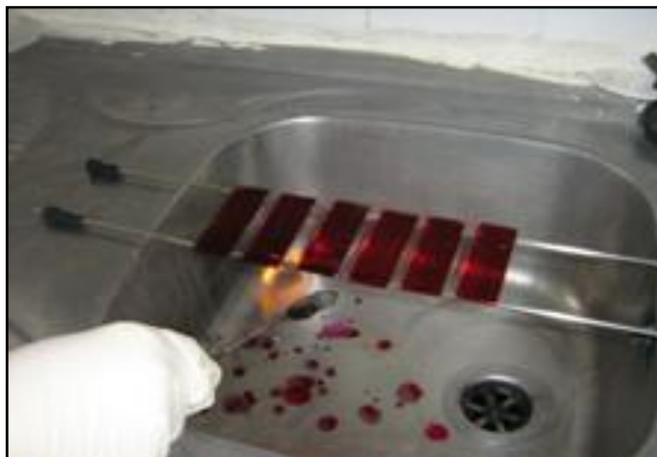


Figure 8.11: coloration par la fuchsine (photo personnelle).

**2<sup>ème</sup> temps** : Décoloration

- ✓ Recouvrir la lame d'acide sulfurique à 25% (3 minutes) ;
- ✓ Rincer à l'eau ordinaire ;
- ✓ Recouvrir la lame d'alcool éthylique à 95 °C (5 minutes) ;
- ✓ Rincer à l'eau ;

- ✓ Le frottis est alors incolore ou légèrement teinté en rose.

### 3ème temps : contre coloration (Cf. figure .8.12)

- ✓ Recolorés par le bleu de méthylène 0.1% pendant 30 secondes à 1 minute. Enfin, les frottis rincés et séchés ont été observés et examinés au microscope optique avec l'objectif x100.



Figure 8.12: contre coloration par le bleu de méthylène (photo personnelle).

- Lecture des frottis

Avant chaque examen d'une lame on procède à essuyer les objectifs du microscope ainsi que en évitant de toucher la lame pour ne pas contaminer les préparations suivantes, une fois la mise au point est réalisé, on commence à lire systématiquement champ par champ et en observant chaque champ de la périphérie vers le centre à la recherche des bacilles, fins, droits ou incurvés, réguliers ou granuleux, isolés ou en amas colorés en rouge sur un fond bleu.

### c. Culture bactérienne

La culture mycobactérienne représente le test de référence «**Gold Standard** », elle nécessite une étape préalable de décontamination des échantillons, pour cela,

nous avons utilisé l'une des méthodes celle de Petroff à la soude modifiée [311]. Cette dernière consiste à :

- Rajouter de la soude à 4%, en doublant son volume par rapport à l'homogénéisât (le broyat tissulaire) ;
- La suspension ainsi obtenue est agitée sur agitateur ;
- Une 1ere centrifugation est réalisée à 3000 tours pendant 15mn puis le surnageant est rejeté ;
- Le culot résultant a été neutralisé avec 20 ml de l'eau distillée stérile ;
- Une 2eme centrifugation de la suspension à une vitesse 3000 tours/minute pendant 15 minutes et le culot ainsi obtenu est servi pour l'ensemencement (C.Figure 8.13) ;
- Le culot final est ensemencé sur quatre tubes de *Lowenstein-Jensen* en raison de 0,2 à 0,3 ml par tube (Cf. figure.8.14) .Ces derniers ont été ensuite placés au niveau de l'étuve à 37°C pendant 12 semaines sans les fermer hermétiquement qu'après évaporation du liquide pendant 2 à 3 jours.



Figure 8.13: Décontamination



Figure 8.14: Ensemencement

- Ces tubes ont été placés sur des portoirs spéciaux en position inclinée et ne sont fermés hermétiquement qu'après évaporation du liquide pendant 2 ou 3 jours. Une observation hebdomadaire de la croissance des colonies a

été faite pour être en mesure de préciser la date exacte de l'apparition des colonies.

- Lecture phénotypique

Une première lecture est effectuée à la fin de la première semaine, afin d'examiner l'état des tubesensemencés, et cela pour :

- ✓ Contrôler la qualité de la décontamination et d'apprécier le changement de couleur du milieu ;
- ✓ Constater la poussée des mycobactéries à croissance rapide ;
- ✓ S'il y a des contaminations éventuelles, ces dernières entraîneront une modification de teinte vers un jaunissement, un verdissement ou un marron. Par la suite, ces milieux de culture sont écartés et refaits à partir du prélèvement initial ;
- ✓ Si des colonies apparaissent, nous préparerons des frottis à partir des cultures cultivées et nous réaliserons le contrôle de *Ziehl*, s'il y a présence de BAAR, la culture sera déclarée positive ;
- ✓ Les tubes négatifs sont remis à l'étuve et les lectures sont faites ultérieurement une fois par semaine ;
- ✓ S'il y a absence d'apparition des colonies après 12 semaines d'incubation, la culture sera déclarée négative.
- ✓ Une extraction d'ADN à partir des souches isolées est réalisée.

d. Extraction d'ADN

Cette méthode consiste à récolter des colonies à partir des cultures positives. Ces colonies sont mises en suspension dans une solution de Tris-EDTA à 10%, dans un micro-tube de 1500 *ul*. Ces derniers sont placés 20 minutes sur un bloc chauffant à 80°C afin de détruire les bactéries par la chaleur. La suspension est ensuite centrifugée pendant 5 minutes à 10000 tours par minute [63]. Une fois la centrifugation est terminée on obtiendra un culot et un surnageant ce dernier est l'ADN bactérien qui doit être conservée à (-20°C) pour plusieurs manipulations (Figure 8.15).



8.15: la récolte des extraits d'ADN (photo personnelle).

#### 8.3.2.2.2. Laboratoire de microbiologie médicale

Plusieurs techniques ont été réalisées au niveau de cet établissement, afin d'identifier les extraits d'ADN isolés dans cette étude, pour cela, nous avons utilisé certaines techniques permettant l'identification des souches isolées.

##### ❖ restriction enzymatique par PCR (PRA)

Cette technique a été réalisée au sein du laboratoire de microbiologie et biotechnologie médicale de l'université d'Acibadem en Turquie. Nous avons suivi le même protocole indiqué par Tellenti et coll. [312], pour cela les échantillons des extraits d'ADN ont été soumis à la restriction enzymatique du gène *hsp65* par PCR standard. Nous commençons d'abord par :

##### ✚ Amplification par PCR basé sur IS6110

Pour ce faire, chaque réaction nécessite :

- ❖ deux amorces oligonucléotidiques de mycobactéries (2 $\mu$ l) TB11 (5'-ACCAACGATGGTGTGTCCAT-3') - TB12 (5'-CTTGTCTGAACCGCATACCCT-3') ;

- ❖ deux amorces *IS6110* (1 $\mu$ l) (INS1 : 5'-CGTGAGGGCATCGAGGTGGC-3' et INS2 : 5'-GCGTAGGCGTCGGTGACAAA-3');
- ❖ un témoin est toujours rajouté dans lequel l'ADN est remplacé par de l'eau (témoin négatif) afin de détecter une éventuelle contamination (la contamination par de l'ADN précédemment amplifié représente le principal risque) ;
- ❖ Un témoin positif permettra de valider la bonne conservation des réactifs (*M. Tuberculosis* H37Rv) ;
- ❖ Le mélange PCR pour l'amplification était composé d'un seul volume du mixte:  
(Figure 8.16) ; (Figure 8.17).
  - ✓ 2  $\mu$ l de chaque amorce,
  - ✓ 2,5 mM de désoxyribonucléotides-tri-phosphates,
  - ✓ 2  $\mu$ l de Taq polymérase,
  - ✓ 15  $\mu$ l d'H<sub>2</sub>O,
  - ✓ 3  $\mu$ l d'ADN mycobactérien par tube après avoir agité le tube d'ADN sur vortex (figure 8.18) et enfin l'ADN à amplifier.



Figure 8.16 : préparation du PCR (photo personnelle).



Figure 8.17 : partager le Mix (photos personnelle).

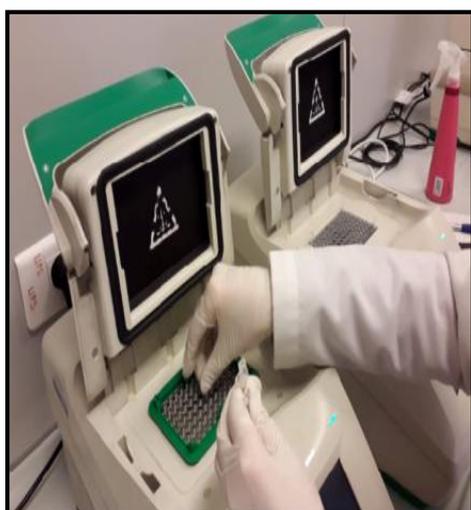


Figure 8.18: mélange de l'ADN par vortex (photo personnelle).

Cette technique de PCR a été effectuée à l'aide de deux thermocycleurs T100 de Applied Bio-RAD (deux amorces différentes ont été utilisées), nécessitant des températures différentes (56 °C et 50 °C). (Figure 8.19). Cette opération a duré

3 h pour 45 cycles dans les conditions suivantes:

- Thermocycleur 1 :95 °C pendant 45 sec, 56 °C pendant 45 sec, 72 °C pendant 1 min.
- Thermocycleur 2 :94 °C pendant 1 min, 50 °C pendant 1 min, 72 °C pendant 2 min.



(a)



(b)

Figure 8.19 :(a-b) Amplification par *PCR* sur thermocycleur (photo personnelle).

#### ✚ Une amplification du gène *hsp65* :

Cette méthode a été réalisée avec les deux amorces (2,5 µl) Tb11 (5'-ACCAACGATGGTGTGCCAT) et Tb12 (5'-CTTGTCGAACCGCATACCCT), le mélange de la réaction est composé de 20 mM de Tris, Ph (8,4), 50 mM de KCl ; 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 10% de glycérol, 200 mM desoxyribonucléotides-tri-phosphates et 1 µl de Taq polymérase. La réaction a été soumise à une dénaturation à 95 °C pendant 10 min, suivi de 45 cycles d'amplification (94 °C pendant 1 min, 60 °C pendant 1 min et 72 °C pendant 1 min) ; et une étape d'extension finale à 72 °C pendant 7 min [312].

### ✚ La digestion des fragments d'ADN amplifiés

Cette digestion a été assurée par deux enzymes de restriction (*BstE II* et *Hae III*) [312]; cette manipulation est comme suit :

- Solution 1 : 1 *ul* pour chaque enzyme additionné à 2 *ul* de buffer et Mix. 3 *ul* de mix est additionné à 17 *ul* de chaque produit *PCR* [312]. Ensuite une incubation du mélange à 37 °C pendant une nuit a été réalisée ;
- Solution 2 : 8,4 *μl* akrilamid, 0,5 *μl* TAE ,15.3 *μl* H<sub>2</sub>O, 40 *μl* de TEMED et 800 *μl* de persulfate d'ammonium ;
- Suite à la digestion, environ 1 *μg* d'ADN digéré est séparé par électrophorèse sur le gel (Solution 2 correspond à une partie des composants du gel de polyacrylamide) ;
- Le mélange est chauffé pendant 10 min dans un four à micro-ondes (Figure 8.20).



Figure 8.20: Chauffage par micro-onde.

- Agiter de temps à autre pour homogénéiser le mélange ;
- Laisser refroidir la suspension jusqu'à ce qu'il devienne possible de saisir le flacon à main nue ;

- Couler lentement le gel sur 3 à 5 mm d'épaisseur et éviter la présence des bulles d'air sur le gel ;
- Trempage des fragments d'ADN dans une solution de bromure d'éthidium (BET). Cette molécule s'intercale entre les bases de l'ADN et à la propriété d'être fluorescente sous lumière ultraviolette ;
- L'ADN est déposé dans les puits (Figure 8.21) ;
- Soumission de la cassette du gel à un champ électrique où les molécules d'ADN migrent sur le gel d'agarose, ce dernier est exprimé par un voltage constant de 100 volts pendant 1 h. (Figure 8.22) ;
- Cette électrophorèse permet de séparer les différents fragments d'ADN obtenus après digestion.

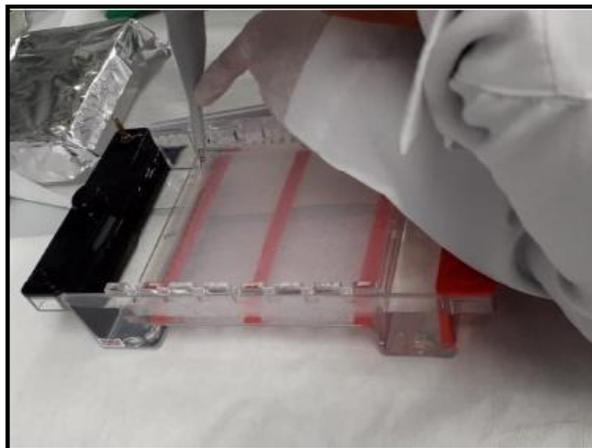


Figure 8.21: Dépôt d'ADN sur gel.

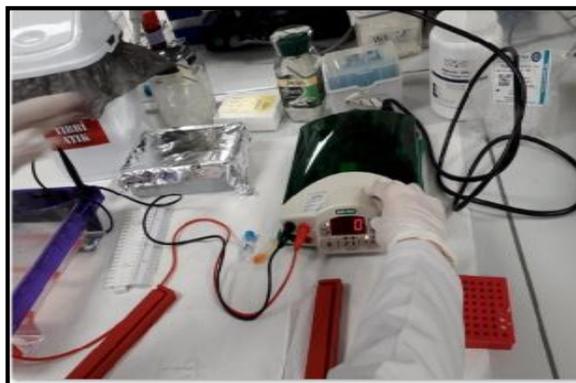


Figure 8.22: Champ électrique.

- Les profils de restriction ont été analysés à l'aide du programme d'analyse moléculaire (BioRad), (Figure 8.23).



(a)



(b)

Figure 8.23: (a), (b) Enregistrement du film.

Les résultats de la digestion enzymatique ont été comparés avec la table de référence intitulée *PCR Restriction Enzyme Analysis Chart for Hsp65 of Mycobacteria*, au niveau de la ligne 152/127/69/42/22/17/12 *M.bovis* (U 17925) et *M. tuberculosis* (U 17957) (Annexe 4) [312].

#### 8.3.2.2.3. L'Institut de médecine expérimentale de l'Université d'Istanbul

##### a. Spoligotypage :

La méthode du spoligotypage de type Luminex a été faite au niveau de l'Institut de médecine expérimentale de l'Université d'Istanbul suivant le protocole décrit par *Zhang et coll.* Cette technique reste la plus pertinente surtout dans les pays où les flambées de tuberculose sont largement liées à *M. africanum* (en Afrique et

dans le sous-continent indien et en Asie). De même que cette technique améliore la standardisation du spoligotypage [196].

Les extraits d'ADN de la totalité des isolats obtenus (six) ont été identifiés par spoligotypage. Pour ce faire:

1. Une amplification génique a été réalisée ou nous avons utilisé le mélange *PCR* composé d'un volume de 9x la mixture suivante :
  - ✓ 2,25µL de chaque amorce DRa et DRb ;
  - ✓ 2,5 mM de dNTP ;
  - ✓ 5 U/µL de Taq polymérase ;
  - ✓ 9.5µL de H<sub>2</sub>O pour une réaction ;
  - ✓ 1,2µL d'ADN mycobactérien.
  - ✓ Trois contrôles positifs (témoins) à savoir : « Pekin control », « St46 control » et « Bovis BCG control » ;
  - ✓ Une solution de streptavidine-phycoérythrine (SA-PE) (B) a été rajoutée.
2. Une dénaturation des produits de *PCR* a été faite à 95 °C pendant 10 min.
3. Une hybridation à 52 °C pendant 30 min, et des microbilles avec une solution de sodium hypochlorite ont été rajoutées aux produits *PCR* pour assurer la bonne dégradation de l'ADN. Cette étape a été effectuée dans un incubateur de type Analyseur Luminex ® 200™ (Luminex Corp., Austin, Texas, États-Unis d'Amérique) pendant 10 min à 52 °C (Figure .8.24).

Selon Zhang et ces collaborateurs, cette méthode reste un paramètre important pour le transfert de technologie, de même que le débit de caractérisation des mycobactéries (4 à 8 fois plus élevé) en utilisant cette approche basée sur les microbilles plutôt que sur les membranes [196].



Figure 8.24: dépôts des microbilles au niveau des puits (photo personnelles).

b. Séquençage de la région 16s ADN d'un isolat mycobactérien

Le séquençage d'ADN est devenu un outil essentiel en biologie moléculaire [313]. Cette méthode a été réalisée au niveau de laboratoire de l'Institut de médecine expérimentale (Université d'Istanbul). Nous avons procédé au séquençage d'un isolat d'ADN qui n'appartenait pas au complexe *Mycobacterium tuberculosis* car les autres méthodes n'ont pas permis d'obtenir un résultat définitif. Pour cela nous avons utilisé deux méthodes:

✚ Une PCR et un séquençage du gène partiel de l'ARNr16S :

Cette méthode consiste à une amplification d'un fragment de 591 pb du gène d'ARNr 16S qui couvrait les deux régions hypervariables A et B du gène, en utilisant deux amorces 285 et 259 [314]. Lorsque les amorces directe et inverse ont été exclues, la longueur du produit amplifié à séquencer est devenue 550 pb.

✚ Une PCR et un séquençage partiel du gène *hsp65* :

Cette technique vise à amplifier un fragment de 441 pb du gène *hsp65* en suivant le protocole décrit par *Telenti et al.* [312].

c. Analyse des séquences

Les produits amplifiés ont été purifiés par des billes Agencourt Ampure XP et Agencourt Cleanseq (Beckman-Coulter, Californie, USA) après amplification et séquençage de cycle, respectivement. Le séquençage a été effectué dans le système d'analyse de séquence CEQ8000, Beckman-Coulter, Californie, USA). Les séquences obtenues ont été analysées en utilisant la base de données NCBI de collection de nucléotides pour la recherche BLAST (BLAST; NCBI, Bethesda, MD). De même que ces séquences ont été comparées à toutes les séquences disponibles en utilisant les versions RipSeq et NCBI BLAST (bases de données établies).



Figure 8.25: Séquenceur Beckman-Coulter.

d. Analyses statistiques

Le calcul de la prévalence des lésions avec son intervalle de confiance à 95% été calculé à l'aide d'une distribution binomiale exacte. Le coefficient de concordance Kappa a été utilisé pour comparer l'accord entre la bacilloscopie et la culture bactérienne [215].

L'étude des viables exploratoires en lien avec les lésions suspectes de tuberculose détectées à l'abattoir et confirmées par culture bactérienne a été réalisée en utilisant une régression logistique univariée (variable par variable) puis multivariée (prise en compte de toutes les variables ensemble).

Pour l'analyse multivariée, un premier modèle comprenait toutes les variables exploratoires ayant une valeur  $P \leq 0,2$  dans le modèle univarié. Les variables exploratoires non significatives ( $p > 0,05$ ) ont été supprimées par une approche pas à pas (à partir de la moins significative, c'est-à-dire avec la valeur de  $P$  la plus élevée).

À chaque étape, un test du rapport de vraisemblance a permis de comparer le modèle simplifié au modèle plus complexe. Le modèle final a été sélectionné lorsque le test du rapport de vraisemblance indiquait une différence significative entre le modèle le plus complexe et le modèle simplifié ( $p < 0,05$ ). Les calculs ont été réalisés en utilisant le logiciel Stata 14.2 SE (StatCorp, Collège Station, Texas, USA).

## CHAPITRE 9 : RESULTATS

Nous traiterons les différents résultats de ce travail qui sont présentés par partie :

### 9.1. Résultats de l'enquête à l'abattoir

#### 9.1.1. Proportion des cas suspects de tuberculose cameline

Durant la période d'étude et dans les trois abattoirs de la zone d'étude, un total de 3342 carcasses de dromadaire a été inspecté dont 102 étaient suspectes de tuberculose soit une proportion de 3.05% (102/3342), avec un intervalle de confiance [IC] à (95%: 2,50 - 3,69). La proportion des cas suspects de tuberculose cameline de chaque abattoir est présentée dans le tableau 8.1, illustrée par la figure 8.28.

Tableau 9.1. Proportions des cas suspects de tuberculose chez le dromadaire

<b>Abattoirs</b>	<b>Nbr d'effectifs abattus</b>	<b>Nbr de lésions susp de tuberculose</b>	<b>Proportion %</b>
<b>Ghardaïa</b>	974	20	2,05
<b>El Oued</b>	448	53	11.83
<b>Ain Salah</b>	1920	29	1.51
<b>Total</b>	3342	102	<b>3.05</b>

*Nbr* : Nombre, *susp* : suspectes

Un fort pourcentage des lésions suspectes de tuberculose a été enregistré dans l'abattoir d'El Oued (11,83%). Le test statistique indique qu'il n'y a aucune différence significative entre les trois abattoirs. Les résultats des cas suspects de tuberculose chez le dromadaire dans les trois abattoirs sont illustrés dans la figure 9.1.

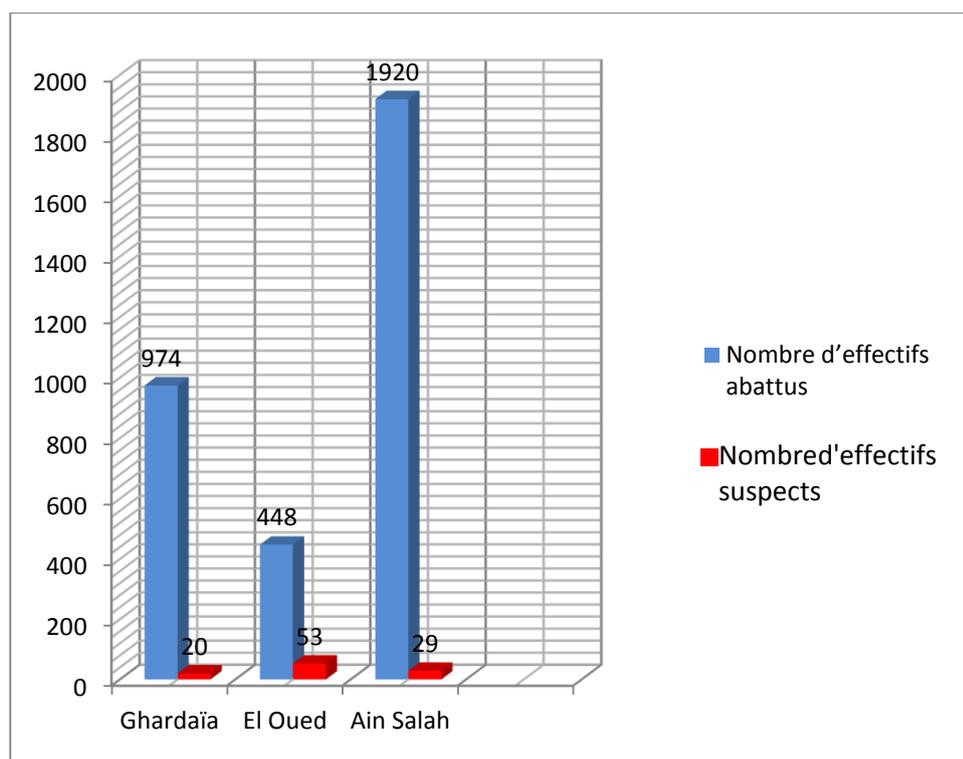


Figure 9.1 : Cas suspects de tuberculose chez le dromadaire.

#### 9.1.2. Proportion des cas suspects en fonction des facteurs de variation

Durant notre enquête nous avons retenus trois facteurs de variation dans les trois abattoirs à savoir :

- ✓ le sexe ;
- ✓ l'âge ;
- ✓ Localisation des lésions.

➤ Sexe :

Les résultats relatifs à la proportion des lésions suspectes de tuberculose cameline en fonction du sexe au niveau des trois abattoirs sont rapportés dans le tableau 9.2.

Tableau 9.2 : Cas suspects de la tuberculose cameline en fonction du sexe.

Abat \ Sexe	Mâles			Femelles		
	insp	car susp	%	insp	car susp	%
<b>Ghardaïa</b>	750	13	1,73	224	07	3,12
<b>El oued</b>	148	04	2,70	300	49	16,33
<b>Ain Salah</b>	1825	27	1,48	95	02	2,10
<b>Totale</b>	2723	44	1,61	619	58	9,37

Car:carcasse ; insp: inspecté, susp : suspecte

La proportion des dromadaires femelles présentant des lésions suspectes de tuberculose cameline était supérieure (9,37%) à la proportion des mâles (1,61%). Et l'analyse statistique indique qu'il n'y a aucune différence significative entre les deux sexes. Les résultats des cas suspects de tuberculose cameline en fonction du sexe sont illustrés dans la figure (9.2).

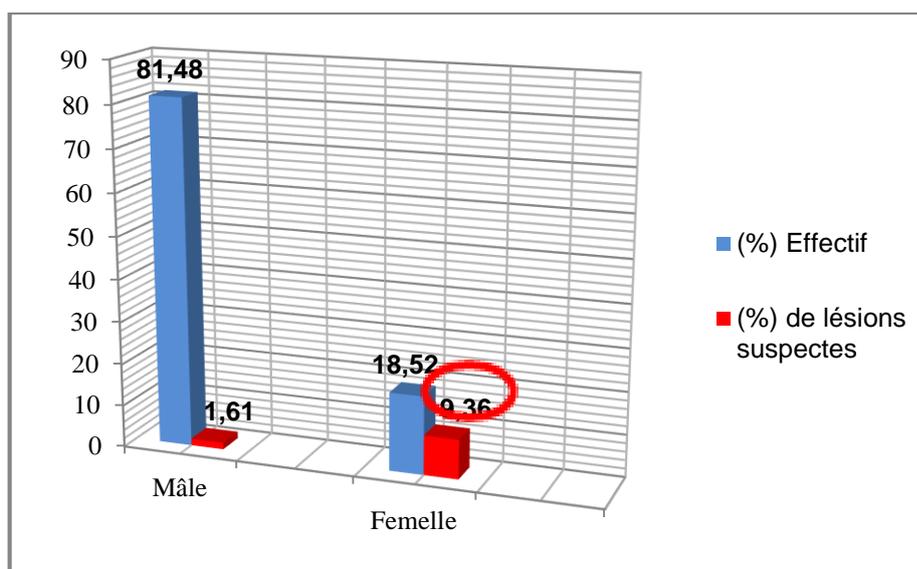


Figure 9.2: Cas suspects de tuberculose cameline en fonction du sexe.

➤ Age

Les résultats relatifs à la proportion des lésions suspectes de tuberculose cameline en fonction de l'âge sont rapportés dans le tableau 9.3.

Tableau 9.3 : Cas suspects de la tuberculose cameline en fonction de l'âge.

Age Abt	<5 car			5-10 car			>10 car		
	insp	susp	%	insp	susp	%	insp	susp	%
Ghardaïa	438	09	2,05	381	00	00	155	11	7,10
Ain Salah	460	02	0,43	690	17	2,46	770	10	1,30
El oued	30	00	00	100	04	04	318	49	15,41
Total	928	11	1,18	1171	21	1,79	1243	70	<b>5,63</b>

Abt : abattoir ; car : carcasse ; insp : inspecté ; susp : suspecte.

La proportion des animaux âgés plus de 10 ans présentant des lésions suspectes de tuberculose (5,63%) était supérieure aux autres tranches d'âge. L'analyse statistique indique qu'il n'y a aucune différence significative entre les différentes classes d'âge. Les résultats des cas suspects de la tuberculose cameline en fonction de l'âge dans les trois abattoirs sont illustrés par la figure 9.3.

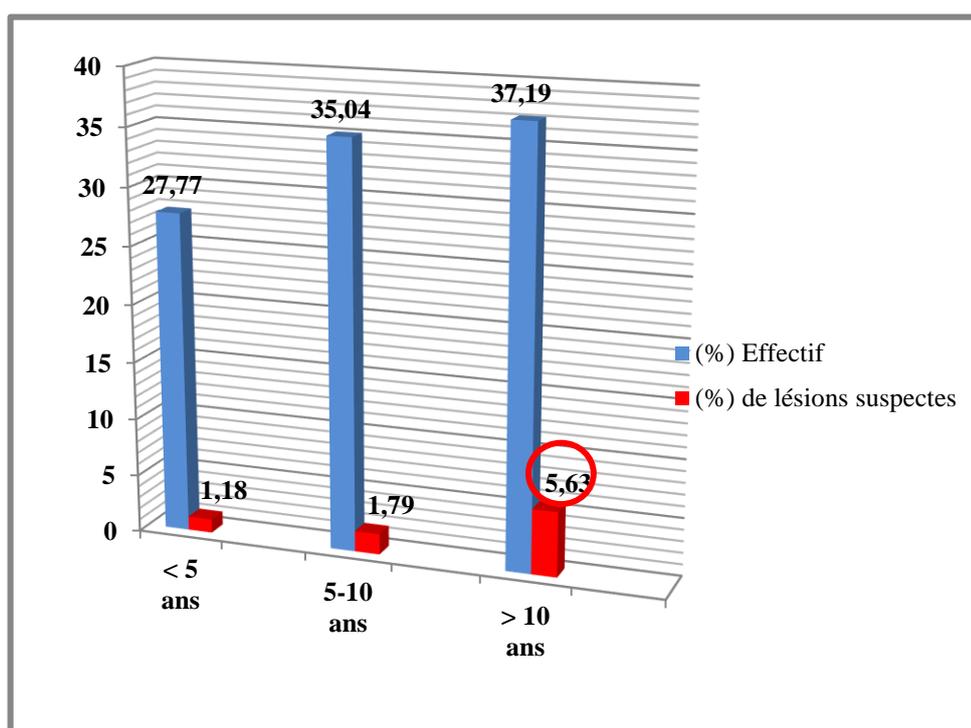


Figure 9.3 : Cas suspects de la tuberculose cameline en fonction de l'âge.

#### ➤ Localisation des lésions

La répartition des lésions de tuberculose chez le dromadaire au niveau des trois abattoirs en fonction de leur localisation est rapportée dans le tableau (9.4).

Tableau 9.4 : Cas suspects de la tuberculose cameline en fonction de localisation des lésions.

Organe	Lésions suspectes	%
Poumon	64	62,74
Foie	37	36,27
Ganglion bronchique	01	0,98
<b>Total</b>	102	100

Les résultats de la localisation des lésions suspectes montrent que les lésions tuberculeuses étaient plus fréquemment observées au niveau des poumons (64/102), puis le foie (37/102) et ganglion bronchique (1/102). L'analyse statistique a montré qu'il y a une différence hautement significative entre les trois localisations ( $p=0,03$ ). Les résultats de la répartition des lésions de tuberculoses en fonction de leur localisation sont illustrés dans la figure ci-dessous.

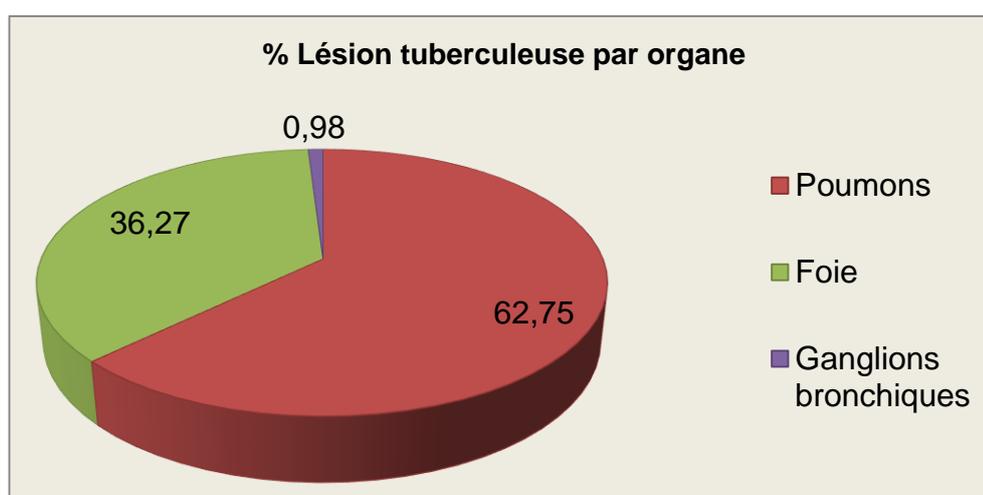


Figure 9.4 : Cas suspects en fonction de localisation des lésions.

L'analyse univariée a montré en comparaison avec le poumon comme prélèvement de référence, la prise de ganglions présentant des lésions était plus indicative d'une tuberculose confirmée par examen bactériologique (valeur de  $P = 0,03$ ). Les figures ci-dessous montrent la présence de multiples lésions suspectes de tuberculose chez le dromadaire rencontrées au niveau des trois abattoirs.

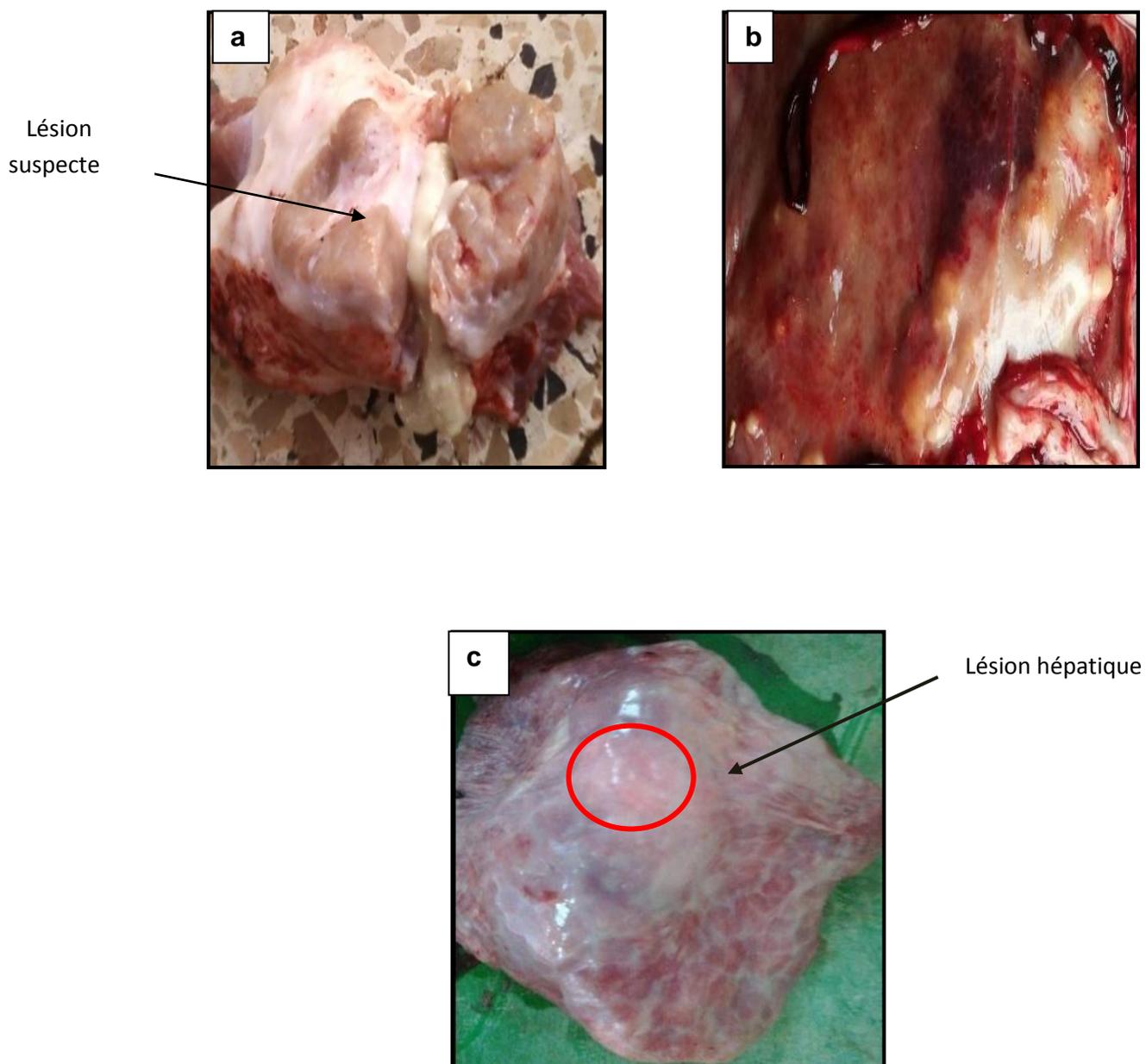


Figure 9.5: (a), (b), (c) lésions suspectes de tuberculose chez le dromadaire (photos personnelles).

### 9.1.3. L'analyse multivariée

L'analyse statistique multivariée des variables exploratoires des lésions tuberculeuses chez le dromadaire au niveau des trois abattoirs ce résumé dans le tableau ci-dessous.

Tableau.9.5 : L'analyse statistique multivariée des variables exploratoires

Variable	Modalités	OR	(IC 95%)	Valeur de P
<b>Abattoir</b>	Ain Salah	Référence	-	-
	El Oued	10,99	(0,06 - 2187)	0,89
	Ghardaïa	6,47	(0,07 -619)	0,8
<b>Localisation</b>	Poumon	Référence	-	-
	Foie	0,39	(0,02 - 9,17)	0,56
	Ganglion	0,41	(0,005-35,76)	0,69
<b>Bacilloscopie</b>	Négative	Référence	-	-
	Positive	184,19	(3,37 -10078)	<b>0,01*</b>

## 9.2. Au niveau des laboratoires

### 9.2.1. Laboratoire de mycobactérie de l'institut pasteur d'Alger

#### ❖ Examen bactériologique

Les résultats de l'examen bactériologique à savoir l'examen microscopique et la culture bactérienne sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 9.6: Comparaison entre les résultats de l'examen bactériologique

		Culture		
		Positive	Négative	Total
Bacilloscopie	Positive	4	1	5
	Négative	2	95	97
		6	96	102

La bacilloscopie a révélé :

La présence de bacilles acido-alcolo résistants (05/102) dans les échantillons suspects de tuberculose soit une proportion de (4,90%) avec un (IC 95% : 1,08 - 9,73). Et l'analyse par régression logistique multivariée a pu montrer que l'examen bacilloscopique reste significativement associé à une culture positive (valeur de  $P = 0,01$ ). La figure 9.6. Indique la présence des B.A.A.R après coloration de *Ziehl-Neelsen*.



Concernant la sensibilité et la spécificité de l'examen bactériologique l'analyse statistique a montré les résultats suivants :

- Sensibilité relative de la bacilloscopie par rapport à la culture (prise comme référence) : %=66,66 (IC 95% : 22,28 - 95,67).
- Spécificité relative de la bacilloscopie par rapport à la culture (prise comme référence): % = 98,96 (IC 95% : 94,33 - 99,97).

#### 9.2.2. Laboratoire de microbiologie et de médecine université d'Acibadem

##### ❖ Restriction enzymatique par PCR

Les résultats de l'examen de la PCR basé sur IS6110 à partir des cultures positives a permis de confirmer que sur un ensemble de six (6) souches isolées, cinq (5) isolats présentant des signaux positifs correspondant au complexe *Mycobacterium tuberculosis* (C.Figure 9.8).

Concernant l'absence d'un signal indique que un ADN n'appartient pas à ce complexe donc il s'agit d'une mycobactérie non tuberculosis (MNT), ce dernier a fait l'objet d'un séquençage pour pouvoir identifier l'espèce en cause.

Les résultats de la restriction enzymatique appliquée sur les mêmes extraits d'ADN a permis de mettre en évidence la présence de bandes de poids variant entre 200 paires de bases (bp) et 250 bp, entre 50bp et 100bp et entre 12bp et 17bp (C.Figure 9.9).

Ce résultat a été comparé avec la table de référence intitulée *PCR Restriction Enzyme Analysis Chart for Hsp65 of Mycobacteria*, et été compatible avec la ligne 152/127/69/42/22/17/12 correspondant à *M. bovis* (U 17925) et *M. Tuberculosis* (U 17957) (cf.appendice G)

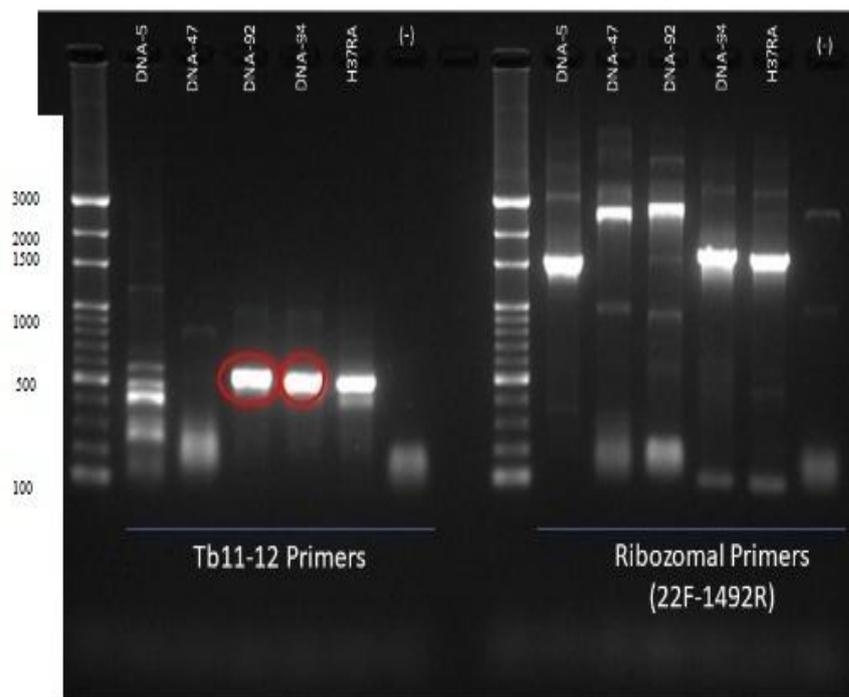


Figure 9.8 : Un profil électrophorétique sur gel de PCR.

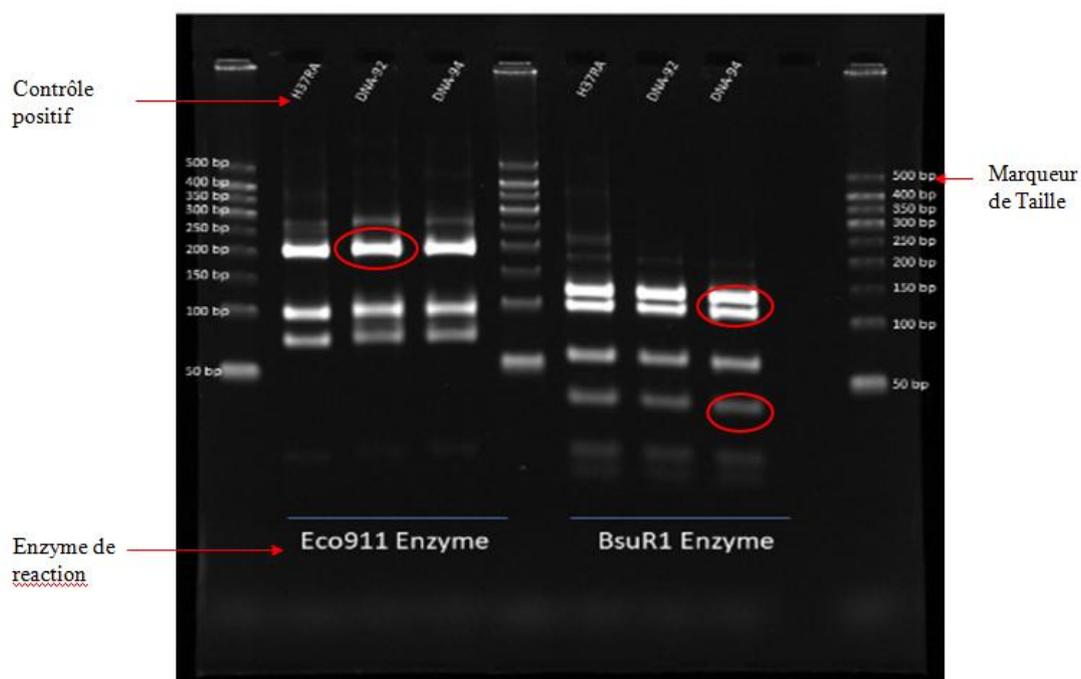


Figure 9.9 : Restriction Enzymatique des souches analysées (photo personnelle).

### 9.2.3. Laboratoire de médecine expérimentale de l'Université d'Istanbul

#### ❖ Spoligotypage

Sur les six isolats bactériens prélevés à partir des lésions suspectes de tuberculose chez les dromadaires abattus nous avons pu isoler :

- quatre souches étaient de *M.bovis* possédant le même spoligotype SB0941, ces dernières ont été isolées sur les carcasses cameline de l'abattoir de Ghardaïa (Tableau 9.7).
- une nouvelle souche phylogénétiquement proche des souches précédentes mais portant un spoligotype différents, cette souche porte le spoligotype SB2562, cette dernière a été isolée au niveau de l'abattoir d'El oued (Tableau 9.7).
- une souche n'a pas été identifiée car c'est une souche atypique (n'appartient pas au complexe *mycobacterium tuberculosis*) elle a présenté un signal négatif.

Les résultats de l'analyse des ADN bactériens par la technique de spoligotypage sont rapportés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 9.7: Type et origine des souches identifier par spoligotypage

Espèces	Profil obtenu	Origine des souches
<b><i>Mycobacterium. bovis</i></b>	-SB0941	Ghardaïa
	- SB0941	Ghardaïa
	- SB0941	Ghardaïa
	- SB0941	Ghardaïa
	-SB2562	El oued



### ❖ Séquençage

En parallèle, l'extrait d'ADN qui n'a pas présenté un signal positif au cours de l'examen par la technique de PCR, cette dernière a indiqué un signal négatif signifie que cette souche n'appartenant pas au complexe *mycobactérium tuberculosis*.

En outre, les résultats des deux techniques utilisées ont été comparés à la base de données NCBI de collecte de nucléotides pour cela :

- La séquence d'ARNr 16S de 550 pb, différait de 1 pb de *M. virginiense* DSM100883T (99,82% de similitude).
- De même que, la séquence du gène *hsp65* de la même souche ne présentait que des mésappariements de 2 pb de AY550212 (99,5% de similitude).

Il nous résulte qu'une souche de mycobactérie atypique identifiée comme *Mycobacterium virginiensis* MO-233, cette dernière appartient au complexe *Mycobacterium Terrae*.

Cette souche a été isolée chez une chamelle âgée de plus de 10 ans au niveau de l'abattoir d'El oued en Algérie.

La séquence nucléotidique de *Mycobacterium Virginiensis* MO-233 obtenu par la technique de séquençage est illustrée dans la figure 9.11.

```
"GACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGGAAAGG
CCCTTCGGGGGTACTCGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGT
GATCTGCCCTGCACTTTGGGATAAGCCTGGGAAACTGGGTCTAATACCG
AATAGGACCACGCGCTTCATGGTGTGTGGTGGAAAGCTTTTGCGGTGT
GGGATGGGCCCCGCGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAATGGCCTACC
AAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGTCCGGCCACACTG
GGACTGAGATACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAAT
ATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGGGGGAT
GACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGTATCGGCGAAGCTCCAGG
ATTCTTCTGGGGTGACGGTAGGTACAGAAGAAGCACCGGCCAACTAC
GTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTGTCCGGAATT
ACTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGTGGT"
```

Figure 9.11 : séquence nucléotidique de *Mycobacterium Virginiensis* MO-233.

## DISCUSSION

Les travaux visant la détermination de la prévalence de l'infection tuberculeuse chez le dromadaire et la détermination des agents responsables de cette maladie sont rares. Il s'agit de la première description de cette affection chez cet animal en Algérie. Dans cette partie, nous analyserons et discuterons les résultats obtenus au cours de l'étude dans l'objectif est de déterminer :

- la prévalence de la tuberculose chez cette espèce au niveau de trois abattoirs de la région sud d'Algérie ;
- mise en évidence des facteurs de risque de la tuberculose cameline ;
- isoler les agents responsables de cette affection ;
- identifier les souches isolées par les outils moléculaires.

Les résultats de la présente étude seront discutés par partie:

### 1) Abattoirs

Au niveau des trois abattoirs et durant la période d'études, plusieurs obstacles ont été noté tel que :

- ✓ Certains abattoirs ne suivaient aucune mesure règlementaire des conditions de travail;
- ✓ l'abattage du dromadaire au niveau de ces trois établissements commence à 2 heures du matin, ce qui explique la difficulté de l'inspection *ante-mortem* par le vétérinaire inspecteur;
- ✓ le non enregistrement précis de certains renseignements d'ordre épidémiologique comme la provenance des animaux est toujours inconnue, rendant la réalisation de l'étude spatiale sur la distribution de la maladie très difficile;
- ✓ Certains organes ont étaient éliminés avant leurs inspections ou même inspectés par le propriétaire lui-même avant l'arrivée du vétérinaire inspecteur comme par exemple : la tête, les poumons.

- ✓ Il est à signaler que le poumon est jeté avant son inspection au niveau de certains abattoirs, car il n'est pas consommé par les citoyens sahariens d'après les vétérinaires des abattoirs.

Toutes ces contraintes gênaient le bon déroulement de l'inspection des carcasses camelines de même que le déroulement de notre travail de terrain.

#### 1. a. Prévalence des lésions suspectes de tuberculose cameline

L'examen post mortem est considéré comme le diagnostic actuel de détection et de contrôle de la tuberculose chez le dromadaire [306], [316].

Pour cela notre étude a été basée sur la recherche des lésions évocatrices de la tuberculose cameline par examen post mortem des carcasses, nous avons prélevé 102 échantillons sur un ensemble de 3342 animaux, soit une prévalence de lésions tuberculeuses de 3,05% au niveau de trois abattoirs de la région sud de l'Algérie (Ghardaia, El Oued, Ain Salah).

Durant notre étude, nos résultats :

- sont proches de ceux de Kasaye et coll. qui ont rapporté une prévalence 4,52% dans une étude menée à l'abattoir d'Akaki en Ethiopie [317].
- Ils sont aussi proches à ceux signalés par *Zubir et coll.* [29], qui ont rapportés une prévalence de 2% de nodules tuberculeux au niveau de deux abattoirs de Lahore et Faisalabad au Pakistan.
- Sont supérieurs à ceux rapportés par *Yasser et coll.* [27] dans une étude menée en Egypte où ils ont indiqué une prévalence de 1.69% de lésions tuberculeuses chez le dromadaire, supérieur aussi de ceux rapportés par Manal et Gobran [318], qui ont conclu que la prévalence de la tuberculose chez les dromadaires était très faible (0,7%).
- Sont inférieurs à ceux rapportés par :
  - ✓ *Beyi et coll.* [319], qui ont enregistré une prévalence des lésions tuberculeuse égale à 8,3% (33/398) à l'abattoir municipal de Dire Dawa en Ethiopie.
  - ✓ Mamo et al. en 2011 [39], qui ont signalé une prévalence de 10,04% (91/906) dans une étude menée au niveau de deux abattoirs (Akaki et Metahara) en Ethiopie. .

- ✓ Narnaware et coll. ont rapporté une prévalence de 19,56% de lésion tuberculeuse chez le dromadaire dans une étude réalisée dans une ferme en Inde pendant une période de 5 ans [30].
- ✓ Ahmad et coll. ont rapporté une prévalence des lésions tuberculeuses égale à 33,5% (71/212) dans une étude menée au niveau d'un abattoir municipale de Nigéria [74].

Cette différence de taux de prévalence de la tuberculose chez le dromadaire au niveau de plusieurs abattoirs à travers le monde peut être attribuée au nombre d'échantillons recueillis pour chaque étude [27], mais aussi ces variations peuvent être dues à des variations de la population d'étude, le site d'étude, les espèces animales, le système de production, les facteurs de gestion, les facteurs environnementaux, la conception de l'étude et la méthodologie de travail [139].

Pour notre étude, la présence des lésions tuberculeuses chez le dromadaire dans les trois abattoirs investigués (Metlili, El-Oued et Ain Salah) est peut-être favorisée par la tendance à la sédentarité des élevages camelins algériens surtout dans la région de Metlili où nous avons constaté plusieurs élevages sédentaires d'une part, d'autre part la cohabitation du dromadaire avec d'autres ruminants, en particulier avec les bovins et l'identification de spoligotype d'une souche de *M.bovis* chez le dromadaire a bien confirmé cette cohabitation entre les deux espèces (dromadaires et bovins).

Ce problème de cohabitation était aussi soulevé par plusieurs auteurs chez d'autres espèces qui ont indiqué que la présence des lésions dans les voies respiratoires et le contact avec des bovins infectés par les mêmes spoligotypes, suggèrent que les chèvres ont le potentiel de servir de réservoir domestique pour la tuberculose [202], [320], [321], [322], surtout lorsque les animaux partagent les mêmes pâturages [323].

#### 1. b. Facteurs de risque

Par ailleurs, l'absence de mesures adéquates de contrôle et la présence de nombreux facteurs de risque favorisant la transmission de la tuberculose chez le dromadaire contribuent fortement à la dissémination de la tuberculose à *M.bovis* dans le cheptel camelin, notre étude a permis de révéler les différents facteurs de risque de cette pathologie.

### ❖ Sexe

La proportion des dromadaires femelles présentant des lésions suspectes de tuberculose (9,37%) était supérieure à celui des mâles (1,61%).

Ceci peut être expliqué par :

- ✚ la plus longue vie reproductrice des femelles qui ont une plus grande chance de rencontrer un animal infecté de tuberculose à *M.bovis* durant leur cycle de vie [316].
- ✚ de même que la sensibilité des femelles qui devaient supporter une gestation, une parturition puis une lactation. [324], [325].

Il convient de mentionner que nos résultats :

- Sont comparables à ceux rapportés à l'abattoir d'Akaki en Ethiopie par *Kasaye et coll.* qui ont signalé une prédominance des lésions tuberculeuses chez les femelles (5,91%) par rapport aux mâles (2,41%) [317].
- Sont Identiques à ceux confirmé par MAMO G et *al.* qui ont signalé une prédominance des lésions tuberculeuses chez les femelles (12.4%) par rapport aux mâles (8.4%) au niveau de l'abattoir en Ethiopie [8].
- Sont similaires aussi à ceux déclarés par Jibril et coll. qui ont rapportés que la prévalence des lésions tuberculeuse soit 10,37% et 5,0% ont été enregistrés respectivement chez les dromadaires femelles et mâles dans une étude menée au niveau de l'abattoir d'Akaki en Ethiopie [139].

### ❖ Age

Nos résultats montrent que les cas suspects de tuberculose sont plus fréquents chez les sujets âgés de plus de 10 ans avec une prévalence de 5,63% par rapport aux autres tranches d'âge.

La tuberculose animale est une maladie d'évolution chronique [29], c'est la raison pour laquelle la maladie se manifeste fréquemment chez les animaux âgés, ce qui pourrait être dû au fait que les animaux plus âgés ont un système immunitaire plus faible [39].

- Nos résultats concordent avec ceux rapportés par GEZAHEGNE M et *al.* [39] qui ont indiqué une prévalence de lésions tuberculeuses (9.6%) supérieures chez les animaux âgés.

- Même constat a été fait par *Beyi et coll.* En effet, ceux-ci ont estimé un pourcentage de 11,7% (22/180) dans une étude menée à l'abattoir de Dire Dawa en Ethiopie [319].
- D'autres études chez l'espèce bovine ont également signalé que les bovins plus âgés sont les plus touchés par la tuberculose [326], [327].
- Par contre, les travaux de *Mamo et al.* en 2009 signalent que les animaux adultes (5 à 10 ans) sont les plus touchés par rapport aux autres classes d'âge avec une prévalence de 6.13% [8].

#### ❖ Localisation des lésions

A l'inspection des carcasses, il en ressort que les lésions suspectes de tuberculose cameline sont essentiellement localisées au niveau du parenchyme pulmonaire avec une prévalence de 62,75% (64/102), les autres lésions se localisent au niveau du foie 36,27% (37/102) et un faible pourcentage a été constaté au niveau des ganglions bronchiques 0,98% (1/202).

La prédominance de lésions respiratoires est explicable par le mode de transmission préférentielle de la tuberculose à *M.bovis* par cette voie [8], cette voie de transmission est considérée comme la voie principale chez le dromadaire [9].

- Ces résultats sont assez comparables avec ceux de *Mamo et coll.* [39], obtenus dans l'abattoir de Dire Dawa en Ethiopie avec un taux élevé de lésions pulmonaires (54,2 %).
- Même constat a été observé par *Zubair et coll.* indiquant une proportion de (48,90%) des lésions pulmonaires dans une étude menée dans les abattoirs de Lahore et Faisalabad au Pakistan [40].
- D'autres études menées chez le dromadaire par KINNE, J et *al.* [328] et WINDSOR, R.S en 1999 [329] rapportent que les lésions de tuberculose siègent dans les poumons chez le dromadaire [330].

## 2) Au niveau de laboratoire

Dans le but de confirmer ou d'infirmer la présence de la tuberculose chez le dromadaire dans les trois abattoirs étudiés, nous avons traité les lésions suspectes de tuberculose par plusieurs méthodes de diagnostic :

### 2.1. Diagnostic bactériologique

Il comporte les examens suivants :

#### a. Examen microscopique (Bacilloscopie)

L'examen direct constitue toutefois une étape du diagnostic de la tuberculose adoptée par les programmes nationaux de lutte contre la tuberculose dans les pays à ressources limitées [153], [331].

Notre étude a montré seuls 4,90% avec un IC 95% (1,08 - 9,73) des lames étaient positives (présence des BAAR) à l'examen microscopique.

Cette faible positivité pourrait être due à l'absence [332] ou le faible nombre [242] de mycobactéries viables dans les lésions tuberculeuses calcifiées. De même que, la microscopie est très peu sensible car il faut un minimum de  $10^4$  bacilles/ml de suspension pour obtenir un frottis positif en BAAR [153].

Nos résultats sont :

- Différents à ceux signalés par *Mamo et coll.* dans une étude réalisée à l'abattoir de Dire Dawa en Ethiopie qui indique un taux de positivité de l'examen directe égale à 28.6% [8].

#### b. Culture Bactérienne

L'examen de culture est considéré comme le diagnostic standard de la tuberculose pulmonaire [101].

Le taux de positivité à la culture bactérienne sur milieux solides Löwenstein-Jensen était supérieur (5,88 %), avec (IC 95% : 2,19 - 12,36) par rapport à la bacilloscopie pour cela l'examen de culture bactérienne reste un test de référence pour un meilleur contrôle de la tuberculose [332].

Non résultats sont :

- supérieurs à celui obtenu (1,4%) par *Mamo et coll.* [8].

Les résultats de notre étude concernant le coefficient kappa (K) ont montré que la concordance entre la bacilloscopie et la culture bactérienne s'est avérée bonne avec un coefficient kappa de 0,71.

- Il s'agit d'un résultat supérieur à ceux rapportés auparavant par *Beyi et coll.* [319], et par *Mamo et coll.* [8] qui ont signalé respectivement une concordance faible (coefficient kappa = 0,37) à moyenne (coefficient kappa = 0,51) entre ces deux tests.

## 2.2. Diagnostic moléculaire

### a. restriction enzymatique par PCR (PRA)

- Polymérase chaîne réaction

La PCR a été décrite comme un outil important pour le diagnostic de la tuberculose animale, c'est une méthode rapide, précise, sensible et efficace et peut être utilisée dans la caractérisation épidémiologique des animaux infectés par la tuberculose [177], bien que la sensibilité de la réaction en chaîne par polymérase (PCR) peut atteindre 95% [333].

Dans notre étude, la technique de *PCR* a présenté un signal positif pour les échantillons appartenant au complexe *Mycobacterium tuberculosis* soit une proportion de 83,33% (5/6).

Nos résultats sont :

- Comparables à ceux rapportés par *Gezahegne Mamo et al* en 2011, qui ont indiqué que 68% (21/31) des colonies ont montré un signal positif pour le genre *Mycobacterium* dans une étude menée au niveau de l'abattoir d'Akaki et Metehara en Ethiopie [39].
- Similaires à ceux déclarés par *Yasser F. Elnaker* et ses collaborateurs en 2019 dans une étude menée au niveau de l'abattoir en Egypte [27].

- Même constat était signalé par Philippe et coll. qui indique que les chercheurs de l'institut Pasteur avaient démontré en comparant les cartes de restriction l'existence de différences entre *M.tuberculosis* et *M.bovis* par restriction enzymatique [334].

b. Spoligotypage

La caractérisation moléculaire de la tuberculose chez le dromadaire en Algérie est considérée comme le premier travail réalisé à ce jour, cette étude a pu confirmer la présence de *M.bovis* avec avec la technique de spoligotypage qui a identifié quatre spoligotypes qui ont été déjà signalés dans la base des données internationales *M. bovis* (<http://www.Mbovis.org>) (*SB0941*) et un nouveau profil qui a été introduit dans la base des données sous le numéro de code OCT476743617777600 (<http://www.Mbovis.org>) et désigné comme *SB2562*, ce spoligotype n'a jamais été isolé auparavant chez le dromadaire.

Le *SB0941* a été identifié pour 4 souches bactériennes, ce profil a été isolé précédemment chez les bovins dans deux abattoirs algériens [13]. Ce constat suggère le passage possible de ce spoligotype au sein des deux espèces par cohabitation. Des résultats similaires ont été rapportés par Elnaker et coll. dans un abattoir à Gouvernorat d'El-Behera en Egypte qui ont déclaré que les dromadaires infectés élevés avec des bovins ou à côté d'élevages bovins, la souche isolée est principalement *M. bovis* [27].

Nos résultats sont comparables aussi à ceux rapportés en Ethiopie par *Mamo et coll.* en 2011 [39] qui ont montré que *M.bovis* est l'agent causal de la tuberculose chez le dromadaire (*SB0133* et *SB1953*). De même que la présence d'un nouveau spoligotype en Ethiopie qui n'avait pas été signalée auparavant, cette nouvelle souche a été signalée à la base de données mondiales (<http://www.Mbovis.org>) et désignée *SB1953* [39]. Par contre nos résultats sont différentes à ceux déclarés par Brudey K et *al.en* 2006 dans une étude menée en Ethiopie qui ont mis en évidence l'isolement de la souche *M.tuberculosis* (*E-A, SITE 149*) à partir des lésions tuberculeuse disséminées chez le dromadaire. Il s'agit du premier signalement connu de *M.tuberculosis* sur le dromadaire en Ethiopie, indiquant une transmission probable de l'homme à cet animal [335].

### c. Séquençage

De plus, pendant cette étude nous avons pu isoler une souche atypique et l'identifier par la technique de séquençage de la région *16s DNA*. Cette souche a été identifiée comme une *Mycobacterium Virginiensis* MO-233.

Ce type de mycobactérie a été isolé dans les lésions pulmonaires chez une chamelle âgée plus de 10 ans pour la première fois au niveau de l'abattoir d'El Oued en Algérie.

Cette souche (*Mycobacterium Virginiensis* MO-233) est une espèce appartenant au Complexe *Mycobacterium Terrae* [334].

- Un même constat a été signalé par Johnson et *coll.* qui ont également isolés des mycobactéries atypiques telles que *M.kansasii* chez les camélins [246].
- La séquence nucléotidique de la souche atypique *Mycobacterium Virginiensis* MO-233 obtenu par séquençage de la région *16sDNA* est la même séquence déposée dans la base de données *GenBank* sous le numéro d'accès KR025879 (annexe 5) par Vasireddy.R, et ses collaborateurs en 2016 dans une étude menée aux Etats Unis [336].
- Nos résultats sont similaires aussi à ceux rapportés par [328], [337], [39], [338], [339], qui ont déclaré que les *mycobactéries non tuberculeuses* telles que *M. kansasii*, *M. aquae*, *M. fortuitum* et *M. smegmatis* ont tous été isolés chez le dromadaire dans plusieurs études antérieures.
- Même constat a été rapporté par Balako Gumi et *coll.* qui ont déterminé la présence d'une souche appartenant au *Mycobacterium terrae* complex isolé chez la chèvre dans une étude menée en Ethiopie [340]. De même ce complexe (*M.terrae*) a été signalé chez la faune dans le sud-ouest de l'Ethiopie [341].

Peu d'études concernant la tuberculose chez les camélidés ont été publiées au cours de la dernière décennie, mais l'augmentation des signalements d'épidémies de la tuberculose chez cet animal, ces dernières années suggère une forte sensibilité à l'infection tuberculeuse [342] et *M.bovis* a été identifié dans la plupart des publications [342].

## CONCLUSION

La tuberculose chez le dromadaire est une zoonose majeure responsable de sérieux problèmes de santé publique. Il s'agit de la première étude portant à la fois sur les diagnostics bactériologique et moléculaire de la tuberculose chez le dromadaire dans le sud Algérien. Il faudrait mentionner que peu de données sont disponibles sur la présence de cette pathologie chez cette espèce cameline, sa distribution géographique et la diversité moléculaire des infections au complexe *Mycobacterium tuberculosis*. Cette étude a pour but d'évaluer la prévalence de la tuberculose cameline dans la zone d'étude, d'isoler et d'identifier les agents responsables de cette maladie.

A la lumière de nos résultats, nous concluons par citer les points suivants :

- Notre étude a pu confirmer l'existence de la tuberculose chez le dromadaire dans trois abattoirs distincts de la région sud de l'Algérie pendant la période de notre travail avec une prévalence de 3,05% des dromadaires présentant des lésions macroscopiques suspectes de tuberculose.
- Notre travail a souligné que les dromadaires âgés sont les plus sensibles à l'infection tuberculeuse.
- Notre étude nous a permis de constater que cette affection est plus répandue chez les femelles par rapport aux mâles. Aussi, il est à signaler que le poumon est l'organe le plus atteint par l'affection tuberculeuse par rapport aux autres organes inspectés.
- Concernant l'identification des souches isolées par le diagnostic moléculaire, nos résultats ont permis de mettre en évidence les agents responsables de la tuberculose chez les dromadaires présentant des lésions suspectes de tuberculose. Cinq (05) souches de *M. bovis* ont été identifiées dont 4 souches avec un spoligotype déjà connu et identifié auparavant chez le bovin en Algérie (SB0941). En revanche, la cinquième souche présente un nouveau spoligotype (SB2562) isolé chez le

dromadaire, ce dernier a été introduit dans la base de données (<http://www.Mbovis.org>).

- Aussi, une souche atypique supplémentaire a été isolée et identifiée pour la première fois en Algérie chez une chamelle âgée de plus de 10 ans au niveau de l'abattoir d'El Oued en Algérie. Il s'agit de *Mycobacterium Virginiensis* MO-233.

Enfin, quelques recommandations sont nécessaires pour la continuité de notre axe de recherche :

Tenant compte du caractère zoonotique de *Mycobacterium bovis*, il est nécessaire de mettre en œuvre des mesures visant à contrôler la tuberculose à *M. bovis* dans le cheptel des dromadaires algériens au niveau de différentes régions en vue de réduire la transmission entre l'animal et l'homme et entre animal-animal d'espèces différentes vivant en cohabitation. Enfin des études complémentaires restent nécessaires pour l'étude de la tuberculose chez cet animal. Il faudrait souligner l'intérêt de la caractérisation moléculaire des agents responsables de cette affection afin de mieux comprendre la situation épidémiologique du cheptel camelin en Algérie.

## RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES

La tuberculose cameline existe dans nos abattoirs, il ne faut pas la sous-estimer, vue l'aspect zoonotique de cette maladie et sa transmission entre les espèces, nous recommandons à la communauté scientifique algérienne de réaliser des études semblables pour connaître les différents spoliotypes responsables de cette affection en élargissant la zone d'étude avec un échantillon de dromadaire important sur une période plus étendue.

En matière de la prophylaxie et de la lutte, à la quelle il faut donner beaucoup d'importance car les habitudes sociologiques et alimentaires qui augmentent le risque de transmission de cette maladies à l'Homme comme la consommation du lait cru non pasteurisé, le contact avec des animaux malades sans port d'équipement de protection individuelle doivent être évitées pour diminuer le risque zoonotique de la tuberculose pour cela, nous incitons à :

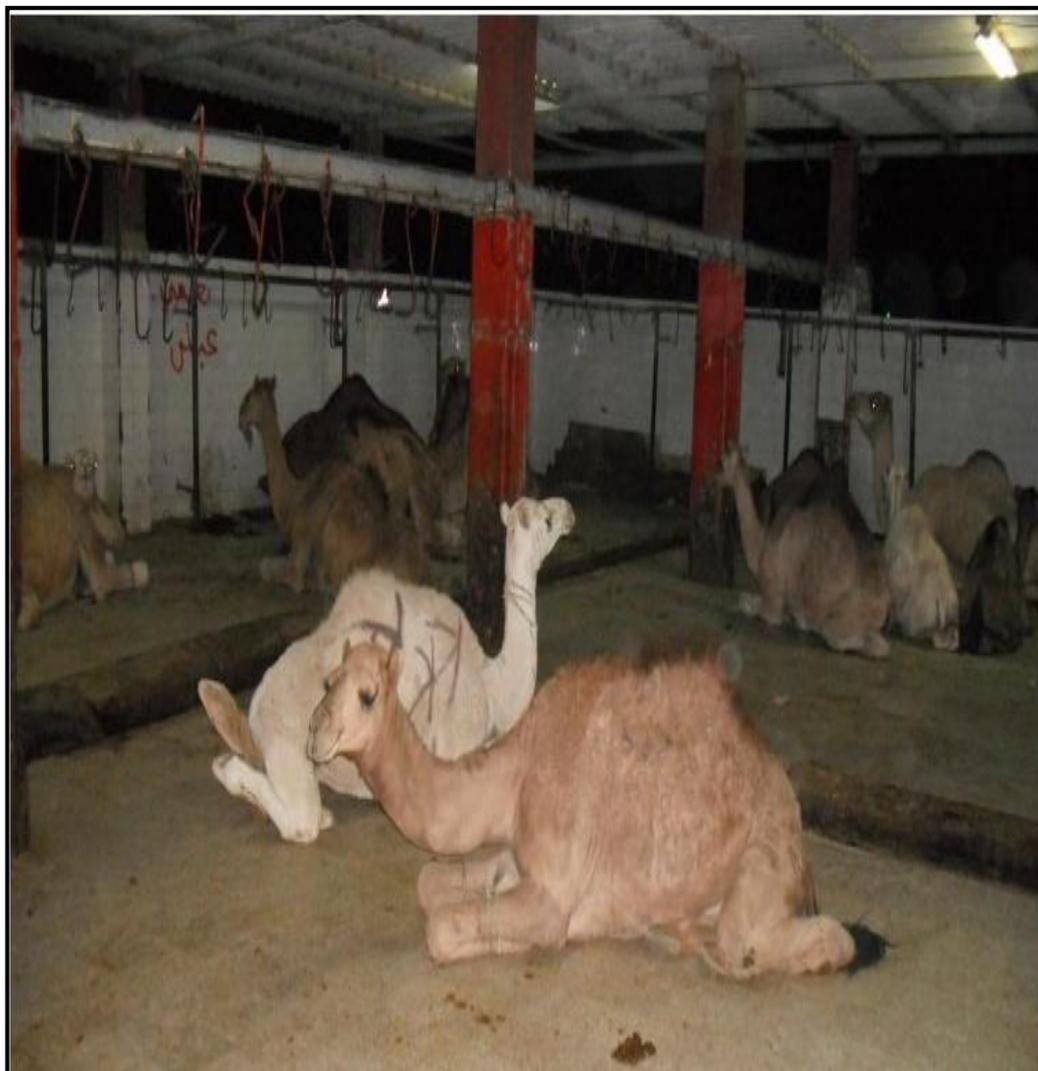
- La sensibilisation des citoyens sahariens sur cette zoonose, et le danger sanitaire sur les produits d'origine animale ;
- L'identification de tout le cheptel camelin au niveau national pour mieux contrôler son déplacement ;
- La sensibilisation des vétérinaires inspecteurs des abattoirs sur la tuberculose cameline et une inspection approfondie des carcasses qui peut révéler l'existence des lésions tuberculeuses doit être appliquée ;
- Renforcer la surveillance, la traçabilité du cheptel camelin, et localiser l'origine des porteurs de lésions afin d'identifier les zones et les élevages infectés ;
- La mise en place des moyens efficaces de dépistage de la tuberculose de dromadaire sur le terrain ;
- Une analyse bayésienne rétrospective sur la tuberculose chez le dromadaire.
- Eviter la cohabitation des différentes espèces animales surtout le bovin.

## APPENDICE A

### LISTE DES ABREVIATIONS

<b>M</b>	<i>Mycobacterium</i>
<b>TB</b>	<i>Tuberculose</i>
<b>MTBC</b>	<i>Complexe Mycobactérium Tuberculosis</i>
<b>ADN</b>	<i>Acide désoxyribonucléique</i>
<b>BAAR</b>	<i>Bacille acido alcoolo résistant</i>
<b>MNT</b>	<i>Mycobactéries Non Tuberculeuses</i>
<b>MAC</b>	<i>Complexe Mycobacterium Avium intra Cellulaire</i>
<b>µm</b>	<i>Micrometer</i>
<b>PG</b>	<i>Peptidoglycane</i>
<b>AG</b>	<i>Arabinogalactan</i>
<b>L-J</b>	<i>Löwenstein-Jensen</i>
<b>MGIT</b>	<i>Mycobacteria Growth Indicator Tube</i>
<b>Mbp</b>	<i>Méga paires de bases</i>
<b>G</b>	<i>Guanine</i>
<b>C</b>	<i>Cytosine</i>
<b>PCR</b>	<i>Polymérase chaine de réaction</i>
<b>BCG</b>	<i>Bacille de Calmette et Guérin</i>
<b>RIMC</b>	<i>Réponse immunitaire à médiation cellulaire</i>
<b>mm</b>	<i>Millimètre</i>
<b>TST</b>	<i>tuberculin skin test</i>
<b>IDR</b>	<i>Intradermo-reaction</i>
<b>NaOH</b>	<i>soude caustique</i>
<b>ARNr</b>	<i>ARNr ribosomique 16s</i>
<b>BstEII</b>	<i>Bacillus Stearothermophilus</i>
<b>HaellI</b>	<i>Haemophilus aegypticus</i>
<b>DR</b>	<i>Direct Repeat</i>
<b>CRISPR</b>	<i>Clustered Regularly Interspersed Short Palindromic Repeats</i>

**MIRU***Multiple Intersped Repetitive Units***VNTR***Variable Number Tandem Repeat*

**APPENDICE B****Salle d'attente**

## APPENDICE C

FICHE DE RENSEIGNEMENTS

Numéro du pot :	<input type="text"/>
Date :	<input type="text"/>
Abattoir :	<input type="text"/>
Espèce :	<input type="text"/>
Sexe :	<input type="text"/>
Age :	<input type="text"/>
Partie touchée :	<input type="text"/>
Type de tuberculose (généralisée ou localisée) :	<input type="text"/>

## APPENDICE D

### MATERIEL ET REACTIFS DE L'EXAMEN BACTERIOLOGIQUE

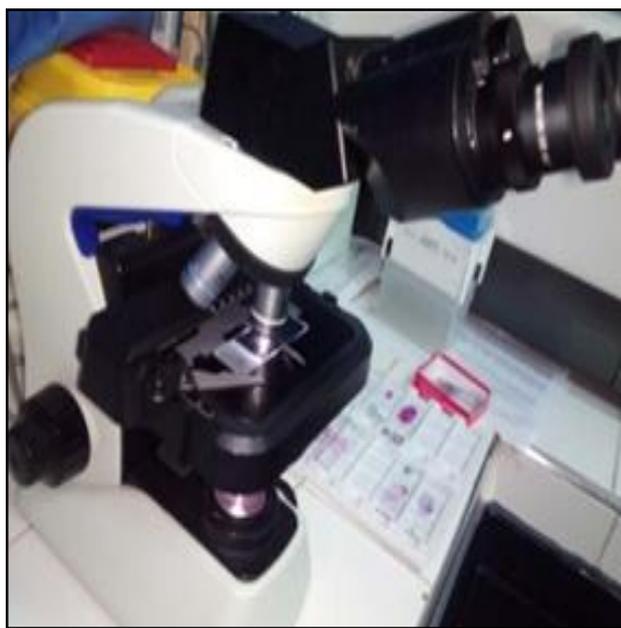
- Matériel



Mortier et pilon



Pipette pasteur



Microscope photonique



Hotte de biosécurité



Agitateur de KAN



Centrifugeuse



Etuve



Milieu de *Lowenstein-Jensen*

- Réactifs de la coloration de Ziehl Neelsen

**Fuchsine phéniquée de Ziehl**

Fuchie basique	1g
Phénol aqueux	5.5g
Alcool éthylique a 95%	10mL
Eau distillée	100mL

**Acide sulfurique a 25%**

Acide sulfurique	25mL
Eau distillée	75mL

**Ethanol a 95%****Bleu de méthylène phéniqué**

Bleu de méthylène	2g
Alcool éthylique a 95%	10mL
Phénol aqueux	2.2g
Eau distillée	100mL

## APPENDICE E

### MATERIEL D'EXTRACTION D'ADN



Tube Eppendorf 5ml



Centrifugeuse



Plaque chauffante

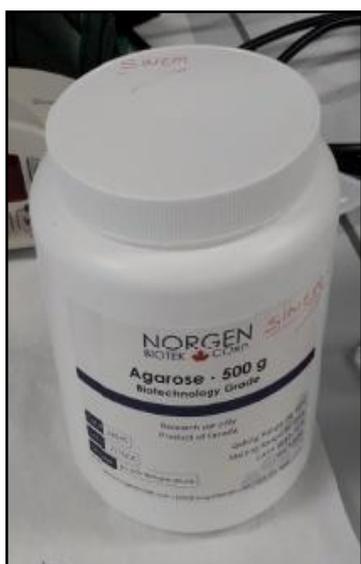


Tris-EDTA

APPENDICE F  
**MATERIEL DE L'EXAMEN MOLECULAIRE**



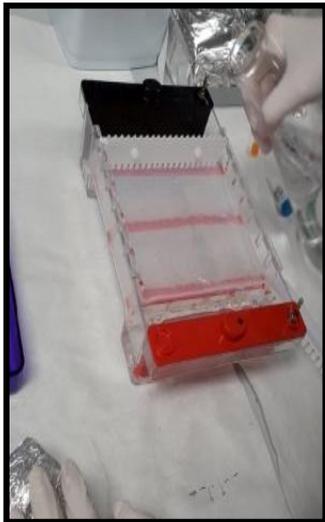
Préparation de la PCR



Agarose poudre



Balance



Cassette



Dépôt d'ADN sur gel



Thermocycleur



Appareil d'enregistrement Bio-RAD Système



Automate de spoligotypage « luminex 200 » .

## Appendice G

TABLE DE REFERENCE « -PCR RESTRICTION ENZYME ANALYSIS- »

231/116/94	161/112/59/40/36/33 ✓	<i>M. gordonae</i> (U 17939),
	145/127/98/52	<i>M. concordense</i> DSM44678
	145/127/93/40/36 ✓	<i>M. ayumi</i> AF031602=hsp65.22
	145/127/59/40/36/34 ✓	<i>M. intracellulare</i> (U 17924, U 17941-43-44, U 83632-7, AF031599, AF031603, ATCC31920, AF128024
	145/127/59/40/36/22/12 ✓	<i>M. intracellulare</i> (U85638=AF031598=hsp65.9, <i>M. chimera</i> AY943198 New proposed name for MAC)
	145/127/42/40/36/22/17/12 ✓	MAC AF241205
	145/106/78/40/34/21/17 ✓	<i>M. malmoense</i> DSM 44163
	139/123/98/36/23/16/6	<i>M. brisbanense</i> DSM 44680=AY943196
	139/58/48/40/36/33/23/22/22/14/6 ✓	<i>M. hibemica</i> DSM 44241
	127/112/40/36/36/34/33/23 ✓	<i>M. gordonae</i> (U 17934)=AY550237
	127/103/59/42/40/36/34 ✓	MAC AF241212
	127/103/42/42/40/36/34/17 ✓	MAC AF241209
	127/94/59/51/40/36/34	<i>M. intracellulare</i> AY536637
	127/94/51/40/36/34/23 ✓	MAC AF241213
	231/116/79/15	235(215)/115(80)
161/112/59/40/36/33 ✓		<i>M. gordonae</i> I (ATCC 14470) (U 17937-8), AF071134
161/103/59/42/40/36 ✓		<i>M. yanovi</i> (U17959)
152/127/69/42/22/17/12 ✓		<i>M. bovis</i> (U 17925), <i>M. tuberculosis</i> (U 17957)
145/127/40/36/34/23/22/14 ✓		<i>M. sherrisi</i> AY365190
145/127/40/36/34/23/19/17		<i>M. species</i> 131B (AY037764)
145/123/58/52/40/23 ✓		<i>M. fortitum</i> AF071133=AF547833=ATCC 6841
145/58/54/43/40/36/33/16/14 ✓		<i>M. nonchromogenicum</i> I (NT 1401)
139/123/58/52/40/23/6 ✓		Eco57T 237/204 <i>M. senegalense</i> AF071137= <i>senegalense</i> NT6801= <i>farcinogenes</i> AF547830= <i>farcinogenes</i> DSM 43637= <i>M. conceptionense</i> AM902958, DSM45102 204/189/48, <i>M. fortitum</i> AF140677-6 = <i>M. neworleansense</i> AY496143, <i>M. houstonense</i> DSM44676, AY458077
139/94/42/42/40/39/36/9		<i>M. parascrofulaceum</i> AY337275
127/112/69/51/40/23/19 ✓		<i>M. kansasii</i> AY438088
127/94/42/42/40/39/36/12/8 ✓		<i>M. scrofulaceum</i> (hsp65.27) = <i>M. gordonae</i> SN 601 = <i>M. parascrofulaceum</i> AY337274 = AY943201, <i>M. parascrofulaceum</i> DSM44648
150/133(140/120/50)		<i>M. fortitum</i> bioIII Sorbi(+)
140/120/50		<i>M. peregrinum</i> Psp <sup>R</sup>

**RESTRICTION DE DIFFERENTS GENES MYCOBACTERIENS****« Techniques de séquençage »**

Species	End fragment size (bp) <sup>a</sup>			
	65-kDa HSP gene		16S rRNA gene	
	<i>Bst</i> II	<i>Hae</i> III	<i>Cfo</i> I	<i>Hae</i> III
<i>M. tuberculosis</i>	116 (113), 231 (230)	127 (126), 152 (150)	149 (148), 160 (160)	31 (33), 187 (186)
<i>M. bovis</i>	116 (113), 231 (230)	127 (126), 152 (150)	149 (148), 160 (160)	31 (33), 187 (186)
<i>M. bovis</i> BCG	116 (113), 231 (230)	127 (126), 152 (150)	149 (148), 160 (160)	31 (33), 187 (186)
<i>M. africanum</i>	116 (113), 231 (230)	127 (126), 152 (150)	149 (148), 160 (160)	31 (33), 187 (186)
<i>M. microti</i>	210 (208), 231 (230)	40 (40), 127 (124)	138 (139), 146 (147)	31 (32), 178 (177)
<i>M. avium</i>	210 (208), 231 (230)	40 (40), 127 (126)	149 (148), 326 (325)	31 (32), 178 (179)
<i>M. intracellulare</i>	116 (112), 231 (231)	40 (41), 127 (126)	139 (136), 149 (148)	27 (28), 31 (32)
<i>M. simiae</i>	210 (231), 231 (228)	126 (123), 185 (182)	62 (60), 138 (136)	26 (28), 31 (32)
<i>M. goodii</i>	116 (113), 231 (229)	40 (38), 161 (158)	NF	28 (28), 31 (32)
<i>M. kansasii</i>	210 (207), 231 (229)	127 (123), 185 (181)	139 (136), 149 (148)	31 (32), 178 (177)
<i>M. fortuitum</i>	116 (113), 231 (231)	41 (43), 145 (142)	62 (59), 134 (130)	31 (32), 178 (165)
<i>M. peregrinum</i>	210 (208), 231 (233)	98 (102), 139 (136)	62 (59), 134 (130)	31 (30), 178 (165)
<i>M. chelonae</i>	131 (128), 310 (310)	40 (44), 197 (195)	137 (137), 325 (325)	31 (30), 184 (182)
<i>M. abscessus</i>	210 (207), 231 (232)	40 (40), 145 (142)	137 (136), 326 (326)	31 (31), 185 (183)
<i>M. celatum</i>	210 (208), 231 (231)	40 (39), 127 (123)	138 (139), 324 (328)	31 (30), 176 (180)
<i>M. marinum</i>	210 (208), 231 (231)	40 (40), 106 (103)	149 (148), 326 (325)	31 (32), 178 (178)

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

1. Lobue, P.A., Enarson, D. A. Thoen, C. O., “La tuberculose chez l’homme et chez l’animal : vue d’ensemble, Série didactique : *Mycobacterium bovis*”, Int. J Tuberc Lung Dis 14(9). (2010), 1075–1078.
2. World Health Organization., Global tuberculosis report (2015). Geneva, Switzerland.
3. OMS., Organisation mondiale de la santé, rapport annuel, (2015).
4. Zammarchi, L., Bartalesi, F., Bartoloni, A., “Tuberculosis in tropical areas and immigrants”. Mediterranean journal of hematology and infectious diseases. (2014); 6(1):e2014043.
5. Dubois, M.F.S., “Les tuberculoses chez l’animal et l’homme actualités épidémiologiques et diagnostiques”. (2002) – TOU 3 – 4103, p 39-146.
6. Delnatte, P G A., “Etude de la tuberculose chez l’éléphant : importance en parc zoologique”, (2008), P 19, TOU 3 – 4014.
7. Mustafa, I.E., “Bacterial diseases of dromedaries and Bactrian camels”. *Rev. Sci. tech. Off. Int. Epiz.* (1987). 6 (2), 391–405.
8. Mamo, G., Kassaye, A., Sanni, M. &Ameni, G., –“A cross sectional study of camel tuberculosis in Ethiopia”, *Bull. Anim. Hlth. Prod. Afr.*, (2009). 57, 13-20. <https://www.ajol.info/index.php/bahpa/article/view/44047>.
9. Chartier, F., Chartier, C., Thorel, M.F., Crespeau, F., “A new case of *Mycobacterium bovis* pulmonary tuberculosis in the dromedary (*Camelus dromedarius*) in Mauritania”. In: *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop.*, Vol. 44(1), (1991), p. 43- 47.
10. Wernery U., Kinne J., “Tuberculosis in camelids”: a review *Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz.* 31 (3), (2012), 899-906.
11. Snoussi, A., Brahimi, Z., et Beziou, S., “Portée de l’élevage camelin en Algérie et perspectives de développement”. *Revue des BioRessources* Vol 7 N° 1 (Juin 2017), 29- 38.
12. Sahraoui, N., Hasniou, A., Chettab, H., Ben Khada, G., Tazerart, F., Chadi, H., Zinsstag, J., &Guertarni, D., - “Diagnostic de la tuberculose ovine par examen anatomo-pathologique en Algérie”. *J. Rech. Sci. Univ. Lomé (Togo)*, (2012)

- Série A, 14(2) ,143-147.
13. Sahraoui, N., Muller, B., Guetarni, D., Boulahbal, F., Yala, D., Ouzrout, R., Berg, S., Smith, N.H., and Zinsstag, J., “Molecular characterization of *Mycobacterium bovis* strains isolated from cattle slaughtered at two abattoirs in Algeria”. *BMC Veterinary Research*. (2009), 5:4 doi: 10.1186/1746-6148-5-4).
  14. Mathema, B., Kurepina, N.E., Bifani, P.J., and Kreiswirth, B.N ., “Molecular epidemiology of tuberculosis: current insights,” *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 19, no. 4, (2006). pp. 658–685.
  15. Crozet, G., et al, “La tuberculose animale”. Polycopié des Unités de maladies contagieuses des Ecoles Nationales Vétérinaires françaises, Boehringer Ingelheim (Lyon), (2019), 111 p.
  16. Benet, JJ., Praud, A., et al, “La tuberculose animale”. Polycopié des Unités de maladies contagieuses des Ecoles Nationales Vétérinaires françaises”, Mérial (Lyon), (2014), 100 p.
  17. OIE, Terrestrial Animal Health Manual, “Bovine Tuberculosis” (2016). Ch. 11, 5. OIE, France. P 586-589.
  18. Thoen, C.O., Steele, J.H., and Kaneene, J.B., “Zoonotic Tuberculosis: *Mycobacterium bovis* and Other Pathogenic Mycobacteria”. John Wiley and Sons, Ames, Iowa (May 2014). Wiley-Blackwell - ISBN: 978-1-118-47429-7. 432 P
  19. Littlewood, W., “Camel tuberculosis”. *Egyptian Official Gazette*. Lotfy, D., Guindi, S.M., 1963. Tuberculin Testing as Applied on Camels in United Arab Republic. In: Fourth Arab Vet. Congress, (1888). pp. 479–485.
  20. Lingard, A., “Camel tuberculosis”. *Annual Report of the Imperial Bacteriologist, India*, (1905). S.n.190 tou.06.
  21. Leese, A.S., “Camel tuberculosis”. *Annual Report of Officer Investigating Camel Disease, India*. S.I.S.n, (1908).
  22. Ngandolo, B.N., Diguimbaye-Djaibe., C., Müller, B., et al, “Diagnostic ante et post mortem de la tuberculose bovine au sud du Tchad : cas des bovins destinés à l’abattage”, *Rev Elev. Méd. Vét. Pays Trop.* (2009). 62 (2) : 5-12.
  23. Wernery, U., Kinne J., Schuster, R K., “Camelid infectious disorders”. OIE (World Organisation for Animal Health), Paris. Ed.2014.

24. Abubakar, U.B., Kudi, A.C., Abdulkadri, I.A., Okaiyeto, S.O., and Ibrahim, S., "Prevalence of tuberculosis in slaughtered camels (*Camelus dromedaries*) based on post-mortem meat inspection and Zeihl-Neelsen stain in Nigeria". *Journal of Camel Practice and Research*. (2012), 19, 29–32.
25. Ostrowski, S., Bedin, E., Lenain, D.N., Abuzinada, A.H., "Ten years of Arabian Oryx conservation breeding in Saudi Arabia—achievements and regional perspectives". (1998). *Oryx* 32, 209.
26. El-Afifil, A., Zaki, R., & Farra G H., "Incidence and typing of tuberculosis in camels in Egypt" (1953). *Vet. Med. J., Giza*, 1, 1.
27. Elnaker, Y.F., Diab, M.S., Ibrahim, N.A., El-Gedawy, A., Zaki, R.S., Radwan, A., "Seroprevalence and molecular characterization of *Mycobacterium bovis* infection in camels (*Camelus dromedarius*) in the Delta region, Egypt", *Veterinary World*, (2019). 12(8): 1180-1187.
28. Manefield, G.W., Tinson, A.H., "Camels. A Compendium" Sydney Post Graduate Foundation Vade Mecum Series for domestic animals. *Veterinary Science* (February 1997). C No; 22.
29. Zubair, R., Khan, AMZ., Sabri, MA., "Pathology in camel lungs". *J Camel Science* (2004). 1: 103–106.
30. Narnaware, S.D., Dahiya, S.S., Tuteja, F.C., Nagarajan, G., Nath, K. and Patil, N.V. "Pathology and diagnosis of *Mycobacterium bovis* in naturally infected dromedary camels (*Camelus dromedarius*) in India". *Trop. Anim. Health Prod.* (2015), 47(8): 1633-1636. 23.
31. Thoen, C.O., Kaplan, B., Thoen, T.C., Gilsdorf, M.J. and Shere, J.A. "Zoonotic tuberculosis. A comprehensive one health approach". *Medicina (Buenos Aires)*, (2016). 76(3):159-165.
32. Kulchavenya, E., "Extrapulmonary tuberculosis is statistical reports accurate". *Ther. Adv. Infect. Dis.*, 2 (2): 61-70.
33. Wirth, T., Hildebrand, F., Allix-Béguec, C., Wölbeling, F., Kubica, T., Kremer, K., Van Soolingen, D., Rüsche-Gerdes, S., Locht, C., Brisse, S., Meyer, A., Supply, P., Niemann, S., Origin, "spread and demography of the *Mycobacterium tuberculosis complex*". *PLoS Pathog.* (2008). 4(9), e1000160.

34. Djelouadji, Z., Raoult, D., Drancourt, M., “Palaeogenomics of *Mycobacterium tuberculosis*: Epidemic bursts with a degrading genome”. *Lancet Infect. Dis.* 11, (2011). 641–650.
35. Rothschild, B.M., Martin L.D., Lev, G., Bercovier, H., Bar-Gal, G.K., Greenblatt, C., Donoghue, H., Spigelman, M., Brittain, D., “*Mycobacterium tuberculosis* complex DNA from an extinct bison dated 17,000 years before the present”. *Clin Infect Dis.* (2001). 33: 305-311.
36. Françoise, T.M., “Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail (Europe et régions chaudes)”, (2003). P 927-946.
37. Barbiéri, R., and Drancourt, M., “Paléomicrobiologie de la tuberculose,” *Rev. Francoph. des Lab.*, vol. 2017, no. 496, pp. 40–46.
38. Chamoiseau, G., Bah, S. O., Ahmed Vall S. M. O., “Un cas de tuberculose pulmonaire chez un dromadaire”. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.* 38(1) (1985), 28- 30.
39. Mamo, G., Bayleyegn, G., Tessema, T.S, Legesse, M., Medhin, G., Bjune, G. et al., “Pathology of camel tuberculosis and molecular characterization of its causative agents in pastoral regions of Ethiopia”. *PLoS One.* (2011).6:e15862.
40. Twomey, D.F., Crawshaw, T.R., Anscombe, J.E., Barnett, J.E.F., Farrant, L., Evans, L.J., McElligott, W.S., Higgins, R.J., Dean G.S., Vordermeier H.M. & de la Rúa-Domenech R.– “Assessment of antemortem tests used in the control of an outbreak of tuberculosis in llamas (*Lama glama*)”, (2010). *Vet. Rec.*, 167 (13), 475–480.
41. Dinkla, E.T.B., Haagsma, J., Kuyvenhoven, J.V., Veen J. & Nieuwenhuijs J.H.M.– “Tuberculosis in imported alpacas in the Netherlands: a zoonosis – now what?” [in Dutch] (1991). *Tijdschr. Diergeneeskd.* 116 (9), 454–460.
42. Stevens, J.B., Thoen, C.O., Rohonczy, E.B., Tessaro, S., Kelly, H.A., & Duncan, J.R., “The immunological response of llamas (*Lama glama*) following experimental. Infection with *Mycobacterium bovis*”. *Can. J. vet. Res.*, 62 (2), (1998). 102–109.
43. W. H. O. (WHO), Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) and World Organisation for Animal Health (OIE). Roadmap for zoonotic tuberculosis, Geneva (2017) .
44. WHO, “Global Tuberculosis Report” .World Health Organization, (2016). Geneva.

45. De la Rua-Domenech, R., Goodchild, A.T., Vordermeier, H.M., Hewinson, R.G., Christiansen, K.H, Clifton-Hadley, R. S. "Ante mortem diagnosis of tuberculosis in cattle: a review of the tuberculin tests, gamma-interferon assay and other ancillary diagnostic techniques". *Res Vet Sci.* (Oct 2006); 81(2):190-210.
46. Michel, A. L., Muller, B., Helden P.D.V., "Mycobacterium bovis at the animal-human interface: a problem, Or not?" *In: veterinary microbiology*, 140, (2010), p. 371 -381.
47. Boukary, A.R., Thyse, E., Mamadou, S., Rigouts, L., Mattyse, F., Vias, F.G., Gamatie, D., Yenikoye, A., Saegerman C., "La tuberculose à *Mycobacterium bovis* en Afrique subsaharienne". *In: Ann. Med.Vet.*, Vol.155, (2011), p.23- 37.
48. Müller, B., et al., "Zoonotic *Mycobacterium bovis*-induced tuberculosis in humans," *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 19, no. 6, (2013), P. 899.
49. El Idrissi, A. H., "Bulletin des maladies animales transfrontieres," *Empres*, vol. 39, no. 40, (2011).
50. Pfaller, M. A., Richter, S. S., Funke, G., Jorgensen, J. H., Landry, M. L., Carroll, K. C., et Warnock, D. W. (éd.). "Manual of Clinical Microbiology", 11th Edition. American Society of Microbiology (2015). P 2731.
51. Denis, F., Cattoir, V., Martin, C., Ploy, M. C., and Poyart, C., "*Bacteriologie Medicale: Techniques Usuelles*". Elsevier Masson SAS Éditeur, (2016).
52. Garnier, T., Eiglmeier, K., Camus, J.C., Medina, N., Mansoor, H., Pryor, M., Duthoy, S., Grondin, S., Lacroix, C., Monsempe, C., Simon, S., Harris, B., Atkin, R., Doggett, J., Mayes, R., Keating, L., Wheeler, P.R., Parkhill, J., Barrell, B.G., Cole, S.T., Gordon, S. V, Hewinson, R.G., 2003. "The complete genome sequence of *Mycobacterium bovis*". *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 7877–7882.
53. Sherwood, Prescott, Haarley, Klein, Willey, et Woolverton-Microbiologie. 3 ème Ed. Boeck (Avril 2010). P 951-954.
54. Barbier, E., "Prévalence de *Mycobacterium bovis* dans les agroécosystèmes : analyse de réservoirs environnementaux potentiels (sol, eau douce, faune du sol et faune aquatique) et traçage de la circulation de cette bactérie entre les différents compartiments". *Biologie animale. Université de Bourgogne*, (Mars 2016).254p.
55. Mougari, F., and Cambau, E., "Mycobactéries et eau," *Rev. Francoph. des Lab.*, vol. 2014, no. 460, (2014), pp. 69–74.

56. Cousins, DV., Bastida, R., Cataldi, A., Quse, V., Redrobe, S., Dow, S., et al. "Tuberculosis in seals caused by a novel member of the *Mycobacterium tuberculosis* complex: *Mycobacterium pinnipedii* sp". *Int J Syst Evol Microbiol.* 2003; Sept; 53(Pt 5): 1305-14.
57. Van Ingen, J., et al., "Characterization of *Mycobacterium orygis* as *M. tuberculosis* complex subspecies," *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 18, no. 4, p. 653, (2012).
58. Poirier, V.M.C., "Élevages foyers de tuberculose bovine ayant fait l'objet d'un assainissement par abattage partiel depuis son autorisation sur tout le territoire national en 2014 : Typologie des Élevage concernés, étude de l'efficacité concernés, Étude de l'efficacité du dispositif", Thèse de doctorat (Novembre 2017), 12p-98.
59. Mathys, V., "Contribution à la compréhension des mécanismes moléculaires de résistance de *Mycobacterium tuberculosis* aux agents anti-tuberculeux," *Sci. York*, (2009).
60. Sasaki, S., Takeshita, F., Okuda, K., and Ishii, N., "Mycobacterium leprae and leprosy: a compendium," *Microbiol. Immunol.*, vol. 45, no. 11, (2001). pp. 729–736.
61. Rojas-Espinosa, O., "Murine leprosy revisited," *Curr. Top. profiles host Immunol. response to Mycobact. Infect. Spec. Immunol. Rev. Book.* Trivandrum, India Res. Signpost, (January 2009), pp. 97–140.
62. Wanger, A., Chavez, V., Huang, R., Wahed, A., Dasgupta, A., and Actor, J. K., "*Microbiology and molecular diagnosis in pathology*": a comprehensive review for board preparation, certification and clinical practice. Elsevier, (2017).
63. Radomski, N., et al., "Determination of genotypic diversity of *Mycobacterium avium* subspecies from human and animal origins by mycobacterial interspersed repetitive-unit-variable-number tandem-repeat and IS1311 restriction fragment length polymorphism typing methods," *J. Clin. Microbiol.*, vol. 48, no. 4, pp. 1026–1034, (2010).
64. Griffith, D. E., et al., "An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases," *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 175, no. 4, pp. 367–416, (2007).
65. Vincent, V., and Gutierrez, M. C., "*Mycobacterium marinum*, Antibiotiques", vol. 7, no. 2, pp. 133–137, (2005).

66. Jager, P.E.J., "Evaluation du risque de tuberculose bovine dans le département de l'YONNE". Thèse pour le doctorat vétérinaire, Creteil, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, (2010), 138p.
67. McIntosh, M., Williamson, H., Benbow, M. E., Kimbirauskas, R., Quaye, C., Boakye, D., Small, P., Merritt, R., "Associations between *Mycobacterium ulcerans* and Aquatic Plant Communities of West Africa: Implications for Buruli Ulcer Disease". *EcoHealth* 2014, 11 (2), 184–196.
68. Coetzer, J. A. W. , and Tustin, R. C., "Infectious diseases of livestock. Volume Three.," *Infect. Dis. livestock. Vol. Three.*, no. Ed. 2, (2004).
69. Galagan, J.E., "Genomic insights into tuberculosis." *Nature Reviews. Genetics* (2014). 15:307.
70. Roux, A.L., Herrmann, J.L., Gaillard, J.L., and Rottman, M., "*Mycobacterium abscessus*, pathogène émergent dans la mucoviscidose," *Immuno-analyse Biol. Spécialisée*, vol. 25, no. 1, pp. 26–33, (2010).
71. Martijn, 'T Hoen., "Tuberculosis in camelids – present situation and tests Vet Times the website for the veterinary profession". <https://www.vettimes.co.uk> March, 27, (2017).
72. Mohan, A., Padiadpu, J., Baloni, P., Chandra, N., "Complete Genome Sequences of a *Mycobacterium smegmatis* Laboratory". Strain (MC2 155) and Isoniazid-Resistant (4XR1/R2) Mutant Strains. *Genome Announc.* 2015;3(1):e01520-14.
73. Magee, J.G., Ward, A.C. "*Mycobacteriaceae*. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology", Second Edition, Volume five. Springer Editions (2012).
74. Ahmad, I., Kudi, C.A., Babashani, M., Chafe, U.M., Yakubu, Y.A. and Shittu, A. Tuberculosis in dromedary camels slaughtered in Nigeria: A documentation of lesions at *post mortem*. *Trop. Anim. Health Pro.* (2019); 51(1): 73-78.
75. Kieser, K.J., Rubin, E.J., "How sisters grow apart: mycobacterial growth and division". *Nature reviews Microbiology* (2014); 12: 550-62.
76. Singh, P., Rameshwaram, N. R., Ghosh, S., and Mukhopadhyay, S., "Cell envelope lipids in the pathophysiology of *Mycobacterium tuberculosis*," *Future Microbiol.* Vol. 13, no. 06, (2018). pp. 689–710.
77. Jankute, M., Cox, JA., Harrison, J., et al. "Assembly of the Mycobacterial Cell Wall". *Annual review of microbiology* (2015); 69: 405-23.
78. Maitra, A., *et al.*, "Cell wall peptidoglycan in *Mycobacterium tuberculosis*: An

- Achilles' heel for the TB-causing pathogen," *FEMS Microbiol. Rev.*, vol. 43, no. 5, (2019).. pp. 548–575.
79. Abrahams, K. A., and Besra, G. S., "Mycobacterial cell wall biosynthesis: a multifaceted antibiotic target," *Parasitology*, vol. 145, no. 2,(2018).pp. 116–133.
  80. Marrakchi, H., Lanéelle, M.-A., and Daffé, M., "Mycolic acids: structures, biosynthesis, and beyond" *Chem. (2014). Biol.* 21, 67±85.
  81. Sharma, S. K., and Mohan (Eds), A., "*Tuberculosis*. Jaypee Brothers Medical Publishers", (P) Ltd., New Delhi (2006).pp. 370-379.
  82. Trujillo, M.E., Velázquez, E., Kroppenstedt, R.M., Schumann, P., Rivas, R., Mateos, P.F., Martínez-Molina, E., "*Mycobacterium psychrotolerans sp. nov.*, isolated from pond water near an uraniummine" *.Int.J.Syst. (2004), Evol. Microbiol.* 54, 1459–1463.
  83. Stahl, D. A., and Urbance, J. W., "The division between fast-and slow-growing species corresponds to natural relationships among the mycobacteria.," *J. Bacteriol.*, vol. 172, no. 1, pp. 116–124, (1990).
  84. Grange, J. M., "The genus *Mycobacterium* and the *Mycobacterium tuberculosis* complex," *Tuberc. a Compr. Clin. Ref. Philadelphia, PA Saunders*, pp. 44–59, (2009).
  85. Delaune, D., Janvier, F., Rapp, C., Gérôme, P., Méchaï, F., Soler, C., Mérens, A., "Actualités de l'infection à *Mycobacterium bovis* en France : à propos de 4 cas". *Annales de Biologie Clinique (2012);70(2):231-236*.
  86. Ngandolo, B.N., "Diagnostic et Épidémiologie Moléculaire de la Tuberculose Bovine au Tchad: Cas des Bovins Destinés à l'Abattage". Thèse de doctorat, Bale, l'Université de Bâle (Suisse 2012) ,197p.
  87. David, H.L., Levy –Frébault, V., Thorel, M.F., "Méthodes de laboratoire pour mycobactériologie", Clinique-Institut Pasteur-Commission des laboratoires d'Expertise et de reference (1989).
  88. Avril J.L., Dabernat H., Denis F., Menteil H., "Bactériologie clinique". 3 éditions ellipses (Novembre 2003). 534 p.
  89. Freney J., Renaud F., Leclercq R., Riegel P., "Précis de bactériologie clinique". Paris, éditions ESKA, (2007). P1274.
  90. Asmar, S., and M. Drancourt, "Rapid culture-based diagnosis of pulmonary tuberculosis in developed and developing countries", *Front. Microbiol.*(2015); vol. 6, p. 1184.

91. Brosch, R., Che, D., Decludt, B., Durieux, P., Gaudelus, J., et al. "Tuberculose. Place de la vaccination dans la maîtrise de la maladie". [Rapport de recherche] Institut national de la santé et de la recherche médicale .Tableaux, graphiques. fffhal-01570650f Paris, INSERM (2004). 273-281p.
92. Procop, G.W., "Laboratory Diagnosis and Susceptibility Testing for *Mycobacterium tuberculosis*". Microbiol Spectr. (Dec 2016); Vol 4(6).
93. Guillet-Caruba, C., et al. "Les nouveaux outils de diagnostic microbiologique de la tuberculose maladie". Rev Med Interne (2014). Vol 35-12. P 794-800.
94. Slim-Saidi, L. E., Mehiri-Zeghal, A., Ghariani et Tritar, F., "Nouvelles méthodes de diagnostic de la tuberculose". Rev Pneumol Clin (2015) ; 0761-8417.
95. Ninnet, B., Roux-Lambart, P., Schrenzela, Janssens, JP., "Nouveaux tests pour le diagnostic de la tuberculose". Rev Mal Resp. (2011); 28(6):823-833.
96. Bergmann, J.S., Fish, G., Woods, G.L., "Evaluation of the BBL MGIT (mycobacterial growth indicator tube) AST SIRE system for antimicrobial susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* to 4 primary antituberculous drugs". Arch Pathol Lab Med (2000); 124: 82—6. 147.
97. Piersmoni, C., Olivieri, A., Benacchio, L., Scarparo, C., "Current perspectives on drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* complex: the automated non-radiometric systems". J Clin Microbiol (2006); 44:20—8.
98. Procop, G.W., "Laboratory diagnosis and susceptibility testing for *Mycobacterium tuberculosis*," *Tuberc. Non tuberculous Mycobact. Infect.*, pp. 45–58, 2017.
99. Gravet, A., Souillard, N., Habermacher, J., Moser, A., Lohmann, F., Schmitt, F., et al. "Culture and susceptibility testing of mycobacteria with Versa TREK". Pathol Biol 2011; 59:32—8.
100. Cruciani, M., Scarparo, C., Malena, M., Bosco, O., Serpelloni, G., Mengoli C., "Meta-analysis of BACTEC MGIT 960 and BACTEC 460 TB, with or without solid media, for detection of mycobacteria". J.Clin Microbiol 2004; 42:2321—5.
101. World Health Organization. "The use of liquid TB culture and drug susceptibility testing (DST) in low and medium income setting". Geneva, Switzerland: WHO; (2007).
102. Brosch, R., Gordon, S.V., Marmiesse, M., Brodin, P., Buchrieser, C., Eiglmeier, K., Garnier, T., Gutierrez, C., Hewinson, G., Kremer, K., Parsons, L.M., Pym, A., Samper, S., van Soolingen, D., Cole, S., "A new evolutionary

- scenario for the *Mycobacterium tuberculosis complex*". Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. (2002). 99, 3684– 3689.
103. Lingling, L., Bannantine, J.P., Zhang, Q., Amonsin, A., May, B.J., Alt, D., Banerji, N., Kanjilal, S., Kapur, V., "The complete genome sequence of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*". Proc. Natl. Acad. Sci.U. S. A. (Aug 2005). 102, 12344–12349.
104. Labie, D., "Le génome des mycobactéries : étude biologique et interprétation évolutive / Mycobacteriae : building an evolutionary scheme from genome comparison". Médecine Sciences (2003) ; 19: 4.
105. Schiller, I., Oesch, B., Vordermeier, H. M., Palmer, M. V., Harris, B. N., Orloski, K. A., Buddle, B.M. Thacker, T. C., Lyashchenko, K. P. and Waters, W.R., "Bovine tuberculosis: a review of current and emerging diagnostic techniques in view of their relevance for disease control and eradication". *Transboundary and emerging diseases* (2010). 57, 205-220.
106. Livanainen, E., Martikainen, P. J., and Katila, M., "Effect of freezing of water samples on viable counts of environmental mycobacteria," *Lett. Appl. Microbiol* (1995), vol. 21, no. 4, pp. 257–260.
107. Palmer, M.V., "Mycobacterium bovis: Characteristics of Wildlife Reservoir Hosts", *Transboundary and Emerging Diseases*. 60 (Suppl. 1) (2013) 1–13.
108. Verma, A. K., *et al.*, "Insights into bovine tuberculosis (bTB), various approaches for its diagnosis, control and its public health concerns: An update," *Asian J. Anim. Vet. Adv.*,(2014).Vol. 9, no. 6, pp. 323–344.
109. Tanner, M., Michel, A.L., "Investigation of the viability of *M. bovis* under different environmental conditions in the Kruger National Park". *Onderstepoort J Vet Res.* (Sep 1999); 66(3):185-90.
110. Jabir, R. A., Rukmana, A., Saleh, I., and Kurniawati, T., "The Existence of *Mycobacterium tuberculosis* in Microenvironment of Bone". *Mycobacterium Res. Dev* (2018), P41.
111. Ghodbane,R., Medie, F. M., Lepidi, H., Nappez, C., and Drancourt, M., "Long-term survival of tuberculosis complex mycobacteria in soil," *Microbiology*, vol. 160, no. 3, pp. 496–501, (2014).
112. Domingo,M., Vidal, E., and Marco, A., "Pathology of bovine tuberculosis," *Res. Vet. Sci.*, vol. 97, pp. S20–S29, (2014).
113. Lamiroun, D., "Caractérisation des mycobactéries isolées chez l'homme et

- les ruminants domestiques au Tchad : causes des suspicions de la tuberculose dans les hôpitaux et aux abattoirs”. Université Tchad, (2014). P 6-12.
114. Acha, P. N., and Szyfres, B., “Zoonoses et maladies transmissibles communes à l’homme et aux animaux”, no. V610 ACHzF 3a. ed. 2005.
  115. Neill, S.D., Bryson, D.G., Pollock, J.M., “Pathogenesis of tuberculosis in cattle”. *Tuberculosis*, (2001) 81, (1-2), 79-86.
  116. Romero-Adrian, T. B., Leal-Montiel, J., Fernández, G., & Valecillo, A. “Role of cytokines and other factors involved in the *Mycobacterium tuberculosis* infection. *World Journal of Immunology*, (2015). 5(1), 16–50.
  117. Pollock, J.M., Mcnair, J., Welsh, M.D., et al. “Immune responses in bovine tuberculosis”. *Tuberculosis*. (2001); 81: 103-107.
  118. McGill, J.L., Sacco, R.E., Baldwin, C.L., Telfer, J.C., Palmer, M.V., Ray Waters, W., “The role of gamma delta T cells in immunity to *Mycobacterium bovis* infection in cattle”. *Vet. Immunol. Immunopathol.* (2014); 159:133-143.
  119. S. D. Neill, J. M. Pollock, D. B. Bryson, and J. Hanna, “Pathogenesis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle,” *Vet. Microbiol* (1994); vol. 40, no. 1–2, pp. 41–52.
  120. Waters, W.R., Whelan, A.O., Lyashchenko, K.P., et al. “Immune Responses in Cattle Inoculated with *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium tuberculosis*, or *Mycobacterium kansasii*”. *Clin. Vaccine Immunol.* (2010); 17:247-252.
  121. Benet J.J., Praud A., “La tuberculose animale”. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d’Alfort. Unité Pédagogique de Maladies Contagieuses.(2011) ; 79p.
  122. Matrat, P., “Evolution de la situation épidémiologique de la tuberculose bovine en cote d’or de 2009 a 2013”. *Vet Agro Sup Campus Vétérinaire de Lyon* (2014) - 24p.
  123. Crozet, G., et al, “La tuberculose animale”. Polycopié des Unités de maladies contagieuses des Ecoles Nationales Vétérinaires françaises, Boehringer Ingelheim (Lyon 2020), 114 p.
  124. Phillips, C.J, Foster, C.R, Morris, P.A, Teverson, R., The transmission of *Mycobacterium bovis* infection to cattle. *Res Vet Sci* 74: 1-15 (2003).
  125. OIE, Office international des épizooties. Chapitre 2. 3.3. Tuberculose bovine .Manuel terrestre de l’OIE, (2005).
  126. E.N.V.F., Ecoles Nationales Vétérinaires Françaises. “Chaires des maladies contagieuses. La tuberculose”. (Septembre 1990). 152p. RHONE MERIEUX.

127. Farrar, J., Hotez, P. J., Junghanss, T., Kang, G., Lalloo, D., and White, N. J., *Manson's "Tropical Diseases E-Book"*. Elsevier Health Sciences, (2013).
128. Tavernier, L., "Evaluation des arbres décisionnels dans le cadre de la lutte contre la tuberculose bovine en Dordogne". Université Claude-Bernard- Lyon I (Médecine - Pharmacie), (novembre 2011), 31-35 pp.
129. Alvarez, G.G., Gushulak, B., Rumman, K.A., Altpeter, E., Chemtob, D., Douglas, P., Erkens, C., Helbling, P., Hamilton, I., Jones, J., Matteelli, A., Paty, M.C., Posey, D.L., Sagebiel, D., Slump, E., Tegnell, A., Valín, E.R., Winje, B.A. and Ellis, E.A comparative examination of tuberculosis immigration medical screening programs from selected countries with high immigration and low tuberculosis incidence rates. *BMC Infect. Dis.*, 11(1): 3.
130. OIE, "Tuberculose bovine" (Chapitre 2.4.7) In : Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres, Editions OIE (Organisation Mondiale de la Santé Animale), Paris (2008) 6e édition, 745-760.
131. El-Sayed, A., El-Shannat, S., Kamel, M., and Castañeda-Vazquez, H., "Molecular epidemiology of *Mycobacterium bovis* in humans and cattle". *Zoonoses Public Health*, 63(4): (2016); 251-264.
132. Watrelot, V.D., Drevon, G.E., Toussaint, Y., Belli, P., "Comparison of three diagnostic detection methods for tuberculosis in French cattle". *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health*, 53, (7), (2006); 321-325.
133. Lécu, A.R.L., "Evolution des outils diagnostiques de la tuberculose des espèces animales sauvages". In : *Bull. Acad. Vét. France*, Vol. 161, (2008) P 151-157.
134. Meyssonier, V., "Epidémiologie de la tuberculose et de la résistance aux antituberculeux ; santé publique et épidémiologique". Université Pierre et Marie Curie. Paris (2012).161p.
135. Wernery, U., Kinne, J., Jahans, K.L., Vordermeier, H.M., Esfandiari, J., Greenwald, R., Johnson, B., Ul-haq, A. & Lyashchenko, K.P., "Tuberculosis outbreak in a dromedary racing herd and rapid serological detection of infected camels". *Vet. Microbiol.* 122 (1–2), (2007), 108–115.
136. Dean, G.S., Crawshaw, T.R., de la Rúa-Domenech, R., Farrant, L., Greenwald, R., Higgins, R.J., Lyashchenko, K., Vordermeier, H.M. & Twomey D.F. (2009). – Use of serological techniques for diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in a llama herd. *Vet. Rec.*, 165 (11), (2009). 323–324.

137. Lyashchenko, K.P., Greenwald, R., Esfandiari, J., Rhodes, S., Dean, G., de la Rúa-Domenech, R., et al., “Diagnostic value of animal-side antibody assays for rapid detection of *Mycobacterium bovis* or *Mycobacterium microti* infection in South American Camelids”. *Clinical and Vaccine Immunology* 18, (2011). 2143–2147.
138. Bush, M., Montali, R.J., Phillips, L.G. & Holobaugh, P.A. –“Bovine tuberculosis in a Bactrian camel herd”: clinical, therapeutic, and pathologic findings *J. Zoo Wildl. Med.*, 21 (2), (1990).171–179.
139. Jibril, Y., Mamo, G., Hanur, I., Zewude, A., Ameni, G., “Prevalence of camel tuberculosis and associated risk factors in camels slaughtered at Akaki Abattoir, Ethiopia”. *Ethiopian Veterinary Journal*, 20 (1), 23–38.
140. Bezos, J., Alvarez, J., Romero, B., de Juan, L., Dominguez, L., “Bovine tuberculosis: historical perspective”. *Res. Vet. Sci.* Vol 9, (2014). P : S3-S4.
141. Collet, C., Simonney, S., Honore-Bouakline, S., Wargnier, A., Lagrange, P.H., Herrmann, J.L., “Tuberculose et diagnostic rapide: avancées ou échec rapid diagnostic tests for tuberculosis: Improvement or failure”. In : *Immuno-analyse et Biologie Spécialisée*, Vol.18, (2003), P.283-288.
142. Biet, F., Boschioli, M L., Thorel, M F., and Guilloteau, L. A., “Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium-intracellulare* complex (MAC),” *Vet. Res.*, vol. 36, no. 3, pp. 411–436, (2005).
143. Ramos, D F., Silva, P.E.A., and Dellagostin, O.A., “Diagnosis of bovine tuberculosis: review of main techniques,” *Brazilian J. Biol.*, no. AHEAD, p. 0, (2015).
144. Twomey, DF., Collins, R., Cranwell, MP., Crawshaw, TR., Higgins, RJ., Dean, GS., Vordermeier, HM., Hollingdale, A., and de la Rúa-Domenech, R., “Controlling tuberculosis in a llama (*Lama glama*) herd using clinical signs, tuberculin skin testing and serology”, *Veterinary Journal* 192(2): (2012) 246-248.
145. EFSA., “Modelling the impact of a change in MI sensitivity on the surveillance of bTB at the country level”. Supporting Publications: EN-450, (2013) 40 p. [[www.efsa.europa.eu/publications](http://www.efsa.europa.eu/publications)].

146. Rakesh, R., Shirish, D., Narnaware, K N., Sawal, R K., Patil, N V., “Rapid diagnosis of tuberculosis in dromedary camel (*Camelus dromedarius*) using lateral flow assay-based kit”. *Tropical Animal Health and Production* (2018). 50:907–910.
147. Riquelme, L.A.Y., “La tuberculose chez la faune sauvage captive et test de l’interféron gamma pour son diagnostic *ante-mortem* .Contribution à la mise en place d’un contrôle interne du test pour quelques espèces sauvages”. Thèse pour le doctorat vétérinaire, Creteil, ENVA, (2009), 241 p.
148. Moyen, J. L., Brugère, L., Faye, S., and Boschioli, M. L., “Utilisation de la PCR pour le diagnostic de la tuberculose bovine,” *Le Point Vétérinaire*, vol. 312, pp. 68–72, (2011).
149. Maas, M., Michel, A.L., Rutten, V.P.M.G., “Facts and dilemmas in diagnosis of tuberculosis in wildlife”. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 36(3), (2013). 269-285.
150. Zanolari, P., Robert, N., Lyashchenko, K.P., Pfyffer, G.E., Greenwald, R., Esfandiari, J., & Meylan M., “Tuberculosis caused by *Mycobacterium microti* in South American camelids”. *J. vet. internal Med.*, 23 (6), (2009), 1266–1272.
151. Small, PM., Pai, M., “Tuberculosis diagnosis—time for a game change”. *N Engl J Med* (2010); 363:1070–1.
152. Desikan, P., “Sputum smear microscopy in tuberculosis: is it still relevant,” *Indian J. Med. Res.*, vol. 137, no. 3, (2013), p. 442.
153. Carbonelle, B., Dailloux, M., Lebrun, L., Maugein J., Pernot, C., et al, “Mycobactéries et mycobactérioses”-cahier de formation de biologie médicale n°29, (2003), p.14-70.
154. Jabri, H., Lakhdar, N., El Khattabi, W., and Afif, H., “Les moyens diagnostiques de la tuberculose,” *Rev. Pneumol. Clin.*, vol. 72, no. 5, pp. 320–325, (2016).
155. Archibald, R. G., “Acid-fast bacilli in a camel’s lung, the gros; lesions of which closely simulated miliary tuberculosis”. *J. camp. Path. Ther.*, (1920), 20:56-51.
156. Leese, A. S., “Acid-fast bacilli in camel’s lung with lesions resembling those of tuberculosis”. *J. camp. Puth.Ther.* (1910), 23: 358-359.
157. Fitzwater, SP., Caviedes, L., Gilman, RH., Coronel, J., La Chira, D., Salazar C, et al. “Prolonged infectiousness of tuberculosis patients in a directly observed therapy short-course program with standardized therapy”. *Clin Infect*

- Dis Off Publ Infect Dis Soc Am 2010; 51:371–8.
158. W. H. Organization, “Zoonotic tuberculosis (*Mycobacterium bovis*): memorandum from a WHO meeting (with the participation of FAO),” *Bull World Heal. Organ*, vol. 72, no. 6, pp. 851–857, (1994).
  159. Parsons, L. M., *et al.*, “Laboratory diagnosis of tuberculosis in resource-poor countries: challenges and opportunities”. *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 24, no. 2, pp. 314–350, (2011).
  160. W. H. Organization, “Fluorescent light-emitting diode (LED) microscopy for diagnosis of tuberculosis”: policy statement, no. WHO/HTM/TB/2011.8. World Health Organization, (2011).
  161. Garg, R. K., Rizvi, I., Malhotra, H. S., Uniyal, R., and Kumar, N., “Management of complex tuberculosis cases: a focus on drug-resistant tuberculous meningitis,” *Expert Rev. Anti. Infect. Ther.*, vol. 16, no. 11, pp. 813–831, (2018).
  162. Whiley, H., Keegan, A., Giglio, S., Bentham, R., “*Mycobacterium avium* complex -The role of potable water in disease transmission”. *J. Appl. Microbiol.* 113, 223–32, (2012).
  163. Parrish, N. M., and Carroll, K. C., “Role of the clinical mycobacteriology laboratory in diagnosis and management of tuberculosis in low-prevalence settings,” *J. Clin. Microbiol.*, vol. 49, no. 3, pp. 772–776 (2011).
  164. Santos, N., Geraldes, M., Afonso, A., Almeida, V., Correia-Neves, M., “Diagnosis of tuberculosis in wild boar (*Sus scrofa*): a comparison of methods applicable to hunter-harvested animals”. *PLoS ONE*. 5(9), e12663.
  165. OIE ., “Bovine Tuberculosis”, *Terrestrial Manual 2009*.Chap. 2.4.7.
  166. Fine, A.E., Bolin, C.A., Gardiner, J.C., Kaneene, J.B., A “study of the persistence of *Mycobacterium bovis* in the environment under natural weather conditions in Michigan, USA”. *Vet. Med. Int.* (2011), ID 765430, 1-12.
  167. Chaudhary, S. K., Mishra, B., “Comparison of hypertonic saline – sodium hydroxide decontamination method with modified petroff's method for concentrating sputum samples”. *Int. J. Infect. Microbiol.* 2, (2013). 78–81.
  168. Della, L. P., “Mycobacteriology and mycobacterial susceptibility tests,” *Clin. Microbiol. Proced. Handb.*, vol. 2, (2004).
  169. Zingué, D., *et al.*, “Avantages et limites des méthodes de décontamination des expectorations pour le diagnostic de la tuberculose et des résistances aux

- antituberculeux,” in *Annales de Biologie Clinique*, vol. 71, no. 3, (2013). pp. 283–291.
170. Courcoul, A., Moyen, J.-L., Brugère, L., Faye, S., Hénault, S., Gares, H., Boschioli, M.L., “Estimation of sensitivity and specificity of bacteriology, histopathology and PCR for the confirmatory diagnosis of bovine tuberculosis using latent class analysis” (2014). *PLoS One* 9, e90334.
  171. Caulfield, A. J., et Wengenack, N. L., “Diagnosis of active tuberculosis disease : from microscopy to molecular techniques” (2016). *Journal of Clinical Tuberculosis and Other Mycobacterial Diseases*. Vol. 4, pp. 33-43.
  172. Percival, S. L., and Williams, D. W., “Mycobacterium,” in *Microbiology of Waterborne Diseases*, Elsevier, (2014). pp. 177–207.
  173. Nolte ET Metchock., “Mycobacterium”.In manual of clinical microbiologie 6thed, American society for microbiology Washington Dc., Vol.34, (1995), p. 400-437.
  174. Grosset J., Boisvert H., Truffot-Pernot C., In : bactériologie médicale L. Leminor et M.Veron (ed). Flammarion, Paris (1990).p.965-1017.
  175. Cattoir V., “Identification moléculaire des mycobactéries et detection de la résistance aux antibiotiques”. *Annales de biologie clinique* (2004) .vol.62(4) pp.405-413.
  176. Rastogi, N., Sola, C., Chapter 2 –“Molecular evolution of the Mycobacterium tuberculosis complex. In *Tuberculosis 2007: from basic science to patient care*”, Edited by Palomino JC, Leao S, Ritacco V. 2007, 53-91, Amedeo Online Textbooks; [http://pdf.flyingpublisher.com/ tuberculosis 2007](http://pdf.flyingpublisher.com/tuberculosis%202007).
  177. Ishaga, H.Z., Mukhtarc, M.M., and Bakheitc, S.M., “Molecular detection of bovine tuberculosis in El Rank area, North Upper Nile State, Sudan” (2015). *Sci. Lett.*, 3(1): 23-26.
  178. Asebe, G., “Molecular characterization of *Mycobacterium bovis* and its significance: Role for control of zoonotic tuberculosis in Africa”.*J. Med. Diagn. Methods*, (2017). 6(3): 2-10.
  179. Drewe, J.A., Dean, G.S., Michel, A.L., Lyashchenko, K.P., Greenwald R., Pearce, G.P. “Accuracy of three diagnostic tests for determining *Mycobacterium bovis* infection status in live-sampled wild meerkats (*Suricata suricatta*)” (2009). *J. Vet. Diagn. Invest.* 21(1), 31-39.
  180. Neonakis, I. K., Gitti, Z., Krambovitis, E., and Spandidos, D. A., “Molecular

- diagnostic tools in mycobacteriology," *J. Microbiol. Methods*, vol. 75, no. 1, pp. 1–11, (2008).
181. Kirschner, P., Rosenau, J., Springer, B., Teschner, K., Feldmann, K., and Böttger, E. C., "Diagnosis of mycobacterial infections by nucleic acid amplification: 18-month prospective study". *J. Clin. Microbiol.*, vol. 34, no. 2, pp. 304–312, (1996).
182. Gitti, Z., Neonakis, I., Fanti, G., Kontos, F., Maraki, S., and Tselentis, Y., "Use of the Genotype Mycobacterium CM and AS assays to analyze 76 nontuberculous mycobacterial isolates from Greece". *J. Clin. Microbiol.*, vol. 44, no. 6, pp. 2244–2246, (2006).
183. Denis, F., Ploy, M. C., Martin, C., Bingen, E., and Quentin, R., "Bactériologie Médicale Techniques Usuelles". *Ed. Masson*,(2007).
184. Nicoletta, L., Nicola, B., Laura, R., Enrico, T., Carlo, G., "Genetic diversity of human isolates of *M.bovis* assessed by spoligotyping and variable Number Tandem Repeat genotyping", Elsevier B.V. *Infection, genetics and evolution* (2011).11, 175-180.
185. Kato-Maeda, M., et al., "Comparing genomes within the species *Mycobacterium tuberculosis*" *Genome Res.*, vol. 11, no. 4, pp. 547–554, (2001).
186. Hermans, P.W., VanSooligen, E.M.Bik., de Haas, P.E., Daleand, J.W., VanEmbden, J.D., "Insertion element IS987 from *Mycobacterium bovis* BCG is located in a hot-spot integration region for insertion elements in *Mycobacterium tuberculosis* complex strains". *Infect Immun* 59:2695-705.(1991).
187. Couvin, D., and Rastogi, N., "The establishment of databases on circulating genotypes of *Mycobacterium tuberculosis* complex and web tools for an effective response to better monitor, understand and control the tuberculosis epidemic worldwide". *Journal of Euro Reference*.(12), pp.36-48 (2014).
188. Vincent, V., and Gutierrez, M. C., "Apport épidémiologique du typage moléculaire des bacilles de la tuberculose," *Médecine Mal. Infect.*, vol. 33, pp. 159–166, (2003).
189. Van Soolingen, D., "Molecular epidemiology of tuberculosis and other mycobacterial infections: main methodologies and achievements," *J. Intern. Med.*, vol. 249, no. 1, pp. 1–26, (2001).
190. Sola, C., Devallois, A. Horgen, L., Maïsetti, J., Filliol, I. Legrand, E., and

- Rastogi, N., "Tuberculosis in the Caribbean: using spacer oligonucleotide typing to understand strain origin and transmission". *Emerging infectious diseases* (1999), 5:404.
191. Abadia, E., J. Zhang, J., Ritacco, V., Kremer, K., Ruimy, R., Rigouts, L., Gomes, H.M., Elias, A.R., Fauville-Dufaux, M., and Stoffels, K., "The use of microbead-based spoligotyping for *Mycobacterium tuberculosis* complex to evaluate the quality of the conventional method: providing guidelines for Quality Assurance when working on membranes". *BMC infectious diseases* (2011), 11:110.
  192. Kamerbeek, J., Schouls, L., Kolk, A., van Agterveld, M., van Soolingen, D., Kuijper, S., Bunschoten, A., Molhuizen, H., Shaw, R., Goyal, M., van Embden, J., "Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology". *J. Clin. Microbiol.* 35, 907–914 (1997).
  193. Mihret, A., Bekele, Y., Loxton, AG., et al., "Diversity of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from new pulmonary tuberculosis cases in Addis Ababa, Ethiopia". *Tuberc Res Treat.* (2012):892079.
  194. Sola, C., Abadia, E., Le Hello, S., Weill, F.X., High-Throughput CRISPR Typing of *Mycobacterium tuberculosis* Complex and *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium. *Methods Mol Biol.* (2015); 1311:91–109.
  195. Ocheretina, O., et al., "Use of Luminex MagPlex magnetic microspheres for high-throughput spoligotyping of *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Port-au-Prince, Haiti," *J. Clin. Microbiol.*, vol. 51, no. 7, pp. 2232–2237, (2013).
  196. Zhang, J., et al., "Mycobacterium tuberculosis complex CRISPR genotyping: improving efficiency, throughput and discriminative power of spoligotyping with new spacers and a microbead-based hybridization assay," *J. Med. Microbiol.*, vol. 59, no. 3, pp. 285–294, (2010).
  197. Klotoe, J.B.M., "Développement de méthodes pour le diagnostic, le contrôle, la surveillance de la tuberculose à bacilles ultra-résistants et des souches épidémiques Beijing". Santé publique et épidémiologie. Université Paris Saclay (COMUE), (2018). Français. ffNNT : 2018SACLS379ff.
  198. Dale, J. W., et al., "Spacer oligonucleotide typing of bacteria of the *Mycobacterium tuberculosis* complex : recommendations for standardised nomenclature [The Language of Our Science]," *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, vol. 5,

- no. 3, pp. 216–219, (2001).
199. Honisch, C., Mosko, M., Arnold, C., Gharbia, S. E., Diel, R., and Niemann, S., “Replacing reverse line blot hybridization spoligotyping of the *Mycobacterium tuberculosis complex*,” *J. Clin. Microbiol.*, vol. 48, no. 5, pp. 1520–1526, (2010).
200. Jagielski, T., *et al.*, “Methodological and clinical aspects of the molecular epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* and other mycobacteria,” *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 29, no. 2, pp. 239–290, (2016).
201. Lekko, Y. M., *et al.*, “*Mycobacterium tuberculosis complex* in wildlife: Review of current applications of antemortem and postmortem diagnosis,” *Vet. world*, vol. 13, no. 9, p. 1822, (2020).
202. Sahraoui, N., Muller, B., Guetarni, D., Boulahbal, F., Yala, D., Ouzrout, R., Zinsstag, J., “Première caractérisation moléculaire de souches de *Mycobacterium bovis* et *Mycobacterium caprae* par spoligotypage en Algérie”. *In : Epidémiol et santé anim*, Vol.57, (2010). P147-154.
203. Smith, N.H., Kremer, K., Inwald, J., Dale, J., Driscoll, J.R., Gordon, S. V., Van Soolingen, D., GlynHewinson, R., Maynard Smith, J., “Ecotypes of the *Mycobacterium tuberculosis complex*”. *J. Theor. Biol.* 239,220–225 (2006).
204. Huard, R.C., Fabre, M., de Haas, P., Lazzarini, L.C.O., Van Soolingen, D., Cousins, D., Ho, J.L., “Novel genetic polymorphisms that further delineate the phylogeny of the *Mycobacterium tuberculosis complex*”. *J. Bacteriol.* 188, 4271–4287 (2006).
205. Mazars, E., *et al.*, “High-resolution minisatellite-based typing as a portable approach to global analysis of *Mycobacterium tuberculosis* molecular epidemiology,” *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 98, no. 4, pp. 1901–1906, (2001).
206. Supply, P., *et al.*, “Proposal for standardization of optimized mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem repeat typing of *Mycobacterium tuberculosis*,” *J. Clin. Microbiol.*, vol. 44, no. 12, pp. 4498–4510, (2006).
207. Weniger, T., Krawczyk, J., Supply, P., Niemann, S., and Harmsen, D., “MIRU-VNTR plus: a web tool for polyphasic genotyping of *Mycobacterium tuberculosis complex* bacteria,” *Nucleic Acids Res.*, vol. 38, no. suppl 2, pp. W326–W331, (2010).
208. Navarro, Y., Romero, B., Bouza, E., Domínguez, L., de Juan, L., and

- García-de-Viedma, D., "Detailed chronological analysis of microevolution events in herds infected persistently by *Mycobacterium bovis*". *Vet. Microbiol.*, vol. 183, pp. 97–102, (2016).
209. Van Embden, J. D., *et al.*, "Strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology.," *J. Clin. Microbiol.*, vol. 31, no. 2, pp. 406–409, (1993).
210. Barlow, R. E. L., Gascoyne-Binzi, D. M., Gillespie, S. H., Dickens, A., Qamer, S., and Hawkey, P. M., "Comparison of variable number tandem repeat and IS6110-restriction fragment length polymorphism analyses for discrimination of high-and low-copy-number IS6110 *Mycobacterium tuberculosis* isolates," *J. Clin. Microbiol.*, vol. 39, no. 7, pp. 2453–2457, (2001).
211. Fowler, M.E., "Infectious diseases. In *Medicine and surgery of camelids*" (M.E. Fowler, ed.), 3rd Ed. Wiley - Blackwell, Ames, Iowa, (2010), 173–230.
212. Cardoso, M. A., Cardoso, R. F., Hirata, R. D. C., Hirata, M. H., Leite, C. Q. F. Santos, A. C. B., Siqueira, V.L.D., Okano, W., Rocha, N S , Lonardoni, M. V. C., "Direct Detection of *Mycobacterium bovis* in Bovine Lymph Nodes by PCR". *Zoonoses and public health* vol .56, pp 465-470 (2007).
213. Bakshi, C.S., Shah, D.H., Verma, R., Singh, R.K., Malik, M., "Rapid differentiation of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium tuberculosis* based on a 12.7-kb fragment by a single tube multiplex-PCR". *Vet Microbiol.* (Aug 2005) 30; 109(3-4):211-6.
214. Kurabachew, M., Enger, O., Sandaa, R.A., Skuce, R., et Bjorvatn, B., "A multiplex polymerase chain reaction assay for genus-, group- and species-specific detection of mycobacteria". *Diagn Microbiol Infect Dis.* (Jun 2004); 49(2):99-104.
215. Rodriguez-Campos, S., Smith, N.H., Boniotti, M.B., Aranaz, A., "Overview and phylogeny of *Mycobacterium tuberculosis* complex organisms: Implications for diagnostics and legislation of bovine tuberculosis", *Res. Vet. Sci.* 97 Suppl, S5–S19 (2014).
216. Zhang, H., Wang, Z., Cao, X., Wang, Z., Sheng, J., Wang, Y., Zhang, J., Li, Z., Gu, X. and Chen, C., "Loop-mediated isothermal amplification assay targeting the *mpb70* gene for rapid differential detection of *Mycobacterium bovis*". *Arch. Microbiol.*, 198(9): 905-911 (2016).
217. Ryan, E.G., Dwyer, P.J., Connolly, D.J., Fagan, J., Costello, E., & More

- S.J., "Tuberculosis in alpaca (*Lama pacos*) on a farm in Ireland". 1. A clinical report (2008). *Irish vet. J.*, 61 (8), 527–531.
218. Barlow, A.M., Mitchell, K.A., & Visram, K.H., "Bovine tuberculosis in llama (*Lama glama*) in the UK" *Vet. Rec.*, 145 (22), 639–640(1999).
219. Connolly, D.J., Dwyer, P.J., Fagan, J., Hayes, M., Ryan, E.G., Costello, E., Kilroy, A., & More, S.J., "Tuberculosis in alpaca (*Lama pacos*) on a farm in Ireland. 2. Results of an epidemiological investigation". *Irish vet. J.*, 61 (8), (2008).533–537.
220. Delafosse, A., Traore, A., et Kone, B., "Isolation of pathogenic *Mycobacterium* strains in cattle slaughtered in the abattoir of Bobo-Dioulasso, Burkina Faso". *Rev.Elev.Med.Vet.Pays Trop.* 48:301-306 (1995).
221. Sahraoui, N., Zellig, S., Yousfi, N., Zinsstag, J., and Guetarni D., "Survey on tuberculosis goats in two slaughterhouses in Algeria". *African Journal of Agricultural Research* Vol. 6(32), pp. 6741 -6744, 26. (2011).
222. Kardjadj, M., Yala, D., "Situation épidémiologique de la tuberculose bovine dans le cheptel identifié en Algérie (1995-2009)". (Novembre-2010).*In:3ème journée animale (U.S.D.B)*, 21-22.
223. Hardstaff, J., Marion, G., Hutchings, M., and White, P., Evaluating the tuberculosis hazard posed to cattle from wildlife a cross Europe, *Research in Veterinary Science* 97: S86-S93 (2014).
224. Broughan, J.M., Crawshaw, T.R., Downs, S.H., Brewer, J., and Clifton-Hadley, R.S., "*Mycobacterium bovis* infections in domesticated non-bovine mammalian species".Part 2:(2013). A review of diagnostic methods, *Veterinary Journal* 198 (2): 346-351.
225. Pesciaroli, M., Alvarez, J., Boniotti, M.B., Cagiola, M., Di Marco, V., Marianelli, C., Pacciarini, M., and Pasquali, P., "Tuberculosis in domestic animal species", *Research in Veterinary Science* (2014). 97: S78-S85.
226. Twomey, DF., Crawshaw, TR., Foster, AP., Higgins, RJ., Smith, NH., Wilson, L., McDean, K., Adams, JL., and de la Rua-Domenech, R., "Suspected transmission of *Mycobacterium bovis* between alpacas", *Veterinary Record* 165 (4): 121-122.
227. Palisson, A., Courcoul, A., and Durand, B., "Role of cattle movements in bovine tuberculosis spread in France between 2005 and 2014," *PLoS One*, vol. 11, no. 3, p. e0152578, 2016.

228. Skuce, R.A., Allen, A.R., and McDowell, S. W. J., "Herd-level risk factors for bovine tuberculosis: a literature review," *Vet. Med. Int.*, vol. 2012. , Article ID 621210, 10 pages.
229. Crawshaw, T., de la Rua-Domenech, R., and Brown, E., "Recognising the gross pathology of tuberculosis in South American camelids, deer, goats, pigs and sheep". *In Practice* 35(9): 490-497(2013).
230. Benet, J.J., Boschioli, M.L., Dufour, B., Garin-Bastuji, B., "Lutte contre la tuberculose bovine en France de 1954 à 2004: Analyse de la pertinence épidémiologique de l'évolution de la réglementation". In : *Epidémiol. et santé anim.* , Vol.50, (2006), p.127-143.
231. Benet J.J., "La tuberculose animale", Polycopié des Unites de Maladies contagieuses des Ecoles vétérinaires françaises, Mérial (Lyon 2008), 74p.
232. Humblet, M.F., Boschioli, M.L., Saegerman, C., "Classification of worldwide bovine tuberculosis risk factors in cattle": a stratified approach. *Vet Res* 40(5):50.
233. Refai, M., "Bacterial and Mycotic Diseases of Camels in Egypt" (1992).
234. Ozyigit, M.O., Senturk, S., Akkok A., "Suspected congenital generalized tuberculosis in a new born calf". In: *Veterinary Record*, Vol.160, (2007), P.307-308.
235. Hansen, G.A., "Under sogelser angaaende spedalskhedens arsager". *Norsk Magasin for laege vitenskapen*, (1874), 4: 1-88.
236. Pollock, J.M., Neill, D., "*Mycobacterium bovis* infection and tuberculosis in cattle". In: *The Veterinary Journal*, Vol.163, (2002), P.115-127.
237. Lavie, P., Calavas, D., "La tuberculose"-Fiche Zoonoses-Afssa Lyon. In : *Bulletin des GTV*, (2007), n°38,91-92.
238. Biet, F., et al., "Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium-intracellulare* complex (MAC)". *Vet. Res.*, 36. 411-436 (2005).
239. De list, G., Mackintosh, C.G., Bengis, R.G., "*Mycobacterium bovis* in free-living and captive wildlife, including farmed deer". In: *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, Vol.20, (2001), P.86-111.
240. Cousins, D.V., "*Mycobacterium bovis* infection and control in domestic livestock". In: *Rev.Sci.Tech.Off.Int.Epiz.*, Vol.20, (2001), p.71-85.
241. Cosivi, O., Grange, J.M., Daborne, C.J., Raviglione, M.C., Fujikura. T.,

- Cousins, D., Robinson, A.R., Huchzermeyer, H.F., Meslin, F.X., “Zoonotic tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in developing countries”. In: *Emerg.Infect.Dis.*, Vol.4, (1998), p.59-70.
242. García-Bocanegra, I., Barranco, I., Rodríguez-Gómez, I.M., Pérez, B., Gómez-Laguna, J., Rodríguez, S., Ruiz-Villamayor, E., & Perea, A., “Tuberculosis in alpacas (*Lama pacos*) caused by *Mycobacterium bovis*”. *J.clin. Microbiol.*, 48 (5), (2010). 1960–1964.
243. Lyashchenko, K.P., Greenwald R., Esfandiari J., Meylan M., Burri I.H. & Zanolari P., “Antibody responses in New World camelids with tuberculosis caused by *Mycobacterium microti*. *Vet. Microbiol*, 125 (3–4), 265–273 (2007).
244. Lyashchenko, K.P., Singh, M., Colangeli, R. & Gennaro, M.L., “A multi-antigen print immune assay for the development of serological diagnosis of infectious diseases”. *J Immunol Methods*. 2000 Aug 28;242(1-2):91-100.
245. Oevermann, A., Pfyffer, G.E., Zanolari, P., Meylan, M., & Robert, N., “Generalized tuberculosis in llamas (*Lama glama*) due to *Mycobacterium microti*”. *J.clin.Microbiol.* 42 (4), 1818–1821. (2004).
246. Johnson, C.T., Winkler, C.E., Boughton, E., & Penfold, J.W.F., “*Mycobacterium kansasii* infection in allama” *Vet. Rec.*, 133 (10), 243–244 (1993).
247. Dufour, B., and Bénet, J.J., “L’infection à *Mycobacterium bovis* en France en 2014: recrudescence et inquiétudes,” *Rev. Francoph. des Lab.*, vol no. 472, pp. 67–75 (2015).
248. Marsot, M., Durand, B., Scoizec, A., Béral, M., Mathevon, Y., and Courcoul, A., “Facteurs de risque de tuberculose bovine—une étude cas-témoins dans trois départements français (Ardennes, Côte d’Ord et Dordogne),” *Bull. Epid. Santé Anim. Alim*, vol. 74, pp. 8–11 (2016).
249. Courcoul, A., Moutou, F., and Vialard, J., “Tuberculose bovine: investigations épidémiologiques au sein de troupeaux bovins infectés à plusieurs reprises,” *Bull Epid Santé Anim Alim*, vol. 56, pp. 10–14 (2013).
250. Griffin, J. M., Martin, S. W., Thorburn, M. A., Eves, J. A., and Hammond, R. F., “A case-control study on the association of selected risk factors with the occurrence of bovine tuberculosis in the Republic of Ireland,” *R. F. R. F. Prev. Vet. Med.*, vol. 27, no. 1–2, pp. 75–87 (1996).

251. Elliott, G.N., Hough, R.L., Avery, L.M., Maltin, C. A, Campbell, C.D., “Environmental risk factors in the incidence of Johne’s disease” Crit. Rev. Microbiol. 7828, 1–20 (2014).
252. Perez-Lago, L., Navarro, Y., Garcia-De-Viedma, D., “Current knowledge and pending challenges in zoonosis caused by *Mycobacterium bovis*: A review”. Res. Vet. Sci., 97, S94-S100 (2013).
253. Hars, J., Richome, C., Boschioli, M.L., “La tuberculose bovine dans la faune sauvage en France” .In : Bulletin épidémiologique, (2011), N°38 /Spécial zoonoses.
254. Franco, M.M.J., Ribeiro, M.G., Pavan, F.R., Miyata, M., Heinemann, M.B., de Souza Filho, A.F., et al. “Genotyping and rifampicin and isoniazid resistance in *Mycobacterium bovis* strains isolated from the lymphnodes of slaughtered cattle”. Tuberculosis (Edinb); (2017). 104, 30–37.
255. OIE, Organisation mondiale de la santé animale (2019) <http://dx.doi.org/10.20506/bull.2019.1.2909>.
256. Thoen, C O., Lobue, P A., Enarson, D A., Kaneenej, B., “De Kantor in Tuberculosis: a re-emerging disease in animals and humans”. In: Kaplan B, Kahn L H, Monath T P, ed. ‘One Health -One Medicine’: linking human, animal and environmental health.Vet Ital; (2009), 45: 135–181.
257. Collins, J.D., “Tuberculosis in cattle: strategic planning for the future”. In: Vet. Micro. Vol.112, (2006), p.369-381.
258. Lobue P., “Public health significance of *M.bovis*” .In C.O.Theon, J.H.Steel, M.J.Gilsdorf, “*Mycobacterium bovis* infection in animals and humans”, second edition, Blackwell publishing,(March 2006).
259. Berdah, D., “La vaccination des bovidés contre la tuberculose en France, 1921-1963: entre modèle épistémique et alternative à l’abattage”. In : Revue d’études en Agriculture et environnement, Vol.91(4), (2010), p.393-415.
260. Benet, J.J., “La tuberculose animale”, Polycopié des Unites de Maladies contagieuses des Ecoles vétérinaires françaises, Merial (Lyon), (2008) ,74p.
261. Senoussi, A., “Le camelin: Facteur de la biodiversité et à usages multiples. Actes du séminaire international sur la biodiversité faunistique en zones arides et semi-arides”. Université Kasdi Merbah, Ouargla (Algérie 2011). 8 p.
262. Aichouni A.M., Dellal, A., Jebmawi R. “Influence de la saison sur les paramètres hématologiques du dromadaire (*Camelus dromederius*) Algérien“.

- Revue de médecine vétérinaire,( 2011). 162, 7, 327-332.
263. Faye B., "Santé et Nutrition Animale". Guide de l'élevage du dromadaire, Editions SANOFI. (1997a) P.83-85.
264. FAOSTAT., "Données statistiques de la FAO, domaine de la production agricole Division de la statistique, Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture" (2013). Site web:<http://faostat.fao.org/site/573/default>. consulté le 10/04/2020.
265. Benhadid, D., "Evaluation de la production de viande cameline et estimation des poids dans la commune de Ghardaïa", (2010).16-18p.
266. Rahli, R., "Valorisation du lait de chamelle par l'exploitation de potentialités technologiques des bactéries lactiques isolées localement". Thèse de doctorat en Microbiologie appliquée. Université Ahmed Ben Bella, Oran, (2015)- 141p.
267. Souilem, O., et Barhoumi, K., "Physiological Particularities of Dromedary Camelus Dromedarius and Experimental mplications". Scand.j.Lab. Anim.Sci. Vol 36, No 1 (2009),19-29.
268. Acsad ., "The Socio-Economic of camel Herders in Sudan". The camel Applied Research and Development Network CARDN/ACSAD/Camel/P102/ (2002).
269. Baaisa, B.H., "L'utilisation du 5 éme quartier chez le dromadaire" – Université de Constantine. (1988) p5.
270. Samman, M.A., Al-Saleh, A.A., and Sheth, K., "The Karyotype of the Arabian camel, *Camelus dromedarius*". J. King Saud Univ., Science. 5: 57-64. (1993).
271. Ouled Ahmed, M., "Caractérisation de la population des dromadaires (camelus dromedarius) en tunisie". thèse de doctorat. Institut national agronomique de Tunisie (2009). p172.
272. Konuspayeva, G., "Variabilité physico-chimique et biochimique du lait des grands camélidés (*Camelus bactrianus*, *Camelus dromedarius* et hybrides) au Kazakhstan". (Mars 2007).P269.
273. Lasnami, K., "Le dromadaire en Algérie" « Perspectives d'avenir » I.N.A.EL HARRACH- ALGER. Sciences agronomiques. (1986) p 11.
274. Prat, M.L., "L'alimentation du dromadaire", Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort ; (1993). n° 113 : p 111.
275. Corraera, A., "Dynamique de l'utilisation des ressources fourragères par les

- dromadaires des pasteurs nomades du parc nationale du banc d'Arguin (Mauritanie)” (2006a). *Ecologie et gestion de la biodiversité*. p32 -43.
276. Kadim, I.T., Mahgoub, O., Faye, B., Farouk, M.M. “Camel meat and meat products” CAB International, p 259. ISBN 978-1-78064-101-0. 211. Kalina AP. (1970), (2013).
277. Isselnane, S., “Caractérisation chromatographique et électrophorétique de l'extrait coagulant issu de caillettes de dromadaires adultes”. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, (2014). 116p.
278. Gauthier-Pilters H., “The camel. Its evolution, ecology, behaviour and relationship to man”. University of Chicago press, Chicago (USA);(1981); 1-208.
279. Faye, B., Jaouad, M., Bahrawy, K., Senoussi, H., Bengoumi, M., “Elevage camelin en Afrique du Nord : état des lieux et perspectives” *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*. VL - 67 67(4):213-221(2015).
280. Boussouar, N., “Caractérisation technologique et sanitaire des enterocoques isolés à partir de lait de chamelle du sud-ouest algérien”. Thèse de doctorat Université de Tlemcen (2017).
281. Abdelguerfi, A., Ramdane, M. S. A., “Evaluation des besoins en matière de renforcement des capacités nécessaires à la conservation et l'utilisation durable de la biodiversité importante pour l'agriculture”. Bilans des Expertises sur « La Biodiversité Importante pour l'Agriculture en Algérie » MATE-GEF/PNUD : Projet (2003). ALG/97/G31.
282. Al Haj, O.A., AlKanhal, H.A., “Compositional technological and nutritional aspects of dromedary camel milk” –review, *International Dairy Journal* (2010), p1-11.
283. Kula, J., “Medicinal values of camel milk”. *International Journal of Veterinary Science and Research* (April 2016), 2(1): 018-025.
284. Corraera, A., “Dynamique de l'utilisation des ressources fourragères par les dromadaires des pasteurs nomades du parc national du banc d'Arguin (Mauritanie)”. Thèse du muséum national d'histoire naturelle de Paris (2006b), 247 p.
285. FAO., *The State of Food Insecurity in the World* (2014). <http://www.fao.org/3/a-i4030e.pdf>.
286. Faye B., “Classification, history and distribution of the camel” dans: Camel

- meat and meat products, CABI, U.K., (2013) p.1-7, 258 p.
287. Adamou, A., "L'élevage camelin en Algérie: Système à rotation lente et problème de reproduction, profils hormonaux chez la chamelle Chaambi". Thèse de Doctorat Université Badji Mokhtar- ANNABA, (2008a), 247p.
288. CAUVET., "Le chameau".Edt. J.P .Baillièrè : Paris. Cdt 1925, p. 388.
289. Boue, A., "Essai de barymétrie chez le dromadaire Nord-africain". Revue d'élevage et Médecine vétérinaire des Pays tropicaux, (1949).3p.
290. Abdallah, H. R., and Faye, B., "Phenotypic classification of Saudi Arabian camel (*Camelus dromedarius*) by their body measurements". Animal Science. Emir. J. Food Agric. (2012). 24 (3): 272-280 <http://ejfa.info/>.
291. Chniter, M., Hammadi, M., Khorchani, T., Krit, R., Benwahada, A., and Ben Hamouda, M., "Classification of Maghrebi camels (*Camelus dromedarius*) according to their tribal affiliation and body traits in southern Tunisia", Emir.J.Food Agric. (2013).25 (8:625-634).
292. Titaouine, M., 2006. "Considération zootechniques de l'élevage du dromadaire dans le Sud-est Algérien influence du sexe et de la saison sur certains paramètres sanguins"- Thèse Magister en science vétérinaires (2006). Université El Hadj Lakhdar Batna P, 32.
293. Ben Aissa, R., "Le dromadaire en Algérie", ministère de l'agriculture, Alger, série séminaires n° 2. p. 19-28.
294. Belediyesi, S., "First international symposium on culture of camel-dealing and camel wrestling". Selçuk, Izmir, Turkey volume i social science. (November 2016).17-19.
295. Medjour, A., "Etude comparative des caractéristiques physico-chimiques du lait collecté à partir de chameilles (*Camelus dromedarius*) conduites selon deux systèmes d'élevage (extensif et semiintensif)". Mémoire de magister en biologie Université MOHAMED KHIDER de BISKRA. (2014).
296. Afoutni, L., "Les helminthoses de l'appareil digestif du dromadaire. Étude post mortem dans les abattoirs", 2014. thèse de MAGISTERE, p 20.
297. Faye, B., "Des dromadaires et des hommes au Moyen-Orient: Identité et modernité". *Anthropology of the Middle East*, 11, 51-65 (2016).
298. Gizachew, A., Teha, J., Birhanu, T., & Nekemte, E., "Review on medicinal and nutritional values of camel milk". *Nature and Science*, 12, 35-41. (2014).
299. Boudjenah-Haroun, S., Laleye, C., Senoussi, C., Moulti Mati, F., Si Ahmed,

- S., & Mati, A., "Coagulation of camel milk using dromedary gastric enzymes as a substitute of the commercial rennet". *American Journal of Food Technology*, 7, 409. (2012).
300. Konuspayeva, G., Loiseau, G. & Faye, B., "La plus-value santé du lait de chamelle cru et fermenté": l'expérience du Kazakhstan. Institut d'élevage (2004).
301. Mullaicharam, A., "A review on medicinal properties of camel milk", *World Journal of Pharmaceutical Science*, 2, 237-42 (2014).
302. Kadim, I., Mahgoub, O., & Purchas, R., "A review of the growth and of the carcass and meat quality characteristics of the one-humped camel (*Camelus dromedaries*)". *Meat Science*, 80, 555-569. (2008).
303. Raiymbek, G., Kadim, I., Konuspayeva, G., Mahgoub, O., Serikbayeva, A. & Faye, B., Discriminant Amino-Acid Components Of Bactrian (*Camelus Bactrianus*) And Dromedary (*Camelus dromedarius*) meat". *Journal of Food Composition and Analysis*, 41, 194-200.
304. Faye, B., "Guide de l'élevage du dromadaire". CIRAD-EMVT, Montpellier, première édition, 126 p.
305. Adamou, A., "L'élevage camelin en Algérie: quel type pour quel avenir", *Sécheresse* (2008b) ; 19 (4) : 253-60.
306. Fassi-Fehri, M.M., "Les maladies des camélidés", *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 1987, 6 (2), 315-335.
307. Wernery, U., Kaaden, O.-R., "Infectious diseases of camelids". Berlin, Germany, Blackwell Wissenschafts-Verlag (1995), 133 p.
308. Huiguang, W.U., et al, "Camelid genomes reveal evolution and adaptation to desert environments" *Nat Commun* 5, 5188 (2014).
309. Blajan, L., Lasnami, K., "Nutrition et pathologie du dromadaire". *Options Méditerranéennes - Série Séminaires n°2*, (1989) ,131-139.
310. Sieng, M., "Détection de la tuberculose bovine dans les abattoirs du Sud-Ouest de 2001 à 2010" : analyse des données d'inspection et des résultats histologiques et bactériologiques .Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. Toulouse, école nationale vétérinaire, (2011), 64p.
311. Kent, P. T., "a guide for the level III laboratory." US Department of Health and Human Services, Public Health *mycobacteriology* Service, Centers , (1985).

312. Telenti, A., Marchesi, F., Balz, M., Bally, F., Böttger, E.C., & Bodmer, T., - "Rapid identification of mycobacteria to the species level by polymerase chain reaction and restriction enzyme analysis". *J. Clin. Microbiol*, 31(2), 175-178. (1993).
313. Lamoril, J., Ameziane, N., Deybach, J-C., Bouizegaréne, P., Bogard, M., "Les techniques de séquençage de l'ADN : une révolution en marche. Première partie DNA sequencing technologies: A revolution in motion ". Part one Immuno-analyse & Biologie Spécialisée Vol 23, Issue 5, (October 2008), P.260-279.
314. Kirschner, P., Bottger, E.C., "species Identification of Mycobacteria Using Rdna Sequencing". In: Parish T.Stoker N.G. (eds) *Mycobacteria Protocols. Methods in Molecular Biology™*, vol 101.Humana Press. (1998).
315. Thrusfield, M., - "Veterinary Epidemiology". 3<sup>rd</sup>Ed., Blackwell Science, London, UK (2007), 610 p.
316. Koni, A., Juma, A., Morini, M., Nardelli, S., Connor, R., and Koleci, X., "Assessment of an ELISA method to support surveillance of bovine tuberculosis in Albania".*Ir. Vet. J.*, 69(1): 11. 20. (2016).
317. Kasaye, S., Molla, W., & Amini, G., - "Prevalence of camel tuberculosis at Akaki abattoir in Addis Ababa" (2013). *Ethiopia African Journal of Microbiology Research*, 7(20), 2184-2189.
318. Manal, M.Y., and Gobran, R., "Some studies on tuberculosis in camel" *Egypt .J. Comp. Pathol. Clin. Pathol.* 21(4): 58-74. (2008).
319. Beyi, A.F., Gezahegne, K.Z., Mussa, A., Ameni, G., & Ali, M.S., "Prevalence of bovine tuberculosis in dromedary camels and awareness of pastoralists about its zoonotic importance in Eastern Ethiopia" *J. Vet. Med. Anim. Health*, 6(4), 109-115. (2014).
320. Bezos, J., Alvarez, J., Romero, B., Aranaz, A., De Juan, L., "Tuberculosis in goats: assessment of current in vivo cell-mediated and antibody-based diagnostic assays". *Veterinary Journal* 191, 161–165.(2012).
321. Napp, S., Allepuz, A., Mercader, I., Nofrarías, M., López-Soria, S., Domingo, M., et al., "Evidence of goats acting as domestic reservoirs of bovine tuberculosis". *The Veterinary Record* 172, 663. (2013).
322. Zanardi, G., Boniotti, M., Gaffuri, A., Casto, B., Zannoni, M., Pacciarini, M., "Tuberculosis transmission by *Mycobacterium bovis* in a mixed cattle and goat

- herd". *Research in Veterinary Science* 2011–2014. (2013).
323. EFSA. Scientific Report of EFSA: "The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in the European Union" in 2008- 2009: 411–436.
324. Teklu, A., Asseged, B., Yimer, E., Gebeyehu, M., Woldesenbet, Z., "Tuberculous lesions not detected by routine abattoir inspection: the experience of the Hossana municipal abattoir, southern Ethiopia".*In: Rev.sci.tech.Off.int. Epiz.Vol. 23(3)*, p.957-964. (2004).
325. Millian-Suazo, F., Salman, M.D., Ramire, C., Payeur, J.B., Rhyan, J.C., Santillan M.," Identification of tuberculosis in cattle slaughtered in Mexico".*In: Am. J. Vet. Res., Vol. 61(1)*, p.86-9. (2000).
326. Kazwala, R.R., Kambarage, D.M., Daborn, C.J., Nyange, J., Jiwa, S.F.H., et al. "Risk Factors Associated with the Occurrence of Bovine Tuberculosis in Cattle in the Southern Highlands of Tanzania". *Vet Res Commun.* (2001); 25:609–614.
327. Munyeme, M., Muma, JB., Skjerve, E., Nambota, AM., Phiri, IGK., et al. "Risk Factors Associated with Bovine Tuberculosis in Traditional Cattle of the Livestock/Wildlife Interface Areas in the Kafue Basin of Zambia". *Prev Vet Med.* (2008); 85:317–328.
328. Kinne, J., Johnson, B., Jahans, K.L., Smith, N.H., Ul-Haq, A. and Wernery, U., "Camel tuberculosis a case report". *Trop. Anim. Health Prod.*, 38, 207-213. (2006).
329. Windsor, R.S., "Bovine tuberculosis in alpacas and llamas". *Proceedings of the British Veterinary Camelid Society, Penrith, (1999), UK, 32–34.*
330. Twomey, D.F., Crawshaw, T.R., Anscombe J.E., Farrant, L., Evans, L.J., McElligott, W.S., Higgins, R.J., Dean, G.,Vordermeier, M., Jahans, K. & de la Rua-Domenech, R., "TB in llamas caused by *Mycobacterium bovis*". *Vet. Rec.*, (2007), 160 (5), 170.
331. O'Reilly, L.M., & Daborn, C.J., "The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man": a review. *Tubercle and Lung Disease*, 76 (Suppl. 1) (1995), 1-46.
332. Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B.K., & Carter, G.R., - "*Mycobacterium* species". In *Clinical veterinary microbiology*. Longon: Wolfe, Mosby, Edinburgh, United Kingdom, 156–169. (1994).

333. Lilenbaum, W., Pessolani, M. and Fonseca, L. "the use of Ag85 complex as antigen in ELISA for the diagnosis of bovine tuberculosis in dairy cows in Brazil" (2001). *J. Vet. Med.B. Infect. Dis. Vet. Public Health*, 48(3): 161-166.
334. Philipp, WJ.,Nair, S.,Guglielmi, G.,Laganderie, M.,Gicquel, B., Cole, S.T., "Physical mapping of *Mycobacterium bovis* BCG Pasteur reveals differences from the genome map of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv and from *M.bovis* Microbiology ; 142:3135-45. (1996).
335. Brudey, K., Driscoll, J.R., Rigouts, L., Prodinge, W.M., Gori, A., et al. "*Mycobacterium tuberculosis* complex genetic diversity: mining the fourth international spoligotyping database (SpolDB4) for classification, population genetics and epidemiology". *BMC Microbiology* (2006). 6: 23.
336. Vasireddy R., Vasireddy S., Brown-Elliott B.A., Wengenack N.L., Eke U.A., Benwill J.L., Turenne, C., & Wallace, R.J., "*Mycobacterium arupense*, *Mycobacterium heraklionense*, and a newly proposed species, *Mycobacterium virginense* sp. nov., but not *Mycobacterium nonchromogenicum*, as species of the *Mycobacterium terrae* complex causing tenosynovitis and osteomyelitis". *J. Clin. Microbiol .*, 54 (5), 1340-1351. (2016).
337. Elmoosalami, E., Siam, M.A., and Sergany, M.E., "Studies on tuberculosis like lesions in slaughtered camels". *Zbl. Vet. Med. B.*, 18, 253-261. (2010).
338. Zerom, K., Sisay, T., Mamo, G., Bayu, Y. and Ameni, G., "Tuberculosis in dromedaries in eastern Ethiopia: Abattoir-based prevalence and molecular typing of its causative agents in camels". *Res. J.*, 109, 188–192. (2013).
339. Rhodes, S., Crawshaw, T., de la Rua-Domenech, R., Bradford, S., Lyashchenko, K.P., Mamo, G., Summers , D., Wernery, U., and Zanolari, P., "Mycobacterial Infections in Camelids" CABI, Oxfordshire. P 216-234. (2015).
340. Gumi, B., Schelling, E., Berg, S., et al. "Zoonotic transmission of tuberculosis between pastoralists and their livestock in South-East Ethiopia" *Ecohealth*. 2012; 9 (2):139–149.
341. Tschopp,R., Schelling, E., Hattendrft, J., Young,D., Aseffa, A., Zinsstag, J.,"Repeated cross-sectional skin testing for bovine tuberculosis in cattle kept in a traditonal husbandry system in Ethiopia (2010a).the Veterinary Record 167(7):250-256. (2010a).
342. Infantes-Lorenzo, J.A., Romero, B., Rodríguez-Bertos, A., et al. "Tuberculosis caused by *Mycobacterium caprae* in a camel (*Camelus*

- dromedarius*)". *BMC Vet Res* 16, 435 (2020).
343. Pesciaroli, M., Alvarez, J., Boniotti, M.B., Cagiola, M., Di Marco, V., Marianelli, C., Pacciarini, M., Pasquali, P., "Tuberculosis in domestic animal species". *Res Vet Sci.* 2014; 97(Suppl):S78–85.
344. Ahmad, I., Kudi, CA., Magaji, AA., Yakubu, Y., Salisu, MD., Shuaibu, S., Daninna, ZM., "Disseminated tuberculosis in a cow and a dromedary bull-camel in Zamfara state in Nigeria". *Vet Med Sci.* 2019; 5(1):93–8.

## Isolement et identification de mycobactéries responsables de la tuberculose du dromadaire en Algérie

Cet article (n° 23042021-00177-FR) a été évalué par les pairs, accepté, puis soumis à une révision linguistique approuvée par les auteurs. Il n'a pas encore été mis en page pour impression. Il sera publié dans le volume 39 (3) de la *Revue scientifique et technique* en 2021.

R. Boukert <sup>(1)</sup>, O. Kaya Koksalan <sup>(2)</sup>, T. Kocagoz <sup>(3)</sup>, S. Akcelik <sup>(3)</sup>, M. Ifticene <sup>(4)</sup>, A. Berber <sup>(1)</sup>, C. Saegerman <sup>(5)\*</sup> & N. Sahraoui <sup>(1)\*</sup>

(1) Laboratoire des biotechnologies liées à la reproduction animale, Institut des sciences vétérinaires, Université Saad Dahlab de Blida, B.P. 270, Route de Soumaa, 09000 Blida, Algérie

E-mails : razika555@live.fr ; berbarali@yahoo.fr

\*Auteur chargé de la correspondance : nasahraoui@gmail.com

(2) Laboratoire d'épidémiologie, Institut de la recherche expérimentale médicale, Université d'Istanbul, Route 34280 Vakif Gureba, 34104 Sehremini, Istanbul, Turquie

E-mail : okkoksalan@hotmail.com

(3) Service de microbiologie et de biotechnologie médicales, Université d'Acibadem Mehmet Ali Aydinlar, Route 32, Icerenkoy Mah. Kayisdagi, 34752 Atasehir, Istanbul, Turquie

E-mails : tanilkocagoz@gmail.com ; smyy.akclk@gmail.com

(4) Laboratoire de la tuberculose, Institut Pasteur d'Algérie, Route du petit Staouéli, Dely-Brahim, Alger, Algérie

E-mail : Ifticene.ma@yahoo.fr

(5) Unité de recherche en épidémiologie et analyse de risques appliquées aux sciences vétérinaires (UREAR-ULiège), Centre de recherches fondamentales et appliquées en santé animale (FARAH), Département des maladies infectieuses et parasitaires, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Liège, Quartier Vallée 2, Avenue de Cureghem 7A, B42, 4000 Liège, Belgique

\*Auteur chargé de la correspondance : claude.saegerman@uliege.be

## Résumé

À ce jour, la tuberculose a été peu étudiée chez les camélidés en Algérie. L'objectif de cette étude est de déterminer la prévalence de la tuberculose cameline dans trois abattoirs algériens à partir de prélèvements de lésions suspectes de cette maladie qui ont été détectées sur des carcasses lors de l'examen à l'inspection visuelle *post mortem*. L'étude vise aussi à isoler et à identifier les agents responsables de cette infection par un diagnostic de laboratoire. Durant la période de 2016 à 2018, 102 carcasses (3,05 % ; avec un intervalle de confiance [IC] à 95 % de 2,05 à 3,69) ont été déclarées suspectes de tuberculose sur un total de 3 342 carcasses de dromadaires inspectées. Concernant la localisation des lésions, 64 des 102 carcasses présentaient des lésions aux poumons, 37 des 102 carcasses présentaient des lésions au niveau du foie et 1 carcasse présentait une lésion dans un ganglion bronchique. Respectivement cinq et six échantillons de lésions suspectes de tuberculose cameline ont été trouvés positifs à la bacilloscopie (4,90 % ; avec un IC à 95 % de 1,61 à 11,10) et en culture (5,88 % ; avec un IC à 95 % de 2,19 à 12,36). La concordance entre la bacilloscopie et la culture était bonne (coefficient kappa de 0,71) et la probabilité de trouver une culture positive était 184 fois plus élevée lorsque la bacilloscopie était positive (valeur de  $p = 0,01$ ). La caractérisation moléculaire par réaction de polymérisation en chaîne (PCR) des extraits d'acide désoxyribonucléique (ADN) a montré un signal positif, signifiant que les souches isolées appartenaient au genre mycobactérien. Une restriction enzymatique réalisée sur des extraits d'ADN a indiqué la présence d'ADN d'une mycobactérie appartenant au complexe *Mycobacterium tuberculosis*. Une technique de spoligotypage réalisée sur les mêmes extraits d'ADN a permis de confirmer la présence de quatre souches de *Mycobacterium bovis* avec un même spoligotype SB0941 et d'une autre souche avec un spoligotype SB2562, un profil nouvellement décrit dans cette étude et qui est phylogénétiquement proche du profil précédent. Au départ de lésions suspectes de tuberculose chez le dromadaire, une souche de mycobactérie non tuberculeuse a été identifiée comme étant un *Mycobacterium virginiense* MO-233 (séquence ID : Nr149186) par la technique de séquençage de la région 16SrDNA. La présence de la

tuberculose à *M. bovis* ayant été démontrée dans la population cameline algérienne, il est dès lors nécessaire de mettre en œuvre des mesures visant à la contrôler en vue de réduire la transmission entre l'animal et l'homme.

### Mots-clés

Abattoir – Algérie – Dromadaire – *Mycobacterium bovis* – *Mycobacterium virginiense* – Spoligotypage – Tuberculose.

### Introduction

Le commerce du dromadaire (*Camelus dromedarius*) est en augmentation constante en Afrique du Nord et au Moyen-Orient, où ces animaux sont utilisés pour la viande et la production de lait, et occasionnellement pour des activités de transport et sportives (1). C'est ainsi qu'en Algérie, le dromadaire occupe une place essentielle dans la vie économique et sociale des communautés sahariennes et steppiques. Il revêt une importance particulière du fait de sa capacité à évoluer dans des milieux arides où l'existence d'autres animaux d'élevage serait rendue aléatoire et onéreuse (2). Selon l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) (2018), l'Algérie comptait en 2017, une population de 381 882 têtes, soit 6,5 % de l'effectif des pays de l'Afrique du Nord, 17 % des pays maghrébins et presque 2 % de la population mondiale cameline. Cela positionne le pays au 14<sup>e</sup> rang mondial (3). L'importance du cheptel de dromadaires en Algérie est liée aux efforts exercés par les éleveurs de camélidés et de l'attention accordée par l'État à ceux-ci depuis deux décennies (ex. prime à la naissance des dromadaires). En Algérie, il y a trois modes d'élevage des dromadaires. Les éleveurs sont des nomades, des transhumants ou des sédentaires. Les pasteurs nomades n'ont pas d'habitats fixes. Ils se déplacent en permanence avec leur bétail en quête d'un point d'eau et en utilisant les marigots, les rivières, les fleuves et les puits. Du fait de cette mobilité, les nomades pratiquent peu ou pas d'activité agricole (4). Les éleveurs transhumants déplacent leurs troupeaux de manière saisonnière, pendulaire, et selon des parcours bien précis, répétés chaque année. Deux types de transhumance sont pratiqués : la transhumance saisonnière (l'objectif réside dans la recherche de

pâturages et d'eau) et la transhumance laitière (elle répond à des objectifs commerciaux, c'est-à-dire la recherche de marchés pour l'écoulement du lait). Les éleveurs sédentaires déplacent leurs troupeaux, souvent sur de longues distances, mais ils reviennent chaque soir au village. Les éleveurs sédentaires sont d'anciens chameliers sédentarisés pour des causes diverses (scolarisation des enfants, sécheresse, pluriactivité) (5). En Algérie, les deux derniers systèmes sont de loin les plus fréquents avec toutefois une prédominance du mode d'élevage transhumant (6).

Le dromadaire est susceptible à la plupart des maladies infectieuses des ruminants (7). Cependant, peu d'études décrivent des lésions tuberculeuses chez cet animal (8). La tuberculose est une maladie endémique et zoonotique, causée par les membres du complexe *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC). Elle est considérée comme un problème de santé important chez l'homme et les animaux (9). Parmi les espèces de mycobactéries, *Mycobacterium bovis* a une large gamme d'hôtes et est l'agent causal le plus souvent rapporté de la tuberculose des camélidés (10, 11). Plusieurs cas de tuberculose des camélidés ont été déclarés depuis le XIX<sup>e</sup> siècle dans plusieurs pays africains (ex. Mauritanie, Nigeria, Niger, Égypte et Éthiopie), en Australie et dans d'autres pays d'Asie (ex. Émirats arabes unis, Pakistan et Inde) (10, 11, 12).

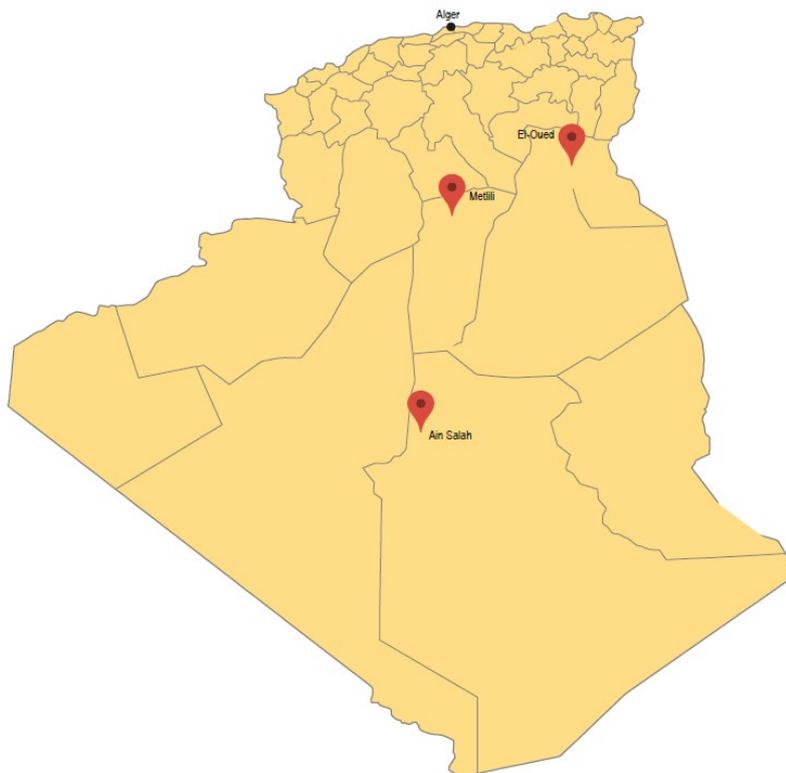
En Algérie, la tuberculose des ruminants domestiques a été diagnostiquée et les agents responsables de cette affection ont été identifiés par Sahraoui et coll. (13, 14). Ainsi, la prévalence des lésions tuberculeuses à l'abattoir a été estimée à 4,14 % chez les caprins et les ovins (13), alors que la prévalence chez les bovins a été estimée à 3,58 % (14). Cependant, pour le dromadaire, aucune étude visant la tuberculose n'a été rapportée. Plusieurs facteurs peuvent interférer avec la réalisation de telles études, par exemple les difficultés à l'accès aux animaux à cause de la transhumance, les mouvements nombreux et non tracés des animaux, le mode d'élevage souvent extensif, l'insuffisance de moyens pour le déplacement des vétérinaires, et enfin l'inexistence des moyens spécifiques de dépistage et de diagnostic. Dans ce contexte, la présente étude a été conçue afin de déterminer la prévalence des

lésions suspectes de tuberculose chez le dromadaire lors de l'examen *post-mortem* des carcasses à l'abattoir dans le sud de l'Algérie, de mettre en évidence l'agent responsable de cette affection et de le caractériser.

## Matériels et méthodes

### Abattoirs investigués

Cette étude a été menée dans trois abattoirs de la région sud de l'Algérie. Il s'agit des abattoirs de Metlili (wilaya de Ghardaïa), d'Ain Salah et d'El-Oued (Fig. 1). Dans ces abattoirs, les animaux des espèces suivantes sont abattus : bovins, petits ruminants et dromadaires. Chaque abattoir est doté d'un personnel permanent (un gérant de l'abattoir, un inspecteur vétérinaire, un docteur en médecine vétérinaire, un égorgeur et un agent chargé du nettoyage et du transport). Le choix de ces établissements a été réalisé sur la base de l'effectif des dromadaires abattus et de l'accessibilité des abattoirs.



**Fig. 1**  
**Situation géographique des trois abattoirs visités en Algérie**

L'étude a été réalisée de 2016 à 2018. Au total, 3 342 dromadaires abattus de tout âge, race et sexe ont été inspectés pour la recherche de lésions suspectes de tuberculose. L'examen visuel *post-mortem* a porté sur toutes les carcasses et tous les organes d'élection (poumons, foie, intestin grêle, reins, ganglions lymphatiques mandibulaires, rétro-pharyngés, bronchiques, médiastinaux, mésentériques et hépatiques). Cet examen a été réalisé en conformité avec le rectificatif au règlement (CE) n° 854/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 (15). Le type de lésions a été décrit en suivant les indications de Sieng (16). Des échantillons lésionnels ont été prélevés et déposés dans des pots stériles préalablement identifiés. Ces prélèvements ont ensuite été acheminés en respectant la chaîne du froid au laboratoire des mycobactéries de l'Institut Pasteur d'Algérie (IPA). Chaque échantillon était accompagné d'une fiche d'identification.

### **Diagnostic classique de laboratoire**

Au niveau du laboratoire des mycobactéries de l'IPA, plusieurs examens de laboratoire ont été réalisés. Il s'agit de la bacilloscopie et de la culture bactérienne. En outre, une extraction d'acide désoxyribonucléique (ADN) a également été réalisée sur certains prélèvements. Cette extraction est présentée dans la partie du diagnostic moléculaire.

#### **Bacilloscopie**

Sur chaque échantillon, un frottis a été confectionné et coloré par la technique de Ziehl-Neelsen à chaud. Les lames ont été lues au microscope optique au grossissement  $\times 100$  et les bacilles acido-résistants apparaissent alors comme des bacilles rouges sur un fond bleu (17).

#### **Culture bactérienne**

Chaque échantillon est homogénéisé à l'aide d'un mortier et un pilon stériles. Le produit de broyage ainsi obtenu est ensuite décontaminé en appliquant la méthode de Petroff, dont le but est d'éliminer les éléments bactériens qui ne sont pas des mycobactéries (18). Cette méthode

consiste à rajouter de la soude à 4 %, en doublant le volume par rapport à l'homogénéisat. La suspension ainsi obtenue est agitée à l'aide d'un agitateur de Khan pendant 10 min. Après rinçage à l'eau distillée stérile (20 ml), la suspension est centrifugée à 3 000 tours par minute pendant 15 min et enfin le surnageant est rejeté. Une deuxième centrifugation est effectuée, puis le surnageant est à nouveau éliminé. Par la suite, un ensemencement est réalisé avec 0,1 ml de suspension de chaque échantillon. La suspension est étalée sur un milieu de Löwenstein-Jensen. Le temps maximal d'incubation est de huit semaines (19).

### **Diagnostic moléculaire sur les isolats**

Le diagnostic moléculaire consiste en l'extraction d'ADN suivie d'un spoligotypage.

#### **Extraction d'acide désoxyribonucléique**

La méthode d'extraction d'ADN par la chaleur a été utilisée. Pour cela, les colonies cultivées sur le milieu de Löwenstein-Jensen ont été prélevées. Ces colonies ont été mises en suspension dans une solution de Tris-EDTA à 10 %, dans un micro-tube de 1 500 µl. Ces derniers ont été placés 20 min sur un bloc chauffant à 80 °C afin de détruire les bactéries par la chaleur. La suspension a été ensuite centrifugée pendant 5 min à 10 000 tours par minute. L'ADN a été retiré du surnageant et conservé à -20 °C avant utilisation.

#### **Restriction enzymatique par réaction de polymérisation en chaîne**

Cette technique a été réalisée au sein du laboratoire de microbiologie et biotechnologie médicale de l'Université d'Acibadem en Turquie. Le protocole suivi est celui décrit par Telenti et coll. (20). Pour ce faire, les échantillons des extraits d'ADN ont été soumis à la restriction enzymatique du gène *hsp65* par réaction de polymérisation en chaîne (PCR) classique.

Premièrement, une amplification par PCR, basée sur IS6110 a été réalisée. Cette amplification nécessite l'usage d'amorces, à savoir, deux amorces oligonucléotidiques de mycobactéries (2 µl) : TB11 (5'-

ACCAACGATGGTGTGTCCAT-3') et TB12 (5'-CTTGTCGAACCGCATAACCCT-3') (20) et deux amorces IS6110 (1 µl) : INS1 (5'-CGTGAGGGCATCGAGGTGGC-3') et INS2 (5'-GCGTAGGCGTCGGTGACAAA-3') (21). Un témoin négatif dans lequel l'ADN est remplacé par de l'eau est utilisé afin de déceler une éventuelle contamination (la contamination partant de l'ADN précédemment amplifié représente le principal risque). Un témoin positif (*M. tuberculosis* H37Rv) permet de valider la bonne conservation des réactifs. Le mélange PCR pour cette amplification était composé d'un seul volume de la mixture : 2 µl de chaque amorce, 2,5 mM de désoxyribonucléotides-tri-phosphates, 2 µl de Taq polymérase, 15 µl d'H<sub>2</sub>O et 3 µl d'ADN mycobactérien et enfin l'ADN à amplifier. Cette technique de PCR a été effectuée à l'aide d'un thermocycleur T100 de Applied Bio-RAD. Cette opération a duré trois heures et a nécessité 45 cycles selon deux programmes : une dénaturation à 95 °C pendant 45 secondes, une amplification à 56 °C pendant 45 s et une élongation à 72 °C pendant 1 min.

Ensuite une amplification du gène *hsp65* a été réalisée avec les deux amorces (2,5 µl) Tb11 (5'-ACCAACGATGGTGTGTCCAT) et Tb12 (5'-CTTGTCGAACCGCATAACCCT). Le mélange de la réaction est composé de 20 mM de Tris, Ph (8,4), 50 mM KCL ; 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 % de glycérol, 200 mM désoxyribonucléotides-tri-phosphates et 1 µl de Taq polymérase. La réaction a été soumise à une dénaturation à 95 °C pendant 10 min, suivie de 45 cycles d'amplification (94 °C pendant 1 min, 60 °C pendant 1 min et 72 °C pendant 1 min), puis d'une étape d'élongation finale à 72 °C pendant 7 min (20).

La digestion des fragments d'ADN amplifiés (amplicon *hsp65*) a été assurée par l'usage de deux enzymes de restriction (*BstE II* et *Hae III*) (20) et des deux solutions suivantes :

- Solution 1 : 1 µl pour chaque enzyme additionné à 2 µl de buffer et de la mixture ; 3 µl de la mixture sont additionnés à 17 µl de chaque produit PCR (20). Ensuite une incubation du mélange à 37 °C pendant une nuit a été réalisée.

- Solution 2 : 8,4 µl d'acrylamide, 0,5 µl de TAE (Tris-acétate-EDTA), 15,3 µl H<sub>2</sub>O, 40 µl de TEMED (N,N,N',N'-tétraméthyléthylènediamine) et 800 µl de persulfate d'ammonium (SDS). Cette deuxième solution correspond à une partie des composants du gel de polyacrylamide.

À la suite de la digestion, environ 1 µg d'ADN digéré est séparé par électrophorèse sur gel d'agarose à 0,8 % (poids/volume), préparé dans du TBE (Tris-borate-EDTA), à 40 V pendant une nuit. Cette électrophorèse permet de séparer les différents fragments d'ADN obtenus après digestion.

Les profils de restriction ont été analysés à l'aide d'un programme d'analyse moléculaire (BioRad, Hercules, Californie, États-Unis d'Amérique). Les résultats ont été comparés à l'aide d'une table de référence intitulée « *PCR Restriction Enzyme Analysis Chart for Hsp65 of Mycobacteria* », au niveau de la ligne 152/127/69/42/22/17/12 se rapportant à *M. bovis* (U 17925) et à *M. tuberculosis* (U 17957) (20).

### Spoligotypage

La méthode du spoligotypage de type Luminex a été réalisée à l'Institut de médecine expérimentale de l'Université d'Istanbul en suivant le protocole décrit par Zhang et coll. (22). Cette technique reste la plus pertinente surtout dans les pays où les flambées de tuberculose sont largement liées à *M. africanum* (en Afrique, dans le sous-continent indien et en Asie) (22).

Les extraits d'ADN de la totalité des isolats obtenus (six) ont été identifiés par spoligotypage. Pour ce faire :

1. Une amplification génique a été réalisée avec les amorces DRa et DRb avec trois contrôles positifs (témoins).
2. Une dénaturation des produits de PCR a été faite à 95 °C pendant 10 min.
3. Une hybridation à 52 °C pendant 30 min. Des microbilles (BioRAD France) avec une solution d'hypochlorite de sodium

ont été rajoutées aux produits PCR pour assurer la bonne dégradation de l'ADN. Cette étape a été effectuée dans un incubateur de type Analyseur Luminex ® 200™ (Luminex Corp., Austin, Texas, États-Unis d'Amérique) pendant 10 min à 52 °C.

Selon Zhang et coll., l'approche basée sur les microbilles en comparaison de celle utilisant des membranes permet un débit de caractérisation des mycobactéries de 4 à 8 fois plus élevée (22).

### **Identification d'un isolat mycobactérien par séquençage de la région 16SrDNA**

Cette méthode a été réalisée au laboratoire de l'Institut de médecine expérimentale, Université d'Istanbul. Nous avons procédé au séquençage d'un isolat d'ADN qui n'appartenait pas au complexe *M. tuberculosis*. Pour cela nous avons utilisé deux techniques :

1. Une PCR et un séquençage partiel du gène d'ARNr16S : cette méthode consiste à une amplification d'un fragment de 591 pb du gène d'ARNr16S avec deux amorces 285 et 259 (23).
2. Une PCR et un séquençage partiel du gène *hsp65* : cette technique vise à amplifier un fragment de 441 pb du gène *hsp65* en suivant le protocole décrit par Telenti et coll. (20).

Les produits amplifiés ont été purifiés par des billes Agencourt Ampure XP et Agencourt Cleanseq (Beckman Coulter, Brea, Californie, États-Unis d'Amérique). Le séquençage a été effectué dans le système d'analyse de séquence CEQ8000 (Beckman Coulter, Brea, Californie, États-Unis d'Amérique). Les séquences obtenues ont été analysées en utilisant l'outil de recherche d'alignement local de base, désigné comme le BLAST (en anglais : *Basic Local Alignment Search Tool*) et qui est disponible dans la base de données en ligne du Centre américain pour les informations biotechnologiques (NCBI, *National Center for Biotechnology Information*) (BLAST, NCBI, Bethesda, Maryland, États-Unis d'Amérique).

## Analyses statistiques

La prévalence des lésions avec son intervalle de confiance (IC) à 95 % a été calculée à l'aide d'une distribution binomiale exacte. Le coefficient de concordance Kappa a été utilisé pour comparer l'accord entre la bacilloscopie et la culture bactérienne (24). L'étude des variables exploratoires en lien avec les lésions suspectes de tuberculose détectées à l'abattoir et confirmées par culture bactérienne a été réalisée en utilisant une régression logistique univariée (variable par variable) puis multivariée (prise en compte de toutes les variables ensemble). Pour l'analyse multivariée, un premier modèle comprenait toutes les variables exploratoires ayant une valeur  $p \leq 0,2$  dans le modèle univarié. Les variables exploratoires non significatives ( $p > 0,05$ ) ont été supprimées par une approche pas à pas (à partir de la moins significative, c'est-à-dire avec la valeur de  $p$  la plus élevée). À chaque étape, un test du rapport de vraisemblance a permis de comparer le modèle simplifié au modèle plus complexe. Le modèle final a été sélectionné lorsque le test du rapport de vraisemblance indiquait une différence significative entre le modèle le plus complexe et le modèle simplifié ( $p < 0,05$ ). Les calculs ont été réalisés en utilisant le logiciel Stata 14.2 SE (StatCorp, College Station, Texas, États-Unis d'Amérique).

## Résultats

### Lésions suspectes de tuberculose

Sur un total de 3 342 carcasses de dromadaires inspectées visuellement, 102 carcasses présentaient des lésions suspectes de tuberculose, soit une proportion apparente globale de lésions suspectes de tuberculose dans la zone d'étude de 3,05 % (IC à 95 % de 2,50 à 3,69). La proportion de dromadaires femelles présentant des lésions suspectes de tuberculose (9,37 %) était supérieure à celle des mâles (1,61 %).

Les lésions suspectes de tuberculose étaient plus fréquemment observées au niveau des poumons par rapport aux autres localisations, les femelles étaient plus touchées par ces types de lésions par rapport

aux mâles, et les animaux âgés > 10 ans étaient les plus concernés (Tableau I).

**Tableau I**

**Résultats des 102 dromadaires présentant des lésions suspectes de tuberculose à l'inspection visuelle des carcasses. Caractéristiques démographiques des animaux et localisation des lésions**

	Variable	Modalité	Nombre (% du total)
Caractéristiques démographiques	Sexe	Mâle	44 (43,14 %)
		Femelle	58 (56,86 %)
	Âge	< 5 ans	11 (10,8 %)
		5–10 ans	21 (20,6 %)
		> 10 ans	70 (68,6 %)
	Localisation des lésions	Organe	Poumon
Foie			37 (36,3 %)
Ganglion bronchique			1 (0,98 %)

### Comparaison entre la bacilloscopie et la culture bactérienne

Cinq des 102 échantillons (4,90 %) testés par bacilloscopie ont révélé la présence de bacilles acido-alcool-résistants. Six des 102 mêmes échantillons (5,88 %) mis en culture sur le milieu de Löwenstein-Jensen ont été trouvés positifs pour la présence de *Mycobacterium* (Tableau II). La comparaison entre les résultats de la bacilloscopie et de la culture bactérienne peut être qualifiée de « bonne » en regard du coefficient de concordance Kappa qui est de 0,71 (IC à 95 % de 0,52 à 0,91). En considérant la culture comme la technique de référence, la sensibilité et la spécificité de la bacilloscopie ont été respectivement estimées à 66,66 % (IC à 95 % de 22,28 à 95,67) et à 98,96 % (IC à 95 % de 94,33 à 99,97).

**Tableau II**

**Comparaison entre les résultats de la bacilloscopie et de la culture bactérienne concernant 102 échantillons présentant des lésions suspectes de tuberculose chez les dromadaires en Algérie**

		Culture		
		Positive	Négative	Total
Bacilloscopie	Positive	4	1	5
	Négative	2	95	97
	Total	6	96	102

### **Variables exploratoires en lien avec la détection de mycobactéries par culture**

Les résultats de l'analyse univariée et de l'analyse multivariée sont présentés dans les Tableaux III et IV. L'analyse univariée a montré qu'en comparaison avec le poumon comme prélèvement de référence, la prise de ganglions présentant des lésions était plus indicative d'une tuberculose confirmée par examen bactériologique (valeur de  $p = 0,03$ ). De même, la présence d'un examen bacilloscopique était très indicatif d'une culture positive (valeur de  $p < 0,001$ ) (Tableau III). Cependant, à la suite de l'analyse par régression logistique multivariée, seul l'examen bacilloscopique reste significativement associé à une culture positive (valeur de  $p = 0,01$ ) (Tableau IV).

**Tableau III****Analyse univariée des variables exploratoires de lésions tuberculeuses chez le dromadaire en Algérie**

<b>Variable</b>	<b>Modalité</b>	<b>OR</b>	<b>(IC à 95 %)</b>	<b>Valeur de p</b>
<b>Abattoir</b>	Ain Salah	Référence	–	–
	El-Oued	2,86	(0,13–61,69)	0,50
	Ghardaïa	16,09	(0,81–317,82)	0,07
<b>Âge</b>	Animal < 5 ans	Référence	–	–
	Animal 5–10 ans	0,16	(0,0061–4,35)	0,28
	Animal > 10 ans	0,59	(0,086–4,01)	0,59
<b>Sexe</b>	Femelle	Référence	–	–
	Mâle	0,71	(0,14–3,52)	0,68
<b>Population</b>	Arbi	Référence	–	–
	Chaambi	3,48	(0,36–33,56)	0,28
	Mheri	2,09	(0,17–24,99)	0,56
	Sahraoui	0,31	(0,03–3,24)	0,33
	Tergui	0,30	(0,03–3,15)	0,32
<b>Localisation</b>	Poumon	Référence	–	–
	Foie	0,55	(0,08–3,67)	0,53
	Ganglion	40,33	(1,43–1139)	0,03*
<b>Bacilloscopie</b>	Négative	Référence	–	–
	Positive	114,60	(12,27–1070)	< 0,001*

\* : statistiquement significatif

IC : intervalle de confiance

OR : rapport des cotes (*odds ratio*)

**Tableau IV****Analyse multivariée des variables exploratoires des lésions tuberculeuses chez le dromadaire en Algérie**

Variable	Modalité	OR	(IC à 95 %)	Valeur de p
<b>Abattoir</b>	Ain Salah	Référence	–	–
	El-Oued	10,99	(0,06–2187)	0,89
	Ghardaïa	6,47	(0,07–619)	0,80
<b>Localisation</b>	Poumon	Référence	–	–
	Foie	0,39	(0,02–9,17)	0,56
	Ganglion	0,41	(0,005–35,76)	0,69
<b>Bacilloscopie</b>	Négative	Référence	–	–
	Positive	184,19	(3,37–10078)	0,01*

\* : statistiquement significatif

IC : intervalle de confiance

OR : rapport des cotes (*odds ratio*)**Analyse par restriction enzymatique**

Les résultats de la PCR basé sur *IS6110* montrent que sur un ensemble de six souches isolées, cinq isolats présentent des signaux positifs qui correspondent au complexe *Mycobacterium tuberculosis*. Le sixième isolat ne présente pas de signal ce qui indique que son ADN n'appartient pas à ce complexe. Il s'agit d'une mycobactérie non tuberculeuse (MNT).

L'examen par PCR des souches isolées à partir des cultures positives a permis de confirmer la présence des mycobactéries. Une restriction enzymatique appliquée sur les mêmes extraits d'ADN a permis de mettre en évidence la présence de bandes variant entre 200 paires de bases (pb) et 250 pb, entre 50 pb et 100 pb et entre 12 pb et 17 pb. Ces résultats sont compatibles avec la ligne 152/127/69/42/22/17/12 de l'algorithme repris dans la Table de référence (20), c'est-à-dire compatibles avec *M. bovis* (U 17925) et *M. tuberculosis* (U 17957), ce qui indique la présence de l'une et/ou l'autre de ces deux espèces.

## Identification par méthode moléculaire d'un isolat mycobactérien

Les résultats des séquences d'un isolat mycobactérien obtenues par deux techniques différentes de séquençage et comparées à la base de données NCBI de collecte de nucléotides ont mis en évidence une souche de *M. virginiense* DSM100883<sup>T</sup> (99,82 % de similitude avec *M. virginiense*) par la méthode du gène ARNr16S et 99,5 % de similitude avec *M. virginiense* AY550212 pour le gène *hsp65*. À la suite de ces deux observations, la souche de mycobactérie atypique mise en évidence dans cette étude a été identifiée comme étant *Mycobacterium virginiense* MO-233. C'est la première fois que cette souche a été isolée en Algérie chez une chamelle âgée de plus de 10 ans.

## Spoligotypage

La technique de spoligotypage a été réalisée au laboratoire de l'Institut de médecine expérimentale de l'Université d'Istanbul sur les extraits d'ADN obtenus au départ des six isolats bactériens identifiés dans des lésions suspectes de tuberculose chez le dromadaire. Quatre souches de *M. bovis* possédant le même spoligotype SB0941 et une souche phylogénétiquement proche des souches précédentes mais portant le spoligotype SB2562 ont été identifiées (Tableau V). Le premier spoligotype a déjà été décrit chez le bovin dans une étude menée en Algérie par Sahraoui et coll. (14), tandis que le deuxième est décrit ici pour la première fois.

### Tableau V

#### Spoligotypes identifiés chez les dromadaires en Algérie

Spoligotype	Code BIN	Code OCT	Code HEX
SB0941	110111110111111011110001111111111111100000	676773617777600	6F-5F-5E-1F-FF-60
SB2562	100111110111100011110001111111111111100000	476743617777600	4F-5E-1E-1F-FF-60

BIN : binaire

HEX : hexadécimal. Le système hexadécimal est un système de numération positionnel en base 16. Dans ce système, 16 symboles sont utilisés, en général des chiffres arabes pour les dix premiers chiffres et les lettres A à F pour les six suivants.

OCT : octal. Le système de numération octal est un système de numération de base 8 qui utilise les chiffres de 0 à 7.

## Discussion

Historiquement, plusieurs dromadaires apparemment en bonne santé, abattus dans des abattoirs en Algérie, présentaient des lésions pulmonaires à l'examen *post-mortem* (1). Selon Kane et coll. dans une étude menée en Mauritanie, les genres bactériens associés aux lésions pulmonaires majeures chez le dromadaire étaient des streptocoques, des staphylocoques, des klebsielles et des corynébactéries (25).

La présente étude a révélé une prévalence de lésions suspectes de tuberculose de 3,05 % (102/3 342 carcasses) chez le dromadaire à la suite d'une inspection visuelle *post-mortem* réalisée dans trois abattoirs en Algérie. Ces résultats sont proches de ceux de Kasaye et coll. (26) qui ont rapporté une prévalence de 4,52 % à l'abattoir d'Akaki en Éthiopie. Ils sont toutefois supérieurs à ceux signalés par Zubair et coll. (27) qui ont rapporté une proportion de nodules tuberculeux de 2 % dans deux abattoirs de Lahore et Faisalabad au Pakistan, et inférieurs à ceux rapportés par Beyi et coll. (28) qui ont mentionné une prévalence des lésions tuberculeuses égale à 8,3 % (33/398) à l'abattoir municipal de Dire Dawa en Éthiopie. La présence des lésions tuberculeuses chez le dromadaire dans les trois abattoirs investigués dans notre étude est peut-être favorisée par la tendance à la sédentarité de certains élevages camelins algériens. En effet, ce type d'élevage induit une plus grande cohabitation avec d'autres ruminants, en particulier les bovins, qui sont plus souvent atteints de tuberculose à *M. bovis*. Ce même constat a été signalé par Mamo et coll. qui indiquaient que la tuberculose se produisait plus fréquemment chez les dromadaires qui sont gardés en contact avec des bovins et des petits ruminants (29). Cette cohabitation explique également le fait de retrouver le même spoligotype de souches de *M. bovis* dans les deux espèces (les dromadaires et les bovins). En effet, les travaux de Sahraoui et coll. ont mis en évidence le même spoligotype (SB0941) chez l'espèce bovine dans une étude menée dans deux abattoirs de la région Nord en Algérie (14). Depuis lors, un dépistage des bovins provenant de la région du Nord de l'Algérie a été rendu obligatoire avant le déplacement de ceux-ci vers le Sud de l'Algérie.

La proportion de dromadaires femelles présentant des lésions suspectes de tuberculose (9,37 %) était supérieure à celle des mâles (1,61 %). Ceci peut être expliqué par la plus longue vie reproductrice des femelles dromadaires qui ont une plus grande chance de rencontrer un animal infecté de tuberculose à *M. bovis* durant leur cycle de vie (30). Nos résultats sont comparables à ceux rapportés à l'abattoir d'Akaki en Éthiopie par Kasaye et coll. (26) qui ont signalé une prédominance des lésions tuberculeuses chez les femelles (5,91 %) par rapport aux mâles (2,41 %). En revanche, dans une étude menée au Nigeria Ahmed et coll. ont indiqué que les mâles sont les plus concernés par les lésions tuberculeuses (35,4 %) (27). Toutefois, dans cette étude, un nombre important d'échantillons provenaient de dromadaires mâles abattus (31). De plus, la tuberculose étant une maladie d'évolution chronique (32), la maladie se manifeste fréquemment chez les animaux âgés (5,63 %). Le même constat a été fait par Beyi et coll. (28). En effet, ceux-ci ont estimé ce pourcentage à 11,7 % (22/180) dans une étude menée à l'abattoir de Dire Dawa en Éthiopie. D'autres travaux ont confirmé que la prévalence des lésions tuberculeuses était plus élevée dans les carcasses de dromadaires âgés (31). Les lésions évocatrices de la tuberculose cameline sont plus fréquentes dans les poumons (64/102) et le foie (37/102) et un faible pourcentage a été constaté dans les ganglions bronchiques (1/102). Ces résultats sont comparables avec ceux de Mamo et coll. (29) obtenus dans l'abattoir de Dire Dawa en Éthiopie avec un taux élevé de lésions pulmonaires (54,2 %). Le même constat a été observé par Zubair et coll. (27) indiquant une proportion de 48,90 % de lésions pulmonaires dans une étude menée dans les abattoirs de Lahore et Faisalabad au Pakistan. La prédominance des lésions respiratoires est explicable par le mode de transmission préférentielle de la tuberculose à *M. bovis* par cette voie (33).

Seuls 4,90 % des examens par bacilloscopie étaient positifs. Nos résultats ne sont pas étonnants car la bacilloscopie n'est pas très sensible et elle n'est positive que si le prélèvement contient plus de 10 000 bacilles / ml (32). Le même constat a été signalé par Mamo et coll. (29) dans une étude réalisée à l'abattoir de Dire Dawa en Éthiopie. Cette faible positivité pourrait être due à l'absence (34) ou au faible nombre (35) de mycobactéries viables dans les lésions tuberculeuses calcifiées.

La bacilloscopie constitue toutefois une étape du diagnostic de la tuberculose adoptée par les programmes nationaux de lutte contre la tuberculose dans les pays à ressources limitées (36, 37). Selon Wernery et coll., les résultats de la coloration de Ziehl-Neelsen chez le dromadaire sont variables (12). Cela peut être dû à un phénomène particulier chez les camélidés par rapport aux autres espèces. Chez les bovins, Sahraoui et coll. ont calculé un taux de positivité à la bacilloscopie de 28,80 % (38).

Le taux de positivité à la culture bactérienne, sur milieux solides Löwenstein-Jensen était légèrement supérieur (5,88 %) à celui obtenu par la bacilloscopie. Ce taux est supérieur à celui obtenu (1,4 %) par Mamo et coll. (28). La culture bactérienne reste un test de référence pour un meilleur contrôle de la tuberculose (39).

Dans la présente étude, la concordance entre la bacilloscopie et la culture bactérienne s'est révélée être bonne (coefficient kappa de 0,71). Il s'agit d'un résultat supérieur à ceux rapportés auparavant par Beyi et coll. (28) et par Mamo et coll. (29), qui ont signalé respectivement une concordance faible (coefficient kappa de 0,37) à moyenne (coefficient kappa de 0,51) entre ces deux tests.

Selon les auteurs, il s'agit de la première étude portant à la fois sur le diagnostic bactériologique et moléculaire de la tuberculose chez le dromadaire en Algérie. Cette étude a pu confirmer la présence de *M. bovis* avec deux spoligotypes différents (SB094 et SB2562) dans les lésions tuberculeuses chez le dromadaire en Algérie. Dans la présente étude, le spoligotype isolé (SB0941) de quatre souches bactériennes est semblable à celui isolé chez un bovin dans deux abattoirs algériens lors d'une étude antérieure (14, 35). Ce constat suggère le passage possible de ce spoligotype au sein des deux espèces par cohabitation. En revanche, le spoligotype SB2562 isolé d'une autre souche est nouveau. Il n'a jamais été isolé auparavant en Algérie chez le dromadaire ou toute autre espèce d'animal de rente. Ce nouveau motif de spoligotype a été soumis dans la base de données des spoligotypes de *M. bovis* sous le numéro de code OCT476743617777600 ([www.Mbovis.org](http://www.Mbovis.org)) (40).

De plus, une souche de mycobactérie non tuberculeuse a été isolée et identifiée par la technique de séquençage de la région 16s DNA. Elle a été identifiée comme *M. virginiense* MO-233. Ce type de mycobactérie a été isolé chez une chamelle âgée de plus de 10 ans pour la première fois en Algérie. Cette souche atypique est une espèce appartenant au complexe *Mycobacterium terrae* (41). Un même constat a été signalé par Johnson et coll. (42), qui ont également isolé des mycobactéries atypiques telles que *M. kansasii* chez les camelins.

## Conclusion

Cette étude a permis de mettre en évidence la présence de lésions compatibles avec la tuberculose chez 3,05 % de dromadaires abattus en Algérie. Cinq souches de *M. bovis* ont été isolées, correspondant, pour quatre d'entre elles à un spoligotype déjà connu auparavant chez le bovin en Algérie (SB0941) et pour la cinquième souche à un spoligotype (SB2562) inconnu à ce jour chez le dromadaire ou toute autre espèce animale.

De plus, une souche non-tuberculeuse supplémentaire a été identifiée. Il s'agit de *M. virginiense* MO-233. Compte tenu du caractère zoonotique de *M. bovis*, il est nécessaire de mettre en œuvre des mesures visant à contrôler la tuberculose à *M. bovis* dans le cheptel des dromadaires algériens en vue de réduire la transmission entre l'animal et l'homme. Enfin, des études complémentaires restent nécessaires pour mieux comprendre la situation épidémiologique du cheptel camelin en Algérie.

## Remerciements

Les auteurs remercient l'ensemble du personnel des directions des Services vétérinaires algériens ainsi que les inspecteurs des abattoirs des wilayas d'El-Oued, Ain Salah et Ghardaïa.

## Bibliographie

1. Jenberie S., Awol N., Ayelet G., Gelaye E., Negussie H. & Abie G. (2012). – Gross and histopathological studies on pulmonary lesions of camel (*Camelus dromedarius*) slaughtered at Addis Ababa abattoir, Ethiopia. *Trop. Anim. Hlth Prod.*, **44** (4), 849–854. <https://doi.org/10.1007/s11250-011-9977-z>.
2. Senoussi A., Brahimi Z. & Beziou S. (2017). – Portée de l'élevage camelin en Algérie et perspectives de développement. *Rev. BioRessour.*, **7** (1), 29–38. <https://doi.org/10.12816/0045881>.
3. Sadoud M., Nefnouf F. & Zohra Hafaoui F. (2019). – La viande cameline dans deux régions du Sud Algérien. *Viandes Prod. Carnés*, **35** (3), VPC-2019-35-3-2. Disponible en ligne : [www.viandesetproduitscarnes.fr/phocadownload/vpc\\_vol\\_35/Vol\\_3532\\_Viande-cameline.pdf](http://www.viandesetproduitscarnes.fr/phocadownload/vpc_vol_35/Vol_3532_Viande-cameline.pdf) (consulté le 4 février 2021).
4. Abaab A., Bedrani S., Bourbouze A. & Chiche J. (1995). – Les politiques agricoles et la dynamique des systèmes agropastoraux au Maghreb. *In Les agricultures maghrébines à l'aube de l'an 2000* (M. Allaya, édit.). Centre international de hautes études agronomiques méditerranéennes (CIHEAM), Montpellier, France, 139–165. Disponible en ligne : <https://om.ciheam.org/om/pdf/b14/CI960048.pdf> (consulté le 4 février 2021).
5. Bourbouze A. (2006). – Systèmes d'élevage et production animale dans les steppes du nord de l'Afrique : une relecture de la société pastorale du Maghreb. *Sécheresse*, **17** (1), 31–39. Disponible en ligne : [www.jle.com/fr/revues/sec/e-docs/systemes\\_delevage\\_et\\_production\\_animale\\_dans\\_les\\_steppes\\_du\\_nord\\_de\\_lafrique\\_une\\_relecture\\_de\\_la\\_societe\\_pastorale\\_du\\_maghr\\_270084/article.phtml?tab=citer](http://www.jle.com/fr/revues/sec/e-docs/systemes_delevage_et_production_animale_dans_les_steppes_du_nord_de_lafrique_une_relecture_de_la_societe_pastorale_du_maghr_270084/article.phtml?tab=citer) (consulté le 4 février 2021).

6. Ben Aissa R. (1989). – Le dromadaire en Algérie. *In* Séminaire sur la digestion, la nutrition et l'alimentation du dromadaire (J.-L. Tisserand, édit.). Centre international de hautes études agronomiques méditerranéennes (CIHEAM), Saragosse, Espagne, 19–28. Disponible en ligne : <https://om.ciheam.org/om/pdf/a02/CI000422.pdf> (consulté le 4 février 2021).

7. Isaza R. (2003). – Tuberculosis in all taxa. *In* Zoo and wild animal medicine (M.E. Fowler & R.E. Miller, édit.), 5<sup>e</sup> éd. W.B. Saunders Co., Philadelphie, Pennsylvanie, États-Unis d'Amérique, 689–699.

8. Alvarez J., Bezos J., de Juan L., Vordermeier M., Rodriguez S., Fernandez-de-Mera I.G., Mateos A. & Domínguez L. (2012). – Diagnosis of tuberculosis in camelids: old problems, current solutions and future challenges. *Transbound. Emerg. Dis.*, **59** (1), 1–10. <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2011.01233.x>.

9. Thoen C.O., Kaplan B., Thoen T.C., Gilsdorf M.J. & Shere J.A. (2016). – Zoonotic tuberculosis. A comprehensive One Health approach. *Medicina (B. Aires)*, **76** (3), 159–165. Disponible en ligne : [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27295705](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27295705) (consulté le 5 février 2021).

10. Mamo G., Bayleyegn G., Sisay Tessema T., Legesse M., Medhin G., Bjune G., Abebe F. & Ameni G. (2011). – Pathology of camel tuberculosis and molecular characterization of its causative agents in pastoral regions of Ethiopia. *PLoS ONE*, **6** (1), e15862. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015862>.

11. Boukary A.R., Thys E., Rigouts L., Matthys F., Berkvens D., Mahamadou I., Yenikoye A. & Saegerman C. (2012). – Risk factors associated with bovine tuberculosis and molecular characterization of *Mycobacterium bovis* strains in urban settings in Niger. *Transbound. Emerg. Dis.*, **59** (6), 490–502. <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2011.01302.x>.

12. Wernery U. & Kinne J. (2012). – Tuberculosis in camelids: a review. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **31** (3), 899–906. <https://doi.org/10.20506/rst.31.3.2161>.

13. Sahraoui N., Hasniou A., Chettab H., Ben Khada G., Tazerart F., Chadi H., Zinsstag J. & Guetarni D. (2012). – Diagnostic de la tuberculose ovine par examen anatomo-pathologique en Algérie. *J. Rech. Sci. Univ. Lomé (Togo)*, **14** (2), 143–147. Disponible en ligne : [www.ajol.info/index.php/jrsul/article/view/138847](http://www.ajol.info/index.php/jrsul/article/view/138847) (consulté le 6 février 2020).

14. Sahraoui N., Müller B., Guetarni D., Boulahbal F., Yala D., Ouzrout R., Berg S., Smith N.H. & Zinsstag J. (2009). – Molecular characterization of *Mycobacterium bovis* strains isolated from cattle slaughtered at two abattoirs in Algeria. *BMC Vet. Res.*, **5**, 4. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-5-4>.

15. Commission européenne (CE) (2004). – Rectificatif au règlement (CE) n° 854/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 fixant les règles spécifiques d'organisation des contrôles officiels concernant les produits d'origine animale destinés à la consommation humaine. *J. Off. Union Eur.*, **L 226**, 83–127. Disponible en ligne : <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2004:226:0083:0127:FR:PDF> (consulté le 5 février 2021).

16. Sieng M. (2011). – La détection de la tuberculose bovine dans les abattoirs du sud-ouest de 2001 à 2010 : analyse des données d'inspection et des résultats histologiques et bactériologiques. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, École nationale vétérinaire, Toulouse, France, 64 pp. Disponible en ligne : <https://oatao.univ-toulouse.fr/5101/> (consulté le 5 février 2021).

17. Freney J., Renaud F., Leclercq R. & Riegel P. (2007). – Précis de bactériologie clinique, 2<sup>e</sup> éd. Editions Eska, Paris, France, 1764 pp.

18. Petroff S.A. (1915). – A new and rapid method for the isolation and cultivation of tubercle bacilli directly from the sputum and feces. *J. Experim. Med.*, **21** (1), 38–42. <https://doi.org/10.1084/jem.21.1.38>.

19. Tanoue S., Mitarai S. & Shishido H. (2002). – Comparative study on the use of solid media: Löwenstein-Jensen and Ogawa in the determination of anti-tuberculosis drug susceptibility. *Tuberculosis (Edinb.)*, **82** (2–3), 63–67. <https://doi.org/10.1054/tube.2002.0323>.

20. Telenti A., Marchesi F., Balz M., Bally F., Böttger E.C. & Bodmer T. (1993). – Rapid identification of mycobacteria to the species level by polymerase chain reaction and restriction enzyme analysis. *J. Clin. Microbiol.*, **31** (2), 175–178. <https://doi.org/10.1128/JCM.31.2.175-178.1993>.

21. Van Embden J.D.A., Cave M.D., Crawford J.T., Dale J.W., Eisenach K.D., Gicquel B., Hermans P., Martin C., McAdam R., Shinnick T.M. & Small P.M. (1993). – Strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology. *J. Clin. Microbiol.*, **31** (2), 406–409. <https://doi.org/10.1128/JCM.31.2.406-409.1993>.

22. Zhang J., Abadia E., Refregier G., Tafaj S., Boschioli M.L., Guillard B., Andremont A., Ruimy R. & Sola C. (2010). – *Mycobacterium tuberculosis* complex CRISPR genotyping: improving efficiency, throughput and discriminative power of ‘spoligotyping’ with new spacers and a microbead-based hybridization assay. *J. Med. Microbiol.*, **59** (3), 285–294. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.016949-0>.

23. Kirschner P. & Bottger E.C. (1998). – Species identification of mycobacteria using rDNA sequencing. *In* Mycobacteria protocols (T. Parish & N.G. Stoker, édits). Methods in molecular biology book series, **101**, Humana Press, Totowa, New Jersey, États-Unis d’Amérique, 349–361. <https://doi.org/10.1385/0-89603-471-2:349>.

24. Thrusfield M. (2007). – Veterinary epidemiology, 3<sup>e</sup> éd. Wiley-Blackwell, Oxford, Royaume-Uni, 624 pp. Disponible en ligne :

[http://dvmbooks.weebly.com/uploads/2/2/3/6/22365786/1.\\_veterinary\\_epidemiology\\_thrush\\_filled.pdf](http://dvmbooks.weebly.com/uploads/2/2/3/6/22365786/1._veterinary_epidemiology_thrush_filled.pdf) (consulté le 6 février 2020).

25. Kane Y., Kadja M.C., Bada-Alambedji R., Bezeid O.E.M., Akakpo J.A. & Kaboret Y. (2005). – Lésions et bactéries des poumons du dromadaire (*Camelus dromedarius*) à l'abattoir de Nouakchott en Mauritanie. *Rev. Élev. Méd. Vét. Pays Trop.*, **58** (3), 145–150. <https://doi.org/10.19182/remvt.9926>.

26. Kasaye S., Molla W. & Amini G. (2013). – Prevalence of camel tuberculosis at Akaki abattoir in Addis Ababa, Ethiopia. *Afr. J. Microbiol. Res.*, **7** (20), 2184–2189. <https://doi.org/10.5897/AJMR2012.2339>.

27. Zubair R., Khan A.M.Z. & Sabri M.A. (2004). – Pathology in camel lungs. *J. Camel Sci.*, **1** (1), 103–106. Disponible en ligne : <https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.137.2350&rep=rep1&type=pdf#page=110> (consulté le 5 février 2021).

28. Beyi A.F., Gezahegne K.Z., Mussa A., Ameni G. & Ali M.S. (2014). – Prevalence of bovine tuberculosis in dromedary camels and awareness of pastoralists about its zoonotic importance in Eastern Ethiopia. *J. Vet. Med. Anim. Hlth*, **6** (4), 109–115. <https://doi.org/10.5897/JVMAH2014.0284>.

29. Mamo G., Kassaye A., Sanni M. & Ameni G. (2009). – A cross sectional study of camel tuberculosis in Ethiopia. *Bull. Anim. Hlth Prod. Afr.*, **57** (1), 13–20. <https://doi.org/10.4314/bahpa.v57i1.44047>.

30. Teklu A., Asseged B., Yimer E., Gebeyehu M. & Woldesenbet Z. (2004). – Tuberculous lesions not detected by routine abattoir inspection: the experience of the Hossana municipal abattoir, southern Ethiopia. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **23** (3), 957–964. <https://doi.org/10.20506/rst.23.3.1534>.

31. Ahmad I., Kudi C.A., Babashani M., Chafe U.M., Yakubu Y. & Shittu A. (2019). – Tuberculosis in dromedary camels slaughtered in Nigeria: a documentation of lesions at *postmortem*. *Trop. Anim. Hlth Prod.*, **51** (1), 73–78. <https://doi.org/10.1007/s11250-018-1661-0>.

32. Carbonnelle B., Dailloux M., Lebrun L., Maugein J. & Pernot C. (2003). – Mycobactéries et mycobactérioses. *Cahier de formation biologie médicale*, **29**, 157 pp. Disponible en ligne : <https://sjbm.fr/images/cahiers/2003-Bioforma-29-Mycobact%C3%A9ries%20Mycobact%C3%A9rioses.pdf> (consulté le 8 février 2021).

33. O'Reilly L.M. & Daborn C.J. (1995). – The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man: a review. *Tubercle Lung Dis.*, **76** (Suppl. 1), 1–46. [https://doi.org/10.1016/0962-8479\(95\)90591-X](https://doi.org/10.1016/0962-8479(95)90591-X).

34. Quinn P.J., Carter M.E., Markey B.K. & Carter G.R. (1994). – *Mycobacterium* species. In *Clinical veterinary microbiology*. Wolfe, Londres, Édimbourg, Royaume-Uni, 156–169.

35. García-Bocanegra I., Barranco I., Rodríguez-Gómez I.M., Pérez B., Gómez-Laguna J., Rodríguez S., Ruiz-Villamayor E. & Perea A. (2010). – Tuberculosis in alpacas (*Lama pacos*) caused by *Mycobacterium bovis*. *J. Clin. Microbiol.*, **48** (5), 1960–1964. <https://doi.org/10.1128/JCM.02518-09>.

36. Union internationale contre la tuberculose et les maladies respiratoires (UICMR) (2000). – Guide technique : diagnostic de la tuberculose par examen microscopique direct des expectorations dans les pays à faibles revenus, 5<sup>e</sup> éd. UICMR, Paris, France, 60 pp. Disponible en ligne : [https://tbrieder.org/publications/books\\_french/microscopy\\_fr.pdf](https://tbrieder.org/publications/books_french/microscopy_fr.pdf) (consulté le 6 février 2020).

37. Ligue pulmonaire suisse (LPS) (2019). – Tuberculose en Suisse : guide à l’usage des professionnels de la santé, 4<sup>e</sup> éd. LPS, Berne, Suisse, 61 pp. Disponible en ligne : [www.infovac.ch/docs/public/mycobacterium/handbuch-tb-fr-29-03-19.pdf](http://www.infovac.ch/docs/public/mycobacterium/handbuch-tb-fr-29-03-19.pdf) (consulté le 8 février 2021).

38. Sahraoui N., Muller B., Yala D., Ouzrout R., Zinsstag J., Boulahbal F. & Guetarni D. (2008). – Investigation about the bovine tuberculosis in two Algerian slaughterhouses. *Afr. J. Agric. Res.*, **3** (11), 775–778. Disponible en ligne : [www.researchgate.net/publication/228744976\\_Investigation\\_about\\_the\\_bovine\\_tuberculosis\\_in\\_two\\_Algerian\\_slaughterhouses](http://www.researchgate.net/publication/228744976_Investigation_about_the_bovine_tuberculosis_in_two_Algerian_slaughterhouses) (consulté le 8 février 2021).

39. Annam V., Kulkarni M.H. & Puranik R.B. (2009). – Comparison of the modified fluorescent method and conventional Ziehl-Neelsen method in the detection of acid-fast bacilli in lymph node aspirates. *CytoJournal*, **6**, 13. <https://doi.org/10.4103/1742-6413.53887>.

40. Dale J.W., Brittain D. [...] & Vincent V. (2001). – Spacer oligonucleotide typing of bacteria of the *Mycobacterium tuberculosis* complex: recommendations for standardised nomenclature. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, **5** (3), 216–219. Disponible en ligne : [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11326819](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11326819) (consulté le 6 février 2020).

41. Vasireddy R., Vasireddy S., Brown-Elliott B.A., Wengenack N.L., Eke U.A., Benwill J.L., Turenne C. & Wallace Jr R.J. (2016). – *Mycobacterium arupense*, *Mycobacterium heraklionense*, and a newly proposed species, ‘*Mycobacterium virginense*’ sp. nov., but not *Mycobacterium nonchromogenicum*, as species of the *Mycobacterium terrae* complex causing tenosynovitis and osteomyelitis. *J. Clin. Microbiol.*, **54** (5), 1340–1351. <https://doi.org/10.1128/JCM.00198-16>.

42. Johnson C.T., Winkler C.E., Boughton E. & Penfold J.W. (1993). – *Mycobacterium kansasii* infection in a llama. *Vet. Rec.*, **133** (10), 243–244. <https://doi.org/10.1136/vr.133.10.243>.