

UNIVERSITE BLIDA 1

Institut des sciences vétérinaires

MEMOIRE DE MAGISTER

en sciences vétérinaires

Spécialité : Microbiologie médicale des maladies zoonotiques

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA TUBERCULOSE BOVINE DANS DEUX
ABATTOIRS DE LA REGION CENTRE-EST DE L'ALGERIE

Par

Hanane DAMENE

Devant le jury composé de :

A.BOUYOUCEF	Professeur, ISV de Blida-1	Président
A.BERBER	Professeur, ISV de Blida-1	Examineur
K.AIT OUDHIA	M.C.A, ENSV d'El-Harrach	Examinatrice
N.SAHRAOUI	M.C.A, ISV de Blida-1	Promotrice

Blida, novembre 2015

RESUME

La tuberculose bovine (TBB) est une maladie infectieuse, contagieuse d'évolution chronique. Elle est due à une infection par *M. bovis*, transmise à l'homme et à de nombreuses espèces animales. Elle représente un fléau majeur dans les élevages bovins des pays en voie de développement.

Cette étude consiste à réaliser une inspection *post-mortem* des carcasses bovines dans deux abattoirs de la région Centre-Est de l'Algérie durant une période de 5 mois (1^{er} octobre jusqu'à février 2015), dans le but de déterminer la proportion de lésions suspectes de la tuberculose bovine, ainsi que les facteurs influençant cette affection. Enfin, nous avons effectué un examen bactériologique des échantillons suspects, afin de mettre en évidence les agents responsables de la maladie.

Les résultats montrent que sur un ensemble de 610 carcasses inspectées, 40 présentaient des lésions suspectes, soit une proportion de 6,56%. Ces lésions ont été plus fréquentes chez les femelles, chez les animaux âgés de plus de 5 ans et chez les bovins de race croisée. Cependant, l'état d'embonpoint ne semble jouer aucun rôle dans l'infection.

L'examen microscopique a montré un taux de positivité de 37,5%, par ailleurs, l'isolement et l'identification des colonies ont permis de confirmer un taux de 77,5% de culture positive, parmi ces dernières 77,42% étaient *Mycobacterium bovis* et 22,58% des souches atypiques.

Cette étude a permis de confirmer l'existence de la tuberculose bovine dans la région Centre-Est de l'Algérie, et que les bovins de cette région sont plutôt affectés par la tuberculose à *Mycobacterium bovis*.

Mots clés: Tuberculose bovine, Centre-Est, abattoir, proportion, microscopie, culture.

ملخص

السل البقري هو مرض معدي و مزمن، وهو ناتج عن الإصابة بميكوبكتيريوم بفيس، ينتقل إلى الإنسان وإلى أنواع كثيرة من الحيوانات وهو يتسبب في خسائر كبيرة تمس الأبقار في الدول النامية، تتضمن هذه الدراسة الكشف عن الأبقار المصابة بهذا المرض، والمذبوحة في مذبحين من المنطقة شرق وسط الجزائر لمدة خمسة أشهر (من أول أكتوبر إلى غاية فيفري 2015)، من أجل تعيين نسبة التفرحات المشبوهة بالسل وكذلك العوامل المؤثرة لهذه الإصابة، وفي الأخير قمنا بدراسة بكتيريولوجية على العينات المشبوهة بالسل، لتحديد الميكروبات المتسببة في هذا المرض.

أظهرت الدراسة نتائج تبين أنه من بين (610) ذبيحة مكشوف عليها، (40) منها حاملة للتفرحات المشبوهة بالسل، وهو ما يعادل نسبة 6,56%، وهذه التفرحات هي أكثر انتشاراً عند الإناث وعند الأبقار التي يفوق عمرها 5 سنوات، وعند الأبقار ذات السلالة الهجينة بينما حالة السمنة ليس لها أي تأثير على الإصابة.

كما أظهر الفحص المجهرى نسبة 37,5% من الايجابية، من جهة أخرى عزل وتحديد الزراعات سمح بتأكيد 77,5% من الزراعات الموجبة، ومن بين هذه الأخيرة تحصلنا على 77,42% من الزراعات كانت لميكوبكتيريوم بفيس، وعلى 22,58% الأخرى للسلالات الشاذة.

وقد أكدت هذه الدراسة على وجود السل البقري في المنطقة شرق وسط للجزائر، و أن أبقار هذه المنطقة مصابة بنسبة كبيرة بميكوبكتيريوم بفيس .

الكلمات المفتاحية: السل البقري، شرق-وسط، مذبح، نسبة، الفحص المجهرى، الزراعة.

ABSTRACT

Bovine tuberculosis (BTB) is an infectious, contagious chronic disease. It is due to infection by *M.bovis*, transmitted to humans and many animal species. It represents a major threat to cattle in developing countries.

This study has reviewed a post mortem examination of bovine's carcasses in two slaughterhouses in middle -east region of Algeria, since 5 months (1 October-February 2015), in order to determine the proportion of suspicious lesions of bovine tuberculosis thus to identify operant factors the disease. Bacteriologic examination of the suspicious samples, in the order identifies to highlight disease agents.

These results showed that a total of 610 carcasses inspected, 40 had suspicious lesions of tuberculosis, a proportion of 6, 56%. These lesions were more frequent in females, and in animals older than 5 years, and in crossbred's cattle, However, Body Condition Score (BCS) appear to play no role in developing the infection.

Microscopic examination showed a positivity of 37, 5%, in addition, the isolation and identification of strains have confirmed a rate of 77, 5% of positive culture, of these, 77, 42% of the cultures was *Mycobacterium bovis* and 22,58% was atypical strains.

This study confirmed the existence of bovine tuberculosis in middle-east region of Algeria, and the cattle in this region are more affected by *Mycobacterium bovis*.

Key words: Bovine tuberculosis, center-eastern, Slaughterhouse, proportion, microscopy, culture.

REMERCIEMENTS

Au Dr. SAHRAOUI N.

Maître de conférences à l'institut des sciences vétérinaires de Blida, pour avoir accepté d'encadrer ce mémoire, pour sa disponibilité, pour ses conseils avisés ainsi que pour son encouragement,

Très sincères remerciements, en témoignage de notre reconnaissance.

Au Pr .BOUYOUCEF A.

Professeur à l'institut des sciences vétérinaires de Blida, qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury. Mes vifs remerciements.

Au Dr. AIT-LOUDIA K.

Maître de conférences à l'Ecole nationale supérieure des sciences vétérinaires d'Alger, pour avoir accepté d'examiner notre travail et de faire partie de notre jury de mémoire. Remerciements respectueux.

Au Pr. BERBER A.

Professeur à l'institut des sciences vétérinaires de Blida, pour avoir accepté d'examiner notre travail et de faire partie de notre jury de mémoire. Remerciements respectueux.

A Monsieur IDRIS A.

Inspecteur vétérinaire de la wilaya de Bejaia de m'avoir facilité l'accès pour la réalisation des prélèvements.

A Monsieur SAOUCHA.

Inspecteur vétérinaire de la wilaya de Sétif de m'avoir facilité l'accès pour la réalisation des prélèvements.

Je tiens aussi a remercier tous les vétérinaires de subdivision agricole de daïra de Kherrata qui ont contribué à la réalisation de ce travail, notamment Dr ZERIZER.Y

A Monsieur KHOULACENE.

Médecin dispensaire de SCTMR de la wilaya de Bejaia de m'avoir facilité l'accès au laboratoire pour la réalisation de l'examen bactériologique, pour son aide précieuse.

Je remercie également tous les gents qui travaillent au Service de Contrôle de la Tuberculose et les Maladies Respiratoires de la wilaya de Bejaia, pour leur aide, leur gentillesse et leur patience.

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail,

A celle qui m'a beaucoup soutenue dans les épreuves de ma vie, ma très chère mère, mon estime, ma source de force, ma gratitude.

A mes chères sœurs.

A mon frère et sa famille.

A toute ma grande famille.

J'adresse également mes vifs remerciements à mes collègues et mes ami(e)s, pour leur soutien moral.

A tous les enseignants de l'institut des sciences vétérinaires de Blida, notamment, Mr. TRIKI-YAMANI, R. et Mr. GHARBI, S.

A toutes les personnes que j'aime

MERCI A DIEU TOUT PUISSANT DE M'AVOIR PROTEGER ET GUIDER MES
PAS VERS LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

TABLES DES MATIERES

RESUME.....	1
REMERCIEMENTS	4
TABLES DES MATIERES	7
LISTES DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX.....	11
INTRODUCTION	14
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	15
Chapitre 01: Notions générales.....	16
1.1. Définition.....	16
1.2. Historique.....	16
1.3. Importance.....	17
1.4. Caractères bactériologiques	18
1.4.1. Taxonomie.....	18
1.4.2. Morphologie.....	20
1.4.3. Génome.....	21
1.4.4. Biologie.....	22
1. Caractères cultureux.....	22
2. Caractères biochimiques.....	22
3. Sensibilité et résistance aux agents physico-chimiques.....	23
4. Facteurs de virulence des mycobactéries	23
1.5. Conditions d'infection.....	23
1.5.1. Facteurs tenant aux bacilles tuberculeux.....	23
1.5.2. Facteurs tenant à l'hôte.....	24
1.6. Expression clinique et lésions observables.....	25
1.6.1. Physio- pathogénie.....	25
1.6.2. Mécanismes immunitaires mis en jeu.....	26
1.6.3. Symptômes.....	26
1.6.4. Lésions.....	26
1.7. La tuberculose zoonotique.....	28
1.7.1. Circonstance et la voie de l'infection des humains par <i>M.bovis</i>	28
1.7.2 .Particularité de l'infection humaine par <i>M.bovis</i>	29

1.7.3. localisation géographique.....	29
Chapitre 02: Etude épidémiologique.....	30
2.1 .Epidémiologie descriptive.....	30
2.1.1. Répartition géographique.....	30
2.2. Epidémiologie analytique.....	32
2.2.1. Source de contamination.....	32
1. Animaux infectés.....	32
2. Matières virulentes.....	33
2.2.2. Modes de transmission.....	34
1. Transmission horizontale.....	34
2. Transmission verticale.....	34
2.2.3. Voies de transmission.....	34
2.3. Epidémiologie synthétique.....	35
2.3.1. Origine de l'infection au sein de l'élevage.....	35
1. Introduction d'un animal infecté.....	36
2. Voisinage.....	36
3. Résurgence d'une ancienne souche.....	36
Chapitre 03: Méthodes de dépistage et diagnostic.....	37
3.1. Diagnostic clinique et nécropsique.....	37
3.1.1. Examen clinique.....	37
3.1.2. Examen nécropsique.....	37
3.2. Diagnostic expérimental.....	37
3.2.1. Examen histologique.....	37
3.2.2. Examen microscopique.....	38
3.2.3. Culture bactérienne.....	38
3.2.3.1. Milieux de cultures solides.....	39
3.2.3.2. Milieux de cultures liquides.....	40
3.2.4. Identification phénotypique des mycobactéries.....	41
3.2.5. Amplification génique	42

3.2.6. Typage génétique.....	42
1. RFLP IS6110.....	42
2. Spoligotypage.....	42
3. Technique VNTR.....	43
3.2.7. Mise en évidence de l'immunité à médiation cellulaire.....	44
3.2.7.1. Intradermo-tuberculation.....	44
3.2.7.2. Dosage de l'interféron gamma	46
3.2.8. Mise en évidence de l'immunité à médiation humorale.....	47
3.2.8.1. Tests sérologiques.....	47
Chapitre 04: Traitement et prophylaxie.....	48
4.1. Traitement.....	48
4.2. Prophylaxie.....	48
4.2.1. Prophylaxie médicale.....	48
4.2.2. Prophylaxie sanitaire.....	49
4.2.2.1. Mésures défensives.....	49
4.2.2.2. Mésures offensives.....	49
Chapitre 05: Partie expérimentale.....	52
5.1. Problématique.....	52
5.2. Objectifs.....	52
5.3. Cadre d'étude.....	52
5.4. Matériel et méthodes	53
5.4.1. Au niveau du l'abattoir	53
5.4.2. Au niveau de laboratoire	56
5.4.2.1. Examen direct	56
5.4.2.2. Culture bactérienne	61
5.5. Analyse statistique	67
5.6. Résultats	67
5.6.1. Etude des facteurs influençant la proportion de TBB	68
5.6.2. Répartition des lésions suspectes de la TBB en fonction de leur type.....	73

5.6.3. Formes de la tuberculose localisée	76
5.6.4. Fréquence d'atteinte tuberculeuse des NL respiratoires	76
5.6.5. Résultats d'examen bactériologique	80
1. Examen microscopique.....	80
2. culture bactérienne	81
3. Identification phénotypique	82
Discussion.....	84
CONCLUSION.....	91
RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES	92
APPENDICES	93
REFFERENCES	100

LISTES DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

A. LISTE DES FIGURES

Figure 1.1: Morphologie des mycobactéries.....	20
Figure 1.2 : altération de la plèvre.....	27
Figure 1.3 : Poumons et NL altérés.....	27
Figure 2.1 : Répartition géographique de la tuberculose bovine dans le monde de juillet à décembre 2012	31
Figure 2.2 : modèle explicatif de l'origine de la tuberculose dans un élevage bovin.....	35
Figure 3.1: Colonies positives de <i>M.bovis</i>	40
Figure 3.2: Colonies positives de <i>M.tuberculosis</i>	40
Figure 3.3 : Profils génomiques en spoligotyping de quelques membres du CMT.....	43
Figure 5.1: Répartition géographique de trois établissements.....	54
Figure 5.2: Dissection du prélèvement	58
Figure 5.3: Broyage de fragment tissulaire.....	58
Figure 5.4: Réalisation du frottis.....	59
Figure 5.5: Coloration par la fuchsine	59
Figure 5.6: Chauffage des lames.....	59
Figure 5.7: Rinçage des frottis à l'eau ordinaire.....	60
Figure 5.8: Décoloration par l'acide sulfurique	60
Figure 5.9: Décoloration par l'alcool.....	60
Figure 5.10: Recoloration par le bleu de méthylène.....	61
Figure 5.11: Observation microscopique des frottis.....	61
Figure 5.12: Aspect microscopique des BAAR avec la coloration de Ziehl Neelsen.....	62
Figure 5.13: Décontamination par la soude.....	63
Figure 5.14: Centrifugation.....	63
Figure 5.15: Tubes de culture contaminés.....	64
Figure 5.16: Culture positive de <i>M.bovis</i>	65

Figure 5.17: Culture positive des atypiques	65
Figure 5.18 : Tube LJ +tube PNB.....	66
Figure 5.19 : Tube LJ +tube TCH.....	66
Figure 5.20: Répartition des cas suspects de la TBB dans les deux abattoirs.....	68
Figure 5.21: Répartition des cas suspects de la TBB en fonction du sexe.....	69
Figure 5.22: Répartition des cas suspects de la TBB en fonction de l'âge.....	70
Figure 5.23: Répartition des cas suspects de la TBB selon la race.....	71
Figure 5.24: Répartition des cas suspects de la TBB en fonction de l'état d'embonpoint.....	72
Figure 5.25: Carcasse cachectique d'une vache atteinte de tuberculose miliaire.....	73
Figure 5.26: Répartition des lésions suspectes de la TBB en fonction de leur type.....	74
Figure 5.27: Tuberculose de type généralisé.....	75
Figure 5.28: Répartition de lésions suspectes de la TBB en fonction de leur localisation.....	77
Figure 5.29: Fréquence d'atteinte tuberculeuse des nœuds lymphatiques respiratoire.....	77
Figure 5.30: Altérations tuberculeuses granulomateuses au niveau NL trachéo- bronchique gauche.....	78
Figure 5.31: Lésion caséo-calcaire au niveau NL trachéo-bronchique gauche.....	78
Figure 5.32: Lésion caséreuse de NL et tissus hépatique.....	78
Figure 5.33: Atteinte caséreuse de NL médiastinal et de tissus pulmonaire.....	79
Figure 5.34: Lésion caséreuse au niveau de NL rétro-pharyngien.....	79
Figure 5.35 : Schéma récapitulatif des différentes étapes de la mise en évidence et l'identification des mycobactéries.....	83

B.LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2 .1 : Les principales voies de transmission de <i>M.bovis</i>	35
Tableau 3.1 : Identification d'espèces à partir des Caractéristiques phénotypiques.....	41
Tableau 3.2: Valeurs des épaissements du pli de peau prise en compte pour le résultat d'une IDS.....	45
Tableau 3.3: Valeurs des épaissements du pli de peau prise en compte pour le résultat d'une IDC.....	45
Tableau 5.1 : Proportion de lésions suspectes de tuberculose bovine dans les deux abattoirs.....	67
Tableau 5 .2: Proportion des cas suspects de tuberculose bovine en fonction du sexe.....	68
Tableau 5.3: Proportion des cas suspects de tuberculose bovine en fonction de l'âge.....	69
Tableau 5.4: Proportion des cas suspects de tuberculose bovine en fonction de la Race.....	70
Tableau 5.5: Proportion des cas suspects de tuberculose bovine en fonction de l'état d'embonpoint.....	72
Tableau 5.6: Proportion des lésions suspectes de tuberculose bovine en fonction de leur type.....	74
Tableau 5.7: Répartition des lésions suspectes de la tuberculose bovine en fonction de leur localisation	76
Tableau 5.8: Résultat de la bactérioscopie.....	80
Tableau 5.9: Taux de positivité de bactérioscopie par organe.....	80
Tableau 5.10: Résultat de la culture bactérienne.....	81
Tableau 5.11: Pourcentage d'isolement des mycobactéries par organe.....	81
Tableau 5.12 : Résultats de l'identification des souches isolées	82

INTRODUCTION

Dans les pays en voie de développement, l'élevage représente l'un des principaux piliers de l'économie nationale. Ce dernier est menacé par diverses pathologies, parmi lesquelles, figure la tuberculose bovine (TBB) [1], qui est une maladie infectieuse et contagieuse d'évolution chronique, transmise à l'homme et de nombreuses espèces animales [2].

La TBB représente un fléau majeur de l'élevage bovin [3], elle persiste et continue de causer des pertes importantes dans ce secteur, avec des graves conséquences sur la santé publique en particulier dans les pays où les programmes de surveillance et de contrôle sont faibles ou inexistant [4].

Dans les 55 pays africains, seuls sept (Afrique du Sud, Algérie, Burkina Faso, Cameroun, Maroc, Namibie, Zambie) utilisent les tests tuberculiques et l'inspection *post mortem* pour la surveillance de la maladie [5].

Malgré la mise en place de ces programmes d'éradication, la TBB persiste en Algérie [6], et les foyers sont repartis sur tout le territoire national [7].

La TBB a fait l'objet de quelques investigations (anatomopathologique, bactériologique et caractérisation moléculaire) menées par Sahraoui et ses collaborateurs [6] ; [8] et par Kardjadj [9], au niveau des abattoirs de la région Nord de l'Algérie. Ces travaux ont pu confirmer l'existence de la maladie mais aussi identifier les souches des mycobactéries responsables.

Dans ce cadre, nous nous sommes intéressés à effectuer une étude dans la région Centre-Est de l'Algérie, puisque à notre connaissance, très peu d'études ont été consacrées à la TBB dans cette région, dont les objectifs:

- Déterminer la proportion des lésions suspectes de la tuberculose bovine dans deux abattoirs de cette région.
- Isoler et identifier les agents responsables de la TBB.
- Déterminer les facteurs influençant la proportion de la maladie.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1

NOTIONS GENERALES

1.1. Définition

La tuberculose bovine est une maladie animale chronique, elle est caractérisée par le développement progressif de lésions granulomateuses préférentiellement dans le tissu pulmonaire [4]. L'infection est principalement provoquée par *Mycobacterium bovis*. Elle se transmet de l'animal à l'homme et vice-versa, il s'agit d'une zoonose [10]. C'est une maladie à déclaration obligatoire [11].

1.2. Historique

La tuberculose est une affection très ancienne [12]. Elle a été décrite par Hippocrate sous le nom «phtisis» et ses lésions ont été diagnostiquées sur des momies égyptiennes [13].

- En 1810, Laennec effectua une étude clinique et nécrotique complète de la maladie [14]. Dans la même période, Carmichael rapportait que la tuberculose bovine se transmettait à l'homme par la consommation de viande ou de lait infecté [15].
- En 1865, Jean-Antoine démontra expérimentalement le contagieux de la tuberculose [16].
- En 1882, Robert Koch, identifia et cultiva l'agent responsable de la tuberculose, ce bacille fût surnommée BK pour « bacille de Koch » [17].
- En 1890, Koch mit au point la tuberculine dans l'application au diagnostic allergique de la maladie, proposé par Guttman [18].

- En 1898, Theobald Smith fit la distinction entre *M.bovis* et *M.tuberculosis* sur la base de leurs caractéristiques culturelles in vitro et l'étude de leur virulence [19].

Avec la découverte de l'agent causal, la lutte contre la maladie pouvait réellement commencer.

- En 1908 à 1920, une souche de *M.bovis* fût repiquée sur une pomme de terre biliée par Calmette et Guérin et le BCG fût appliqué à l'homme pour la première fois en 1921[14].
- En 1944, plusieurs antibiotiques furent découverts, notamment les cinq antituberculeux de première ligne [20].
- Runyon, 1959 décrit un système de classification pour mycobactéries selon la vitesse de croissance (lente ou rapide).
- En 1985, la séquence d'insertion IS900 a été découverte. IS900 était la première séquence d'insertion d'ADN trouvée chez les mycobactéries [21].

1.3. Importance : La tuberculose a une triple importance

1.3.1. Economique

L'impact économique de la tuberculose bovine sur la production animale est extrêmement difficile à déterminer avec précision [4]. Néanmoins, la maladie entraîne des pertes en viande (saisies aux abattoirs) et en lait [22].

En Algérie, d'énormes pertes liées à la saisie des carcasses aux abattoirs ont été déclarées d'après la Direction des Services Vétérinaires. Ces saisies sont estimées à plus de 2 milliards de dinars durant la période qui s'étend de 2006 à 2010 et de près de 300 millions de dinars chaque année [7].

L'impact sur les échanges internationaux des animaux ainsi que les coûts de mise en œuvre des programmes de surveillance et de contrôle de la maladie [4], exemple : en France, la lutte contre la tuberculose en 2010 et 2011 représentait environ 20 millions d'euros, dont environ 75% en assainissement des foyers (indemnisation des animaux abattus) [22].

1.3.2. Médicale

Un animal tuberculeux le reste jusqu'à la fin de sa vie, car en médecine vétérinaire, on ne doit pas entreprendre le traitement. Cela peut aboutir à un risque permanent de contamination pour d'autres espèces animales et même pour l'homme [23].

1.3.3. Hygiénique

La tuberculose bovine est une zoonose qui peut avoir des conséquences graves pour la santé publique. L'incidence de la tuberculose humaine due à *M.bovis* varie considérablement d'un pays à l'autre, dans les pays développés *M.bovis* représente généralement une partie insignifiante de l'ensemble des cas de tuberculose chez l'homme [4]. Ex : en 2010, les cas humains de tuberculose à *M.bovis* ne représenteraient que 0,4% des cas de tuberculose humains déclarés en Europe [24].

Par ailleurs, dans les pays où la lutte contre la tuberculose bovine n'est pas organisée, la proportion des cas de tuberculose humaine d'origine bovine peut représenter jusqu'à 30% des cas de tuberculose humaine [22].

1.4. Caractères bactériologiques

1.4.1. Taxonomie

Les bacilles tuberculeux sont des bactéries classées dans :

- Ordre des *Actinomycetales*.
- Sous ordre des *Corynebacterineae*
- Famille des *Mycobacteriaceae*.
- Genre *Mycobacterium*, qui contient lui-même plus de 100 espèces différentes [25].

Plusieurs classifications des mycobactéries ont été faites. Parmi celles-ci, une classification basée sur le pouvoir pathogène est régulièrement utilisée [26]. Dans la famille des Mycobactéries, on distingue deux groupes :

1.4.1.1. Mycobactéries pathogènes

Elles sont dominées par deux groupes : le complexe *Mycobacterium tuberculosis* (CMT) et *Mycobacterium avium intracellulaire* (MAC) [14].

- Mycobactéries pathogènes appartenant au CMT

Toutes les mycobactéries capables de causer la tuberculose sont regroupées dans le complexe *Mycobacterium tuberculosis*, dont l'homologie entre leurs ADN est très élevée (> 99,9%) [27] ; [28].

Ce complexe inclut différentes espèces tuberculeuses comme : *M.tuberculosis*, *M.bovis*, *M.caprae*, *M.africanum*, *M.microti*, *M.canetti*, *M.pinnipedi* [26].

- Mycobactéries pathogènes n'appartenant pas au CMT

Ces mycobactéries sont responsables des maladies graves mais différentes de la tuberculose [25].

a) *Mycobacterium avium intracellulaire* (MAC), scindé en trois sous espèces :

- 1) *M. avium subsp avium*.
- 2) *M. avium subsp paratuberculosis*.
- 3) *M. avium subsp sylvaticum* [29].

b) *M. leprae* : aussi appelé bacille de Hansen, qui infecte l'homme [30] ; [31].

1.4.1 .2. Mycobactéries atypiques (non tuberculeuses)

Toutes ces mycobactéries sont susceptibles de se multiplier chez l'homme et de provoquer des maladies simulant à la tuberculose que l'on appelle mycobactériose [32]. Elles sont classées en deux catégories :

a) Mycobactéries opportunistes : qui provoquent des infections souvent bénignes, mais cliniquement identiques à la tuberculose [14], citons par exemple, *M. avium intracellulaire*, *M. kansasii*, *M.xenopi*, *M. ulcerans*, *M. gordonae*.

b) Mycobactéries saprophytes : sont très nombreuses dans la nature, *M.flavescens*, *M.phlei*, *M.smegmatis*, *M.vaccae* [14].

1.4. 2.Morphologie

Les mycobactéries sont définies comme des bacilles droits légèrement incurvés (Cf. Figure 1.1), mesurent entre 0,2 à 0,6µm de diamètre sur 1 à 10µm de longueur. Ces bacilles sont immobiles, non sporulés, ni capsulés parfois ramifiés [33].

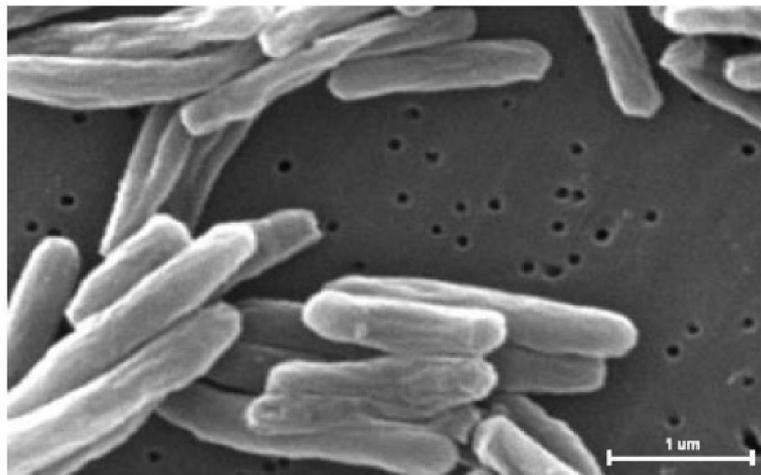


Figure 1.1: Morphologie des mycobactéries (microscopie électronique) [34]

Les mycobactéries sont liées phylogénétiquement aux bactéries à Gram positif, même si leur coloration de Gram est souvent faible ou variable [35].

Toutes les bactéries de l'ordre des *Actinomycetales* possèdent une propriété tinctoriale particulière : elles ne se décolorent pas sous l'action combinée d'un acide fort et de l'alcool et sont ainsi qualifiées d'Acido-alcool-résistantes (A.A.R). Cette propriété est liée à la structure de leur paroi cellulaire [25].

La paroi des mycobactéries est très riche en lipides (60% des constituants), ce sont la plupart des acides mycoliques, car ces derniers constituent une barrière hydrophobe empêche l'action décolorante des acides et des alcools [36]. Au microscope électronique, on distingue trois couches :

- couche basale : est composée des peptidoglycanes dans lesquels sont fixés des polymères d'arabinose et galactose « arabinogalactane ».
- couche intermédiaire : est composée d'acides mycoliques qui estérifient l'arabinogalactane en acide gras très longues chaîne forment alors les cires, la présence de ces cires dans la paroi est la cause de l'Acido-alcool-résistance [37].
- Couche externe : contient des sulfolipides, des phospholipides et lipo-arabino-manane. En fait la structure externe est variable selon les espèces, notamment seules les souches virulentes possèdent du mycolate de tréhalose appelé également « cord factor » [38].

1.4. 3.Génome

Le génome des mycobactéries est très riche en GC% ($\approx 65\%$) et étonnamment peu polymorphe par rapport à sa taille (4,4Mb). Les zones les plus polymorphes se localisent essentiellement dans deux types de structures génétiques :

- Des segments de gène codant pour les protéines dont la variabilité est susceptible d'apporter un avantage sélectif aux bactéries.
- Des séquences non codantes, comme des séquences d'insertion ou des séquences répétitives.

Ces structures polymorphes sont concernées par les techniques de typage moléculaire des mycobactéries.

a) Des séquences d'insertion, en particulier l'IS6110.

b) Des séquences répétitives, en particulier trois d'entre elles :

- la région DR « Direct Repeats » c'est-à-dire séquences répétées directes.
- Les PGRS, pour « Poly GC Rich Sequences » c'est-à-dire séquences riche en GC, ce taux étant d'environ 80%.
- VNTR, pour « Variable Number Tandem Repeats » c'est-à-dire séquences répétées en tandem en nombre variables [39].

1.4. 4. Biologie

1. Caractères cultureux

Les bacilles tuberculeux sont des bactéries aérobies ou micro aérophiles, dont la culture est lente de dix jours à deux mois selon le type de bacille [40]. Ils ne sont pas capables d'assurer leur croissance sur les milieux bactériologiques usuels et nécessitent l'emploi de milieux spéciaux [14].

2. Caractères biochimiques

Trois épreuves biochimiques simples permettent de faire la distinction entre les bacilles du complexe tuberculosis et mycobactéries non tuberculeuses.

- Recherche de catalase

Les mycobactéries synthétisent des catalases qui se caractérisent par leur thermo-sensibilité ou leur thermo-résistance à 68 C°. Ce test permet de différencier les espèces du groupe tuberculosis dont la catalase est thermolabile, des mycobactéries atypiques qui possèdent une catalase thermostable.

- Recherche de l'acide nicotinique (niacine)

La plupart des mycobactéries métabolisent la niacine. Ce test permet le diagnostic différentiel de *M.tuberculosis* au sein des mycobactéries de son groupe.

- Recherche de nitrate réductase

Parmi le groupe du *complexe tuberculosis*, seul *M.tuberculosis* réduit de façon constante les nitrates [41].

Les mycobactéries tuberculeuses sont sensibles à l'acide para-nitro-benzoïque (PNB) auquel les mycobactéries non tuberculeuses sont résistantes [42].

Toutes les espèces de mycobactéries sont résistantes au TCH (Hydrazide de l'acide thiophène-2-carboxylique) y compris *M.tuberculosis*, seuls *M.bovis* et le *M.bovis BCG* sont sensibles [43].

3. Sensibilité et résistance aux agents physico-chimiques

Les mycobactéries sont sensibles à la chaleur (détruites après une exposition de 20 minutes à 60 C°, 20 secondes à 75 C°) [44], aux rayons ultra-violet, à l'iode, à l'alcool, aux dérivés phénoliques, aux hypochlorites et au formol. Le bacille tuberculeux est néanmoins sensible à certains médicaments (traitement de la tuberculose humaine) [14].

En revanche, elles résistent bien au froid (+4 C°), à la dessiccation [43]. Les mycobactéries sont beaucoup plus résistantes que les bactéries usuelles aux antiseptiques et désinfectants chimiques, elles résistent aux acides et aux bases en solution, aux antibiotiques usuels (pénicilline, tétracycline, et chloramphénicol...) [14].

4. Facteurs de virulence

Le développement de la tuberculose dépend de la capacité des mycobactéries à survivre et se multiplier dans les macrophages de l'hôte. La virulence de ces bactéries est un phénomène multifactoriel, nécessitant la participation de plusieurs éléments. Les bacilles tuberculeux possèdent des constituants des membranes cellulaires : de peptidoglycane, arabinogalactane, acides mycoliques tel que Cord Factor ou autres glycolipides ont été impliqués dans la pathogénèse de la maladie. Les glycolipides et les sulfolipides semblent promouvoir la survie des bacilles tuberculeux dans les macrophages en inhibant la formation de phagolysosomes [45].

1.5. Conditions d'infection

Elles dépendent de pouvoir pathogène du bacille tuberculeux d'une part et de la réceptivité et sensibilité de l'hôte d'autre part.

1.5.1. Facteurs tenant aux bacilles tuberculeux

Quantité de l'inoculum : une dose minimale, variable selon l'espèce inoculée et de la voie de pénétration du bacille.

Voie d'inoculation : l'inoculation intra-nasale chez les veaux de 10^4 CFU entraîne le déclenchement de l'infection, et pour une contamination par ingestion, la dose infectante est beaucoup plus élevée, elle est de l'ordre de 10^7 bactéries [46].

Répétition des doses : l'inoculation d'une dose unique de bacilles tuberculeux peut n'entraîner que des lésions bénignes évoluant vers la stabilisation, des doses plus faibles mais répétées dans le temps, loin de susciter le développement d'une immunité, favorisant l'apparition d'une tuberculose évolutive.

Virulence de la bactérie : les bacilles peu pathogènes déterminent une tuberculose localisée limitée au complexe primaire, alors que les bacilles très virulents induisent des lésions exsudatives[14].

1.5.2. Facteurs tenant à l'hôte

La sensibilité des bovins est multifactorielle :

(1)Age :

De nombreuses études dans divers pays ont identifié l'âge comme un facteur de risque [47]. La tuberculose bovine étant une maladie à processus très lent, les animaux infectés jeunes développeront la maladie à un âge beaucoup plus avancé [3].

(2)Sexe :

Il semble que les facteurs de risque liés au sexe soient à relier aux habitudes zootechniques (prédominance de femelles dans l'élevage bovin, abattage des mâles et des femelles à des âges différents)

(3)Race :

La race a été identifiée comme un facteur de risque surtout dans les études africaines, où les races européennes importées peuvent être moins résistantes que les races croisées. La différence peut être expliquée par la direction différente [47], c'est l'utilisation d'une race dans un type de production précis qui est à prendre en compte, par conséquent la race n'est pas un facteur de risque à proprement parler [48].

(4) Etat général:

Les facteurs entraînant une diminution de l'état général comme les carences alimentaires ou le stress occasionné par des conditions d'élevages intensives augmentant la sensibilité au bacille tuberculeux [3].

(5) Facteurs tissulaires locaux :

La structure du tissu, la richesse de la vascularisation et du système macrophagique local, interviennent dans la morphologie des lésions (les lésions exsudatives sont plus fréquentes dans les tissus lâches et les cavités préformées) [14].

1.6. Expression clinique et lésions observables

1.6.1. Physio -pathogénie

Après pénétration dans l'organisme, *M.bovis* est à l'origine d'une infection qui se déroule généralement en deux étapes :

Première étape : primo-infection

Au cours de la première phase qui dure quelques semaines, le bacille est phagocyté par les macrophages dans lequel il est détruit ou résiste à lyse macrophagique par inhibition de la fusion phagosome-lysosome, puis se multiplie [49]. La multiplication locale conduit en 8 à 15 jours à la formation d'une lésion initiale « le chancre d'inoculation ». Cette lésion se double, à la faveur du drainage lymphatique des bacilles, d'une lésion tuberculeuse des nœuds lymphatiques locorégionaux.

L'association de chancre d'inoculation et l'adénopathie constitue le complexe primaire, dont la localisation révèle la porte d'entrée de l'agent infectieux (pulmonaire dans 95% des cas chez les bovins et les autres ruminants) [14].

Le complexe primaire peut évoluer selon trois modes différents : la stabilisation avec un réveil possible des bactéries après un délai plus ou moins

long, la guérison avec destruction des bacilles et cicatrisation des lésions, ou la généralisation précoce avec multiplication active des bactéries et embolisation. L'évolution dépend essentiellement de la quantité de bacilles inoculée, de l'état générale de l'animal et de son âge [40].

Deuxième étape : tuberculose secondaire

La réinfection se fait en réalité par la voie interne, elle résulte d'une prolifération de proche à proche, les lésions sont regroupées dans un seul organe : tuberculose chronique d'organe [14], si les défenses de l'organisme sont efficaces. Dans le cas d'un affaiblissement général, la surinfection se propage traduisant une tuberculose de généralisation tardive : tuberculose miliaire ou tuberculose causeuse de surinfection [40].

1.6.2. Mécanismes immunitaires mis en jeu

La réponse immunitaire mise en place par l'organisme infecté par *M.bovis* est exclusivement cellulaire dans la phase asymptomatique de la maladie [50]. Lors de la primo-infection et au début de l'infection, peu d'antigènes bactériens sont excrétés par les macrophages infectés dans le milieu extracellulaire. Ceci explique le faible niveau de la réponse humorale spécifique. Ce n'est qu'à la phase tardive (symptomatique) de l'infection que peuvent apparaître les anticorps [51].

1.6.3. Symptômes

La période d'incubation s'étale sur plusieurs mois ou plusieurs années. [4] ce n'est qu'à un stade tardif de la maladie que le bovin présentera des symptômes.

Parmi ces symptômes, on compte l'hypertrophie des ganglions lymphatiques, de la fièvre, la perte d'appétit, un état de faiblesse et amaigrissement. L'hypertrophie des ganglions lymphatiques et des nodules peut conduire à un rétrécissement du pharynx, des poumons ou de l'intestin et entraîner ainsi des difficultés respiratoires, une toux, en alternance diarrhée et constipation [10].

1.6.4. Lésions

Tous les tissus de l'organisme peuvent être touchés par la tuberculose. Mais les lésions tuberculeuses sont situés 60% des cas dans les poumons et les ganglions lymphatiques (plus souvent nœuds lymphatiques de la tête et de la cavité thoracique). D'autres organes peuvent être touchés, comme l'intestin, le foie, les reins, ou les nœuds lymphatiques sous cutanés surtout chez les veaux (faible part des animaux adultes <5%) [10].

a. Aspect macroscopique

Les lésions macroscopiques retrouvées chez les animaux atteints de tuberculose peuvent être de deux types :

(1) Localisées (tubercules) : au début les foyers de nodules se présentent sous forme des petits nodules blancs (miliaires) qui grossissent (figure 1.2), se caséifient et se calcifient (figure 1.3). La caséification entraîne une nécrose des tissus et une transformation en masse jaunâtre de consistance crémeuse, sèche et friable (aspect semblable à du fromage frais) ou d'aspect granuleux [10].



Figure 1.2 : altération de la plèvre (maladie perlière) [10]



Figure1.3 : Poumons et NL altérés (caséification et calcification) [10]

(2) Etendues et mal délimitées (les infiltrations et épanchements tuberculeux) :

- Les infiltrations : sont des lésions mal délimitées de nature exsudatives, étendues à tout un territoire ou un organe (surtout dans les poumons).
- Les épanchements : sont observés dans les cavités séreuses (pleurésie, péricardite, péritonite) parfois dans les articulations ou les méninges. Il s'agit d'un exsudat inflammatoire séro-fibrineux ou séro-hémorragique riche en cellules lymphocytaires [52].

b. Aspect microscopique

La lésion microscopique de base la plus représentative et considérée comme spécifique est le « follicule tuberculeux », celui-ci est formé par un centre nécrotique homogène (caséum) [52]. La zone à proximité de la zone nécrotique contient souvent des cellules épithélioïdes et des cellules géantes multinuclées qui contiennent plusieurs noyaux en fer à cheval ou en forme anneau [45]. D'une couronne plus en périphérie de lymphocytes et de neutrophiles [53]. L'évolution de cette lésion peut se réaliser dans le sens d'une calcification du caséum, avec fibrose périphérique [14].

1.7. Tuberculose zoonotique

1.7.1. Circonstance et la voie de l'infection des humains par *M. bovis*

La tuberculose se transmet habituellement des animaux aux humains par consommation de produits laitiers non pasteurisés provenant des vaches infectées [4]. En particulier dans les pays en développement [54]. La transmission de l'infection peut également se produire par voie aérienne, en particulier lorsque les humains travaillant dans le voisinage immédiat des animaux infectés, [4] ou par inoculation accidentelle à laquelle sont exposés ceux qui manipulent des lésions tuberculeuses (vétérinaires, ouvriers d'abattoir...) à la suite des blessures cutanées [29].

Dans les pays développés, l'infection peut être due à la consommation des abats ou de viandes infectés sans cuisson adéquate qui pose un risque modéré, car une dose orale élevée des mycobactéries est suffisante pour établir l'infection [54].

1.7.2. Particularité de l'infection humaine par *M.bovis*

Du point de vue des caractéristiques cliniques, radiologiques et pathologiques la tuberculose due à *M.bovis* ne peut être distinguée de celle due à *M.tuberculosis*. Cependant, *M.bovis* infecte les hommes par le lait contaminé et ne se caractérise pas par une infection pulmonaire mais par une lymphadénopathie cervicale suite à la colonisation et l'infection des bacilles du lait dans les amygdales ou le pharynx. La tuberculose pulmonaire due à *M.bovis* est assez rare et la plupart des cas rencontrés se limitent aux zones rurales et font probablement suite à une infection aéroportée par des bovins malades [55]. « Les formes extra-pulmonaires sont sept fois plus nombreuses que les formes pulmonaires » [29].

1.7.3. Localisation géographique

Dans les pays où la tuberculose bovine est endémique et en absence de programme de lutte, le risque des cas humains infectés par *M.bovis* est élevé (certains rapports ont spéculé que *M. bovis* représentait 10 à 15% des cas de tuberculose humaine dans les pays en développement). Au contraire dans les pays où le dispositif de lutte s'est avéré efficace, la prévalence de tuberculose bovine est faible et le risque de zoonose est alors rare (incidence <2% aux États-Unis d'Amérique) [4].

CHAPITRE 2

ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE

2.1 .Epidémiologie descriptive

2.1.1. Répartition géographique

❖ Dans le monde

La répartition géographique de la tuberculose bovine a radicalement changé ces dernières décennies. Avant l'introduction des mesures de contrôle dans les pays développés, la tuberculose était largement répartie à travers le monde. Les programmes d'éradication visant à débarrasser les troupeaux infectés ont pratiquement éliminé la tuberculose dans ces pays, aujourd'hui, de nombreux pays en Europe et en Amérique du nord ainsi que l'Australie sont indemnes de la maladie [4].

Dans les pays en développement, les données sur la prévalence de la tuberculose bovine sont infimes. Cependant, il existe suffisamment de preuves pour indiquer que la prévalence de la maladie est très élevée dans ces pays, en particulier l'Afrique, l'Asie et l'Amérique latine [4].

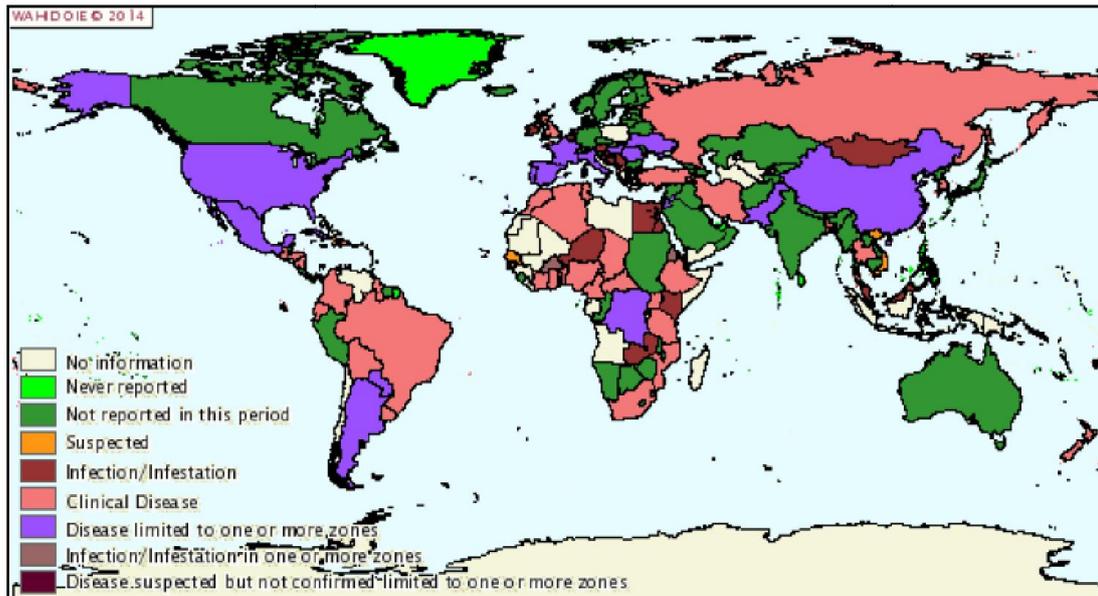


Figure 2.1 : Répartition géographique de la tuberculose bovine dans le monde de juillet à décembre 2012 [56]

❖ En Afrique

La tuberculose à *M.bovis* est largement distribuée dans les populations animales en Afrique. Mais avec un taux de prévalence individuelle très variable d'une zone géographique à une autre [3], jusqu'à 10,8% au moyenne (Afrique de l'Est) [56]. Les indications sur la prévalence de la tuberculose bovine sont très rares [57], et l'information disponible ne représente pas forcément la situation épidémiologique réelle de la maladie [4]. La difficulté à déterminer le taux de prévalence réelle de la tuberculose bovine en Afrique est imputable à l'insuffisance des moyens matériels et humains fournis par les états [3]. (90% de la population bovine africaine n'est soumise à aucun test de control du *M.bovis*)[58].

La tuberculose occupe une place plus ou moins importante dans les pays Africains, elle fait partie des six maladies considérées comme majeures et prioritaires [59].

❖ En Algérie

L'Algérie est un pays reconnu infecter de la tuberculose bovine. Malgré la mise en place des programmes d'éradications, la maladie persiste dans tout le territoire national [6]. Ces programmes d'éradication ont rencontré beaucoup de contraintes :

- ✓ L'indemnité des éleveurs pour les abattages des bovins reste inférieure à la valeur réelle (ne dépasse pas 35% de la valeur bouchère de l'animal) [60] ;
- ✓ Le non suivi des animaux tuberculeux de l'abattoir vers leur élevage d'origine) ;
- ✓ Le caractère non obligatoire des dépistages.

Cette situation conduit d'un côté, à décourager les éleveurs à coopérer avec les programmes de prophylaxie, à augmenter le risque de propagation de la maladie [61]. De ce fait, l'introduction de deux mesures réglementaires de santé publique destinées à prévenir la transmission du bacille tuberculeux des bovins à l'homme, s'avère nécessaire. Ces mesures obligatoires sont la pasteurisation du lait et l'abattage systématique des bovins réagissant positivement à la tuberculine [62].

Devant cette contradiction, il est impératif de revoir la stratégie mise en place, et d'adapter à la réalité du terrain en sensibilisant toutes les parties concernées pour arriver à contrôler cette affection [60].

2.2. Epidémiologie analytique

2.2.1. Source de contamination

La contamination peut se faire à partir d'animaux infectés ou de matières virulentes.

1. Animaux infectés

Bien que les bovins soient considérés comme hôte véritable de *M.bovis*, la maladie a été signalée chez beaucoup d'animaux domestiques et sauvages [63].

- Animaux domestiques

Les troupeaux d'animaux de rente constituent le réservoir principal de *M.bovis*, on entend les bovins en particulier, mais aussi les chèvres, les moutons, les chameaux, les dromadaires et les rennes [64].

- Faune sauvage

Depuis la fin des années 1960, la tuberculose bovine a été décrite dans la faune sauvage de plusieurs pays dans le monde [65].

Les animaux sauvages peuvent agir comme hôtes réservoirs en maintenant et propageant l'infection par la transmission intra-espèces [4], et éventuellement retransmettre la tuberculose aux bovins (transmission retour). C'est le cas du blaireau au Royaume-Uni, du phalanger renard en Nouvelle-Zélande ou du sanglier dans certaines régions Nouvelle-Zélande ou du sanglier d'Espagne [65].

Dans d'autres situations, les mammifères sauvages peuvent constituer des réservoirs secondaires de l'infection, celle-ci disparaissant naturellement si le réservoir primaire est éradiqué. C'est le cas du sanglier en Australie, ou du furet en Nouvelle-Zélande [65].

Enfin, les animaux sauvages peuvent être des culs de-sac épidémiologiques, incapables d'entretenir ni de transmettre la maladie, cas des carnivores sauvages ou du sanglier en Italie [65].

2. Matières virulentes

Ce sont principalement le jetage, la salive, et les expectorations. Les aérosols sont la plus grande source de contamination, puisque la localisation de la tuberculose est pulmonaire dans la majorité des cas [49].

Le lait, les urines, et les fèces sont également sources de contamination mais d'importance bien moindre. Les organes, les ganglions et les muscles proches de foyer tuberculeux sont virulents [66].

2.2.2. Modes de transmission

a. Transmission horizontale

La transmission peut être directe par contact étroit, ou indirect par exposition aux bactéries viables dans un environnement contaminé [47].

- Transmission directe s'opère par des contacts étroits et prolongés entre un individu sain et un individu infecté [67], lors de la cohabitation, au sein des pâturages ou lors de regroupements de bovins [66].
- Transmission indirecte par l'intermédiaire des locaux, pâturages, aliments et eaux contaminés ou des produits d'origine animale virulents [14].

b. Transmission verticale

Elle semble être très rare [54] (environ 1% des veaux nés de mères tuberculeuses susceptibles d'être infectés congénitalement) [47]. L'infection se produit par l'intermédiaire des vaisseaux ombilicaux, suite à une infection de l'utérus de mère.

Une transmission pseudo-verticale, se produire à partir des vaches en lactation à leurs progénitures par consommation de lait infecté, ou tout simplement par un contact étroit entre la mère et son veau [54].

2.2.3. Voies de transmission

Il y a plusieurs voies de transmission de l'infection par *M.bovis*, mais les principales sont la voie respiratoire et gastro-intestinale (Cf. tableau 2.1) [54].

Tableau 2.1 : Les principales voies de transmission de *M.bovis* [54].

voie	Description	Dose infectante	Lésions
Inhalation (plus courante)	-Les aérosols générés par la toux, éternuement	Très faible	Au niveau des NL de l'appareil respiratoire
Ingestion (commune)	-Fourrage, eau contaminés par les sécrétions nasales, l'urine, fèces. -Lait infecté.	Plusieurs millions de bacilles	Au niveau des NL méésentériques
Transcutané (rare)	-Contamination des abrasions existantes	inconnu	-

2.3. Epidémiologie synthétique

2.3.1. Origine de l'infection au sein de l'élevage

Pour un élevage indemne, trois possibilités de contamination existent, elles sont résumées dans la figure 2.2.

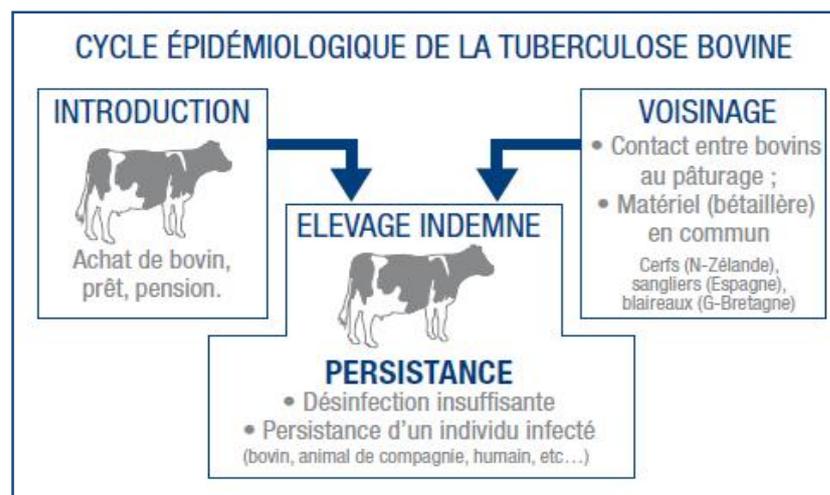


Figure 2.2 : modèle explicatif de l'origine de la tuberculose dans un élevage bovin [68].

1. Introduction d'un animal infecté

L'introduction d'un animal infecté représente un important facteur de risque d'apparition de la tuberculose dans un cheptel bovin 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 ou bien au prêt d'un animal tuberculeux [24].

2. Voisinage

Le voisinage est également un facteur de risque classique d'infection car il favorise les contacts entre animaux. La contamination se produit alors par contact direct entre animaux (pâtures communes) ou indirect (diffusion par l'air ou par l'eau via par exemple un ruisseau commun traversant ou séparant deux exploitations) [24].

Les animaux domestiques présents au sein d'exploitation font également partie de la catégorie « voisinage » [69].

Un voisinage avec la faune sauvage : les animaux sauvages qui peuvent contaminer les bovins par contact soit probablement rare, ou indirect est plus fréquent par la contamination de l'environnement, d'eau et des aliments par les déjections de ces animaux [4].

3. Résurgence d'une ancienne souche

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* [70]. Peut être liée à plusieurs mécanismes. Tout d'abord, quand le troupeau ne subit pas un abattage total, l'infection peut persister dans le troupeau chez un bovin infecté faiblement réagissant (ou non réagissant) aux tests de dépistage. La récurrence peut également être liée à la persistance à bas bruit du bacille dans l'environnement, notamment quand la désinfection est insuffisante [24].

CHAPITRE 3

DIAGNOSTIC ET DEPISTAGE

3.1. Diagnostic clinique et nécropsique

3.1.1. Examen clinique

L'évolution de la pathologie est généralement insidieuse et difficilement détectable chez l'animal vivant, ce n'est qu'à un stade tardif de la maladie que le bovin présentera des symptômes [10], ces derniers ne sont pas spécifiquement distinctifs de la maladie [71]. De ce fait le diagnostic clinique de la tuberculose est difficile à établir.

3.1.2. Examen nécropsique

Le diagnostic de la tuberculose à l'abattoir est basé essentiellement sur l'existence de lésions macroscopiques évocatrices de la maladie [72]. Ces lésions ne sont visibles que tardivement et peuvent être confondues avec d'autres infections que la tuberculose [73]. Par conséquent, l'inspection des viandes ne permet de détecter que 55% des cas de la tuberculose bovine [3].

3.2. Diagnostic expérimental

- Méthodes directes

3.2.1. Examen histologique

Examen histopathologique est un outil fiable, plus rapide par rapport à la culture, en outre, cette méthode permet d'identifier des lésions typiques de mycobactéries [74], elle n'est donc pas spécifique de *M.bovis* et nécessite un isolement bactériologique [73].

3.2.2. Examen microscopique

Examen microscopique direct demeure un outil très simple et rapide renseignant sur la présence de BAAR dans les échantillons biologiques. Cette étape clé repose le plus souvent sur une coloration fluorescente à l'auramine, plus sensible que celle de Ziehl-Neelsen (coloration de référence) [75].

a. Coloration de Ziehl-Neelsen

Cet examen utilise l'action de la fuchsine phéniquée, suivie d'une décoloration à l'acide et l'alcool avec recoloration avec le bleu de méthylène, il permet d'observer, après examen à l'immersion, des bacilles rouges sur un fond bleu [76].

b. Coloration à l'auramine

Le colorant se fixe sur le bacille et lui confère une fluorescence qui persistera après l'action combinée de l'acide et de l'alcool [76]. La lecture requiert un microscope à lampe à mercure, les BAAR apparaissent sous forme des bacilles jaunes fluorescents sur un fond rouge [75].

L'examen microscopique met en évidence les BAAR sans faire la distinction entre les bacilles tuberculeux et mycobactéries atypiques. Il est peu sensible car il n'est positif que lorsque la concentration bacillaire est au moins égale 10^4 bacilles / ml [77].

3.2.3. Culture bactérienne

En raison des exigences nutritives et la croissance lente des bacilles tuberculeux, il est nécessaire d'employer des milieux de culture enrichis et avant les ensemercer, de débarrasser les prélèvements des micro-organismes commensaux dont la croissance est rapide [78] ; [79].

La décontamination des prélèvements repose sur la propriété que les mycobactéries résistent mieux à certains antiseptiques que les autres bactéries. Les produits utilisés sont la soude ou un acide dilué. Le protocole de la

décontamination doit être soigneusement respecté pour réduire les risques de contamination de la culture sans tuer trop les mycobactéries [78] ; [79]. Malgré toutes les précautions, 2 à 5% des cultures soient souillées par insuffisance de décontamination et 50 à 90% des mycobactéries viables sont cependant tuées [80].

Les échantillons sont mis en culture soit sur un milieu à base d'œuf ou à base d'agar, soit en milieu liquide [81].

3.2.3.1. Milieux solides

a. Milieux solides à l'œuf coagulés

- Milieu de Lowenstein-Jensen

C'est un milieu solide synthétique composé de sels minéraux, d'œufs, d'asparagine, de glycérine, fécula, citrate, et le vert de malachite. Ce dernier inhibe la croissance des autres micro-organismes et fournit une couleur contrastante, qui permet la détection des petites colonies [21].

Sur le milieu de Lowenstein-Jensen, les colonies de *M.bovis* sont dysgoniques, non pigmentées et la surface lisse d'abord plates elles deviennent ensuite bombées et brillantes en « gouttelettes » sans dépasser la taille d'une tête d'épingle (Cf. figure 3.1) [40]. Par comparaison les colonies de teinte crème-beige, à surface rugueuse, en chou-fleur dite « eugoniques » pour *M.tuberculosis* (Cf. figure 3.2) [82].

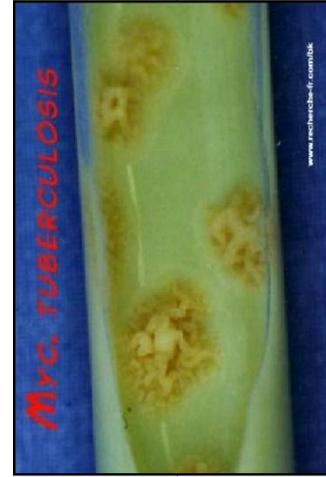


Figure 3.1: Colonies de *M.bovis* [83] Figure 3.2: Colonies de *M.tuberculosis* [83]

❖ Milieu de Coletsos

Ce milieu permet une culture rapide et abondante avec des colonies plus volumineuses que sur Lowenstein-Jensen. C'est un milieu beaucoup plus riche que ce dernier, il permet l'isolement des mycobactéries particulièrement exigeantes (*M.bovis*) [43].

b. Milieux solides gélosés (Middlebrook 7H10 7H11)

Ils contiennent des sels minéraux, des vitamines, le vert de malachite, catalase, l'albumine, dextrose, l'acide oléique et du glycérol [21]. Il faut que les milieux de culture gélosés soient incubés dans une atmosphère enrichie de 10% de CO₂. Dans 95% des cas positive en 3-4 semaines [80].

3.2.3.2. Milieux liquides

Plusieurs techniques de culture en milieu liquide ont été développées.

❖ Respirométrie radiométrique (système BACTEC)

Il repose sur la détection du ¹⁴CO₂ produit dans milieu liquide 7H12B [84], contenant de l'acide palmitique marqué au ¹⁴C comme seule source de carbone

[80]. L'appareil BACTEC 460TB[®] mesure la quantité de CO₂ radioactif dans l'atmosphère du flacon [76].

❖ Milieu *Mycobacteria growth indicator tube* (MGIT 960)

La détection de croissance est indiquée grâce à un indicateur fluorescent sensible à la concentration du milieu en oxygène. La diminution de la concentration d' O₂ génère une fluorescence. Cette dernière est détectable à l'œil nu ou à l'aide d'un automate (MGIT 960[®]) [84].

3.2.4. Identification phénotypique des mycobactéries

L'identification des mycobactéries obtenues en culture pure sur milieu solide repose classiquement sur l'étude des caractères cultureux (le temps de croissance, morphologie et pigmentation des colonies) et biochimiques. [78] ; [79] (Cf. tableau 3.1).

Tableau 3.1 : Identification d'espèces à partir des caractéristiques phénotypiques [41].

Espèce	<i>M.tuberculosis</i>	<i>M.bovis</i>	<i>M. atypique</i> [86]
Délais de culture	14-28 jours	> 28 jours	4-30jours/plus
Aspect macroscopique	Eugoniques rugueux	Dysgoniques lisse	Rugueux/ Lisses
Couleur	beige	Cire de bougie	-
Pigmentation	Non pigmenté	Non pigmenté	Pigmenté/non
Niacine	+	-	-
Nitrate réductase	+	-	+ /-
Catalase à 22 C°	+	+	+
Catalase à 68 C°	-	-	+
TCH [84]	+	-	+
PNB [42]	-	-	+

3.2.5. Amplification génique

Les tests d'amplification génique (PCR) appliqués au diagnostic de la tuberculose, consistent à amplifier et détecter une séquence nucléique spécifique du CMT [87], comme la séquence d'insertion IS6110, des gènes codant pour ARN 16S, ou pour différentes protéines comme la 38 KDa, la 65 KDa [87]. L'avantage de cette méthode par rapport à la culture est sa rapidité de détection et la capacité de détecter même des bacilles non viables [89].

Elle permet de compléter l'analyse bactériologique, notamment pour les prélèvements détériorés inexploitable en mycobactériologie classique [90].

3.2.6. Typage génétique

Le typage moléculaire de la tuberculose est devenu un outil précieux dans l'étude épidémiologique de *M.bovis*, ainsi pour déterminer les relations phylogénétiques entre les souches [91].

Les méthodes les plus couramment utilisées pour le genotypage de *M.bovis* sont le spoligotypage, le typage sur la base de VNTR et RFLP IS6110 [54].

1. RFLP IS6110 : « Polymorphisme de Longueur des Fragments de Restriction »

L'élément IS6110 est une séquence d'insertion spécifique des bacilles de la tuberculose et absent chez d'autres espèces mycobactériennes. La distribution d'IS6110 varie d'une souche à l'autre avec un nombre de copies variable et des localisations différentes sur le chromosome [92]. La technique RFLP identifiée ce polymorphismes [54].Cependant chez les souches à faible nombre de copies de IS6110 tels que *M.bovis*, cette technique présente certaines limites [93].

2. Spoligotypage : « typage par oligonucléotides des espaceurs du locus DR »

Repose sur la détection du polymorphisme dans la région DR (Direct Repeats), une région unique qui contient des répétitions directes « DR » de 36 Pb séparées par des séquences variables de 35 à 41 Pb « spacers ». Ces séquences varient d'une souche à l'autre par leur longueur, leur séquence et leur nombre [94]. Le spoligotypage contribue à clarifier l'identification des différents bacilles de la tuberculose et l'on reconnaît des profils caractéristiques de différentes espèces

[92]. Il permet aussi la différenciation des souches à l'intérieur de chaque espèce appartenant au CMT, y compris *M.bovis* [71].

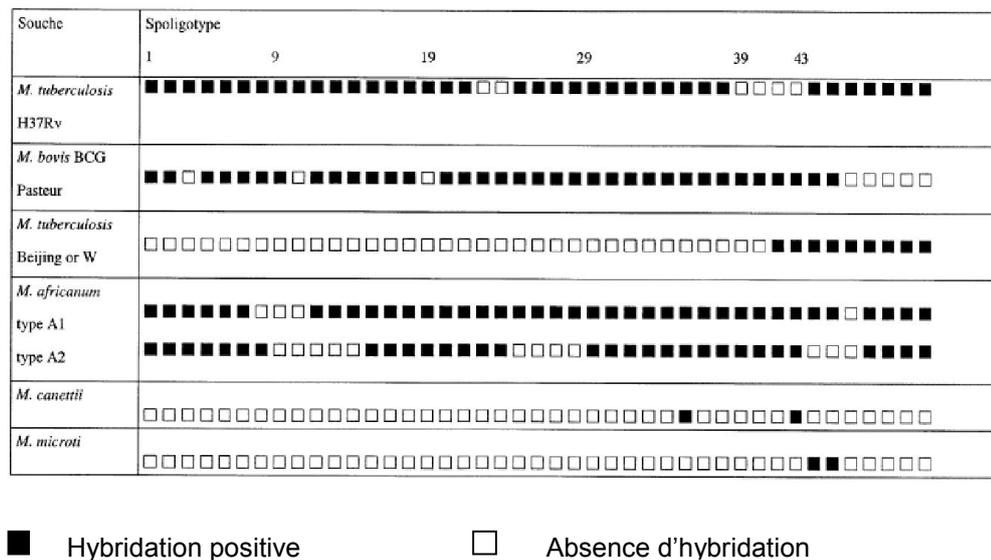


Figure 3.3 : Profils génomiques en spoligotyping de quelques membres du CMT [92].

Cette méthode est plus discriminante que la méthode de référence RFLP IS6110 pour les souches à faible nombre de copies de IS6110 [92].

3. VNTR: «Variable Number Tandem Repeats »

Une méthode de typage plus récente, basée sur le polymorphisme de loci chromosomiques contenant nombre variable de répétitions en tandem [91]. Les résultats sont présentés comme une série de chiffres indiquant le nombre de répétitions à chaque locus. La méthode VNTR a une meilleure discrimination des souches avec seulement un ou deux copies de IS6110 (la majorité des isolats de *M.bovis*) [54].

- Méthodes indirectes

3.2.7. Mise en évidence de l'immunité à médiation cellulaire

Les tests d'intradermo-tuberculation et la libération d'interféron gamma visent à mettre en évidence la mémoire immunitaire suite à un contact avec une mycobactérie du complexe *tuberculosis* [75].

3.2.7.1. Intradermo-tuberculation

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 [4]. Elle consiste en une injection intradermique d'un dérivé de protéines purifiées (PPD) de *M.bovis* ou *M. avium*, lorsqu'un animal est infecté une réaction d'hypersensibilité retardée aux antigènes utilisés provoque un épaissement de la peau à l'endroit de l'injection [95].

L'épreuve à la tuberculine est habituellement réalisée au milieu de l'encolure, mais peut aussi être réalisée au pli caudal [71]. La réaction est locale, tardive (début après 24 à 48 heures), progressive et durable, c'est pourquoi la lecture du test se fait 72 heures après l'injection [96].

Elle est considérée comme un test intradermique simple lorsque la tuberculine bovine est utilisée seule, et un test intradermique comparatif si les tuberculines bovine et aviaire sont toutes les deux utilisées en même temps [4].

- ❖ Intradermo-tuberculation simple (IDS)

L'IDS consiste à injecter dans l'épaisseur du derme de l'encolure une certaine quantité de tuberculine bovine, et apprécier au bout de 72 heures, la réaction obtenue au point d'inoculation (Cf. tableau 3.2). Elle est utilisée dans les opérations de prophylaxie des cheptels en zone indemne ou lors des contrôles à l'introduction.

Tableau 3.2: Valeurs des épaissements du pli de peau prise en compte pour le résultat d'une IDS [96].

Épaissement	Résultat du test IDS
< 2 mm	Négatif
2 < épaisseur < 4 mm	Douteux
> 4 mm	Positif

L'IDS a une sensibilité individuelle moyenne de 85% [60 - 95 %] et une sensibilité cheptel est proche de 100%. La spécificité de 99% en moyenne [60 - 99%] est relativement bonne [14]. Un résultat positif à la suite d'une IDS nécessite une IDC qui ne peut être réalisée que six semaines pour s'affranchir de toute baisse de réponse induite par celle-ci.

❖ Intradermo-tuberculation comparative (IDC)

L'IDC consiste en l'injection simultanée de tuberculine bovine et la tuberculine aviaire en deux points distants d'environ dix centimètres l'un de l'autre. Puis en la comparaison de la réaction de l'animal 72 heures plus tard [96], (Cf. tableau 3.3)

Elle est utilisée principalement pour différencier les animaux infectés par *M. bovis* avec ceux sensibilisés à la tuberculine par exposition à d'autres mycobactéries [96]. Elle est permet donc de s'affranchir des faux positifs obtenus lors IDS par réaction croisée avec d'autres mycobactéries [96].

Tableau 3.3: Valeurs des épaissements du pli de peau prise en compte pour le résultat d'une IDC [96].

	Différence d'épaissement	Résultat du test IDC
Si $\Delta B < 2\text{mm}$	Quel que soit $\Delta B - \Delta A$	Négatif
Si $\Delta B > 2\text{ mm}$	Si $\Delta B - \Delta A < 1\text{mm}$	Négatif
	Si $1 < \Delta B - \Delta A < 4\text{m mm}$	Douteux
	Si $\Delta B - \Delta A > 4\text{ mm}$	Positif

ΔB : épaisseur cutané au lieu d'injection de la tuberculine bovine

ΔA : épaisseur cutané au lieu d'injection de la tuberculine aviaire

L'IDC a une sensibilité plus faible de [52 -100%] avec une valeur médiane de 80%, mais une meilleure spécificité de [78,8 - 100%] avec une valeur médiane de 99,5% que L'IDS [96].

IDR a ses limites, y compris les difficultés dans l'interprétation des résultats et la précision imparfaite du test. Cette performance insuffisante, en particulier lorsque les animaux infectés ne sont pas détectés mais également l'élimination inutile des animaux faux positif peut avoir des graves conséquences sur la gestion des élevages [4].

3.2.7.2. Dosage de l'interféron gamma

Plusieurs autres tests ont été développés pour améliorer le diagnostic et le dépistage de la tuberculose bovine, dont notamment le test d'interféron gamma [4].

L'essai est basé sur la libération d'IFN- γ à partir de lymphocytes sensibilisés pendant une période d'incubation de 16 à 24 heures avec un antigène spécifique tuberculine PPD bovine et avec PPD aviaire (pour effectuer une stimulation comparée) puis une détection quantitative de l'IFN- γ bovin est effectuée avec un ELISA sandwich qui utilise deux anticorps monoclonaux anti-IFN- γ bovin [98].

L'épreuve a une sensibilité élevée comparé à l'épreuve cutanée, Mais ne peut faire la distinction entre l'infection tuberculeuse latente et tuberculose maladie tout comme IDR à la tuberculine [99].

Le choix des antigènes mycobactériens qui déterminent la spécificité du test [99]. C'est dans cette optique une nouvelle approche apparait qui mesure la production d'IFN- γ par les cellules mononuclées stimulées par des antigènes (ESAT-6 et CFP-10) spécifique du complexe *Mycobacterium tuberculosis* [100].

Cependant, le dosage de l'IFN- γ n'est pas utilisé en routine pour le diagnostic de la tuberculose bovine, car il exige de livrer les échantillons au laboratoire dans la journée, afin de les analyser à l'aide de techniques relativement complexe et coûteuses [4].

3.2.8. Mise en évidence de l'immunité à médiation humorale

3.2.8.1. Tests sérologiques

Les tests sérologiques sont basés sur la détection des anticorps spécifiques dirigés contre les antigènes mycobactériens immunogènes [101]. L'ELISA apparaît être le meilleur choix un complément, plutôt qu'une alternative pour les épreuves basées sur l'immunité cellulaire. Un avantage de l'ELISA est simplicité, mais sa spécificité et sa sensibilité sont limités chez les bovins, surtout dues au développement irrégulier et tardif de la réponse à l'immunité humoral chez les bovins au cours de la maladie [71].

CHAPITRE 4

TRAITEMENT ET PROPHYLAXIE

4.1.Traitement de la tuberculose bovine

Le traitement médical du bétail affecté par la tuberculose a eu un succès limité et est interdit dans la plupart des pays [4], en raison que le traitement par des antibiotiques est long, coûteux et générateur d'antibiorésistance [102].

4.2.Prophylaxie

Le contrôle et l'éradication de la TBB constituent un objectif souhaitable à la fois du point de vue santé animale et en raison des implications zoonotiques de *M.bovis* [4].

4.2.1.Prophylaxie médicale

Actuellement le seul vaccin contre l'infection à *M.bovis* celui réalisé avec le BCG. Cependant, l'emploi de la vaccination (BCG) dans la prophylaxie est interdite [103], en raison :

- Efficacité limitée chez les bovins,(Elle réduit le risque d'infection sans le supprimer).
- Le vaccin BCG peut compromettre l'intra-dermotuberculation [4].
- Les propriétaires sachant leurs animaux vaccinés négligent les prescriptions sanitaires favorisant ainsi leur contamination [103].

4.2.2. Prophylaxie sanitaire

la prophylaxie contre la TBB est exclusivement sanitaire [22].

4.2.2.1. Mesures défensives

Elles visent à la protection des effectifs indemnes.

A. Protection aux frontières

N'importer que des bovins provenant de cheptels indemnes et contrôlés par IDS lors de l'importation.

B. Protection d'une étable indemne

Les mesures de protection des étables indemnes s'inspirent des principes épidémiologiques fondamentaux :

➤ Maitrise de flux

N'introduire que des bovins provenant de cheptels officiellement indemnes de la TBB, avec quarantaine et contrôle des animaux introduits.

➤ Maitrise de voisinage

Le contact avec des lots de bovins reconnus infectés ou l'état sanitaire inconnu.

➤ Maitrise de risque de résurgence

Tout élevage qu'a été reconnu infecté de tuberculose doit faire l'objet d'une surveillance rapprochée.

4.2.2.2. Mesures offensives

Elles sont fondées sur le dépistage et l'assainissement des élevages bovins tuberculeux [22].

A. Dépistage des élevages infectés

▪ Dépistage par tuberculination

IDR est le test standard pour détecter la tuberculose chez les animaux vivants. Plusieurs autres tests ont été développés pour améliorer le diagnostic et le dépistage de la TBB, dont notamment le test IFN- γ [4].

- Inspection des carcasses à l'abattoir

L'identification de la TBB lors de l'inspection des viandes au niveau des abattoirs est une autre technique de surveillance importante, même si sa sensibilité est faible [4] et que ce système révèle l'infection tardivement [22].

- Enquête épidémiologique

Lorsqu'un foyer de TBB est identifié, une enquête épidémiologique est conduite en amont (pour identifier l'origine de la contamination de foyer) et en aval (pour cibler les élevages susceptibles d'avoir été contaminés à partir du foyer) [22].

B. Mesure de limitation

Un élevage suspect de la tuberculose doit être bloqué [22], seule la sortie pour l'abattoir est autorisée à condition qu'un laissez-passer soit rédigé et que les animaux soient marqués [104].

C. Assainissement des élevages infectés

- Test et abattage

Les troupeaux étaient testés en utilisant IDR et les animaux réagissant positivement étaient immédiatement retirés du troupeau et réformés. Les troupeaux étaient de nouveau contrôlés après une période fixée, jusqu'à ce qu'aucune réaction positive ne soit détectée et qu'aucun tubercule ne soit observé chez des animaux à l'abattoir [4].

D. Mesures sanitaires et hygiéniques

Les mesures sanitaires et hygiéniques suivent l'assainissement et visent à éliminer les sources et réservoirs de bacilles tuberculeux [105].

E.Requalification

La constitution du nouveau troupeau nécessite des animaux provenant de cheptels indemnes. Dans les zones infectées, les animaux subissent un contrôle par tuberculination avant l'introduction. Pour obtenir une requalification, le nouveau cheptel subit une surveillance rapprochée (afin de déceler tous risques de résurgence ou récurrence de tuberculose) [104].

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE 5

PARTIE EXPERIMENTALE

5.1. Problématique

En Algérie, la TBB occupe une place importante, en raison des énormes pertes qu'elle produit, liées à la saisie des carcasses aux abattoirs. La surveillance de la maladie se base essentiellement sur des tests de dépistage in vivo par IDR et en *post-mortem* par la recherche des lésions suspectes de la tuberculose. Ces suspicions doivent être confirmées ou infirmées par des examens bactériologiques au niveau du laboratoire. Dans ce cadre, nous nous sommes intéressés à réaliser une étude dans la région Centre-Est, puisque à notre connaissance, très peu d'études ont été consacrées à TBB dans cette région.

5.2. Objectifs

Les objectifs de la présente étude sont :

- Déterminer la proportion des lésions suspectes de la TBB dans deux abattoirs de la région ciblée.
- Isoler et identifier les agents responsables de la TBB.
- Déterminer quelques facteurs influençant la proportion de la maladie.

5.3. Cadre d'étude

a) Lieu d'étude

Nous avons réalisé notre étude dans deux abattoirs de la région Centre-Est de l'Algérie (wilaya de Bejaia et Sétif) à savoir : l'abattoir de Kherrata à 58 Km de chef- lieu de Bejaia et l'abattoir de Sétif.

L'étude bactériologique s'est déroulée dans le laboratoire de Service de Contrôle de la Tuberculose et des Maladies Respiratoires (SCTMR) de la wilaya de Bejaia.

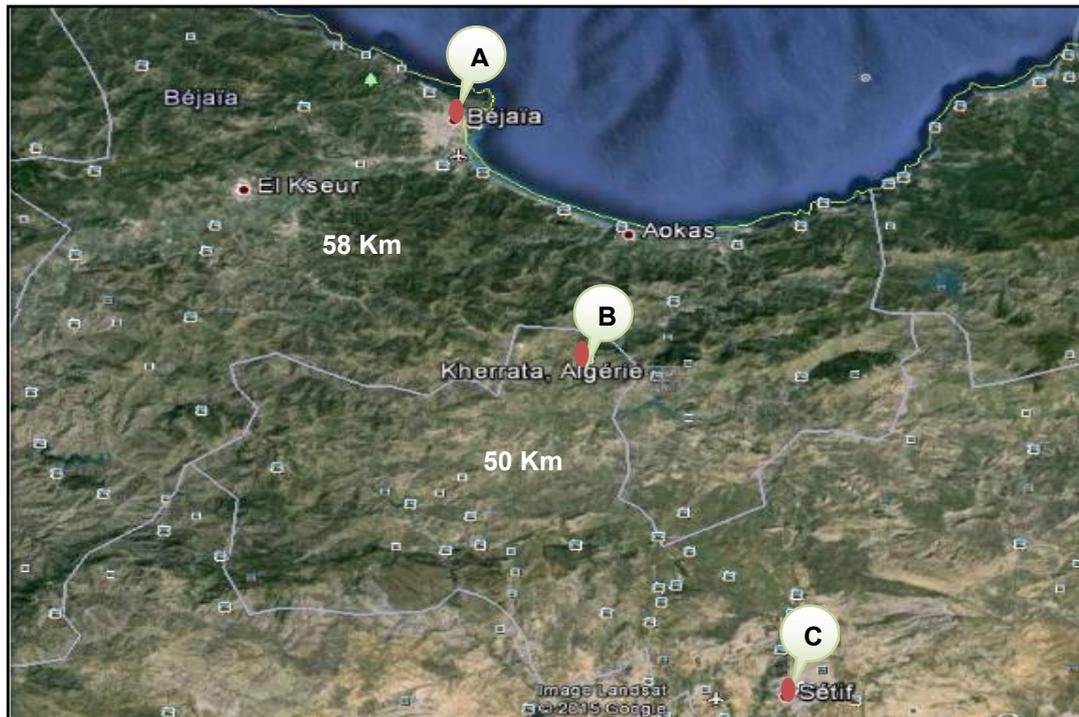


Figure 5.1 : Répartition géographique de trois établissements.

(A : Laboratoire SCTMR Bejaia, B : abattoir de Kherrata, C : Abattoir de Sétif)

b) Période d'étude

Notre étude s'est effectuée sur une période de 5 mois (de mois d'octobre jusqu'à février 2015).

5.4. Matériel et méthodes

5.4.1. Au niveau des abattoirs

A) Matériel

a) Matériel biologique

La population d'étude est composée de l'ensemble de bovins abattus à l'abattoir de Kherrata et de Sétif durant nos visites d'inspection. Nous avons inspecté 610 bovins (race, sexe et âge différents), de provenance inconnue.

b) Matériel non biologique :

- Blouse
- Gants d'examen
- Couteaux
- Pots stériles
- Glacière + réfrigérants
- Fiche signalétique

B) Méthodes

a) Inspection ante-mortem : Identification de l'animal et examen clinique.

L'identification consiste à déterminer :

- Le sexe ;
- La race ;
- L'âge ;
- L'état d'embonpoint.

De plus, nous avons procédé à un examen clinique de chaque animal, afin de signaler tout symptôme évocateur de la tuberculose bovine à savoir l'amaigrissement, les troubles respiratoires...

b) Inspection post-mortem

Elle a consisté à examiner les carcasses et le cinquième quartier en se basant sur le trépied : examen visuel, palpation et incision.

Les organes et les nœuds lymphatiques (NL) dont l'examen est systématique sont :

- ❖ Poumons, trachée, NL trachéo-bronchiques et médiastinaux ;
- ❖ NL de la tête : parotidiens, sous-maxillaires et rétro-pharyngiens ;
- ❖ Foie et NL rétro-hépatiques et pancréatiques ;
- ❖ Tractus digestif et ses NL stomacaux et mésentériques ;
- ❖ Reins et NL rénaux ;
- ❖ Mamelle et NL rétro-mammaire.

La présence d'une lésion suspecte de la tuberculose au niveau de ces organes doit entraîner une recherche approfondie sur les autres organes et sur tous les NL de la carcasse [73].

➤ Prélèvements

Le matériel biologique est constitué essentiellement des nœuds lymphatiques ou de nodules présentant des lésions suspectes de tuberculose.

➤ Définition d'une lésion suspecte de tuberculose :

Elle correspond à des tubercules des tailles différentes allant de taille de grain de millet « tuberculose miliaire » jusqu'à une taille plus grosse que le poing. Des nodules présentent parfois sous forme d'un collier de perle : tuberculose perlée [10] (Cf. photos (A, B, C, D et F), Appendice C).

Le tubercule présente en général une couleur blanc- jaunâtre à un gris- verdâtre et son intérieur est caséifié, calcifié-caséifié, il peut parfois présenter un aspect purulent [10] (Cf. photos (F, G, H et I), Appendice C).

Dans le cas de tuberculose, un organe est atteint avec le ganglion voisin [10].

➤ Conservation et acheminement :

Les prélèvements ont été placés dans des pots de prélèvement stériles, identifiés avec un numéro qui est reporté sur une fiche de renseignements (Cf. Appendice B).

Ces échantillons ont été acheminés dans une glacière contenant des réfrigérants (+4 C°) au laboratoire de Service de Control de la Tuberculose et les Maladies Respiratoires de la wilaya de Bejaia, y sont congelés afin d'être exploités ultérieurement.

5.4.2. Au niveau du laboratoire

5.4.2.1. Examen direct (bactérioscopie)

A) Matériel

- Prélèvements tissulaires
- Congélateur
- Hotte de biosécurité
- Bec de bunsen
- Anse de platine
- Mortier + pilon
- Boîte de pétri
- Microscope optique
- Eau de robinet
- Lames bistouris
- Gants d'examen
- Lames porte-objets
- Support métallique
- Fuchsine phéniquée
- Acide sulfurique 25 %
- Alcool 95 %
- Bleu de méthylène
- Pince métallique

B) Méthodes

➤ Préparation d'échantillon

Les prélèvements sont retirés du congélateur depuis la veille et laissés à la température ambiante jusqu'à décongélation.

Au voisinage de bec de bunsen, l'échantillon est déposé dans une boîte de pétri stérile, puis disséqué à l'aide d'une pince et une lame bistouri à usage unique (Cf. Figure 5.2).

Un fragment tissulaire est broyé finement dans un mortier stérile (Cf. Figure 5.3). Le broyat obtenu est servi pour la bactérioscopie et la culture bactérienne.



Figure 5.2 : Dissection du prélèvement. Figure 5.3 : Broyage de fragment.

(Photos. personnelle)

➤ Examen direct : Coloration de Ziehl-Neelsen.

Observation directe des bacilles sur des broyats d'organe repose sur la propriété d'Acido-Alcool-Résistance de la paroi des mycobactéries.

a) Réalisation des frottis :

- A partir de broyat et à l'aide d'une anse de platine rigide, une parcelle d'échantillon est prélevée.
- Le contenu de l'anse est étalé en couche mince et homogène du centre de la lame qu'est préalablement identifié sur au moins 2/3 (Cf. Figure 5.4).
- Un flambage de l'anse de platine est réalisé juste après l'étalement.
- les frottis sont séchés à l'air puis fixés par 3 à 4 passages rapides au dessus de la flamme de bec de bunsen.

Toutes ces étapes doivent être effectuées sous l'hotte de biosécurité pour éviter tout risque de contamination.



Figure 5.4 : Réalisation du frottis
(Photo. Personnelle).

b) Réalisation de la coloration de Ziehl-Neelsen : Se fait en trois étapes.

➤ Coloration par la fuchsine à chaud :

- Recouvrir complètement les lames préalablement placées sur un support métallique par la fuchsine phéniquée filtré sur un papier (Cf. Figure 5.5).
- Chauffage des lames jusqu'à l'émission de la vapeur blanche toutes les 3 minutes pendant 10 minutes, en évitant le dessèchement du colorant (Cf. Figure 5.6).
- Eliminer le surplus de colorant par l'eau ordinaire (Cf. Figure 5.7).



Figure 5.5 : Coloration par la fuchsine.



Figure 5.6 : Chauffage des lames.

(Photos. Personnelle)



Figure 5.7 : Rinçage des frottis à l'eau ordinaire
(Photo. Personnelle).

➤ Décoloration

- Recouvrir les lames par l'acide sulfurique dilué au 25% et laisser agir pendant 3 minutes (Cf. Figure 5.8).
- Rinçage à l'eau ordinaire.
- Recouvrir les lames par l'alcool éthylique à 95° et laisser agir pendant 5 minutes (Cf. Figure 5.9).
- Rinçage à l'eau ordinaire.



Figure 5.8 : Décoloration par acide sulfurique Figure 5.9 : Décoloration par l'alcool.

(Photos. Personnelle)

➤ Contre coloration

- Recolorer les lames par la solution de bleu de méthylène filtré sur un papier pendant 30 secondes à 1 minute (Cf. Figure 5.10).
- Rincer et sécher les lames.
- Examiner les frottis avec l'objectif à l'immersion (x100).



Figure 5.10 : Recoloration par le bleu de méthylène
(Photo. Personnelle)

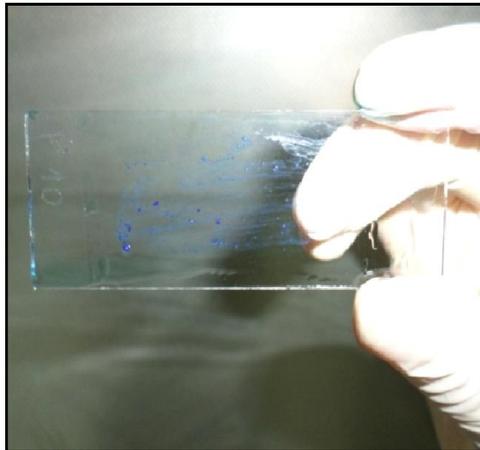


Figure 5.11 : Observation microscopique des frottis
(Photo. Personnelle)

c) Lecture des frottis et interprétation des résultats

- La lecture microscopique doit se faire sur un frottis sec contenant une goutte d'huile à immersion.
- Examiner soigneusement chaque frottis, avec une procédure qui permettrait de parcourir toute la lame, ce qui correspond à environ 300 champs (trois passages de la lame en longueur).
- Les BAAR apparaissent sous forme de bâtonnets droits ou incurvés, isolés ou en amas colorés en rose sur un fond bleu (Cf. Figure 5.12)
- Un comptage de nombre des BAAR par rapport au nombre de champs est réalisé.

L'interprétation des résultats de la lecture est illustrée dans le tableau (Appendice D).

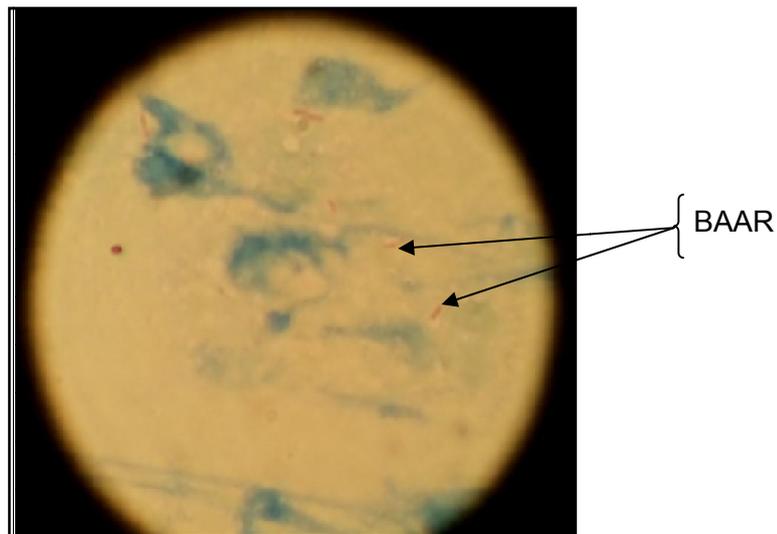


Figure 5.12 : Aspect microscopique des BAAR avec la coloration de ZN.

5.4.2.2. Culture bactérienne

A) Matériel

- | | |
|-----------------------------|-------------------------|
| • Broyat | • Eau distillé stérile |
| • Tube à centrifugation | • Pipette Pasteur |
| • Solution de la soude à 4% | • Pro-pipette |
| • Centrifugeuse | • Tube de culture de LJ |
| | • Etuve à 37 C° |

B) Méthodes

La culture des mycobactéries est associée à une étape préalable d'homogénéisation-décontamination, pour cette raison nous avons utilisé l'une des méthodes, à savoir : Petroff à la soude.

Cette méthode consiste :

- On ajoute la solution de la soude à 4%, en doublant son volume par rapport au volume de broyat (Cf. Figure 5.13).
- L'homogénéisât est versé dans un tube à centrifugation.
- La suspension ainsi obtenue est agitée, puis centrifugée à une vitesse 3000 tours/mn pendant 15 mn (Cf. Figure 5.14).
- Le surnageant est éliminé et le culot est lavé à l'eau distillée stérile.
- Recentrifugation de la suspension pendant 15 mn.
- Le surnageant est rejeté et le culot est conservé pour l'ensemencement.



Figure 5.13 : Décontamination par la soude. Figure 5.14 : Centrifugation.

(Photos. Personnelle).

➤ Mise en culture

Nous avons ensemencé quatre tubes de milieu Lowenstein-Jensen, en inoculant 0,2 à 0,3 ml de culot par tube. Ces derniers ont été incubés à 37 C° pendant 8 à 12 semaines sans les fermer hermétiquement qu'après évaporation du liquide pendant 2 à 3 jours.

➤ Lecture et identification phénotypique

A la fin de la première semaine d'incubation, nous avons observé les tubes afin de constater des contaminations éventuelles, et des pousses des mycobactéries atypiques à croissance rapide. La lecture se poursuit ultérieurement à raison d'une fois par semaine.

La contamination des cultures entrainera une modification de la couleur de milieu (une couleur jaune, vert ou marron) (Cf. Figure 5.15), de ce fait, ces cultures sont écartées et refaits à partir du prélèvement initial.



Figure 5.15 : Tubes de culture contaminés (Photo. personnelle).

Quand la croissance est visible, des frottis de confirmation ont été préparés et colorés par la technique de Ziehl-Neelsen, si le frottis est positif, la culture sera déclarée positive.

Une fois la culture est positive, nous avons procédé à une identification phénotypique des mycobactéries qui repose sur l'étude des caractères cultureux (le temps de croissance, morphologie et pigmentation des colonies) et sur l'étude des caractères biochimiques.

S'il n'ya pas eu un développement des colonies après 12 semaines d'incubation, la culture sera déclarée négative

❖ Etude des caractères cultureux

- Les colonies de *M.bovis* n'apparaissent jamais avant 1 mois, elles sont dysgoniques, de couleur blanc nacré, lisses et brillantes (aspect de cire de bougie), qui ne dépassent pas la taille d'une tête d'épingle (Cf. Figure 5.16).
- Les mycobactéries atypiques ont une croissance rapide (moins de 28 jours), formant des colonies lisses ou rugueuses, pigmentées ou non (Cf. Figure 5.17).



Figure 5.16: Culture + de *M.bovis*. Figure 5.17 : (A+B) Culture + des atypiques.

(Photos. Personnelle).

❖ Etude des caractères biochimiques

Nous avons utilisé deux tests : la croissance en présence de PNB et de TCH

A. Croissance en présence de PNB

A partir d'une suspension bacillaire, nous ensemençons deux tubes de LJ, l'un sans additif (tube témoin), et l'autre additionné d'une concentration déterminée de PNB (10 µg/ml) (Cf. Figure 5.18).

Interprétation

Lorsque la croissance est visible sur le milieu de LJ témoin, nous examinons le tube contenant le PNB. S'il :

- y'a croissance sur LJ contenant du PNB, les souches seront notées résistantes.
- n'y a pas croissance sur LJ contenant du PNB, les souches seront notées sensibles.

B .Croissance en présence de TCH

A partir d'une suspension bacillaire, nous ensemençons deux tubes de LJ, l'un sans additif (tube témoin), et l'autre additionné d'une concentration déterminée de TCH (5 µg/ml) (Cf. Figure 5.19).

Interprétation

Lorsque la croissance est visible sur le milieu de L-J témoin, nous examinons le tube contenant le TCH. S'il :

- y'a croissance sur LJ contenant du TCH, les souches seront notées résistantes.
- n'y a pas croissance sur LJ contenant du TCH, les souches seront notées sensibles.



Figure 5.18 : Tube LJ +tube PNB



Figure 5.19 : Tube LJ +tube TCH

5.5. Analyse statistique

Les données recueillies durant notre enquête, ont été saisi dans un tableur (Microsoft Excel) afin de calculer les pourcentages et d'élaborer les graphiques pour la présentation des résultats.

Pour l'étude de l'influence des facteurs de risque sur la proportion des cas suspects de la tuberculose bovine, on a utilisé le test Chi-2 d'homogénéité, avec une signification ($p < 0,05$) et un risque d'erreur $\alpha = 5\%$.

5.6. Résultats

Lors des visites d'inspection réalisées au niveau de deux abattoirs, 610 bovins abattus sont examinés, parmi eux 40 étaient porteurs de lésions suspectes de la tuberculose, soit une proportion de 6,56%.

La répartition des cas suspects de la TBB dans chaque abattoir est rapportée dans le tableau (5.1) et la figure (5.20).

Tableau 5.1: Proportion de lésions suspectes de la TBB dans les deux abattoirs.

Abattoir	Bovins abattus	Nombre de lésions suspectes	(%) de lésions suspectes
1	470	25	5,32
2	140	15	10,71
Total	610	40	6,56

* Abattoir 1 : Kherrata

*Abattoir 2 : Sétif

Les résultats synthétisés dans le tableau (5.1) montrent la présence des cas suspects de TBB dans les deux abattoirs, avec une proportion plus élevée dans l'abattoir de Sétif (10,71%) par rapport à l'abattoir de Kherrata (5,32%).

L'analyse statistique (Test Chi-2) montre qu'il y a une différence significative ($P= 0,023 < 0,05$) des proportions de lésions suspectes de TBB entre les deux abattoirs.

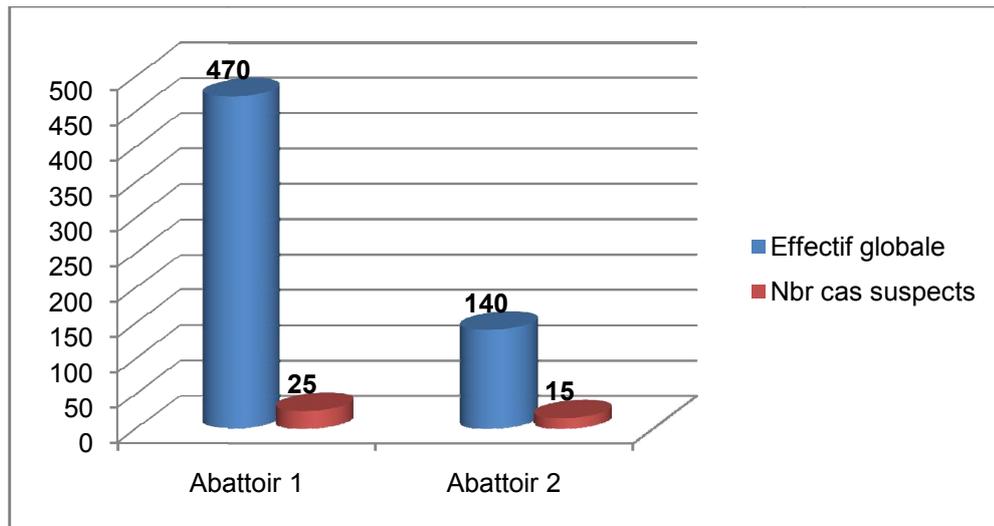


Figure 5.20 : Répartition des cas suspects de la TBB dans les deux abattoirs.

5.6.1. Etude des facteurs influençant la proportion de TBB

a) Sexe

Les résultats relatifs à la répartition d'infection tuberculeuse en fonction du sexe sont rapportés dans le tableau (5.2) et illustrés par la figure (5.21).

Tableau 5.2: Proportion des cas suspects de TBB en fonction du sexe.

Sexe	(%) Effectif	(%) de lésions suspects
Mâle	581 (95,24)	34 (5,85)
Femelle	29 (4,75)	06 (20,69)
Total	610	40 (6,56)

Nous constatons que les deux sexes d'animaux sont atteints de TBB avec une proportion plus élevée chez les femelles (20,69 %) par rapport aux mâles (5,85%). Après l'analyse statistique, le sexe est considéré comme un facteur influençant la proportion des lésions tuberculeuses ($p= 0,0016 < 0,05$) avec une prédominance d'atteinte des femelles.

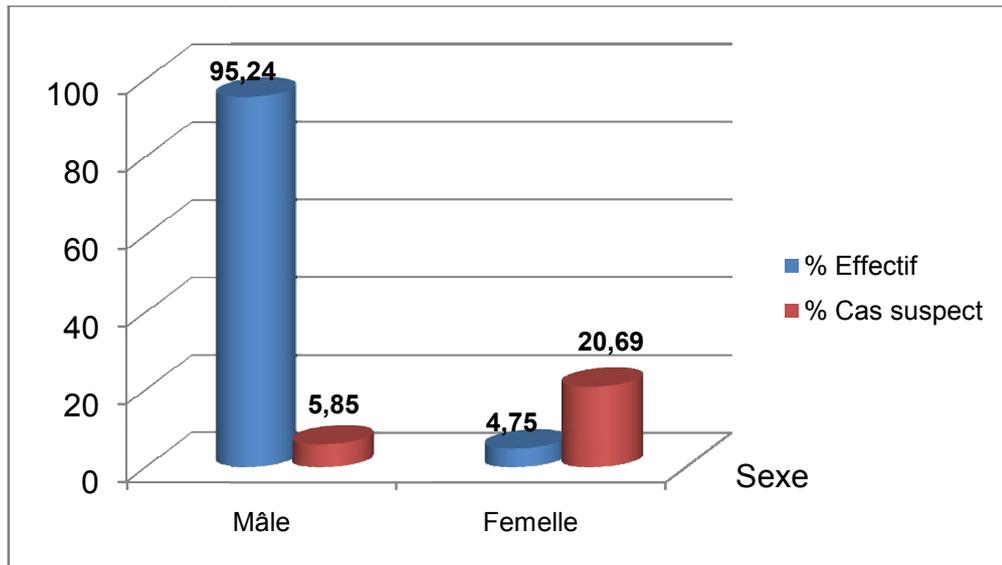


Figure 5.21 : Répartition des cas suspects de la TBB en fonction du sexe.

b) Age

Nous avons proposé les classes d'âge suivantes : Les animaux jeunes (< de 2 ans), les animaux adultes (2-5 ans) et les animaux adultes plus âgés (> de 5ans) [6].

La répartition des cas suspects de la tuberculose en fonction de l'âge est rapportée dans le tableau (5.3) et la figure (5.22).

Tableau 5.3 : Proportion des cas suspects de TBB en fonction de l'âge.

Age	(%) Effectif	(%) de lésions suspectes
< 2 ans	431(70,56)	11 (2,55)
2-5 ans	165 (27,04)	25 (15,15)
> 5 ans	14 (2,29)	04 (28,57)
Total	610	40 (6,56)

Les résultats du tableau (5.3) montrent que le taux d'abattage des animaux moins de 2 ans est très élevé (70,56%) par rapport aux animaux des dernières

classes d'âge, tandis que la proportion des lésions tuberculeuses est assez importante chez les animaux adultes. Après l'analyse statistique ($p= 0,0001 < 0,05$), on déduit une différence significative des prévalences des lésions suspectes de la TBB entre les différentes classes d'âge.

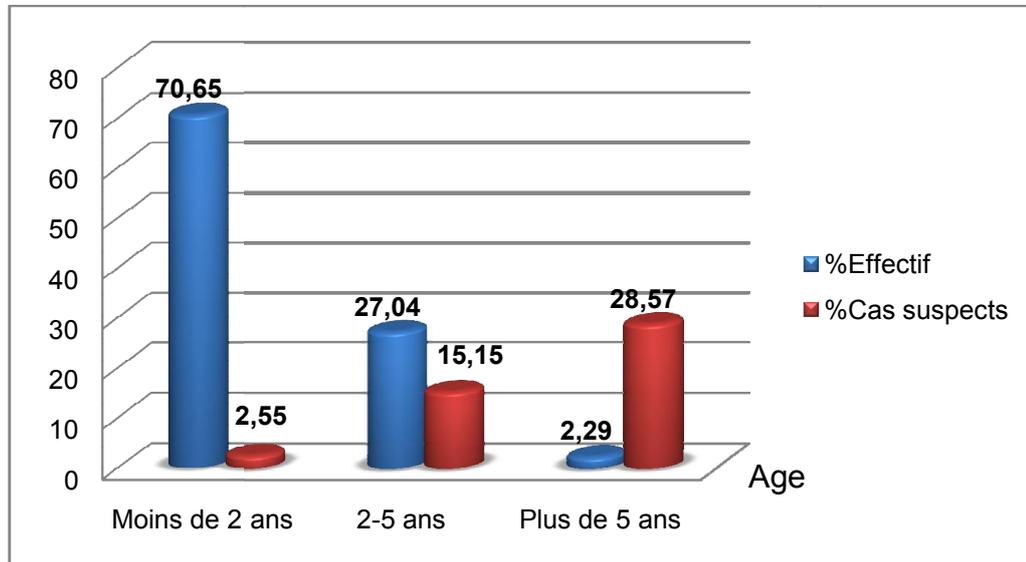


Figure 5.22 : Répartition des cas suspects de tuberculose bovine en fonction de l'âge.

c) La race

Les résultats relatifs à la répartition d'infection tuberculeuse en fonction de la race sont rapportés dans le tableau (5.4) et illustrés par la figure (5.23).

Tableau 5.4 : Proportion des cas suspects de tuberculose bovine en fonction de la Race.

Race	(%) Effectif	(%) de lésions suspectes
Locale	226 (37,05)	09 (3,98)
Croisée	384 (62,95)	31(8,07)
Importée	00	00
Total	610	40

Le tableau (5.4) montre que les bovins de la race croisée sont plus affectés par la tuberculose (8,07%) par rapport à la race locale (3,98%). L'analyse statistique montre qu'il y a une différence significative ($P= 0,048 < 0,05$) des prévalences de lésions suspectes de TBB entre les deux races.

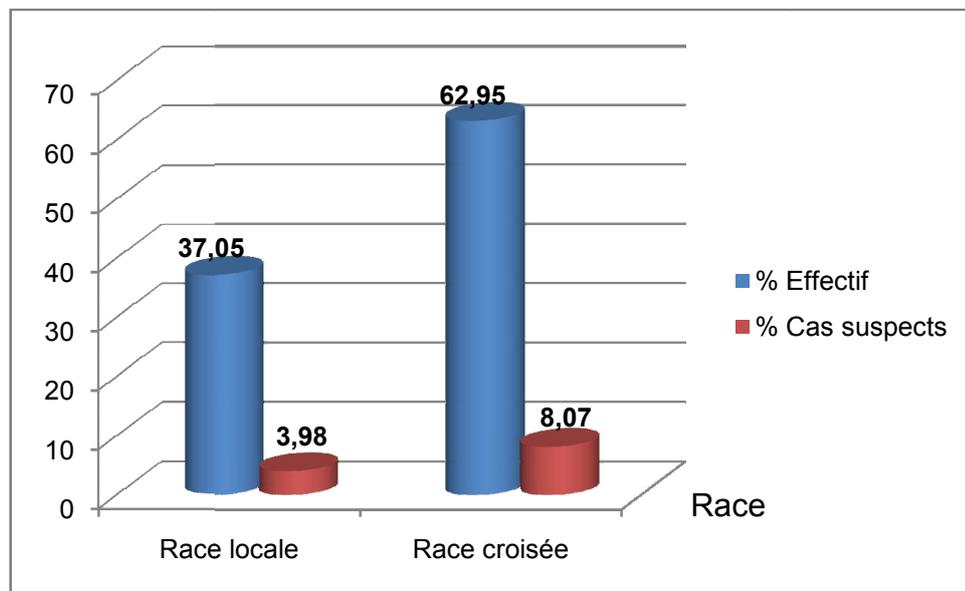


Figure 5.23 : Répartition des cas suspects de tuberculose bovine selon la race.

d) L'état d'embonpoint

Selon l'état d'embonpoint, nous avons classé les animaux en trois catégories : les animaux ont un embonpoint mauvais (note corporelle est 1-2), moyen (3) et bon (3,5-5).

Les résultats relatifs à la répartition d'infection tuberculeuse en fonction de l'état d'embonpoint sont rapportés dans le tableau (5.5) et illustrés par la figure (5.24).

Tableau 5.5 : Proportion des cas suspects de tuberculose bovine en fonction de l'état d'embonpoint.

Embonpoint	(%) Effectif	(%) de lésions suspectes
Mauvais	154 (25,24)	15 (9,74)
Moyen	414 (67,87)	24 (5,80)
Bon	42 (6,88)	01 (2,38)
Total	610	40 (6,56)

Les résultats synthétisés dans le tableau (5.5), nous donnent une impression que les animaux dont l'état d'embonpoint est mauvais sont les plus affectés par la TBB (9,74%), (Cf. Figure5.25).

Statistiquement ($p= 0,12 > 0,05$), la prévalence des cas suspects de la TBB est identique chez les bovins quelque soit leur l'état d'embonpoint.

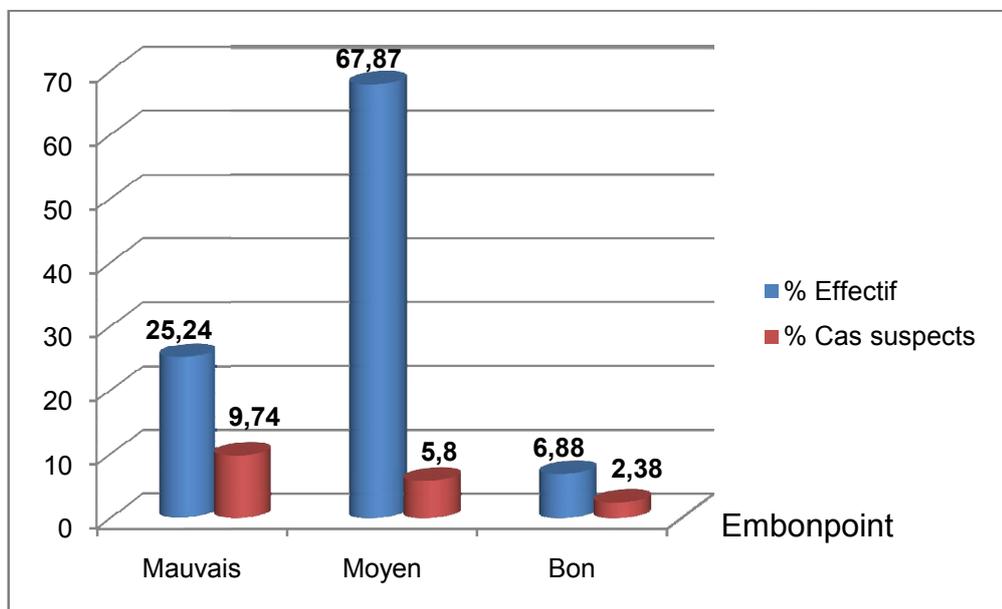


Figure 5.24 : Répartition des cas suspects de tuberculose bovine en fonction de l'état d'embonpoint.



Figure 5.25 : Carcasse cachectique d'une vache atteinte de tuberculose miliaire.

(Photos. Personnelle)

5.6.2. Répartition des lésions suspectes de la tuberculose en fonction de leur type

Selon l'étendue de la lésion tuberculeuse, nous avons classé la tuberculose en deux types :

- Localisée (un seul organe atteint avec ses NL)
- Généralisée (localisations multiples)

Les résultats relatifs aux types de la lésion tuberculeuse sont rapportés dans le tableau (5.6) et la figure (5.26).

Tableau 5.6 : Proportion des lésions suspectes de tuberculose bovine en fonction de leur type.

Type de tuberculose	Nombre de cas suspects	%
Localisé	36	90
Généralisé	04	10
Total	40	100

Les résultats synthétisés dans le tableau (5.6) montrent que la majorité des cas suspects de tuberculose est de type localisé avec une proportion de 90%, mais il est important de signaler que l'atteinte généralisée (Cf. Figure 5.27) est non négligeable avec une proportion de 10%.

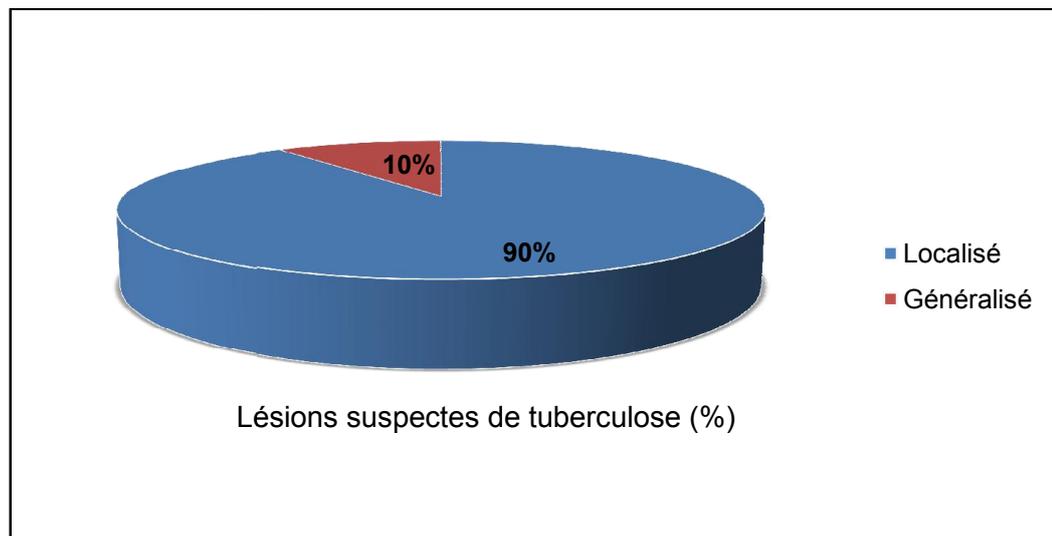


Figure 5.26 : Répartition des lésions suspectes de tuberculose bovine en fonction de leur type.

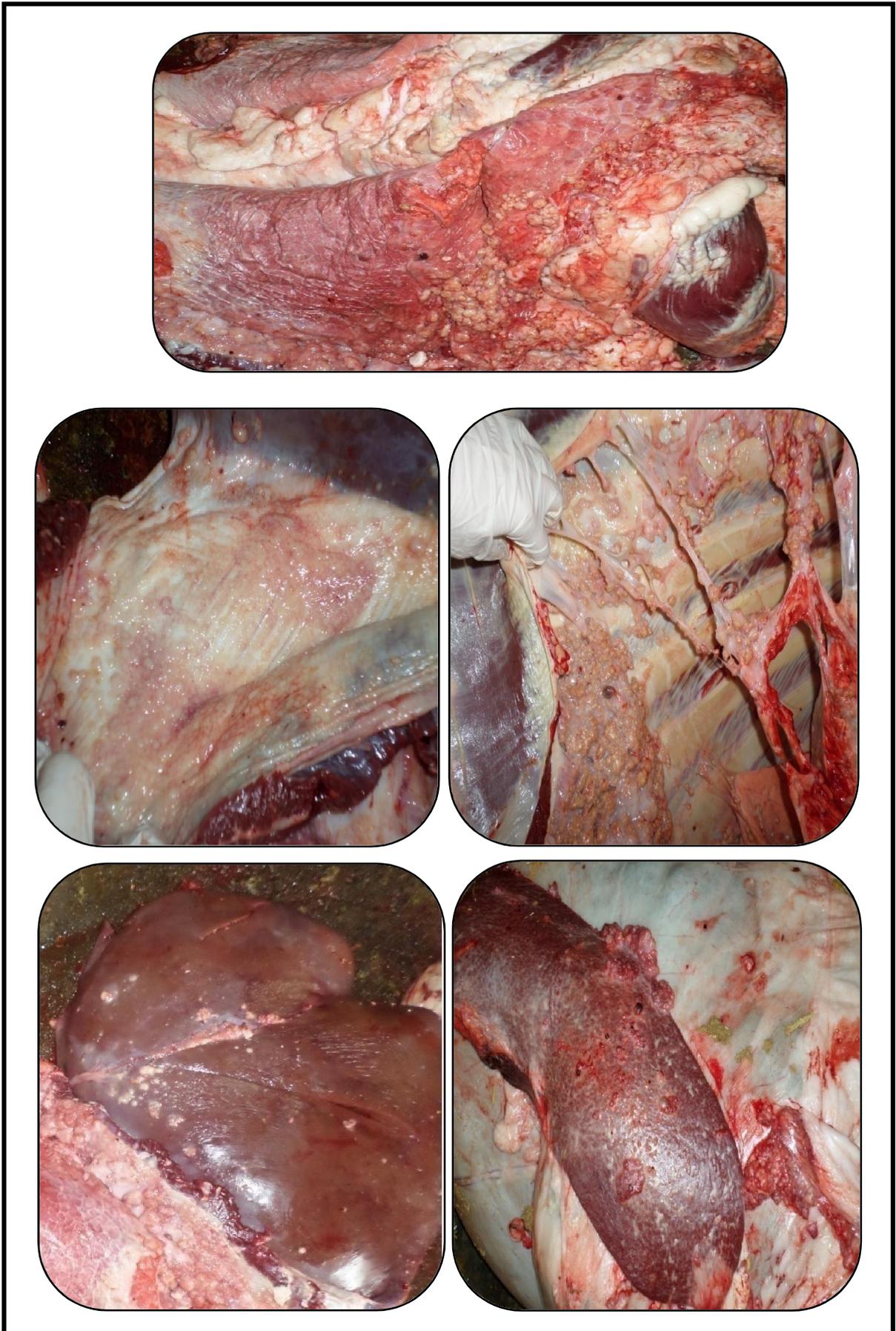


Figure 5.27 : Tuberculose de type généralisé (Photos. Personnelle).

5.6.3. Formes de la tuberculose localisée

Les résultats relatifs à la répartition des lésions suspectes de la tuberculose en fonction de leur localisation sont illustrés dans le tableau (5.7) et la figure (5.28).

Tableau 5.7 : Répartition des lésions suspectes de la tuberculose bovine en fonction de leur localisation.

Appareil	Partie atteinte	% lésion
Respiratoire (NL + tissu)	NL TB	16 (51,61)
	NL M	11(35,48)
	Tous les NL	04(12,90)
	Total	31 (77,5)
Digestif	Foie	03 (7,5)
Autres localisation	NL de la tête	02 (5)

NL : nœuds lymphatiques, **NL TB** : NL trachéo-bronchiques, **NL M** : NL médiastinaux.

Les résultats mentionnés dans le tableau (5.7) montrent que les lésions tuberculeuses sont localisées principalement dans l'appareil respiratoire, soit un pourcentage de 77,5% (Cf. figures, 5.30, 5.31, 5.33), suivi d'une atteinte digestive (Cf. Figure 5.32) avec un pourcentage de 7,5%, et le plus faible pourcentage est signalé pour la tête (5%) (Cf. Figure 5.34).

5.6.4. Fréquence d'atteinte tuberculeuse des NL respiratoires

Les résultats illustrés dans le tableau (5.7) et la figure (5.29) montrent que la plus grande fréquence d'atteinte tuberculeuse est signalée pour les NL TB (51,61%), suivi par une atteinte des NL M avec un pourcentage de 35,48%. 12,90% des bovins présentent des lésions concomitantes sur tous NL respiratoires.

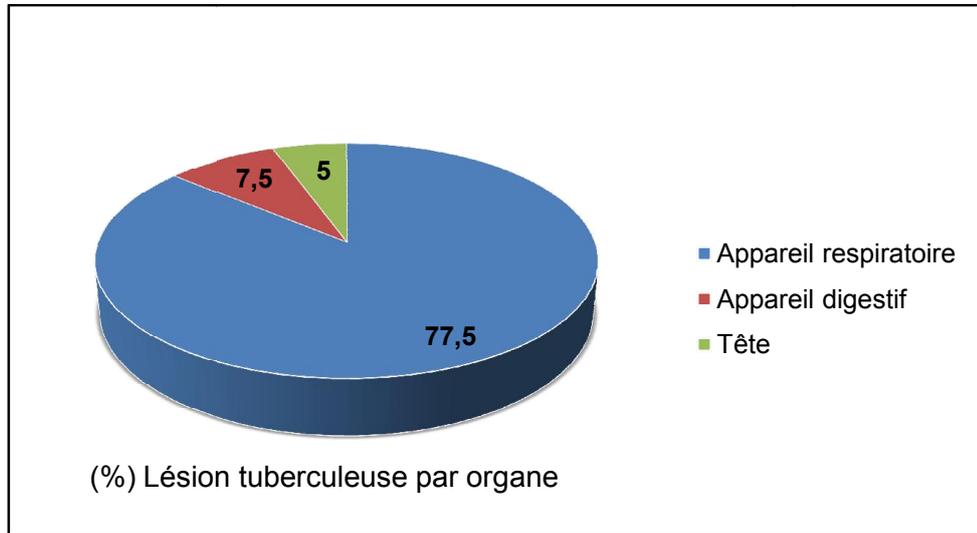


Figure 5.28 : Répartition de lésions suspectes de tuberculose bovine en fonction de leur localisation.

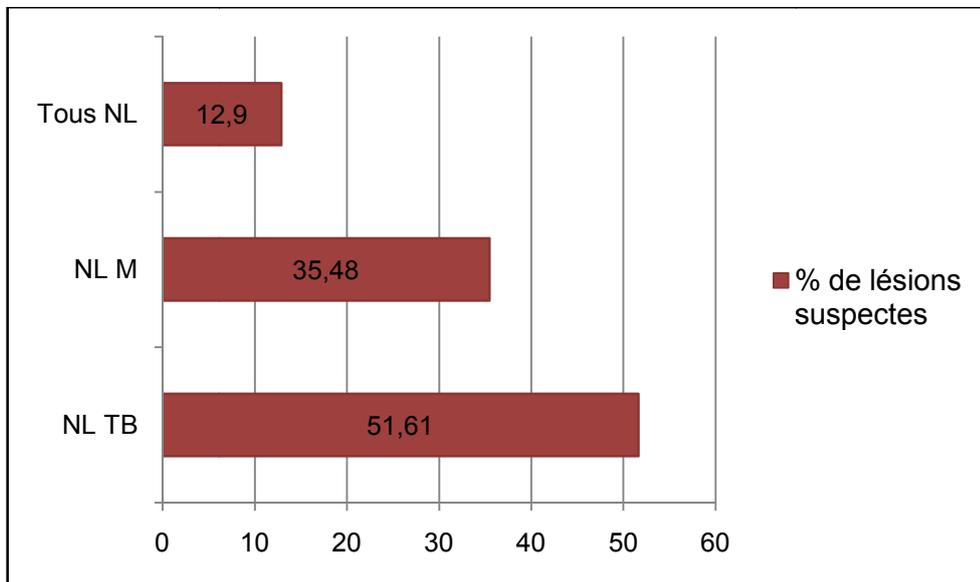


Figure 5.29 : Fréquence d'atteinte tuberculeuse des nœuds lymphatiques respiratoires.

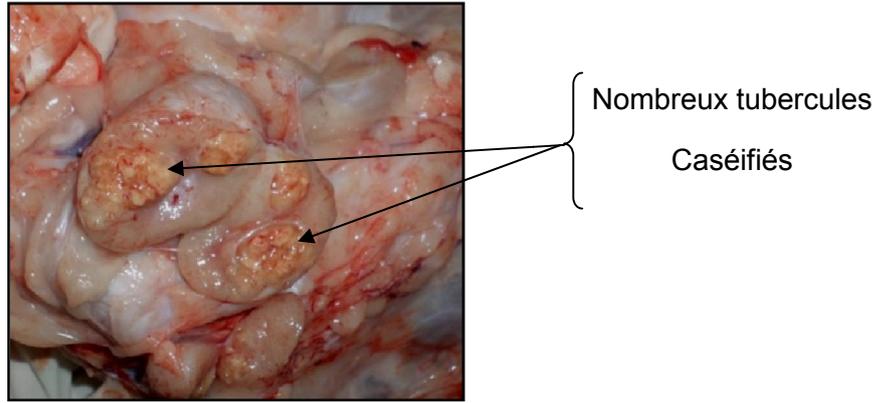


Figure 5.30 : Altérations tuberculeuses granulomateuses au niveau NL TBG.

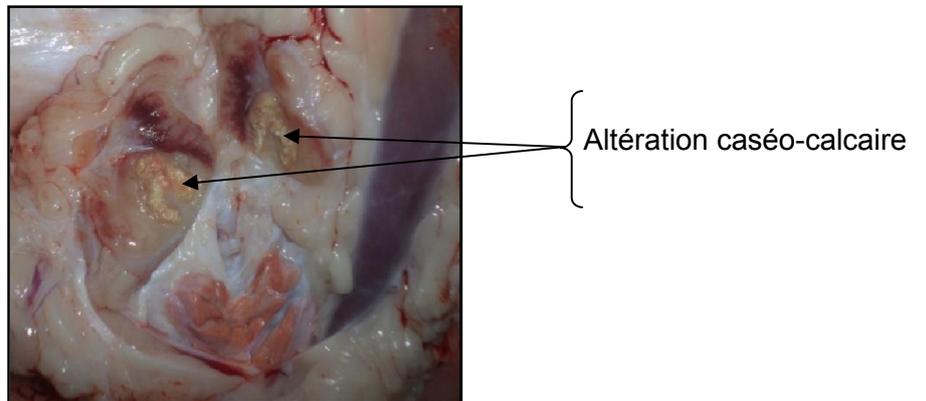


Figure 5.31 : Lésion caséo-calcaire au niveau NL TBG.

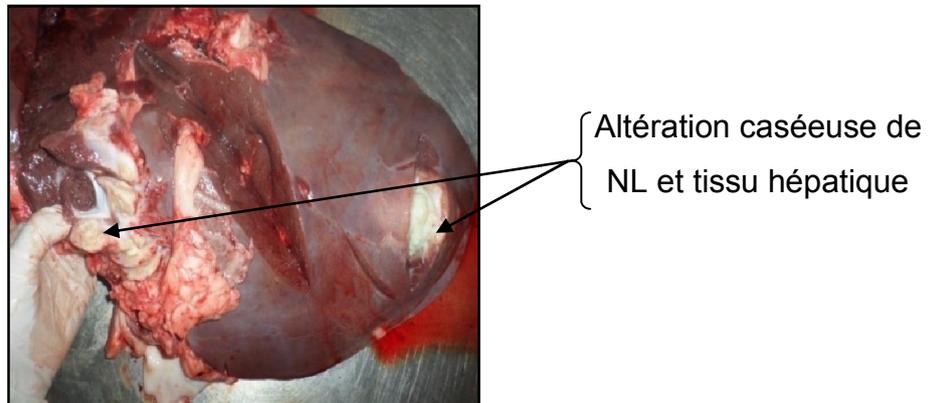


Figure 5.32 : Lésion caséuse de NL et tissu hépatique.

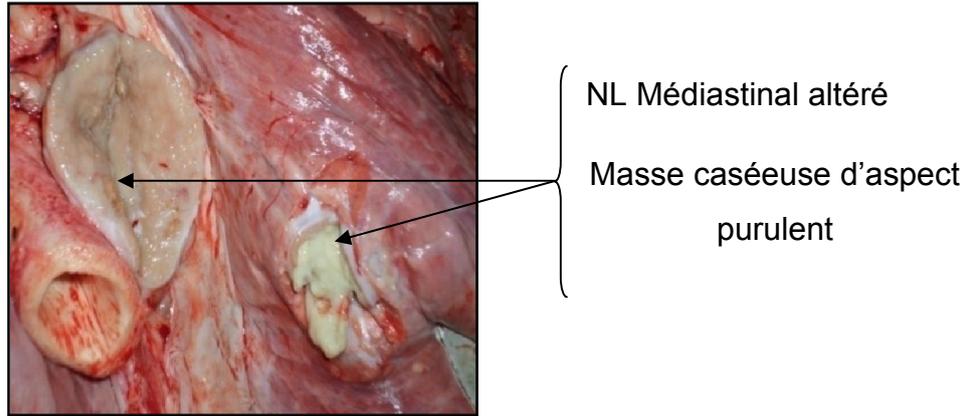


Figure 5.33 : Atteinte caséreuse de NL médiastinal et de tissu pulmonaire.

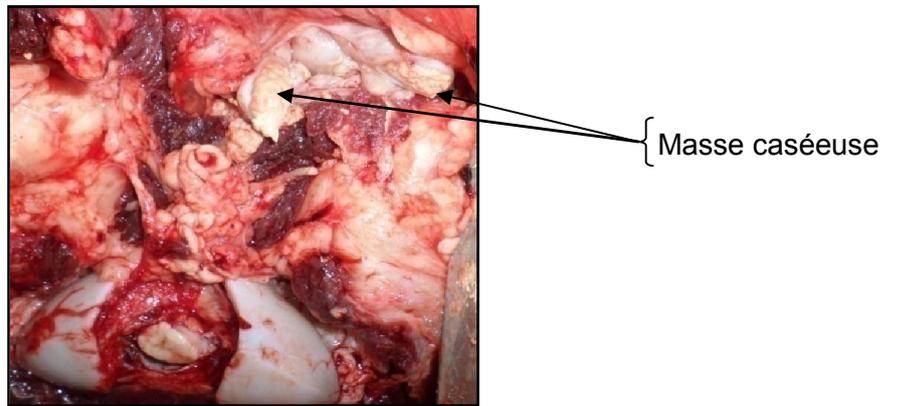


Figure 5.34 : Lésion caséreuse au niveau de NL rétro-pharyngien.

(Photos. Personnelle)

5.6.5. Résultats de l'examen bactériologique

1. Examen direct

Les résultats de la microscopie effectuée sur 40 échantillons sont rapportés dans le tableau (5.8).

Tableau 5.8 : Résultat de la bactérioscopie.

Bactérioscopie	Nombre d'échantillon	%
Positive	15	37,5
Négative	25	62,5
Total	40	100

Les résultats de la bactérioscopie montrent la présence de Bacilles Acido-Alcoolo-résistants dans 15 frottis sur un total de 40, soit un taux de positivité de 37,5%.

❖ Résultats de la microscopie par organe atteint de la tuberculose

Les résultats relatifs à la microscopie en fonction de la localisation de la lésion tuberculeuse sont illustrés dans le tableau (5.9).

Tableau 5.9: Taux de positivité de bactérioscopie par organe.

Echantillon	BAAR positifs	BAAR négatifs	Taux de positivité (%)
NL respiratoire	11	20	35,48
NL hépatique	00	03	0
NL de la Tête	00	02	00
Lésion généralisée	4	00	100
Total	15	25	37,5

L'examen direct des frottis confectionnés sur des lésions de tuberculose généralisée a révélé la présence des BAAR dans tous les frottis, soit un taux de

positivité de 100%, alors que 11 frottis positifs sont révélés sur des lésions respiratoires, soit un taux de positivité de 35,48%.

2. Culture bactérienne

Les résultats de la mise en culture des échantillons suspects de la tuberculose durant les 3 mois d'incubation sont rapportés dans le tableau (5.10).

Tableau 5.10: Résultat de la culture bactérienne.

Culture bactérienne	Nombre d'échantillon	%
Positive	31	77,5
Négative	05	12,5
Contaminée	04	10
Total	40	100

Les résultats synthétisés dans le tableau (5.10) montrent que 31 échantillons ont une culture positive (77,5%). Un taux plus faible pour les cultures négatives et contaminées 12,5 et 10% respectivement.

❖ Résultats d'isolement des mycobactéries par organe atteint de TBB

Les résultats relatifs à la culture bactérienne en fonction de la localisation de la lésion tuberculeuse sont illustrés dans le tableau (5.11).

Tableau 5.11: Pourcentage d'isolement des mycobactéries par organe.

Organe	Culture positive	Culture négative	Culture contaminée	Taux de positivité (%)
NL pulmonaire	25	03	03	80,64
NL hépatique	01	01	01	33,33
NL de la Tête	01	01	00	50
Lésion généralisée	04	00	00	100
Total	31	05	04	77,5

La majorité des mycobactéries ont été isolées à partir des lésions tuberculeuses généralisées (100%), et des NL pulmonaires (80,64%).

3. Identification phénotypique

Les résultats de l'identification phénotypique des mycobactéries isolées sont illustrés dans le tableau 5.12.

Tableau 5.12 : Résultats de l'identification des colonies isolées

Culture	Nombre	%
<i>M.bovis</i>	24	77,42
MNT	07	22,58
Total	31	100

Les résultats ont montré que 77,42% des souches identifiées étaient de *M.bovis* et 22,58% appartiennent aux mycobactéries non tuberculeuses (atypiques).

A l'issue des résultats précédents, nous avons pu développer un schéma récapitulatif des différentes étapes de la mise en évidence et identification des mycobactéries (Cf. Figure 5.35).

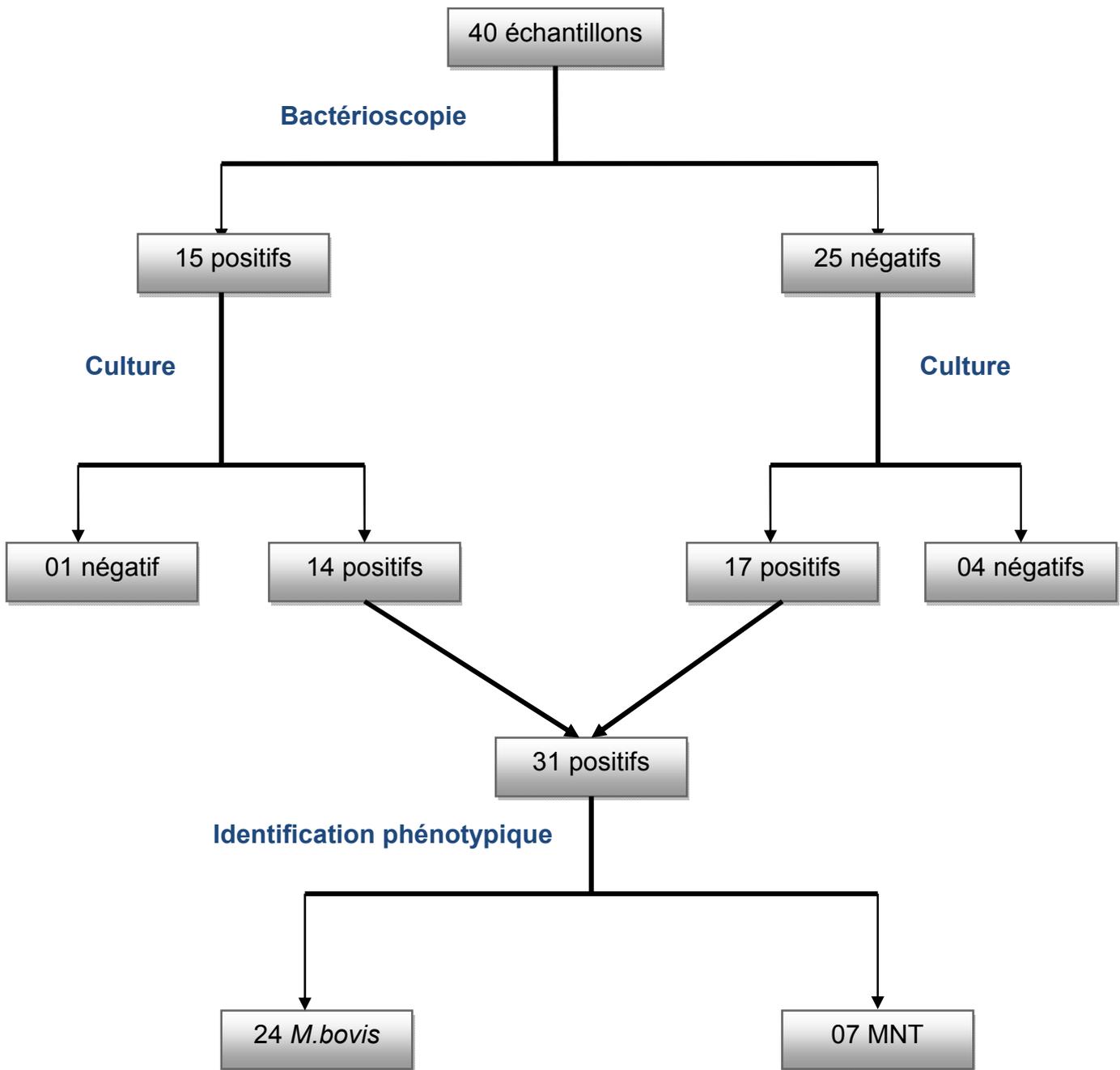


Figure 5.35 : Schéma récapitulatif des différentes étapes de la mise en évidence et l'identification des mycobactéries.

Discussion

L'inspection *post-mortem* menée sur 610 bovins montre la présence des lésions suspectes de TBB sur 40 carcasses, soit une proportion de 6,56%. Ce taux est comparable à celui rapporté dans les abattoirs de quelques pays d'Afrique, à savoir :

- 5,4% dans la région Ouest de l'Ethiopie [106] ;
- 5% à Ghana [107] ;
- 7,3 dans l'abattoir de Farcha au Tchad [108].

Par contre cette valeur est supérieure à celle signalée par SAHRAOUI et *al* en 2008 dans les abattoirs de Blida et d'Alger avec une proportion de 3,58% [6] et celle de KARDJADJ en 2011 dans l'abattoir d'Alger avec une proportion de 3,03% [9], mais également supérieure à celle rapporté dans quatre abattoirs de la région Nord-est de Nigéria (2,8%) [109] et en Ethiopie (2,7%) [110]. Néanmoins, nos résultats sont inférieurs à ceux de Tchad (11,86%) [111] et de l'Ethiopie (10,2%) [112].

Ces écarts relevés de la prévalence de TBB pourraient s'expliquer par la différence de nombres de bovins inspectés.

Les résultats de la répartition des cas suspects de la TBB dans les deux abattoirs montrent une différence significative ($p= 0,023 < 0,05$).

Celui de Sétif a enregistré le taux le plus élevé (10,71%) par rapport à l'abattoir de Kherrata, avec une proportion de 5,32%, cela pourrait être expliqué par :

- ✓ La différence dans le nombre d'animaux inspectés dans chaque abattoir (Cf. Tableau 5.1) ;
- ✓ La variabilité dans les facteurs influençant la proportion de la TBB (Cf. Tableaux 1 et 2, appendice E).

Facteurs de variation

Parmi les facteurs influençant la proportion de la TBB, nous avons pris en considération le sexe, l'âge, la race et l'état d'embonpoint.

Le sexe

Les résultats de notre étude, montrent que la proportion des cas suspects de TBB est étroitement liée au sexe, et que les femelles sont plus affectées (20,69%) par rapport aux mâles (5,85%). Après l'analyse statistique ($p=0,0016$), nous avons constaté cette différence de taux d'atteinte entre les deux sexes.

Ces valeurs confirment celles rapportées par d'autres auteurs [113] ; [9] ; [114] ; [108].

Cette prédominance d'atteinte des femelles par rapport aux mâles pourrait être expliquée par :

- ✓ La différence de l'âge d'abattage entre les deux sexes (interdiction d'abattage des femelles sauf à l'âge de réforme) ;
- ✓ Une sensibilité des femelles (gestation, parturition et lactation) aux maladies ;
- ✓ Les femelles ont une vie productive plus longue que les mâles [115] ; [116].

L'âge

La variable âge a été identifiée comme étant un important facteur de risque lié à la pathologie tuberculeuse [111].

De nombreux auteurs ont rapporté que la proportion de l'infection augmente avec l'âge [111] ; [3] ; [9], ce constat a été confirmé par nos résultats, en effet, les animaux âgés de moins de 2ans ont fourni la proportion la plus faible qui est de 2,55%, suivi des animaux ayant 2-5 ans avec une proportion de 15,15%. Cependant les animaux âgés de plus de 5 ans ont montré la proportion la plus élevée qui est de 28,57%.

L'analyse statistique montre cette différence d'atteinte tuberculeuse entre les différentes classes d'âge ($p=0,0001$).

Cette différence de sensibilité des animaux à la TBB pourrait être expliquée par la nature chronique de la maladie, les animaux infectés développent la maladie à un âge beaucoup plus avancé [117].

Cependant, ces résultats diffèrent à ceux rapportés par SAHRAOUI (2009), qui indique que les animaux ayant 2-5 ans sont les plus touchés [62]. Néanmoins, TEKLU et al [114] et LACKECH et al [118] rapportent une différence non significative entre les classes d'âge.

La race

A l'issue de notre étude, la proportion de TBB est plus élevée chez la race croisée (8,07%) par rapport à la race locale (3,98%).

Statistiquement, on déduit une différence de la proportion entre les deux races bovines ($p= 0, 048$). Nos résultats sont comparables aux résultats rapportés par FRIKRI [119] et BENATALLAH [120], qui indiquent que la race croisée est plus touchée que la race locale.

La différence peut être expliquée par la vocation de l'animal [47], c'est l'utilisation d'une race dans un type de production précis qu'est à prendre en compte [48], en plus la race locale est caractérisée par la rusticité, l'adaptation aux conditions difficiles et la résistante aux maladies [121].

L'état d'embonpoint

Dans notre étude, la proportion de la TBB est plus élevée chez les animaux ayant un état d'embonpoint mauvais (9,74%) par rapport aux animaux dont l'état d'embonpoint moyen (5,80%) et bon (2,38%).

Statistiquement aucune différence significative n'a été constaté entre l'état d'embonpoint des animaux et la présence des lésions ($p = 0,12$).

Le même constat a été signalé par d'autres auteurs [111] ; [122]. Cependant, ASSEGED et al ont trouvé une proportion plus élevée chez les animaux ayant un

état d'embonpoint bon (13,1%) par rapport aux animaux dont l'état d'embonpoint moyen (10%) et mauvais (11,8%) [123].

Cela pourrait s'expliquer par le fait que les signes cliniques de la maladie (dont amaigrissement) sont peu caractéristiques, en plus l'importance des lésions est peu corrélée avec l'intensité des manifestations observées [22]. Par conséquent, le diagnostic clinique de la tuberculose est très difficile.

Répartition des cas suspects de la TBB en fonction de leur type

Les résultats de notre étude, montrent que la majorité des cas suspects de TBB est de type localisé avec une proportion de 90%, mais il est important de signaler que l'atteinte généralisée est non négligeable avec une proportion de 10%. Ces valeurs sont semblables à celles obtenues par SCHELLING et *al* en 2005 au Tchad, dont la proportion de la tuberculose de type localisé est plus importante (84,22%) que celle du type généralisé (15,07%) [124].

Tuberculose localisée

Durant notre inspection des carcasses, nous avons signalé que les lésions tuberculeuses se localisent essentiellement dans l'appareil respiratoire (77,5%), suivi par une atteinte digestive (hépatique) avec un taux de 7,5%, cependant le taux le plus faible a été enregistré pour la tête (5%).

Nos résultats sont cohérents avec ceux rapportés par PROANO-PEREZ et *al* [125]. De nombreux auteurs ont rapporté que la localisation des lésions tuberculeuses est essentiellement respiratoire [6] ; [126] ; [106].

Cette prédominance de localisation des lésions pourrait s'expliquer par la pathogénie de *M.bovis* avec une contamination essentiellement faite par inhalation d'où une forte exposition du tractus respiratoire [127].

Fréquence d'atteinte des NL respiratoires

A l'issue de nos résultats, la plus grande fréquence d'atteinte tuberculeuse est signalée pour les NL TB (51,61%), suivi par une atteinte des NL M avec un pourcentage de 35,48%. Tandis que, 12,90% des bovins présentent des lésions concomitantes sur tous NL respiratoires.

Ces résultats sont semblables à ceux rapportés par SIENG MARIVAM (2011) [128] et par ASSEGED et al [54], qui confirment la prédominance d'atteinte de NL TB par rapport NL M.

Par ailleurs, des résultats différents ont été obtenus par plusieurs auteurs, qui indiquent que le NL M est plus atteint que NL TB [127] ; [129].

Examen direct

De nombreux auteurs, comme VINCENT VERONIQUE [94] ; GUILLET-CARUBA et al [75] ont signalé la faible sensibilité de la microscopie directe, car il faut un minimum de 10^4 bacilles/ ml de suspension pour obtenir un frottis positif. Ce constat a été vérifié au cours de notre étude et confirmé par nos résultats. La bactérioscopie de 40 échantillons a révélé 15 frottis positifs, soit un taux de positivité de 37,5%.

Cette valeur est proche à celle rapportée par plusieurs études [111] ; [107] ; [125].

Par ailleurs, ce taux est supérieur à celui obtenu par d'autres auteurs, en l'occurrence SAHRAOUI et al en 2008 avec un taux de 28,85% [6], CISSE et al en 2008 (22,11%) [126] et DIGUIMBAYE et al en 2006 (21,40%) [108]. Mais également, ce taux est inférieur à celui rapporté par SULIEMAN et HAMID en 2002 avec un taux de 53,3% [130] et KARDJADJ en 2011 avec un taux de 52,08% [9].

Cette différence de taux de positivité de la microscopie direct pourrait être expliquée par la subjectivité de la lecture et l'interprétation des résultats.

Culture bactérienne

La mise en culture de 40 échantillons a révélé 77,5% de culture positive, contre 12,5% de culture négative et 10% de culture contaminée.

Dans le même sens, ATIADÈVE SUMUAL et al (2014) ont obtenu un taux de positivité de 85,8%, contre 9% de culture négative et 5,2% de culture contaminée [107]. Concernant le taux de positivité, d'autres auteurs ont obtenu des résultats similaires [9] ; [131].

Cependant, ce taux est supérieur à celui rapporté par SAHRAOUI (2008) avec un taux positivité de 51,54% [6], CISSE et al (2008) avec un taux de 54,80% [126].

L'écart entre ces taux de positivité, pourrait être lié à la méthode de décontamination d'échantillon. D'ailleurs, dans le cas de prélèvements pluri-microbiens (le cas de nos prélèvements dans l'abattoir), la méthode de décontamination la plus utilisée est celle de Petroff à la soude [132].

Les résultats de la culture montrent l'isolement des mycobactéries dans 25 lésions respiratoires sur un total de 31, soit un taux de positivité de 80,64%, ce qui concorde avec les résultats de CISSE et al (2008) [126], d'autre part, ce taux de positivité affirme que la principale localisation de la TBB est pulmonaire. Cependant, la mise en culture de 4 lésions de tuberculose généralisée, a révélé une croissance pour la totalité des lésions, soit un taux de positivité de 100%, ce qui est en accord avec SIENG MARIVAM (2011) [128], qui indique que l'atteinte de plusieurs groupes des NL sur le même animal est fortement évocatrice de la tuberculose.

Les résultats de l'examen bactériologique montrent que le diagnostic de la tuberculose par la culture sur milieu de Lowenstein-Jensen est plus sensible que la bactérioscopie. Le même constat a été signalé par d'autres auteurs [126] ; [94] ; [107]. Cette différence de sensibilité pourrait être expliquée par la différence de seuil de détection qui est de 10^2 bacilles/ml d'échantillon biologique pour la culture, et de 10^4 bacilles/ ml d'échantillon biologique pour la microscopie [74].

Par ailleurs, un frottis positif à la microscopie n'a pas donné une culture positive, cela pourrait être dû au fait que les mycobactéries présentes dans cet échantillon étaient déjà mortes au moment de la mise en culture, ou la présence d'autres bactéries qui ne sont pas des mycobactéries mais appartenant toujours à l'ordre des *Actinomycétales* [115] ou encore l'absence des mycobactéries viables dans des lésions complètement calcifiées [6].

Les résultats de l'identification phénotypique des mycobactéries isolées montrent que la majorité des souches (77,42%) étaient de *M.bovis* contre 22,58% des mycobactéries non tuberculeuses. Des résultats similaires ont été obtenus par SAHRAOUI (2008) avec 86,57% des souches appartenant à *M.bovis* [6], et ceux obtenus par KARDJADJ (2011) qui a montré que 100% des souches isolées appartenant à *M.bovis* [9].

Par conséquent, l'infection tuberculeuse des bovins de la région Centre-Est est causée principalement par des souches appartenant à *M.bovis*, ce qui pourrait augmenter le risque de contamination de l'homme.

Conclusion

Les résultats de notre étude, nous ont permis de décrire et évaluer les cas suspects de la tuberculose bovine dans deux abattoirs de la région Centre-Est de l'Algérie.

En effet, la tuberculose bovine reste une pathologie très fréquente dans cette région avec une proportion de 6,56%, engendrant des pertes économiques énormes liées essentiellement aux saisies au niveau des abattoirs avec des implications de risques sur la santé publique.

L'inspection *post-mortem* a permis de décrire les lésions tuberculeuses (nature, type et localisation de ces lésions). Elle a aussi mis en évidence la présence de plusieurs facteurs influençant la proportion des cas suspects de TBB, parmi ces facteurs nous avons tenu compte, de l'âge, du sexe, et de la race. Par contre l'état d'embonpoint semble n'avoir aucun lien avec l'infection.

L'étude bactériologique a permis de confirmer les cas suspects de la TBB par : la bactérioscopie qui a révélé un faible pourcentage des BARR comparativement à la culture bactérienne. Tandis que l'identification phénotypique a montré que la majorité des souches isolées appartiennent à *M.bovis*.

Cette étude a pu confirmer l'existence de la TBB dans la région Centre-Est, mais également, elle a montré que les bovins de cette région sont plutôt affectés par *M.bovis* que par les mycobactéries non tuberculeuses.

RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES

Cette étude a permis de montrer la présence des déficits dans les programmes de surveillance et la lutte contre la tuberculose bovine dans notre pays. Sur la base de ces données, nous proposons quelques recommandations et perspectives afin d'améliorer le contrôle et la réduction de la prévalence de la maladie :

- Mise en place un système d'identification de tout le cheptel bovin, qui permet de retracer efficacement les troupeaux d'origine des animaux tuberculeux.
- Mise en œuvre régulière de l'IDR pour tout le cheptel bovin, suivie d'un abattage systématique des animaux positifs à ce test.
- Mise en place des ressources financières pour une indemnisation adéquate des éleveurs.
- Inspection rigoureuse des viandes dans les abattoirs, permettant une surveillance efficace de lésions suspectes de la TBB.
- Campagnes de sensibilisation des éleveurs, le personnel de l'abattoir et du grand public sur les dangers de la TBB et les pratiques d'hygiène et la pasteurisation de lait.
- Contrôle des déplacements du bétail.
- Réalisation des études bactériologiques de la TBB dans tout le territoire algérien, afin d'isoler et identifier les espèces mycobactériennes responsables de la maladie.
- Des enquêtes descriptives évaluant l'incidence de la tuberculose humaine à *M. bovis* doivent être envisagées, afin de montrer l'impact hygiénique de la TBB.
- Mise en place un système d'information sur la santé animale pour enregistrer les données pertinentes, pour suivre la situation épidémiologique de la maladie et pour élaborer des plans d'action adéquats et rentables.

APPENDICE A

LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS

AND: Acide Désoxyribonucléique
 ARN : Acide Ribonucléique
 ARR : Acido-Alcool-Résistance
 BAAR : Bacilles Acido-Alcool-Résistances
 BCG: Bacille Calmette et Guérin
 BK : Bacille de Koch
 C°: Degré Celsius
 CFU: Unité formant colonie
 CFP-10 : Culture Filtrate Protein
 CMT: Complexe *Mycobacterium tuberculosis*
 DR: Direct Repeats
 ELISA :Enzyme-Linked Immunosorbant assay
 ESAT-6 : Early Secretory Antigenic Target 6
 IDC : Intradermo-tuberculation comparative
 IDR : Intradermoréaction
 IDS: Intradermo-tuberculation simple
 IFN- γ : Interféron gamma
 IS: Séquence d'insertion
 LJ: Lowenstein-Jensen
M: Mycobacterium
 Mb :Million de bases
 MAC: *Mycobacterium avium intracellulaire*
 MGIT: Milieu *Mycobacteria growth indicator tube*
 MNT : Mycobactéries non tuberculeuses
 ml: Millilitre
 mm : Millimètre
 NL : Nœud lymphatique
 NL M: Médiastinaux

NL TB : Nœud lymphatique trachéo-bronchique

NL TBD: Trachéo-bronchique droit

NL TBG : Trachéo-bronchique gauche

Pb : Paire de bases

PCR: Polymérase Chain Réaction

PNB: Acide Para Nitro-Benzoïque

PPD : dérivé de protéines purifiées

RFLP: Polymorphisme de Longueur des Fragments de Restriction

SCTMR: Service de Control de la Tuberculose et les Maladies Respiratoires

TBB : Tuberculose bovine

TCH : Hydrazide de l'acide Thiophène 2 Carboxylique

µg : Microgramme

µm : Micromètre

VNTR : Variable Number Tandem Repeats

ZN: Ziehl-Neelsen

APPENDICE B

FICHE SIGNALITIQUE DES ANIMAUX ABATTUS

Abattoir <input type="text"/>	Date <input type="text"/>
N° de l'animal <input type="text"/>	
Sexe : <input type="text"/>	
Age: <input type="text"/>	
Race : <input type="text"/>	
Etat d'embonpoint: <input type="text"/>	
Partie atteinte : <input type="text"/>	
Nature de lésion : <input type="text"/>	
Type de tuberculose : <input type="text"/>	
Numéro du pot de prélèvement	

APPENDICE C

LESIONS SUSPECTES DE TUBERCULOSE BOVINE

(Photos. Personnelle)

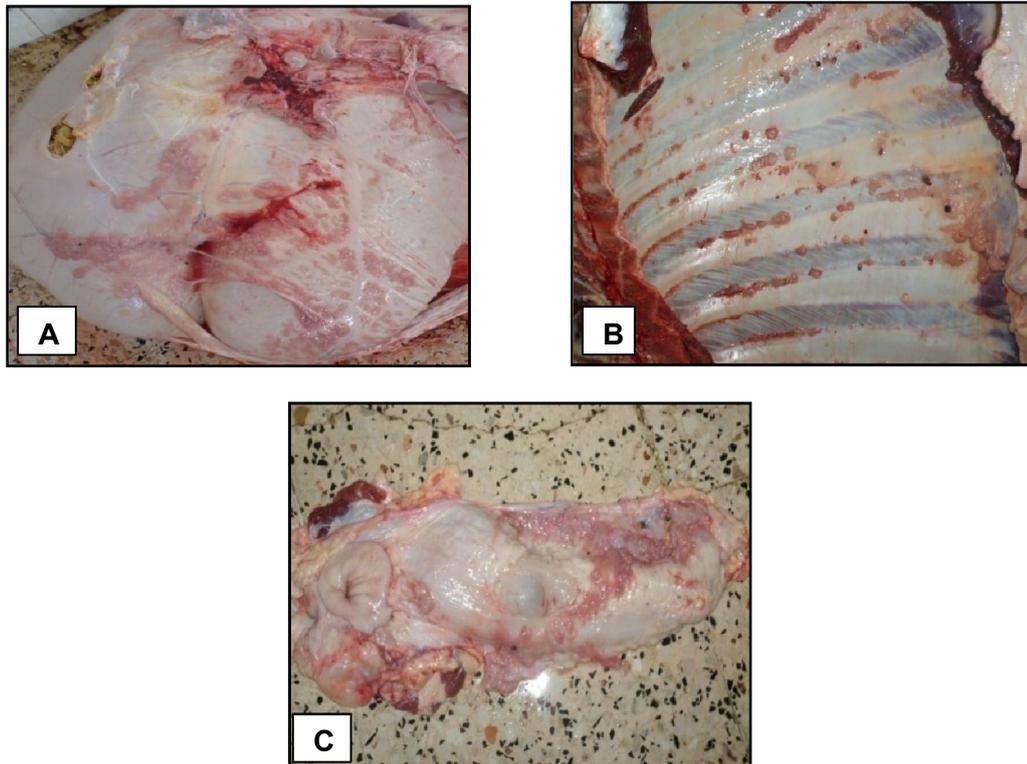
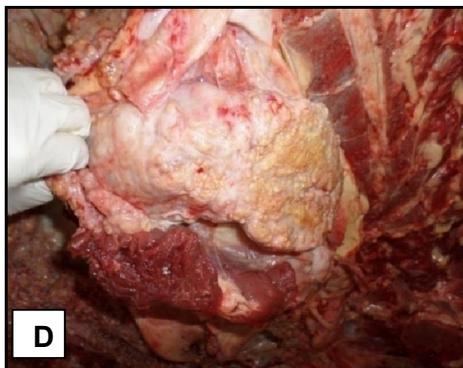


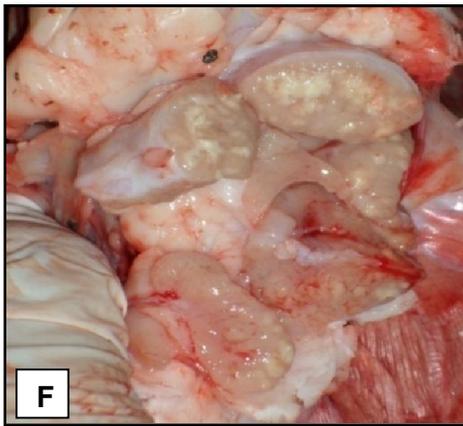
Figure : (A), (B) et (C) Lésion tuberculeuse miliaire sur appareil digestif, cage thoracique et appareil génital femelle, respectivement.



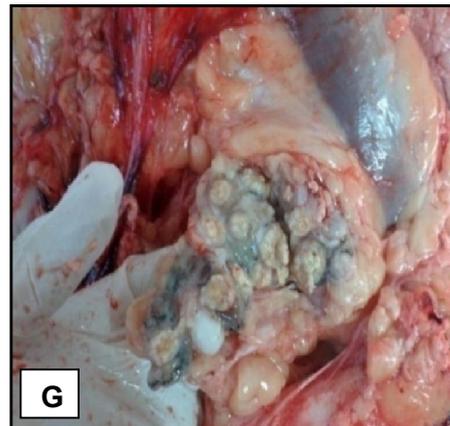
D : Masse caséuse pulmonaire.



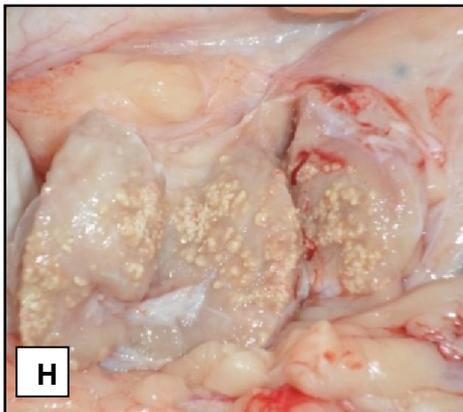
E: Lésion tuberculeuse péribronchovascular pulmonaire.



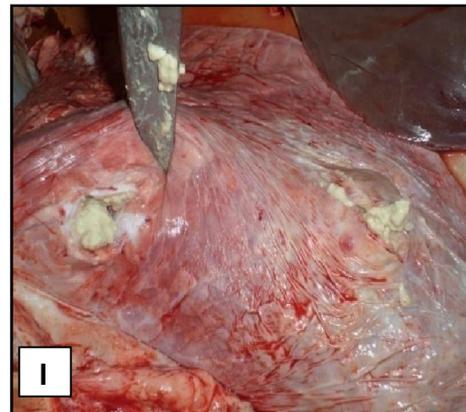
F : Tubercules de couleur blanc -jaunâtre.



G : Nodules tuberculeux gris-verdâtre.



H : Lésion tuberculeuse caséo-calcaire



I : Lésion caséuse d'aspect purulent

APPENDICE D**EXPRESSION QUANTITATIVE DES RESULTATS DE LA BACILLO-SCOPIE**

Nombre de BAAR	Champs microscopique	Résultat
0	300 champs	Négative
0 à 2	300 champs	Douteux
1 à 10	100 champs	+
1 à 10	10 champs	++
1 à 10	1champ	+++
Plus de 10	1 champ	++++

APPENDICE E

REPARTITION DES ANIMAUX ABATTUS DANS CHAQUE ABATTOIR EN FONCTION DE : AGE, RACE, SEXE, EMBONPOINT

Tableau 1: Animaux abattus au niveau de l'abattoir de Kherrata.

Abattoir 1 (Kherrata)										
	Sexe		Age			Race		Embonpoint		
	Mâle	femelle	<2 ans	2-5ans	>5 ans	Locale	croisée	Mauvais	Moyen	Bon
Effectif	470	00	347	123	00	198	272	110	327	33
Lésion	25 100%	00 (0%)	07 2,02	17 13,82	00 (0%)	06 3,03	19 6,98	07 6,36	18 5,50	00 (0%)

Tableau 2: Animaux abattus au niveau de l'abattoir de Sétif.

Abattoir 2 (Sétif)										
	Sexe		Age			Race		Embonpoint		
	Mâle	femelle	<2 ans	2-5ans	>5 ans	Locale	croisée	Mauvais	Moyen	Bon
Effectif	111	29	84	42	14	28	112	44	87	09
Lésion	09 8,11%	06 20,69	04 4,76	08 19,05	04 28,57	03 10,71	12 10,71	08 18,18	06 6,90	01 11,11

REFERENCES

1. Communauté Économique des États de l'Afrique de l'Ouest (CEDEAO), Club du sahel de l'Afrique de l'Ouest (CSAO) / Organisation de Coopération et de développement économique(OCDE), “ Élevage et marché régionale au Sahel et en Afrique de l'ouest, Potentialités et défis”, Paris. Édition. CSAO / OCDE, (2008), 162 p.
2. Berrada, J., Barjas-Rojas, J.A., “Control of bovine tuberculosis in developing countries. In *Mycobacterium tuberculosis* infection in animals and humans”, (Thoen,C.O et Steel,J.H, eds), Iowa State University Press, Ames, (1995),117 – 162.
3. Boukary, A.R., Thyse, E., Mamadou, S., Rigouts, L., Matthyse,F., Vias-Franck, S.G., Gamatie, D.,Yenikoye,A., Saegerman, C., “La tuberculose à *M.bovis* en Afrique subsaharienne”, Ann.méd.Vet, V.155, (2011), 23-37.
4. EMPRES Bulletin des maladies animales transfrontières”, FAO Division de la production et la santé animales, n° 40, (2012) ,2-10.
- 5.Cosivi,O., Grange, J.M., Daborn, C.J., Raviglione, M.C., Fujikurat,T., Cousins, D., Robinson, R.A., Huchzermeyer,H.F.A.K., De Kantor, I., Meslin, F.X., “Zoonotic tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in developing countries”, Emerg. Infect. Dis, V.4, (1998), 59-70.
6. Sahraoui, N., Muller, B., Yala, D., Ouzrout, R., Zinsstag, J., Boulahbal, F., Guetarni D., “Investigation about the bovine tuberculosis in two Algerian slaughterhouses”, African Journal of Agricultural Research, Vol. 3, n°11 (2008), p. 775-778.

7. DSV, Direction des Services Vétérinaires., “Données de la tuberculose bovine de 1995-2011 en Algérie”, Ministère de l’Agriculture et du Développement Rural, (2012).
8. 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”, *Epidémiologie et santé animale*, Vol.57, (2010), 147-154.
9. Kardjadj, M., “ Prévalence des lésions tuberculeuses chez les carcasses bovines à l’abattoir d’El-Harrach, et isolement et identification des mycobactéries de complex tuberculosis (MTC) en cause ”, Mémoire de magistère en science vétérinaire, Alger, ENSV, (2011) ,73p.
10. Annetti, Nigisch., Anne, Luginbuhl., Alexandera, Briner., Dominique, Suter., “Manuel de dépistage de la tuberculose bovine : anomalies détectables lors du contrôle des viandes”, Office fédérale de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires (OSAV), 303 Berne, Suisse, (janvier 2014), 40 p.
11. Bénard, G., “Les viandes tuberculeuses”, cours de l’école nationale vétérinaire de Toulouse, (2007).
12. Crubézy, E.B., Ludes, J.D., Poveda, J., Clayton, B., Crouau-Roy., Montagnon, D., “Identification of *mycobacterium* DNA in an Egyptian potts disease of 5400 years old ”, *CR. Acad.sci, Paris* 321, (1998), 941-951.
13. Zink, A.R., Sola, C., Reichl, U., Brabner; W., Rastogi, N., Wolf, H., Nerlich, A.G., “Characterization of *Mycobacterium tuberculosis complex* DNAs from Egyptian mummies by spoligotyping”, *J.clin. Microbiol*, (2003), 356-367.
14. Bénet, J.J., “La tuberculose animale”, polycopié des unités de maladies contagieuses des écoles vétérinaires françaises, Mériat, (2009), 76p.

15. New Jersey Medical School National Tuberculosis Centers., "Brief history of tuberculosis", www.umdnj.edu/nbcweb/history.htm, (1996).
16. Daniel, T.M., "The history of tuberculosis", *Respir Med*, V.100, (2006), 1862-1870.
17. Koch, R., "The etiology of tuberculosis by Dr. Robert Koch", *Zentralbl bakteriol microbial Hyg [A]*. V.19, n° 251, (1882), 287-296.
18. Bénet, J.J., « La tuberculose animale », polycopié des unités de maladies contagieuses des écoles vétérinaires françaises, Merial, (2008), 74p.
19. Gallagher, J., Jenkins, P.A., "Mycobacterial diseases in: zoonoses, biology, clinical practice, and public health control", Oxford university press, (1998).
20. Guiard, I., "Synthèse des antigènes présentés par la protéine CD1, analogue des sulfoglycolipides diacylés mycobactériens vers un nouveau vaccin contre la tuberculose", thèse de doctorat en chimie organique, Toulouse, université Paul Sabatier, (2008), 191 p.
21. Steven, L., Percival., David, W., Williams., "Microbiology of waterborne diseases", chapter nine: *Mycobacterium*, Elsevier Ltd, (2014), 177-196.
22. Bénet, J.J., Praud, A., et al., "La tuberculose animale", polycopié des unités de maladies contagieuses des écoles vétérinaires françaises, Merial (Lyon), (juillet 2014), 100p.
23. Bénet, J.J., "La tuberculose animale", Maisons-Alfort, France, Ecole nationale vétérinaire, (2006), 76 p.
24. Dufour, B., Bénet, J.J., "L'infection à *Mycobacterium bovis* en France en 2014 : recrudescence et inquiétudes", Elsevier Masson SAS, n° 472, (Mai 2015), 67-75.
25. Bénet, J.J., "La tuberculose", polycopié des unités de maladies contagieuses des écoles vétérinaires françaises, Merial, (2004).

26. Rojas-Espinosa, O., Lovik, M., “*Mycobacterium leprae* and *M. lepraemurium* infections in domestic and wild animals”, Rev. off. Int. Epizoot, V.20, n° 1, (2001), 219-251.
27. Garnier., Eiglmeier, T.K., Camus, J.C., Medina, N., Mansoor, H., Pryor, M., Duthoy, S., et al “The complete genome sequence of *Mycobacterium bovis*”, Proc Natl Acad sci USA, V.100, (2003), 7877-7882.
28. Smith, N.H., Hewinson, R.G., Kremer, K., Brosch, R., Gordon, S.V., “Myths and misconceptions: the origin and evolution of *Mycobacterium tuberculosis*”, Nat Rev Microbiol, V.7, (2009), 537-544.
29. Haddad, N., André-Fontaine, G., Artois, M., Augustin, J.C., Bastian, S., Bénet, J.J., Cerf, O., Dufour, B., Eloit, M., Lacheretz, A., Picavet, D.P., Prave, M., “Les zoonoses des unités de maladies contagieuses des écoles vétérinaires françaises” , Mérial (Lyon), (juillet 2012), 201p.
30. Truman, R., “Leprosy in wild animals”, Lepr.Rev.V.76, n° 3, (2005), 198-208.
31. Vijayaraghavan, R., “Nine-banded armadillo as a natural animal model for leprosy (Hansen’s disease)”, Scand.J.Lab.Anim.sci.V.36, n° 2, (2009), 167-176.
32. DCM 1: “Bactériologies: Mycobactéries”, chapitre: 12, université Paris: faculté de médecine Pierre et Marie Curie, (2003), 103-109.
33. Vincent, V., “Taxonomie des mycobactéries”, Revue Française des laboratoires, n° 273, (février 1995), 27-31.
34. CDC: Centers for Disease Control and prevention, division of tuberculosis elimination”, [<http://www.cdc.gov/tb/>], 2007.
35. Coetzer, J.A.W., Tustin, R.C., “Infections diseases of livestock”, chapter Mycobacteria-introduction, section 5 bacterial diseases, Oxford editorial, V.3, n° 2, (2004), 1965-1972.
36. Leclerc, H., Gaillard, J.L., Simonet, M., “Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien”, Vélizy : Doin éditeurs, V.1, (1995), 535 p.

37. Anonyme : <http://Fr.Wikipédia.org/WIKI/Microbiologie>.
38. Denis, F., Bingen, F., Martin, C., “Bactériologie médicale, techniques usuels”, 2^{ème} édition, (2011), 16-21.
39. Haddad, N., Durand, B., “Intérêt et limites des différentes techniques de caractérisation des isolats exemple de la tuberculose”, in épidémiologie santé animale, V.39, (2001), 43-57.
40. Thorel, M.F., Lefèvre, P.C., Blancou, J., Chermette, R., Vilonberg, G., “Tuberculose principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail”, chapitre 75, (2003), 927-949.
41. Bougoin, A., Agius, G., “Le point sur les méthodes classiques d’identification des mycobactéries”, Revue française des laboratoires, n° 273, (février 1995), 22-27.
42. Gianpaglia, C.M.S., Martin, M.C., Inumaru, V.T.G., Butuem, I.V., Tells, M.A.S., “Evaluation of rapid differentiation test for the *mycobacterium tuberculosis* complex by selective inhibition with p. nitrobenzoic acid thiophene-2-carboxylic acid hydrazid”, INT.J.Tuberc.lung.Dis, V.9,n° 2, (2005), 206-209.
43. Avril, J.L., Dabernat, H., Denis, F., Menteil, H., “Bactériologie clinique”, édition ellipses, (2003), 534 p.
44. Bénet, J.J., Praud, A., et al. “La tuberculose animale polycopie des unités de maladies contagieuses des écoles nationales vétérinaires françaises”, Merial (Lyon), (2013), 100 p.
45. Carlton, L., Gyles, John, F., Prescott, J., Glenn, Songer., Charles, O., Thoen., “Pathogenesis of bacterial infections in animals”, Blackwell Publishing, third edition, (2004), 69-73.
46. Menzies, F.D., Neill, S.D., “Cattle-to-cattle transmission of bovine tuberculosis”, Vet. J, V.160, (2000), 92-106.
47. Skuce, R.A., Allen, A.R., Mcdowell, S.W.J., “Bovine tuberculosis (TB): a review of cattle-to-cattle transmission, risk factors and susceptibility”, copyright agri-food and biosciences institute, (October 2011), 167p.

48. Humblet, M.F., Boschioli, M.L., Saegerman, C., "Classification of worldwide bovine tuberculosis risk factors in cattle: a stratified approach", *Vet. Res*, V.40, (2009), 50 p.
49. Neill, M.F., "Pathogenesis of tuberculosis in cattle", V.81, n° 2, (2001), 79-86.
50. Pollock, J.M., Pollock, D.A., Campbell, D.G, Girvin, R.M., Crockard, A.D., et al., "Dynamic changes in circulating and antigen responsive T-cell subpopulations post-M.bovis infection in cattle immunology", V.87, (1996), 236-241.
51. Cécile, Beauvillain., Pascade, Jeannin., Gilles, Renier., Alain, Chevaller., "Apports des tests de quantification de la libération d'Interféron gamma par les lymphocytes T sensibilisés pour le diagnostic des infections tuberculeuses", *Revue Francophone des laboratoires*, n°410, (Mars 2009), 34-39.
52. Gourreau, J.M., Bendali, F., Claudius, T., "Maladies des bovins", 4^{ème} édition, (Février 2008), 84-87.
53. Watrelot-Virieux, D., Drevon-Gaillet, E., Toussaint, Y., Belli, P., "Comparaison of three diagnostic detection methods for tuberculosis French cattle", *J. Vet. Med. B infects. Dis. Vet. Public health*, V.53, n° 7, (2006), 321-325.
54. Charles, O., Thoen, Tames, H., Steele., John, B., Kaneene., " Zoonotic tuberculosis: *Mycobacterium bovis* and other pathogenic Mycobacteria", third edition, (2014), Chapter 1,3,5,5,7,8 et 10 .
55. Pasquali, P., "Infections au VIH et zoonoses", Istituto superiore di sanita, Rome, Italie, (2007), 7-8.
56. OIE, World Animal Health Information Database (WAHID), Interface, Office International des Epizooties (OIE), (2013), [http: WWW.oie.int.fr](http://WWW.oie.int.fr).
57. Benkirane, A., "Bovine tuberculosis in Africa", *World Anim. Rev*, V.90, (1998), 54-56.
58. Veterinary Public Health Unit "Report of the WHO working group on Zoonotic tuberculosis *Mycobacterium bovis*: Memorandum from WHO meeting (with the participation of FAO)", *Bull WHO*, V.72, (1994), 851-857.

59. Bendali, F., "La conception et la mise en œuvre de programmes d'épidémiologie et de surveillance efficaces dans les pays d'Afrique subsaharienne", Rev. Sci. Tech. off. Int. Epiz, V.25, n° 1, (2006), 199-209.
60. Kardjadj, M., Yala, D., "Situation épidémiologique de la tuberculose bovine dans le cheptel identifié en Algérie (1995-2009)" 3^{ème} journée animale (U.S.D.B), (21-22 Novembre 2010).
61. Zouyed, I., Abdeldjalil, M.C., Beghoul, S., " Prophylaxie de la tuberculose bovine au niveau de la wilaya de Constantine : étude critiques des programmes en vigueur ", livre de résumé de 7^{èmes} journées des sciences vétérinaires (ENSV), (18-19 avril 2009), 38p.
62. Sahraoui N., "La tuberculose bovine et son impact sur la santé humaine", Thèse de doctorat, Institut des sciences vétérinaires (Taref), (2009) ,155p.
63. De lisle, G.W., Mackintosh, C.G., Bengis, R.G., "*Mycobacterium bovis* in free-living and captive wildlife, including farmed deer", Rev. sci. Tech. off. Int. Epiz, V.20, (2001), 86-111.
64. Orme, I.M., "The potential for a more effective TB vaccine", Mol Med Today, V.5, (November 1999), 487- 492.
65. Hars, J., Boschioli, M.L., Richomme, C., "La tuberculose bovine dans la faune sauvage en France", in Bulletin épidémiologique, spécial zoonose, n° 38, (2011), 28-31.
66. Phillips, C.J.C., Foster, C.R.W., Morris, P.A., Teverson, R., "The transmission of *M.bovis* infection to cattle", Rev.Vet. Sci, V.74, (2003), 1-15.
67. Costello, E., Doherty, M.L., Monaghan, M.L., Quigley, F.C., O'Reilly, P.F., "A study of cattle-to-cattle transmission of *Mycobacterium bovis* infection", the veterinary journal, V.155, (1998), 245-250.

68. Bénet, J.J., “La tuberculose bovine : un combat efficace d’un demi-siècle”, poster n°3, musée de science biologique, docteur Mérieux.
69. Cousins, D.V., “*Mycobacterium bovis* infection and control in domestic livestock”, Rev. sci. Tech. off. Int. Epiz, V.20, n°1, (2001), 71-85.
70. Griffin, J.M., Martin, S.W., Thorburn, M.A., Eves, J.A., 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”, Preventive veterinary medicine, V.27, n° (3-4), (1996), 217-229. 70.
71. OIE, Office International des Epizooties, “ La tuberculose bovine, chapitre 2.3.3”, Manuel terrestre de l’OIE, (2005).
72. Cedemio, I., De Obaldia, R., Sanjur, O., Bayard, V., Ortegabarria, E., Escobar, C., “Use of the polymerase chain reaction for diagnosing bovine tuberculosis in Panama”, Rev.Sci.Tech.Off.Int.Epiz, V.24, n° 3, (2004), 1073 p.
73. Moyen, J.L., Brugerc, L., Faye, S., Boschioli, M.L., “Utilisation de la PCR pour le diagnostic de la tuberculose bovine”, Point.Vét. Expert rural, V.42, n° 312, (2011), 68-72.
74. Varello, K., Pezzolato, M., Mascarino, D., Ingravalle, F., Carramelli, M., Bozzetta, E., “Comparaison of histologic techniques for the diagnosis of bovine tuberculosis in the framework of eradication programs”, J.Vet. Diagn. Invest, V.20, (2008), 164-169.
75. Guillet-Caruba, C., Mrtinez, V., Doucet-Populaire, F., “Les nouveaux outils de diagnostic microbiologique de la tuberculose maladie”, Elsevier Masson SAS, Rev.Med.Interne, (2014), 7p.
76. Carbonnelle, B., Carpentier, E., “Diagnostic bactériologique de la tuberculose : hiérarchisation actuelle des méthodes”, Rev.Med.Interne, Elsevier, Paris, V.16, (1995), 518-523.
77. Truffot-Pernot, C., Véziris, N., Sougakoff, W., “Diagnostic modern de la tuberculose”, Press Med, Elsevier Masson SAS, V.35, (2006), 1739-46.

78. Grosset, J., Boisvert, H., Truffot-Pernot, C., "Mycobactéries In: Bactériologie médicale", le Minor, L., Vernon Meds, Flammarion, Paris, (1990), 965-1017.
79. Nolte, F.S., Metchock, B., "*Mycobacterium*. In: Manual of clinical microbiology, chapter 34, 6th ed", American Society for microbiology, Washington DC, 1995, 400-437.
80. Grosset, J., "Place des examens microbiologiques et anatomopathologiques dans la décision diagnostique et thérapeutique", Med.Mal.Infect, V.25, (1995), 327-33.
81. Otto, Brandli., Prod'hom, G., Thierry, Rochat., Jean-Pierre, Zellweger., "Clinique et diagnostic de la tuberculose", Forum Med Suisse, n° 21, (Mai 2003), 492-497.
82. Denis, F., Martin, C., "Bactériologie médicale : techniques usuels", Masson, V.34, (2007) ,467-488.
83. Ngandolo, B.N., " Diagnostic et Epidémiologie 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.
84. Gravet, A., Souillard, N., Habermacher, J., Moser, A., Lohmann,C., Schmitt, F., Delarbre, J.M., " La culture et l'antibiogramme de mycobactéries sur automate Versa TREK", Elsevier Masson SAS, V.59, (2011), 32-38.
85. Freney, J., Renaud, F., Leclerq, R., Riegel, P., "Précis de bactériologie clinique", Paris, editions ESKA, (2007), 1274 p.
86. Carbonelle, B.,Dailloux, M.,Lebrun, L .,Maugein, J.,Pernot ,C., et al., "Mycobactéries et mycobactérioses-cahier de formation de biologie médicale", n°29, (2003) ,14-70.
87. Brisson-Noel, A., Aznar,C., Chureau,C., Nguyen, S., Pierre, C., et colle., "Diagnostic of tuberculosis by DNA amplification in clinical practice evaluation", Lancet,V.338, (1991), 364-366.

88. Collet, C., Simonney, N., Honoré-Bouakline, S., Wagnier, A., Lagrange, P.H, Herrmam, J.L., "Tuberculose et diagnostic rapide : Avancées ou échecs ? ", Editions Sci et Med Elsevier SAS, V.18, (2003), 283-288.
89. Boddinhaus, B., Rogall, T., Flohr, T., Blocker, H., Bottger, E.C., "Detection and identification of Mycobacteria by amplification of rRNA", Journal of clinical microbiology, V.28, (1990), 1751-1759.
90. Hénault, S., Karoui, C., Boschioli, M.L., "A PCR-based method for tuberculosis detection in wildlife", in developments in biological, V.126, (2006), 123-132.
91. Nicoletta, Lari., Nicola, Bimbi., Laura, Rindi., Enrico, Tortoli., Carlo, Garzelli., "Genetic diversity of human isolates of *M.bovis* assessed by spoligotyping and variable Number Tandem Repeat genotyping", Elsevier B.V. Infection, genetics and evolution, V.11, (2011), 175-180.
92. Vincent, V., Gutierrez, M.C., "Apport épidémiologique du typage moléculaire des bacilles de la tuberculose", Elsevier SAS, Médecine et maladies infectieuses, V.33, (2003), 159-166.
93. Hewinson, R.G., Vordermeier, H.M., Smith, N.H., Gordon; S.V., "Recent advances in our knowledge of *M.bovis*: a feeling for the organism", Vet Microbiol, V.112, 127-139.
94. Vincent, V., "Diagnostic bactériologique de la tuberculose", Elsevier Masson SAS, (Février 2013), 38-43.
95. Mishra, A., Singhal, A., Chauhan, D.S., Katoch, V.M., Srivastava, K., Thakral, S.S et al., "Direct detection and identification of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium bovis* in bovine samples by a novel nested PCR assay: correlation with conventional techniques", Journal of clinical microbiology, V.43, (2005), 5670-5678.

96. De la Rúa-Domenech, R., Goodchild, A.T., Vordermeier, H.M., Hewinson, R.G., Christiansen, K.H et al., “Ante mortem diagnosis of tuberculosis in cattle: a review of the tuberculin tests γ -interferon assay and other ancillary diagnostic techniques”, *Res.Vet.Sci*, V.81, (2006), 190-210.
97. Office international des epizooties (OIE), bovine tuberculosis, in manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals, Paris France, n° 5, (2006).
98. OIE, Office International des Epizooties, 2009. Chapter 2,4 ,7 . Bovine tuberculosis .OIE Terrestrial Manual.
99. Heym, B., Chinet, T., “Méthodes diagnostiques de l’infection tuberculeuse en 2007 : intradermoréaction à la tuberculine ou interféron γ ? ”, Elsevier Masson SAS, V.28, n °3, (2007), 147-150.
100. Pollock, J.M., Girvin,R.M., Lightbody,K.A., Clements,R.A.,Neill,S.D., et *al.* “Assessment of defined antigens for the diagnosis of bovine tuberculosis in skin test-reactor cattle”, *Vet. Rec.*, V.146, (2000), 659–665.
101. Abebe, F., Holm-Hansen, C., Wiker, H.G., Bjune, G., “Progress of serodiagnosis of *M.tuberculosis* infection”, In: *Scandinavian journal of immunology*, V.66, (2007), 176-191.
102. Bulletin, Association des anciens élèves de l’institut Pasteur., “Tuberculose et autres mycobactérioses”, OPAS-RCS, Paris, V.51, n°201, (décembre 2009), 52p.
103. Berdah, D., “La vaccination des bovidés contre la tuberculose en France, 1921-1963:entre modèle épistémique et alternative à l’abattage”. *Revue d’études en Agriculture et environnement*, Vol.91, n°4, (2010), 393-415.
104. Perrine, M., “Evolution de la situation épidémiologique de la tuberculose bovine en Cote D’OR 2009 à 2013”, Université Claude-Bernard (Lyon), (Juillet 2014), thèse d’Etat de Doctorat vétérinaire, p134.

105. Courcoul,A.,Moutou,F., Vialiard,J., “Rapport d’expertise sur la tuberculose bovine en Côte d’Or et Dordogne”, ANSES, (2012), 32p.
106. Tigre, W., Alemayehu, G., Abetu, T., Ameni, G., “Preliminary study on the epidemiology of bovine tuberculosis in Jimma town and its surroundings, southwestern Ethiopia”, African Journal of Microbiology Research, Vol.6, n°11, (2012), 2591-2597.
107. Atiadeve, S.K., Gyamfi, O.K., Mak-Mensah,E., Galyuon,I.K.A., Owusu,D., Bonsu,F.A., Bedzra,K.D, Gyasi,R.K., “Slaughter surveillance for tuberculosis among cattle in three metropolitan abattoirs in Ghana”, J. Vet. Med. Anim. Health, V.6, n°7, (July 2014), 198-207.
108. Diguimbaye–Djaibé, C.,Hilty, M.,Ngandolo, R.,Mahamat, H.H.,Pfyffer, G.,Baggi, F.,Tanner, M.,Zinsstag, J. ,Schelling, E., “*Mycobacterium bovis* isolates from tuberculosis lesion in Chadian zebu carcasses”, Emerg Infect Dis, Vol.12, n°5 (2006),769-71.
109. Igbokwe, I.O.,Madaki, I.Y.,Danburam, S.,Ameh, J.A.,Aliyu, M.M.,Nwosu, C.O., “Prevalence of pulmonary tuberculous lesions in cattle slaughtered in abattoirs in Northeastern Nigeria”, Revue. Elev.Méd.vét.Pays trop., Vol.54, n°3-4, (2001), 191-195.
110. Bekele, M., and Belay, I., “Evaluation of routine meat inspection procedure to detect bovine tuberculosis suggestive lesions in Jimma Municipal Abattoir, south west Ethiopia”, Glob Veterinaria. V. 6, n°2, (2011), 172–179.
111. Ngandolo,B.N., Diguimbaye-Djaibé,C.,Müller,B.,Didi,L.M. Hilty, L.M., Schiller,I.,Schelling,E., Mobeal,B., Toguebaye,B.S., Akakpo, A.J., Zinsstag,J., “Diagnostic ante et post mortem de la tuberculose bovine au sud du Tchad : cas des bovins destinés à l’abattage”, Revue. Elev .Méd .Vét .Pays trop, V.62.n°1, (2009), 5-12.

112. Biffa, D., Asseged, B., and Skjerve, E., "Diagnostic efficiency of abattoir meat inspection service in Ethiopia to detect carcasses infected with *Mycobacterium bovis*: implications for public health", *BioMed Central* V.10, n°462, (2010), 10.1186/1471-2458-10-462.
113. Yacob, H.T., Basu, A.K., Guesh, N., "Bovine pulmonary tuberculosis at Bahir Dar municipality abattoir Ethiopia", *Bulletin of animal health and production in Africa*, Vol.56, n°3, (2008).
114. Boussini, H., Traoré, A., Tramboura, H.H., Bessin, R., Boly, H., Ouédraogo, A. "La prévalence de la tuberculose et de la brucellose dans les élevages bovins laitiers intra-urbains et périurbains de la ville d'Ouagadougou au Burkina Faso", *Rev.Sci.Tech.Int.Epiz*, V.31, n°3, (2012), 943-951.
115. 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, n°3, (2004), 957-964.
116. Millian-Suazo, F., Salman, M.D., Ramire, C., Payeur, J.B., Rhyan, J.C., Santillan, M., "Identification of tuberculosis in cattle slaughtered in Mexico", *Am. J. Vet. Res*, Vol.61, n°1, (2000), 86-9.
117. Traoré, A., Tamboura, H.H., Bayala, B., Rouamba, D.W., Yameogo, N., Sanou ., "Prévalence globale des pathologies majeures liées à la production laitière bovine en système d'élevage intra urbain à Hamdallaye (Ouagadougou) ", *Biotechnol.Agro.Soc.Environ*, Vol.8, n°1, (2004), 3-8.
118. Lackech, E., Achnef, M., Ayalew, B., "Bovine tuberculosis prevalence in slaughtered cattle at Akaki municipal abattoir, based on meat inspection methods", *global veterinaria* , Vol. 9, n°5, (2012), 541-545.
119. Frikri, A., "Santé animale : Situation de la tuberculose bovine au Maroc", *Terre et vie*, n°156, (1999).

120. Benatallah, A., “Enquête épidémiologique sur la tuberculose bovine dans la wilaya d’Alger (Mitidja) ”, livre de résumé de 7^{èmes} journées des sciences vétérinaires (ENSV), (18-19 avril 2009), 23p.
121. Yakhlef, H., “La production extensive de lait en Algérie” .options méditerranéennes, n°6, (1989) ,135-139.
122. Elias, K., Hussein,D., Asseged,B., Wondwossen, T., and Gebeyehu, M., “Status of bovine tuberculosis in Addis Ababa dairy farms”, Rev. Sci. Tech. Off. Epiz, V. 27, n°3, (2008), 915–923.
123. Asseged, B., Lübke-Becker, A.,Lemma, E., Taddele,K., S. Britton,S., “Bovine tuberculosis:a cross-sectional and epidemiological study in and around Addis Ababa”, Bull Anim Hlth Prod Afr,V.48, (2000),71–80.
124. Schelling, E., Diguimbaye, C., Hilty, M., Baggi, F., Ngandolo, R., Zinsstag, J., “Epidémiologie moléculaire des premiers isolements de mycobactéries chez l’animal au Tchad”, Epidemiol et Santé anim, Vol.48, (2005),81-91.
125. Proano-Perez, F.,Benitez-Ortiz, W.,Desmecht,D.,Coral, M.,Ortiz, J.,Ron, L.,Partaels, F.,Rigouts,L.,Linden, A., “Post-mortem examination and laboratory-based analysis for the diagnosis of bovine tuberculosis among dairy cattle in Ecuador”. Preventive Veterinary Medicin, Vol.101, (2011), 65-72.
126. Cisse, B., N’gussan, K.,Ekaza, E.,Soro, E.,Aka, N., Dosso, M., “Isolement de *Mycobacterium bovis* des lésions tuberculeuses chez les bovins à l’Abidjan Port-Bouet (Cote d’Ivoire) ”, Revue Africaine de santé et de production animale ,Vol.6,n°3-4 ,(2008),199-204.
127. Corner,L.A., Melville,L., Mccubbin,K., Small,K.J., McCormick,B.S.,Wood,P.R., et al., “Efficiency of inspection procedures for the detection of tuberculous lesions in cattle”,Aust.Vet.J,V.67, (1990),389-392.

128. Sieng, M., "Detection 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.
129. McMahon,J.,Kahn,S.,Batey,R.,Murray,J.G., Mood,D,Sloan,C., "Revised post mortem inspection procedures for cattle and pigs slaughtered at Australian abattoirs",Aust.Vet.J,V.64,(1987),183-187.
130. Sulieman, M.S.,Hamid, M.E., "Identification of acid fast bacteria from caseous lesions in cattle in Sudan", J.Vet.Med.B.,Vol.49, (2002),415-418.
131. Latini, O.,Canal, A.M.,Ferrara, M.E.,Sequeira, M.D.,Sequeira, G.,Bagnaroli, R.,Torres,P., "Fiabilité dans la détermination de la prévalence Mycobacterium bovis chez les bovins par crises dans les réfrigérateurs", Are. Med. Vet., Vol.29, n°2, (1997).