



Institut des Sciences
Vétérinaires- Blida

Université Saad
Dahleb -Blida 1-



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du

Diplôme de Docteur Vétérinaire

Diagnostic bactériologique et spoligotypage des souches de *Mycobacterium bovis* isolées
chez des bovins en *post-mortem* dans trois abattoirs de la région Centre de l'Algérie

Présenté par

MECHEROUK Choâyb

Soutenu

Le mercredi 11 septembre 2019

Devant le jury :

Présidente:	Dr Feknous N	MAA	ISV B
Examinatrice :	Dr Ezzeroug R	MAA	ISV B
Promotrice :	Dr IFTICENE M	Médecin spécialiste	IPA
Co-promoteur :	Dr KHALAD H	MCB	ISV B

Année : 2018/2019

Remerciements

**Nous remercions DIEU le tout puissant de nous avoir donné la santé,
la force et la volonté d'accomplir ce travail.**

Nous remercions profondément notre promotrice

**Madame Docteur Ifticene Malika chef de service de tuberculose au niveau de
l'institut Pasteur Alger, notre Co-promoteur Docteur Khaled Hamza maitre de
conférence de l'institut des sciences vétérinaire Blida qui ont été toujours
présent à nos cotés pour nous guider, leurs critiques et leurs conseils nous
ont permis d'évaluer nos connaissances acquises et aussi les approfondir.**

**Nous remercions les membres du jury : Docteur Feknous N, qui nous a fait
l'honneur de présider le jury et Docteur Ezzeroug R**

D'avoir accepté d'examiner notre travail. Nous tenons à remercier l'équipe de

Service de tuberculose de l'institut Pasteur Alger surtout

Monsieur Khochayba Mounir, Monsieur Mouzawi Abd Elkader,

Ainsi Madame Samira, Madame Fatma Z.

Et aux gens des abattoirs de Blida et Alger surtout

Docteur Lynda, Docteur Chérif

À tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin.

À ceux qui feront un bon usage de ce document.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :
Mes très chers parents qui m'ont soutenu durant
toutes mes études, qui ont partagé mes joies et
mes peines, qui ont fait de moi ce que je suis
Aujourd'hui.

Je leurs serai éternellement reconnaissant.

Mes très chers frères et sœurs

Abd Essellame, Ferhat, Laylaet Nadjat

Tous mes proches et mes amis Amine, Hillal.

Mes chères collègues Mohamed, Imed, Nesrine,

Assia

Toute la promotion 2014 2015.

Choâyb

Résumé

La présente étude, a été menée en deux périodes, la première au niveau trois abattoirs de la région centre de l'Algérie (abattoir de Boufarik, abattoir d'El-Harrach et abattoir d'Eucalyptus) et la deuxième au niveau de laboratoire de la tuberculose de l'institut Pasteur d'Alger a comporté :

- Les résultats de l'étude prospective montrent que, sur un total de **300** carcasses inspectées, **100** présentaient des lésions suspectes de tuberculose bovine, soit une proportion de **33.33%**. Ces lésions ont été plus fréquentes chez les femelles (**38.92%**) que chez les mâles (**28.57%**).

Par ailleurs, les animaux adultes ont présenté plus de lésions suspectes de tuberculose bovine (**30.33%**) par rapport aux deux autres classes (moins de 2 ans et de 2 ans à 5 ans avec des taux de **1.33%** et **11.33%** respectivement).

La distribution de la tuberculose bovine révèle une atteinte de l'appareil respiratoire principalement avec un taux de **57%** suivi par un taux de **24%** au niveau de foie. Par ailleurs, nous avons noté aussi que l'atteinte généralisée est non négligeable avec un taux de **19%**.

L'étude bactériologique a été faite au niveau laboratoire de tuberculose de l'institut Pasteur Alger, l'examen de bacilloscopie des **100** frottis réalisé a montré une positivité de **44%** et négativité de **56%**.

- L'isolement, la culture et de l'identification biochimique (catalase nitratase) est permis de confirmer un taux de **56%** de culture positive.

Nous avons réalisé un typage moléculaire spoligotypage d'un échantillon de population de **40** souches de *Mycobacterium*.

Les numéros SB ont été extraits de <http://www.Mbovis.org>. L'étude montre **19** Profils de spoligotypes de *M. bovis*, **50%** des profils sont détectés déjà dans la zone méditerranéennes et les **3** modèles de spoligotypes, non signalés auparavant, ont été nommés **SB2651, SB2652, SB2653** par <http://www.Mbovis.org>.

Mots clés : tuberculose bovine, bacilloscopie, culture, spoligotypage.

Summary

The present study was conducted in two periods, the first at three slaughterhouses in the central region of Algeria (Boufarik abattoir, El-Harrach slaughterhouse and Eucalyptus slaughterhouse) and the second at the laboratory level. Tuberculosis at the Institute Pasteur in Algiers included:

- The results of the prospective study show that, out of a total of **300** carcasses inspected, **100** had suspicious lesions of bovine tuberculosis, a proportion of **33.33%**. These lesions were more frequent in females (**38.92%**) than in males (**28.57%**). In addition, adult animals showed more suspicious lesions of bovine tuberculosis (30.33%) than the other two classes (less than 2 years and 2 years to 5 years with rates of 1.33% and **11.33%** respectively).

The distribution of bovine tuberculosis awakens an attack of the respiratory system mainly with a rate of **57%** followed by a rate of **24%** at the level of times. In addition, we also noted that the generalized infringement is not negligible with a rate of **19%**. The bacteriological study was done at the TB laboratory level of the Institute Pasteur Alger, the bacilloscopy examination of the **100** smears performed showed a positivity of **44%** and negativity of **56%**.

- Isolation, culture and biochemical identification (catalase nitratase) is allowed to confirm a rate of **56%** positive culture.

We carried out a spoligotyping molecular typing of a population sample of **40** strains of Mycobacterium.

The SB numbers were taken from <http://www.Mbovis.org>. The study shows **19** spoligotype profiles of M. bovis, 50% of the profiles are already detected in the Mediterranean area and the 3 spoligotypes models, not previously reported, have been named **SB2651**, **SB2652**, **SB2653** by <http://www.Mbovis.org>.

Key words: bovine tuberculosis, bacilloscopy, culture, spoligotyping.

ملخص

أجريت الدراسة الحالية على مرحلتين، المرحلة الأولى على مستوى ثلاثة مسالخ في المنطقة الوسطى من الجزائر (البيدة والجزائر) والثانية على مستوى مصلحة مرض السل بمعهد باستور بالجزائر.

• دراسة مستقبلية تركز على البقر الذين شملتهم الدراسة لمدة ستة أشهر (01 ديسمبر 2018 إلى 31 مايو 2019) لتسليط الضوء على العوامل التي يمكن أن تتأثر على الآفات وتوزيع مرض السل البقري. ونتيجة لذلك، أظهرت نتائج الدراسة المرتقبة أنه من بين إجمالي 300 جثة تم فحصها، كان 100 منها مصابًا بالآفات المشبوهة من مرض السل البقري، أي بنسبة 33.33%. كانت هذه الآفات أكثر تواترًا عند الإناث (38.92%) مقارنة بالذكور (28.57%). بالإضافة إلى ذلك، أظهرت الحيوانات البالغة حالات مشبوهة من السل البقري (30.33%) أكثر مقارنة بالفئتين الأخرين (أقل من عامين وستين إلى 5 سنوات بمعدلات 1.33% و 11.33% على التوالي).

يوزع السل البقري هجومًا يصيب الجهاز التنفسي بشكل رئيسي بمعدل 57% يتبعه معدل 24% على مستوى الكبد. بالإضافة إلى ذلك، لاحظنا أيضًا أن الانتهاك المعمم ليس مهمًا بنسبة 19%. وقد أجريت الدراسة البكتريولوجية على المستوى مخبر السل بمعهد باستور الجزائر، وأظهر فحص التنظير العصوي لـ 100 عينة إيجابية بنسبة 44% وسلبية 56%.

• سمحت العزلة والزرع والتعرف على الكيمياء الحيوية (نترات الكاتلان) بتأكيد نسبة إيجابية تبلغ 56% من نوع عصيات كوخ الخاصة بالبقر. و للمرة الثانية في الجزائر، أجرينا عملية تنميط للطباعة الجزيئية لعينة من 40 سلالة من الميكوبلاكتيريوم معزولة عن الماشية المذبوحة في ثلاثة مجازر في المنطقة الوسطى من الجزائر. تم أخذ أرقام SB من <http://www.Mbovis.org>. تُظهر الدراسة 19 مجموعة لنمط M [bovis spoligotypes](http://www.Mbovis.org) ، وقد تم بالفعل اكتشاف 50% من الأنماط خاصة بمنطقة منطقة البحر المتوسط، وتمت تسمية 3 نماذج الـ SB2651 ، SB2652 ، spoligotype بواسطة <http://www.Mbovis.org>.

الكلمات المفتاحية: السل البقري ، الدراسة البكتريولوجية ، الزرع ، تنميط للطباعة الجزيئية

الكلمات المفتاحية: السل البقري ، تنظير العصافير ، الثقافة ، التنظير المخاطي

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
Tableau n°01	foyer et cas de tuberculose sur tout le territoire national « teste tuberculation »	5
Tableau n°02	Cas de tuberculose au niveau des abattoirs nationaux	6
Tableau n°03	Saisie d'organes pour motif de tuberculose bovine au cours des 04 dernières années au niveau des abattoirs d'Alger et Blida.	6
Tableau n°04	caractères de différenciation des espèces	10
Tableau n°05	Grille de lecture de l'IDC	20
Tableau n°06	La quantité des réactifs nécessaire pour les PCR	41
Tableau n°07	Le programme PCR pour technique spoligotyping	41

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
Figure n°01	Colonies positives de <i>M. tuberculosis</i>	9
Figure n°02	Colonies positives de <i>M. bovis</i>	9
Figure n°03	Représentation schématique des principales interrelations des tuberculoses animales et humaine	12
Figure n°04	Tuberculose milliaire sur la plèvre	17
Figure n°05	Abcès caséeux pulmonaire	17
Figure n°06	Frottis positif après Coloration de Ziehl-Neelsen	24
Figure n°07	Frottis positif après Coloration à l'auramine	24
Figure n°08	les différentes étapes de diagnostic et la flèche rouge indique les échantillons éliminés dans chaque étape	26
Figure n°09	les trois aspects les plus rencontrés au niveau abattoir	29
Figure n°10	les étapes de la Coloration de Ziehl-Neelsen	32
Figure n°11	Examen au microscope optique avec l'objectif à l'immersion (x100)	33
Figure n°12	Préparation des échantillons	34
Figure n°13	Ensemencement sur de L-J35	35
Figure n°14	l'étuve à 37°C	35
Figure n°15	Tubes contaminés	35
Figure n°16	une culture positive	36
Figure n°17	teste de réduction des nitrates	37
Figure n°18	structure de locus DR du génome des souches <i>M.tuberculosis</i> H37Rv et <i>M.bovis</i> BCG P3.	38
Figure n°19	schéma représentant de polymorphisme de la région DR	39
Figure n°20	Principe de l'amplification in vitro de l'ADN au niveau de la région DR	40
Figure n°21	Un thermocycleur	44
Figure n°22	Electrophorèse, la migration des produits PCR et détection de CMT par les UV	42
Figure n°23	Préparation de la membrane Isogen® pour le typage	43
Figure n°24	aspire le liquide résiduel au niveau des canaux	43
Figure n° 25	Incubation de la membrane	44
Figure n°26	Remplissage du miniblotter	44
Figure n°27	Une bouteille rotative	45
Figure n°28	Traitement de la membrane à température ambiante sous agitation	45
Figure n°29	La membrane dans une cassette radiographie.	46
Figure n°30	Dés hybridation de la membrane.	47
Figure n°31	Saisies pour tuberculose bovine dans les trois abattoirs durant six mois (01 décembre 2018 jusqu'à 31 mai 2019)	48
Figure n°32	Proportion des lésions suspectes de tuberculose bovine en fonction du sexe	49

Figure n°33	Proportion des lésions suspectes de tuberculose bovine en fonction de l'âge	49
Figure n°34	Proportion des lésions suspectes de tuberculose bovine fonction de la race	50
Figure n°35	Proportion des lésions tuberculeuses en fonction de leurs localisations	51
Figure n°36	Cas de tuberculose bovine en fonction de type	51
Figure n°37	Pourcentage du diagnostic de la tuberculose bovine par examen microscopie	52
Figure n°38	Pourcentage du diagnostic de la tuberculose bovine par la culture	53
Figure n°39	Schémas de spoligotypes des souches de MTC isolées chez des bovins poste-mortem.	54
Figure n°40	Pourcentage des spoligotypes bovines de souches de MTC isolées chez des bovins poste-mortem.	60

Liste des abréviations

AAR: Acido-alcool-résistant.

AND: Acide désoxyribonucléique.

ARNr: 16S Acide ribonucléique ribosomal 16 Svedberg.

BAAR : Bacille-acido-alcool-résistant.

BCG : Bacille Calmette Guérin.

CMT : Complexe *Mycobacterium tuberculosis*.

CO2 : Dioxyde de carbone.

DR: Direct Repeat.

DRV: Direct Variant Repeat.

DRs: Direct Repeat Spacer

ECL: enhanced chimiluminescence

IDC: Intradermo tuberculation comparative.

IDR: Intradermo réaction.

IDS: Intradermo tuberculation simple.

INF γ : Interféron gamma.

IS: Séquence d'insertion.

LJ: Löwenstein-Jensen.

M.: *Mycobacterium*.

MGIT: Mycobacteria growth indicator tube.

MNT : Mycobactérie(s) non tuberculeuse(s).

MRLC : maladie légalement réputée contagieuse

NaOH : Hydroxyde de sodium.

Na No : nitrate de soude.

NL : Nœud lymphatique.

NR : Nitrate réductase.

NRI : Acide Sulfanilique + Acide Acétique.

NRII : Alpha-Naphtylamine+Acide Acétique.

SB: Spoligotyping Bovin

SSPE: chlorure de Sodium, Phosphate de Sodium, EDTA.

SDS: dodécylsulfate de sodium

PCR : Polymérase Chain réaction.

PH : Potentiel hydrogene.

PNB : Acide para nitro benzoïque.

PPD : Dérivés protéiniques purifiés ou tuberculine.

RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism.

Se : sensibilité.

Sp : spécificité

SIDA : Syndrome d'immunodéficience acquise.

TCH : Hydrazide de l'acide thiophène-2-carboxylique.

TE : Trizma base-EDTA.

UV : Ultra Violet.

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine.

VNTR: Variable number tandem repeat.

Table des matières

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Table des matières

LA PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : GENERALITES SUR LA TUBERCULOSE.....	3
1. Définition.....	3
2. Historique et répartition de la maladie.....	3
3. Importance.....	4
3.1. Sur le plan économique.....	4
3.2. Sur le plan hygiénique.....	5
4. La tuberculose en Algérie.....	5
CHAPITRE II : CARACTERES BACTERIOLOGIQUES.....	7
1. Classification.....	7
2. Caractères.....	8
2.1. Caractères bactériologiques.....	8
2.2. Caractères morphologiques.....	8
2.3. Caractères culturaux.....	8
2.4. Caractères biochimique.....	9
2.5. Résistance et sensibilité.....	11
CHAPITRE III: ESPECES INFECTEES PAR M. BOVIS ET PHYSIOPATHOLOGIE.....	12
1. Espèce infectées par <i>M.bovis</i>	12
2. Physiopathologie.....	13
2.1. Période de primo-infection.....	13
2.2. Période de surinfection.....	14

CHAPITRE IV : SYMPTOMES ET LESIONS.....	15
1. Symptômes.....	15
1.1. Symptômes généraux.....	15
1.2. Symptômes locaux.....	15
2. Lésions.....	16
CHAPITRE V : DEPISAGE, DIAGNOSTIC, TRAITEMENT ET PROPHYLAXIE.....	18
1. Dépistage de la tuberculose bovine.....	18
1.1. La tuberculisation.....	18
1.2. Différentes méthodes de la tuberculation.....	18
2. Diagnostic.....	20
2.1. Diagnostic clinique.....	20
2.2. Diagnostic histopathologique.....	20
2.3. Diagnostic nécropsique.....	20
2.4. Diagnostic expérimental.....	21
2.4.1 Diagnostique bactériologique.....	21
2.5. Le diagnostic moléculaire:.....	23
3.5.1. Amplification génique.....	24
3.5.2. Typage génétique:.....	24
2.6. Le diagnostic différentiel.....	25
3. Traitement et prophylaxie.....	25
3.1. Traitement.....	25
3.2. Prophylaxie.....	25

LA PARTIE EXPERIMENTALE

Objectifs.....	27
Chapitre VI : Matériels et Méthodes.....	28
1. méthodologie de travail.....	28
2. Matériels et méthodes.....	28
2.1. Au niveau des abattoirs.....	28
2.1.1. Inspection ante-mortem.....	28
2.1.2. Inspection poste-mortem.....	29

2.2. Au niveau du laboratoire.....	30
2.2.1. Examen microscopique (méthode de Ziehl-Neelsen).....	30
2.2.2. La culture.....	33
2.2.3. Identification biochimique.....	36
2.2.4. L'identification moléculaire par Spoligotypage.....	37
Chapitre VII : Résultats.....	48
1. Résultats des cas de saisies pour tuberculose bovine.....	48
2. Etude des facteurs influençant sur la répartition de tuberculose bovine.....	48
2.1. La répartition des cas de tuberculose bovine en fonction du sexe.....	49
2.2. La répartition des cas de tuberculose bovine en fonction de l'âge.....	49
2.3. La répartition des cas de tuberculose bovine en fonction de la race.....	50
2.4. La localisation des lésions.....	50
2.5. Répartition des saisies par type de tuberculose bovine.....	51
3. Diagnostic au laboratoire.....	52
3.1. Diagnostic par examen direct (bacilloscopie).....	52
3.2. Diagnostic par culture.....	52
3.3. Identification biochimique.....	53
3.4. Typage par la technique de Spoligotypage.....	53
Chapitre VIII : Discussion.....	55
Au niveau d'abattoir.....	55
• L'âge :.....	55
• Le sexe :.....	56
• La race :.....	56
• Répartition des cas suspects de tuberculose :.....	56
Au niveau du laboratoire.....	57
• L'examen direct :.....	57
• Culture.....	57
• l'identification par biologie moléculaire.....	58
Conclusion.....	61
Recommandations	
Références bibliographiques	
Annexes	

INTRODUCTION

La filière de la production animale apparaît comme une solution pertinente à la mise en place d'un système durable de développement. Elle est un vrai atout pour le développement non seulement de l'agriculture mais aussi de l'économie du pays (KHALLED, 2015). Les maladies infectieuses occupent une place importante comme fléau d'élevage, parmi celles-ci, la tuberculose bovine qui, est largement signalée à travers le monde notamment en Algérie, causant ainsi, des pertes économiques considérables (Boukary et *al.*, 2011).

La tuberculose bovine est une maladie d'importance sanitaire majeure en santé animale à travers le monde (soit une cinquantaine de cas par an). Son agent principal, *Mycobacterium bovis*, bactérie hautement pathogène, est un membre du complexe *Mycobacterium tuberculosis*, qui regroupe les bactéries tuberculeuses infectant l'homme et les mammifères. Elle fait partie de la liste B de l'Office International des Epizooties (OIE) et de l'organisation mondiale de l'alimentation (FAO) qui regroupe les maladies animales transmissibles, importantes sur le plan socio-économique et/ou hygiénique et qui peuvent avoir des conséquences sérieuses sur le commerce des animaux et les produits d'origine animale. (Chantal, 2001).

De nos jours, un manque considérable d'informations épidémiologiques, tant en santé animale qu'en santé humaine est à noter. Cet état des lieux ne permet donc pas une estimation précise de l'incidence de tuberculose bovine. A l'échelle nationale, peu d'études ont été réalisées et se sont essentiellement limitées aux enquêtes au niveau des abattoirs de certaines régions (DSV, 2019) ; à cela, s'ajoute l'absence d'un système de surveillance spécifique à cette maladie, ce qui rend l'évaluation objective de son importance très difficile.

Ce Projet de Fin d'Etude présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Docteur Vétérinaire compose en deux parties :

- **La partie bibliographique** : englobe les aspects bactériologiques, épidémiologiques, cliniques et prophylactiques de la tuberculose.

- **La partie expérimentale** : l'étude a été réalisée sur une période de six mois en deux étapes : la première au niveau de trois abattoirs : abattoir de Boufarik, abattoir d'El-Harrach et abattoir d'Eucalyptus, c'est une étape de collection des prélèvements, et la deuxième étape au niveau du laboratoire de Tuberculose de l'Institut Pasteur d'Alger. Cette partie comprendra essentiellement les résultats obtenus par différentes méthodes de diagnostic à savoir : bacilloscopie, culture, identification biochimique et typage moléculaire oligonucléotidique (Spoligotypage) pour identifier et différencier les espèces étudiées du complexe *Mycobacterium* des souches isolées.

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LA TUBERCULOSE

1. Définition

La tuberculose est une maladie infectieuse, virulente et inoculable, due à plusieurs espèces bactériennes du genre *Mycobacterium* (DUBOIS, 2002). Elle peut toucher tous les mammifères. Elle est considérée comme une zoonose majeure (Thoen *et al.*, 2006 ; Awah-Ndukum *et al.*, 2012), et la tuberculose classée parmi les maladies à déclaration obligatoire (maladie légalement réputée contagieuse MRLC) (A.C.I.A, 2003).

2. Historique et répartition de la maladie

Au début du XIXe siècle, LAENNEC individualise la tuberculose. En 1865, VILLEMIN montre qu'il s'agit d'une maladie inoculable à l'animal et transmissible d'un animal à l'autre. Robert KOCH découvre et cultive en 1882 le bacille responsable. Entre 1908 à 1920, CALMETTE et GUERIN préparent le B.C.G., WAKSMAN découvre en 1944 la streptomycine, la première vaccination ayant lieu en 1921. Premier antibiotique actif sur *M.tuberculosis*. En 1952 arrive l'isoniazide et, en 1967, la rifampicine (Anonyme : 01).

La tuberculose est une maladie très ancienne et très répandue au niveau mondial (Cosivi *et al.*, 1998 ; Acha et Szyfres, 2005). Elle affecte le bétail de manière chronique et insidieuse. Récemment, des lésions tuberculeuses typiques ont été mises en évidence sur les restes d'un bison vieux de 17.000 ans (Rothschild *et al.*, 2001). Sur les momies égyptiennes datant de plus de 5.400 ans, des déformations de la colonne vertébrale indiquant le mal de Pott ont été observées. Après séquençage des fragments d'ADN, celui-ci s'est avéré être spécifique du complexe *Mycobacterium tuberculosis* sans qu'il ait été prouvé qu'il s'agisse de *M. tuberculosis* ou de *M. bovis* (Crubézy *et al.*, 1998). Le complexe *M. tuberculosis* est essentiellement de type clonal avec peu d'échanges de gènes. Il semblerait qu'à l'origine, les infections tuberculeuses étaient principalement dues à un bacille dénommé *Mycobacterium proto-tuberculosis* ancêtre probable des bacilles tuberculeux actuels (Gutierrez *et al.*, 2005). Malgré l'identification de *M. bovis* dans des échantillons humains datant d'époques préhistoriques (Guiguen, 2007), il semblerait que *M. tuberculosis* soit plus ancien que *M. bovis*. En effet, des preuves moléculaires basées sur la présence de délétion de fragments d'ADN chez *M. bovis* comparativement à *M. tuberculosis* ainsi que l'étude de

profils d'empreintes génétiques confirment l'origine humaine de la maladie (Gutierrez *et al.*, 2005 ; Wirth *et al.*, 2008).

Une enquête menée en 2000, parmi 84 pays membres de l'Organisation mondiale de la Santé animale (Office International des Epizooties, OIE 2000) indique que seuls 32 % de ces pays n'avaient jamais rapporté de cas de TB bovine (TBb) ou que celle-ci avait été éradiquée (Levingstone, 2000). Par ailleurs, dans les pays industrialisés, les programmes de contrôle et d'éradication de la TBb, ainsi que la pasteurisation du lait, ont réduit considérablement l'incidence de la maladie causée par *M. bovis* chez le bétail et chez l'homme (Vekemans *et al.*, 1999). Presque tous les pays de l'Europe de l'Ouest rapportent des taux de prévalence de TBb inférieures à 0,1 % (Acha et Szyfres, 2005). En Afrique par contre, 85 % des troupeaux et 82 % de la population humaine vivent dans des zones où la TB à *M. bovis* est rapporté (Cosivi *et al.* 1998). Dans ces pays, les mesures de contrôle ne sont pas appliquées ou le sont sporadiquement. La pasteurisation y est également rarement pratiquée (Boukary *et al.*, 2007 ; Kang'Ethe *et al.*, 2007). De plus, la TBb justifie rarement les mesures d'urgence requises par d'autres maladies (Cosivi *et al.*, 1998). En ASS, la TBb représente également une des principales menaces pour la faune sauvage où elle se répand rapidement en affectant une grande variété d'espèces animales (Michel *et al.*, 2006 ; 2009) créant ainsi un réservoir permanent d'infection et une sérieuse menace pour les programmes de contrôle et d'élimination de cette maladie.

On compte aujourd'hui 158 espèces reconnues du genre *Mycobacterium* (Boukary *et al.*, 2011).

3. Importance

Toutes les espèces de vertébrés peuvent être atteintes spontanément par des bacilles tuberculeux.

3.1. Sur le plan économique

La tuberculose bovine est un fléau majeur de l'élevage bovin (Boukary *et al.*, 2011). Dans le monde, on estime 50 millions de bovins infectés par *M.bovis* engendrant un coût annuel d'environ 3 milliards de dollars (Buddle *et al.*, 2011). Malgré ces pertes, la maladie est négligée dans la plupart des pays en voie de développement à cause de manque des moyens

de dépistage et de l'absence de diagnostic précoce de la maladie (Zinsstag, 2006; Michel et al., 2010; Boukary et al., 2011).

3.2. Sur le plan hygiénique

Il faut distinguer la tuberculose interhumaine et zoonotique. En Afrique, elle figure parmi les principales maladies qui entraînent des pertes économiques estimées chaque année à plusieurs dizaines de millions de dollars US (Ly, 2007).

M. bovis n'est responsable que d'un petit pourcentage seulement des cas déclarés de TB chez l'homme (Thoen C O, LoBue P, Kantor I N, 2006)

4. La tuberculose en Algérie

L'Algérie est un pays reconnu infecter de la tuberculose bovine (Sahraoui et al., 2008) et les foyers sont répartis sur tout le territoire national (DSV, 2019). L'éradication de la maladie en Algérie a rencontré beaucoup de contraintes, cela est lié aux facteurs économiques du pays, du moment que l'état ne peut indemniser les éleveurs pour les abattages des bovins à leurs valeurs réelles (ne dépasse pas les 35% de la valeur bouchère de l'animal); Ce qui est un handicap sérieux à la mise en place du programme approprié d'éradication de la maladie et la réduction de l'efficacité des mesures mises en place (manque de moyens des services vétérinaires des différentes inspections à savoir : le transport pour le déplacement vers les élevages surtout dans les zones rurales), le non marquage des animaux (absence de la traçabilité), et les élevage familiaux qui ne sont pas soumis à une inspection des services vétérinaires) (Kardjadj et Yala, 2010).

4.1. Découvertes des foyers de la tuberculose bovine par test de tuberculination

Tableau n° 1: foyer et cas de tuberculose sur tout le territoire national « teste tuberculination » (DSV, 2019)

ANNEE	Nombre de foyer	Nombre de cas
2015	104	404
2016	162	572
2017	119	320

4.2. Les découvertes d'abattoir de tuberculose bovine en Algérie

Tableau n° 2 : Cas tuberculose au niveau des abattoirs nationaux (DSV, 2019)

	ORGANE	BOVINS			
		NOMBRE	POIDS	AX, ATT	
2015	FOIE	1455	80465	5255	
	POUMON	6383	20036,5		
2016	FOIE	1626	9172,5	5687	
	POUMON	6797	20892,5		
2017	FOIE	1239	6743,5	5072	
	POUMON	5872	16886,5		
2018	FOIE	955	4822,5	4452	
	POUMON	4645	14708,5		
Cas saisis pour la tuberculose bovine					
		2015	2016	2017	2018
	BLIDA	178	211	184	214
	ALGER	919	1066	770	783

Une évolution rétrospective montre que le pourcentage des lésions suspectes de la tuberculose bovine au cours des quatre années précédentes (2015 à 2018) où le taux le plus élevé était enregistré en 2018 (214 Cas) à Blida et en 2016 (1066 cas) à Alger (DSV, 2019).

CHAPITRE II : CARACTERES BACTERIOLOGIQUES

1. Classification

Sous le terme "Mycobactériose" sont regroupées des infections de l'homme et des animaux provoquées par les mycobactéries. Etymologiquement, le terme *Mycobacterium* provient de deux racines empruntées au grec "Myces" pour champignon et "Bakterion" petit bâton. En fait, ces bactéries n'ont en commun avec les champignons que leur seule propension à se développer en s'étalant à la surface des milieux liquides (Chantal PERNOT et al., 2003).

Les mycobactéries appartiennent à l'ordre des *Actinomycetales* où la famille des *Mycobacteriaceae* ne comporte qu'un seul genre, le genre *Mycobacterium* caractérisé par une propriété tinctoriale essentielle : ce sont des Bacilles Acido-Alcool Résistants (BAAR). Cette propriété est due à la richesse de leur paroi en lipides qui les rend imperméables aux colorants usuels mais qui fixe intensément les colorants alcalins comme la fuschine basique et s'oppose à leur décoloration après un traitement conjoint par l'acide et l'alcool. Toutes les mycobactéries sont des B.A.A.R. mais toutes les bactéries acido-résistantes ne sont pas des

mycobactéries. En effet, les *Nocardia*, quelques *Actinomycètes*, quelques corynebactéries, sont faiblement acido-résistantes (Léa LEBRUN et al., 2003).

Le genre *Mycobacterium* peut être subdivisé en trois groupes : les mycobactéries du "complexe *tuberculosis*" (*M. tuberculosis*, *M. bovis* et BCG, *M. africanum*, *M. canettii*, *M. microti*), les mycobactéries atypiques et *M. leprae*. Il en résulte que si on peut envisager, à terme, par le dépistage et le traitement bien conduits de la tuberculose et de la lèpre, l'élimination de ces maladies, il n'en est pas de même pour les mycobactéries atypiques. Sur le plan du pouvoir pathogène, chez l'homme, *M. tuberculosis*, *M. leprae*, *M. ulcerans*, *M. marinum*, provoquent des infections spécifiques : la tuberculose, la lèpre, l'ulcère de Buruli, le granulome des piscines. Chez les animaux, *M. paratuberculosis* est à l'origine de la maladie de Johne, entérite hypertrophiant des bovidés, *M. bovis* est responsable de la tuberculose des bovidés, *M. avium* de celle des oiseaux. Mais les mycobactéries du complexe *avium intracellulare* (MAC) ainsi que les autres mycobactéries atypiques ne manifestent un pouvoir pathogène qu'en profitant d'une défaillance locale ou généralisée des défenses de l'hôte ; on les appelle encore, pour cette raison, mycobactéries opportunistes (Bernard CARBONNELLE et al., 2003).

2. Caractères

2.1. Caractères bactériologiques

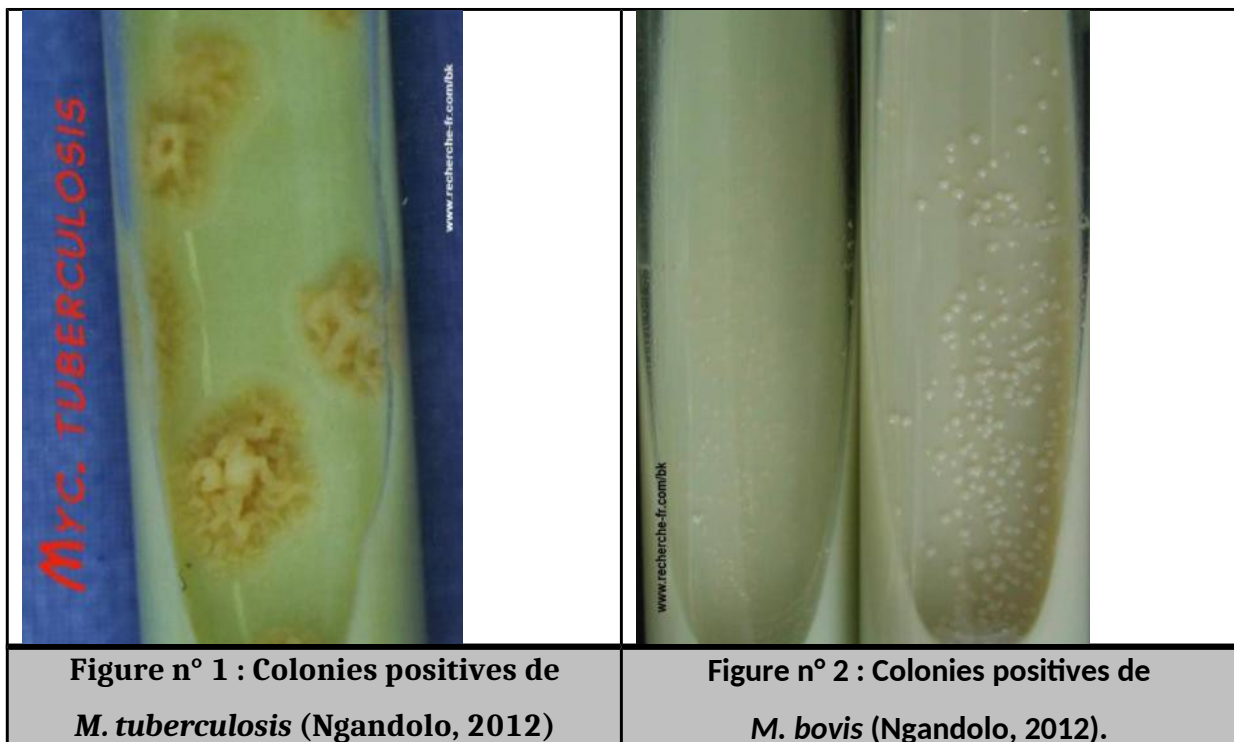
Les bacilles tuberculeux sont des bactéries classées dans l'ordre des *Actinomycetales*, famille des *MYCOBACTERIACEAE*, genre *Mycobacterium*. Le principal point commun à toutes ces espèces appartenant au genre *Mycobacterium*, placé dans l'ordre des *Actinomycetales*, est une propriété tinctoriale pathognomonique mise en évidence par la coloration de Ziehl-Neelsen: l'acido-alcool-résistance. (Site Espace Etudiant ; Bactériologie Médicale 2009).

2.2. Caractères morphologiques

Les mycobactéries sont définies comme des bacilles droits ou légèrement incurvés, de 1 à 10 μm de long et de 0.2 à 0.6 μm de large (Vincent, 1995), immobiles, non sporulés, ni capsulés et parfois ramifiés (Coetzer et Tustin, 2004). La morphologie des colonies varie de lisse rugueux selon les espèces (Good et Shinnick, 1998).

2.3. Caractères cultureux

Les mycobactéries sont des bactéries aérobies strictes (*M.tuberculosis*) ou micro-aérophiles (*M.africanum* ou *M.bovis*). Elles ne sont pas capables d'assurer leur croissance sur les milieux usuels. Elles nécessitent des milieux enrichis. Le milieu le plus employé est un milieu solide à l'œuf coagulé, à savoir, Löwenstein-Jensen et Coletsos (Denis et Perrone, 2004). Ils donnent des colonies habituellement de teinte crème-beige, à surface rugueuse, à bord irrégulier en chou-fleur dite «eugoniques» pour *M.tuberculosis* (Cf. figure 1), des colonies blanchâtres (1 à 2 mm), brillantes et lisses «dysgoniques» pour *M.bovis* (Cf. figure 2) et des colonies rugueuses, plates, de couleur mate avec un bourgeon centrale et à croissance dysgonique pour *M.africanum* (Denis et Martin, 2007).



➤ **Les conditions optimales de croissance sont :**

- Une température de 35 °C à 37°C.
- Un pH de 6,8 à 7,0.
- Une atmosphère humide et 5 à 10 % de CO₂ sur les milieux gélosés.
- Une source d'azote (asparagine et acide glutamique).
- Une source de carbone (glycérol pour *M.tuberculosis* ou pyruvate sodique pour *M.bovis*)

- Des sels (phosphates, magnésium, potassium, citrate de fer) (Avril et *al.*, 2003; Lavie et Clavas, 2007).

2.4. Caractères biochimique

L'étude des caractéristiques biochimiques repose essentiellement sur la recherche de la production d'acide nicotinique, de nitrate réductase et d'une catalase (Cf. tableau n°4). Toutes les mycobactéries du complexe *Mycobacterium tuberculosis* produisent une catalase thermolabile (inactivé à 68°C) (Avril et *al.*, 2003). Par contre, toutes les mycobactéries atypiques possèdent une activité catalase thermorésistante sauf certaines espèces comme *M. malmoense*, *M. gastri*, *M. marinum*, *M. chelonae* et *M. abscessus* qui ont une activité catalasique thermosensible (Freney et *al.*, 2007). Cependant, ces dernières ont un temps de croissance de 03 à 21 jours (Pilet et *al.*, 1981 ; Bourgoïn et Agius, 1995). Les mycobactéries tuberculeuses sont sensibles à l'acide para- nitro-benzoïque (PNB) auquel les mycobactéries non tuberculeuses sont résistantes (Gianpaglia et *al.*, 2005; Boulahbal, 2005). D'autre part, toutes les espèces de mycobactéries sont résistantes au TCH (hydrazide de l'acide thiophène-2 carboxylique) y compris *M. tuberculosis* (Freney et *al.*, 2007). Seuls *M. bovis* et le *M. bovis* BCG en sont sensibles (Avril et *al.*, 2003).

Tableau n° 4 : caractères de différenciation des espèces (* (Carbonelle et *al.*, 2003) ; ** (Freney et *al.*, 2007) ; *** (Gianpaglia et *al.*, 2005; Boulahbal) ; **** (Avril et *al.*, 2003)).

Mycobacterium	<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. bovis</i>	<i>M. africanum</i>	<i>M. atypique</i>
Aspect colonies*	Rugueux	Lisse	Rugueux	Rugueux/Lisse
Pigmentation*	Non pigmenté	Non pigmenté	Non pigmenté	Pigmenté /non pigmenté
Délais culture*	20 à 28 jours****	30 à 60 jours	30 à 60 jours	4 à 30 jours ou plus
Niacine*	+	-	+ /-	-
Nitrate réductase *	+	-	+ /-	+ /-
Catalase à 22°C*	+	+	+	+
Catalase à 68°C*	-	-	-	+
Croissance en présence de TCH**	+	-	+ /-	+
Croissance en présence de PNB***	-	-	-	+

TCH : Hydrazide de l'acide Thiophène 2 Carboxylique, PNB : acide Para Nitro-benzoïque

2.5. Résistance et sensibilité

2.5.1. Résistance

a. Des agents physiques

Les bacilles tuberculeux sont moyennement résistants au froid (4°C) et la dessiccation (2 à 3 mois) (LEMINORE et VERRON, 1990). Les mycobactéries sont sensibles à la chaleur (20 minutes à 60°C ,20 secondes à 75°C (ENVF, 1990).

b. Des agents chimiques

Les bacilles tuberculeux sont résistants à la plupart des désinfectants usuels, aux alcools et acides (BLOOD et *al.*, 1981) La lyophilisation est d'ailleurs un excellent moyen de conservation (Avril et *al.*, 2003).

2.5.2. Sensibilité

a. Des agents physiques

Les bacilles tuberculeux sont détruits à la chaleur humide en 30 minutes à 65°C, 10 minutes à 72°C ou 2 minutes à 100°C (WILSON et MILES, 1975). Ils sont également sensibles à lumières solaire, aux Ultra Violet (UV) et aux radiations ionisantes (BLOOD et *al.*, 1981) d'ou l'importance de la pasteurisation ou de la stérilisation du lait ; et aux rayons ultra-violets (Palmer et Whipple, 2006).

b. Des agents chimiques

Ces bacilles sont généralement sensibles aux désinfectants chlorés, iodés, formolés, et crésols (BLOOD et *al.*, 1981).

CHAPITRE III: ESPECES INFECTEES PAR M. BOVIS ET PHYSIOPATHOLOGIE

1. Espèce infectées par *M.bovis*

Les bovins, les buffles d'élevage et les chèvres sont considérés comme réservoirs primaires de *M.bovis*, tandis que les porcs, les chats, les chiens, les équidés et les moutons peuvent constituer des réservoirs secondaires (Benet J J et *al.*, 2005). *M.bovis* est de même rencontré chez le dromadaire (Chartier et *al.*, 1991) et le chameau (Kinne et *al.*, 2006). *M. bovis* a été isolé à partir de bison, buffle, grand Koudou, oryx, cerf, sanglier, blaireau, furet, le phalanger-renard (possum), hérisson, otari, primate, lièvre, lama, taupe, tapier, vison, wapiti, addax, éléphant, hermine, antilope, rhinocéros, écureuil, loutre, ragondin, rat (Cosivi et *al.*, 1995; De List et *al.*, 2001; Cousins, 2001; Harris, 2006). (Cf. Figure n° 3)

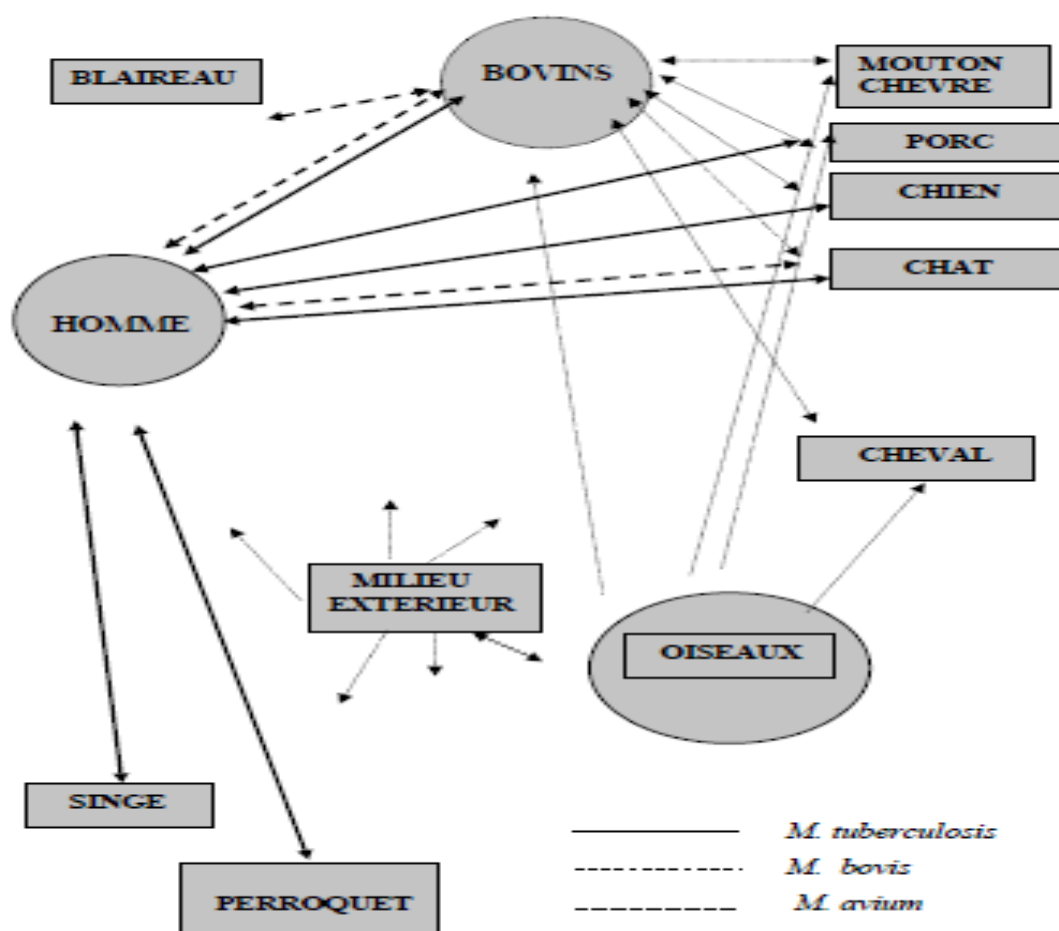


Figure n° 3 : Représentation schématique des principales interrelations des tuberculoses animales et humaine (HADDAD, 2008).

2. Physiopathologie

La tuberculose bovine est une maladie caractérisée par une période d'incubation lente, d'évolution chronique et par la formation de granulome nodulaire ou tubercule (Thorel et *al.* 1998; Acha et Szyfres, 2003).

2.1. Période de primo-infection

Le bacille tuberculeux pénètre dans l'organisme provoquant une lésion du parenchyme de l'organe porte d'entrée (essentiellement le pharynx, les poumons, le foie et les intestins) et créant ce qu'on l'appelle "chancre d'inoculation". Cette lésion est suivie rapidement d'une lésion du nœud lymphatique qui draine cet organe porte d'entrée, l'ensemble "chancre

d'inoculation et lésion ganglionnaire correspondante" réalisant le complexe primaire complet. Il faut noter que les lésions sont microscopiques au début, et ne sont visibles à l'œil nu qu'après environ trois semaines de l'infection (Bensid, 2018).

- Si les défenses immunitaires sont efficaces, la lésion du parenchyme de l'organe porte d'entrée s'encapsule par du tissu fibreux et peut disparaître visuellement et, seule, persiste jusqu'à l'abattage la lésion ganglionnaire. On peut parler alors d'un complexe primaire stabilisé ou dissocié. Cette persistance de la lésion au niveau du nœud lymphatique constitue la base scientifique de l'examen post mortem de la tuberculose. Le complexe primaire dissocié peut persister sans évolution pendant toute la vie de l'animal (Bensid, 2018).

- Si les défenses sont inefficaces, une rapide multiplication des germes dans le chancre d'inoculation peut se produire peu de temps après l'infection. La propagation du bacille à partir de la lésion peut se faire par dissémination bacillaire empruntant soit la voie sanguine par effraction ou rupture de la paroi d'un vaisseau, soit la voie lymphatique le long des vaisseaux lymphatiques vers les nœuds lymphatiques correspondants puis vers les autres nœuds jusqu'aux grands vaisseaux lymphatiques qui déversent dans la veine cave antérieure et la veine jugulaire. Si un grand nombre de bacilles gagne la circulation sanguine, ils répandent dans tous les tissus en particulier les poumons, les reins, le foie et la rate entraînent l'apparition de multiples petits tubercules, tous au même stade d'évolution, ayant l'apparence de la granulation grise ou du tubercule miliaire ; c'est la tuberculose miliaire aiguë qui aboutit fréquemment à la mort de l'animal et ne se stabilise qu'exceptionnellement en tuberculose nodulaire stabilisée (Bensid, 2018).

- Si les défenses sont moyennes, un nombre réduit de bacilles se trouvant dans la circulation sanguine et des lésions tuberculeuses moins nombreuses peuvent être détectées seulement dans quelques organes ; c'est la tuberculose de généralisation progressive qui évolue plus lentement par poussées successives et qui se caractérise par des tubercules à des stades d'évolution différents (gris, caséux, caséo-calcaire, fibreux, etc.). Cette forme peut se stabiliser en tuberculose nodulaire stabilisée (Bensid, 2018).

2.2. Période de surinfection

La surinfection résulte le plus souvent d'un réveil d'une lésion stabilisée si les défenses de l'organisme diminuent (gestation, lactation, fatigue, carences, parasitisme, troubles alimentaires, etc.), les lésions évoluent en fonction de l'importance des défenses de l'animal.

- Si les défenses immunitaires de l'animal sont faibles : les lésions évoluent vers la tuberculose chronique d'organes qui est observée essentiellement chez les adultes et principalement chez les bovins. À partir du complexe primaire ou de la tuberculose de généralisation progressive, la lésion envahit peu à peu l'organe par voie canaliculaire (bronches, voies biliaires, etc.) ou lymphatique ; puis, par simple extension de voisinage, elle envahit les séreuses (plèvre, péritoine et péricarde). Il en résulte, en général, des foyers nodulaires caséo-calcaires à des stades d'évolution variables, parfois des cavernes ou des foyers de ramollissement, cependant que, dans les nœuds satellites. Des lésions caséo-calcaires ou calcifiées type perlière ou pomelière sont fréquemment observées sur les séreuses. Parfois, dans les grosses bronches, la trachée et le larynx, les lésions se caractérisent par la formation de tubercules ulcérés (Bensid, 2018).

- Si les défenses sont abolies, les lésions évoluent vers :

- a. La tuberculose miliaire aiguë de surinfection:** qui présente les mêmes lésions qu'une tuberculose miliaire aiguë avec des lésions anciennes d'un ou de plusieurs organes. Elle succède le plus souvent la tuberculose chronique d'organes.

- b. La tuberculose caséuse de surinfection:** caractérisée par la formation de foyers de ramollissement du caséum avec lésions congestives et nécrotiques périphériques, et parfois par une adénite exsudative à caséification diffuse ou rayonnée. Elle succède aussi la tuberculose chronique d'organes (Bensid, 2018).

Ces deux dernières formes peuvent elles aussi évoluer à nouveau vers la stabilisation qui se traduit par la déshydratation du caséum et l'infiltration des sels de calcium (Bensid, 2018).

CHAPITRE IV : SYMPTOMES ET LESIONS

La TB connaît généralement une évolution prolongée et il faut des mois ou même des années pour que les symptômes apparaissent (O.I.E, 2003).

1. Symptômes

1.1. Symptômes généraux

Les symptômes généraux communs à ces diverses localisations se manifestent dès l'exacerbation des lésions par une altération de l'état général, un appétit capricieux, une

baisse de sécrétion lactée (chez les vaches en lactation), des oscillations thermiques irrégulières (ENVF, 1990).

1.2. Symptômes locaux

a. tuberculose pulmonaire

Le poumon présente souvent des lésions tuberculeuses isolées de la taille d'un petit pois à celle d'une noisette situés dans le lobe caudal (*Lobus caudalis dexter et sinister*). Le meilleur moyen de détecter de petites altérations est de palper fermement, des deux mains, le tissu pulmonaire. Lorsque la maladie a évolué, des cavités de la taille d'une noisette à celle d'un poing et contenant une masse jaune d'aspect purulent peuvent se former. Les tubercules plus anciens se caractérisent par un tissu conjonctif modifié. Des nodules ulcéreux peuvent se former sur les muqueuses de la trachée et des bronches (Bensid, 2018).

b. tuberculose des intestins

La tuberculose intestinale se caractérise principalement par des altérations touchant les ganglions lymphatiques. Les muqueuses comportent des nodules de la taille de lentilles ou de petits pois et des ulcères ronds (Bensid, 2018).

c. tuberculose de la mamelle

La tuberculose de la mamelle peut se caractériser par des nodules indolores de la taille d'un grain de millet ou d'un petit pois, situés dans un ou plusieurs quartiers. Par la suite, des zones ou des quartiers entiers de la mamelle présenteront un durcissement. Une hypertrophie et une activation des ganglions de la mamelle sont également observées. (Bensid, 2018).

d. tuberculose des organes génitaux

Chez le mâle, elle aboutit à une vaginite ou à une vagino-orchite à évolution lente, la palpation des testicules révèle parfois des œdèmes et de nodule durs. Chez la femelle, elle entraîne une métrite tuberculeuse fermée ou ouverte et elle conduit à une métrite chronique sèche puis purulente accompagnée de stérilité (MELANIE et al., 2002).

e. Tuberculose hépatique

Le foie peut contenir une masse de nodules de la taille de grains de millet voire des nodules de la taille d'un poing ressemblant à du tissu conjonctif dans certaines zones. Les ganglions rétrohépatiques sont également infectés (Bensid, 2018).

2. Lésions

La tuberculose animale est caractérisée, le plus souvent, par la formation progressive de tubercules, d'infiltrations ou d'épanchement tuberculeux dans différents organes avec la coexistence régulière des lésions dans les nœuds lymphatiques satellites (Bensid, 2018).

La recherche des lésions se fait généralement lors des inspections aux abattoirs. Le plus souvent, on cherche des granulomes tuberculeux. Cependant, n'importe quel tissu de l'organisme peut être affecté, mais elles sont plus fréquemment observées dans les nœuds lymphatiques (particulièrement de la tête et du thorax), les poumons, les intestins, le foie, la rate, la plèvre et le péritoine (OIE, 2005).

- **Macroscopiquement**, selon leur stade évolutif, les tubercules sont gris, miliaires (Cf. figure 4), caséux (Cf. figure 5) (occupé par un centre blanc jaunâtre), caséo-calcaires ou fibreux. Outre les tubercules, il peut y avoir des infiltrations (territoire ou un organe) et épanchements tuberculeux étendus liés à un exsudat inflammatoire (les cavités séreuses, parfois les articulations ou les méninges) (Thorel, 2003; Cherel et *al.*, 2006).

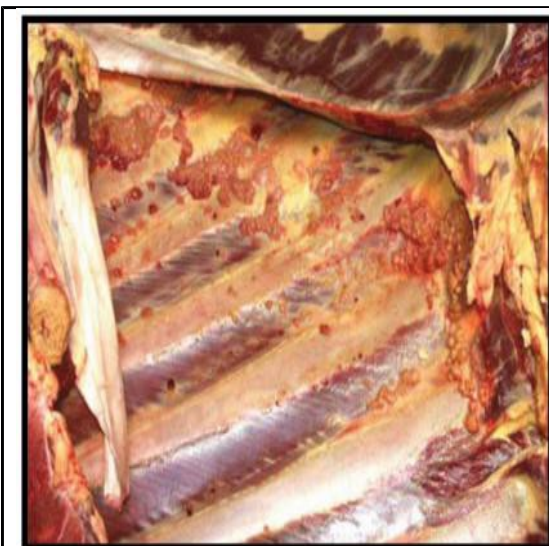


Figure n° 4 : Tuberculose milliaire sur la plèvre (Sieng, 2011).



Figure n° 5 : Abcès caséeux pulmonaire (Dirat, 2013).

- **Microscopiquement**, le tubercule est formé d'un centre nécrotique (pouvant se calcifier) homogène appelé caséum, entouré de cellules neutrophiles et épithélioïdes, de quelques cellules géantes et de petits lymphocytes (Thorel, 2003). Tout ceci pouvant subir une fibrose périphérique (ENVF, 1990).

CHAPITRE V : DEPISTAGE, DIAGNOSTIC, TRAITEMENT ET PROPHYLAXIE

1. Dépistage de la tuberculose bovine

1.1. La tuberculinisation

Elle a été mise au point en 1908 par MANTOUX sur les bovines et testée et testée la première fois sur les chiens en 1909 par ROUSSEL (Mélanie, 2002). C'est une technique de dépistage de la tuberculose sur le plan individuel, elle repose sur l'injection par voie intradermique d'une substance appelée « tuberculine » (Frédéric, 2004).

***la tuberculine** : C'est une substance extraite d'une culture de bacille tuberculeux, capable de révéler l'état d'hypersensibilité retardée d'un organisme infecté et ce, à des doses inopérables sur des sujet sains (Mérial, 2006).

1.2. Différentes méthodes de la tuberculination

a. Tuberculine par voie sous cutanée

C'est la méthode la plus couramment employée à travers le monde. Elle consiste à mettre en évidence une réaction d'hypersensibilité par injection intradermique d'une substance extraite de culture de bacilles tuberculeux appelée tuberculine (De la Rúa-Domenech et *al.*, 2006). La fraction protéique est reconnue par les lymphocytes T sensibilisés et entraîne la libération de lymphokines à l'origine d'une réaction inflammatoire locale qui évaluée généralement en 72 heures (Jungersen et *al.*, 2002). La réaction spécifique est d'apparition progressive et durable (s'estompe en une huitaine de jours) (ENVF, 1990).

b. Tuberculose par voie intraveineuse

Cette méthode nécessite une tuberculine spéciale, elle n'est pas utilisée que sur le plan expérimental à cause de sa dangerosité. Les résultats de cette technique ne sont pas faciles à interpréter (Kopecky, 1971).

c. Epreuve de STORMONT

Elle consiste de réaliser d'abord une intradermotuberculination simple (I.D.S) puis une seconde au même endroit après 07 jours. Cette épreuve permet de reconnaître les animaux faiblement sensibilisée (Blood et Henderson, 1976).

d. Oculo-tuberculination

Actuellement, cette méthode n'est pas utilisée, elle a déjà été appliquée par VALLEE en 1907, elle se réalise par instillation de quelques gouttes de tuberculine brute sur le globe oculaire. Les réactions est dite positive lorsqu'on note une conjonctivite purulente caractérisée par : une photophobie avec larmoiement, une rougeur de la muqueuse, présence d'un exsudat opaque, présence d'un exsudat opaque, blanc ou jaunâtre (Blood et Henderson, 1976)..

e. Injections intradermique

Ce test consiste en l'injection intradermique de dérivés protéiques purifiés (*purified protein derivative*, PPD) de tuberculine bovine et l'en détecte, 72 heures plus tard, d'un éventuel gonflement (hypersensibilité retardée) au niveau du site d'injection. La littérature mentionne une forte variation en termes de sensibilité (*Se*) et de spécificité (*Sp*) du test. (Anonyme 02).

- **Intradermotuberculation simple (I.D.S)**

Elle est réalisée soit avec la tuberculine bovine P.P.D normale « titre 20.000 UCT/ml » (unité communautaire de la tuberculine). Soit avec la tuberculine bovine P.P.D forte « titre 500.000 UCT/ml » (ENVF ,1990).

- **Intradermotuberculation comparative (I.D.C)**

Consiste à comparer la réaction présentée par l'animal à une injection de tuberculine bovine à celle présentée à une injection de tuberculine aviaire pratiquée simultanément. Le teste implique l'injections de tuberculine bovine et aviaire à différents sites sur le cou et la mesure de la réponse trois jours plus tard (OIE, 2002). (Cf. Tableau n° 5)

Elle se réalise par une double tuberculinisation en injectant la D.P.P.aviaire et la D.P.P.bovine en deux points de l'encolure afin de comparer les réactions inflammatoires produites aux sites d'injection des 2 types de tuberculine (Costello et *al.*, 1997).

Puisqu'il existe une plus grande ressemblance antigénique entre le Mycobacterium aviaire et les diverses mycobactéries atypiques, les animaux infectés par les mycobactéries non spécifique réagiront plus à l'épreuve de la tuberculine aviaire (Frédéric Simon, 1990).

Tableau n° 5: Grille de lecture de l'IDC (Benet, 2008)

Réaction	Différence d'épaissement entre (B) et (A)	Interprétation
Si B > -+ 2 mm	B-A > 4mm	Positive
	B-A [1-4 mm]	Douteuse
	B-A < 1 mm	Négative
Si B ≤ 2 mm	Quelque soit le résultat de B-A	Négative

(B) : bovine ; (A) : aviaire.

2. Diagnostic

Le diagnostic de la tuberculose comporte plusieurs étapes :

2.1. Diagnostic clinique

L'expression clinique de la maladie est souvent tardive, peu spécifique et frustrante sauf en cas du stade ultérieur de la maladie (De la Rúa-Domenech et *al.*, 2006). Les limites de diagnostic clinique et de la détection directe obligent à mettre au point de nouveaux instruments de diagnostic qui soient utilisables pour une bonne confirmation (Lécu et Riquelme, 2008).

2.2. Diagnostic histopathologique

L'examen histologique des lésions peut être réalisé pour préciser la nature des tubercules (identification de matière caséuse, présence de cellules géantes multinucléées, de cellules épithélioïdes et de macrophages (O.I.E, 2009)

2.3. Diagnostic nécropsique

Les lésions de la tuberculose paraissent plus évocatrices mais non spécifiques de *M.bovis* (Thorel et *al.*, 1998). Il est donc indispensable de réaliser un prélèvement de ces lésions en vue d'une recherche des mycobactéries.

2.4. Diagnostic expérimental

2.4.1 Diagnostic bactériologique

Les spécimens sont généralement extraits des lésions ganglionnaires ou sur organe parenchymateux tel que les poumons, le foie et la rate au moment de l'inspection des carcasses aux abattoirs (Ayele et *al.*, 2004). Ces prélèvements ne doivent être recueillis que dans des flacons propres, à usage unique fermés hermétiquement ; pour éviter tout risque de contamination lors du transport, et acheminés le plus rapidement possible au laboratoire (O.I.E, 2009). Si l'analyse doit être différée, ils doivent être conservés à plus 4°C, pour préserver la viabilité des bacilles tuberculeux et limiter la multiplication des éventuels micro-organismes contaminants (Carbonnelle et *al.*, 2003). Des précautions doivent être prises pour prévenir l'infection des personnels du laboratoire (Thorel, 1994; Boulahbal, 1998).

a. Examen microscopique

Pour mettre en évidence les mycobactéries, on utilise leur propriété d'acido-alcool résistance, c'est à dire leur capacité à former des complexes stables avec des colorants basiques, fuschine ou fluorochromes phéniqués, qui persistent malgré la double action de

l'alcool et des acides forts dilués (Nolte et Metchock, 1995). En pratique, deux méthodes sont bien codifiées; elles sont bien adaptées à la pratique quotidienne où elles ont fait leurs preuves. Ce sont la méthode de Ziehl Neelsen et la méthode de coloration à l'auramine (Carbonnelle et *al.*, 2003)

▪ Coloration de Ziehl-Neelsen

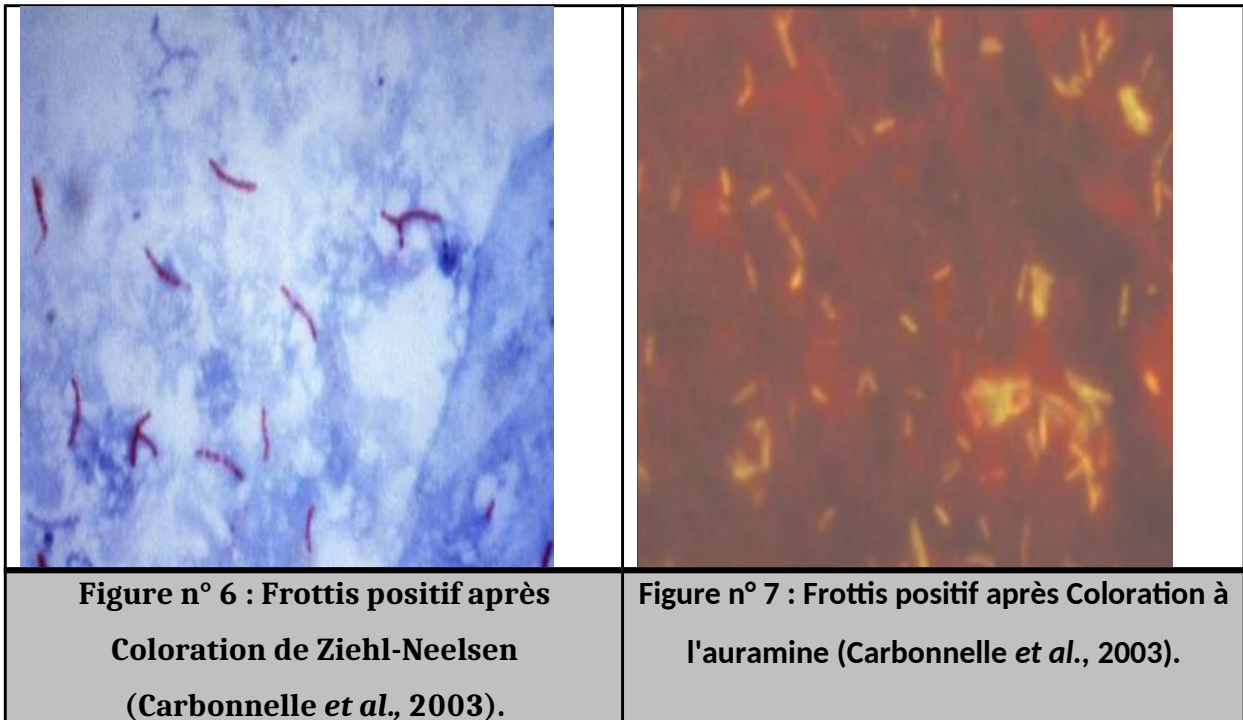
C'est une coloration qui révèle le caractère acido-alcool-résistant (AAR) (Cardoso et *al.*, 2007). Elle comporte trois temps :

1. coloration des frottis par la fuschine phéniquée à chaud ou à froid;
2. décoloration par l'acide et de l'alcool à 90°.
3. une contre coloration au bleu de méthylène (Carbonnelle et *al.*, 2003).

L'observation s'effectue au microscope optique. Les mycobactéries apparaissent alors comme des bacilles rouges sur un fond bleu (Cf. figure 6) au grossissement $\times 100$ (Avril et *al.*, 2003; Freney et *al.*, 2007).

▪ Coloration à l'auramine

La coloration repose sur le même principe que celle de Ziehl Neelsen mais les lames sont examinées au microscope à fluorescence et les mycobactéries émettent une fluorescence jaune orange sur un fond noir (Cf. figure 7) (WatreLOT-Virieux et *al.*, 2006). Cette méthode peut toutefois présenter des inconvénients, notamment lorsqu'il y a peu de bactéries dans les lésions ; il peut être difficile de les mettre en évidence lors de coloration (Carbonnelle et *al.*, 2003). Les frottis colorés sont examinés avec un objectif à sec au faible grossissement ($\times 25$), ce qui fait que la surface de chaque champ microscopique observé est 16 fois plus grande qu'à l'objectif ($\times 100$) (pour le grossissement $\times 40$, le champ microscopique est 5 fois plus grand qu'à l'immersion (Carbonnelle et *al.*, 2003 ; Nolte et Methchock, 1995).



b. Culture bactérienne

La culture est beaucoup plus sensible que l'examen microscopique (Nolte et Metchock, 1995). Elle peut se réaliser à partir de prélèvements de diverses natures mais nécessite le plus souvent une phase de décontamination avant l'ensemencement (OIE, 2009). Les bacilles tuberculeux, aux exigences nutritives particulières, se cultivent sur des milieux spécifiques, solides ou liquides, et l'identification de l'espèce se fait à partir des caractéristiques phénotypiques des colonies obtenues (Denis et Martin, 2007). Le milieu de Löwenstein-Jensen est le milieu de culture le plus employé actuellement dans le monde (Grosset *et al.*, 1990) les colonies de *M.bovis* s'y développent en plus d'un mois. Il est recommandé de toujours ensemer plusieurs tubes de milieu de culture, de les incuber à 35°-37°C, de les examiner chaque semaine pendant au moins 2 mois et, si possible, 3 mois avant de les déclarer négatifs (Grosset *et al.*, 1990). Le milieu de Löwenstein-Jensen enrichi de 02 à 04% de pyruvate de sodium favorise la croissance de *M.bovis* (Sahraoui, 2009).

c. Identification

L'identification des souches isolées en culture pure sur milieu solide se déroule alors en deux temps : par l'étude des caractères culturaux (aspect, pigmentation et délai d'apparition des

colonies) qui constituent une première orientation (Carbonnelle et *al.*, 2003), et qui sera ensuite complétée par des tests biochimiques (permettre de faire la distinction entre bacilles du complexe *tuberculosis* et mycobactéries non tuberculeuse (Grosset et *al.*, 1990; Nolte et Metchock, 1995)). Ces derniers se résument principalement par 4 tests : à la niacine, à la nitrate réductase, à La recherche de l'activité catalasique après chauffage pendant 20minutes à 68°C et de sensibilité à l'hydrazide de l'acide thiophène-2-carboxylique (TCH) (Freney et *al.*, 2007).

2.5. Le diagnostic moléculaire:

Compte tenu du manque de sensibilité et de spécificité de l'examen microscopique, des délais de la culture même réduit par l'utilisation des milieux liquides font que le diagnostic de la tuberculose est long (Brisson et *al.*, 1989). Aujourd'hui, on dispose d'outils moléculaires qui permettent de fournir un diagnostic plus rapide et plus fiable. Ainsi, la détection par amplification génétique des espèces du complexe *tuberculosis* peut être directement effectuée à partir d'échantillons cliniques (Cattoir, 2004).

2.5.1. Amplification génique

La méthode alternative pour la détection directe est l'amplification en chaîne par polymérase(PCR). Plus sensible que la bactériologie, elle est très spécifique et permet de compléter l'analyse bactériologique, notamment pour les prélèvements détériorés, inexploitable en mycobactériologie classique (Hénault et *al.*, 2006). Le résultat est plus rapide à obtenir mais il dépend de la maîtrise de la technique par le laboratoire. Contrairement à la bactériologie qui permet de détecter la présence de *M. bovis* viable, la PCR met en évidence son matériel génétique.

2.5.2. Typage génétique:

Le génotypage permet d'étudier l'origine de l'infection et les profils de transmission et de dispersion de la maladie (Haddad et *al.*, 2004). De nombreuses techniques de typage moléculaire des Mycobactéries du complexe *tuberculosis* ont été décrites. Trois se sont imposé (Walravens et *al.*, 2006), à savoir :

a. Le Spoligotypage:

Le Spoligotypage, ou typage oligonucléotidique des espaceurs du locus Direct Repeat (DR), est une technique qui repose sur la détection du polymorphisme dans la région de « *Direct Repeats* » (DR), spécifique du génome des mycobactéries du complexe *tuberculosis* (Kamerbeek et al., 1997). Cette région est caractérisée par l'alternance de régions identiques DR et de régions toutes différentes les unes des autres, «spacers» (un spacer donné peut être présent dans un isolat et absent dans un autre) Cette méthode est la plus utilisée pour la caractérisation des souches de *M. bovis*. Elle peut éventuellement être utilisée pour l'identification d'une espèce du complexe *M. tuberculosis* et la différenciation des souches à l'intérieur de chaque espèce appartenant à ce complexe (Sahraoui et al., 2010).

Elle est aussi plus discriminante que la méthode RFLP IS6110 pour les souches à faible nombre de copies d'IS6110 (*M. bovis*), mais la méthode de référence RFLP IS6110 reste plus performante pour d'autres souches (*M. tuberculosis*) (Denis et Perronne, 2004).

b. RFLP ou Restriction Fragment Length Polymorphism

Cette technique est basée sur le polymorphisme généré par la variabilité du nombre de copies et des positions sur le chromosome de la séquence d'insertion IS6110. En effet, La capacité de discrimination de celle-ci est liée au nombre de séquences IS6110 et qu'en particulier, les souches contenant un faible nombre sont mal distinguées (Walravens et al., 2006).

c. Technique VNTR ou Variable Number Tandem Repeat

C'est une technique qui utilise la totalité du génome .Elle consiste à amplifier par PCR des locus génomiques qui contiennent des séquences répétées en tandem en nombre variable (VNTR) suivant les souches (Walravens et al., 2006).

Cette technique a été utilisée la première fois en Algérie par Pr Sahraoui en 2009.

2.6. Le diagnostic différentiel

Le diagnostic différentiel se fait avec : Actinomyose, Echinococcose dégénérée et mésothéliome malin. (Walravens et al., 2006).

3. Traitement et prophylaxie

3.1. Traitement

Le traitement de la tuberculose animale est théoriquement possible (ENVF, 1990). Mais, c'est très loin de le réaliser à cause de sa longueur, de son coût, de son caractère astreignant s'ajoutent les risques de rechutes (donc de contagion), et de sélection de souches résistantes dangereuses pour l'homme (Collins, 2006; Lobue, 2006).

3.2. Prophylaxie

La raison première de la lutte contre la tuberculose bovine c'est bien la protection de la santé publique et la minimisation des grandes pertes qui peuvent s'engendrer chez l'éleveur (Benet et *al.*, 2006).

La prophylaxie sanitaire constitue le fondement de la lutte contre la tuberculose animale. Le dépistage et l'élimination des animaux infectés conduisent à la suppression de Source essentielle de l'agent pathogène. La lutte contre la tuberculose repose sur la protection des cheptels indemnes, le dépistage des cheptels infectés et leur assainissement. Le dépistage des animaux infectés s'effectue, d'une part, par tuberculination systématique (selon un rythme désormais variable de 1 à 4 ans, en fonction de la situation épidémiologique du département) de tous les animaux de plus de 6 semaines de tous les cheptels, et d'autre part, par inspection systématique de toutes les carcasses à l'abattoir. L'assainissement des troupeaux est réalisé par le marquage des animaux réagissant à la tuberculination et par leur abattage dans un délai d'un mois.. Il faut alors maîtriser les facteurs de risque, en particulier l'introduction de bovins dans un cheptel indemne de tuberculose, le voisinage avec une exploitation infectée et la résurgence d'une infection ancienne. (Haddad et *al.*, 2004).

Suite au diagnostic expérimental, on suivre le plan suivant qui montre différentes étapes de diagnostic des prélèvements : (Cf. Figure n°08).

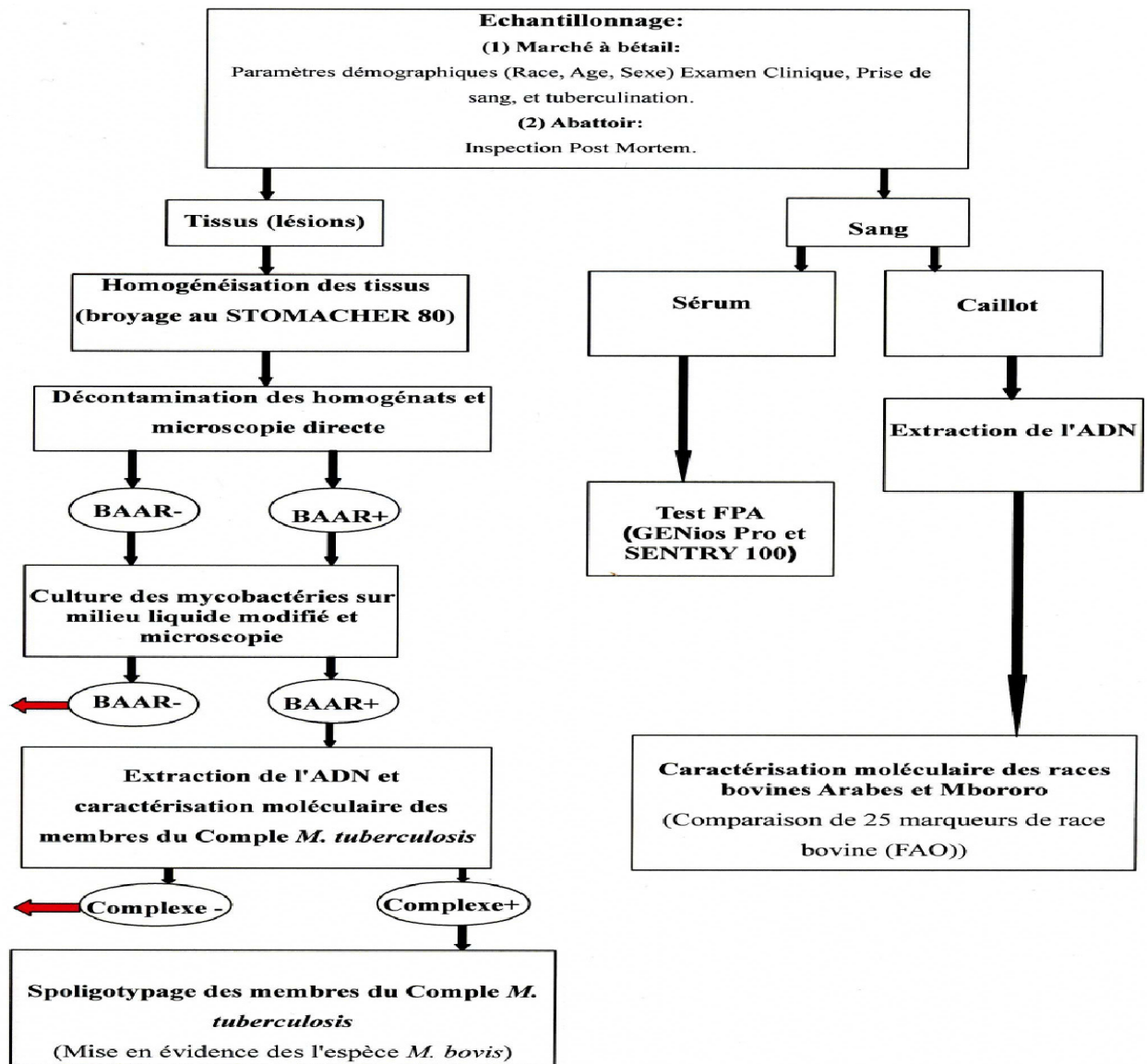


Figure n°08: les différentes étapes de diagnostic et la flèche rouge indique les échantillons éliminés dans chaque étape (Carbonnelle et al., 2003).

Objectifs

La tuberculose bovine en Algérie est problème majeur dans les élevages bovine, qui cause des pertes économique importantes.

Jusqu'à l'heure actuelle, il y'a peu d'études d'épidémiologie moléculaire faites sur la tuberculose bovine chez l'animal , et pas de diagnostic de certitude même en post mortem.

Cette présente étude a ces objectifs suivants :

1. Réaliser une étude prospective pour évaluer le pourcentage des cas de saisies par tuberculose bovine au cours des derniers six mois allant de 01 décembre 2018 à 30 mai 2019 dans trois abattoirs de la région centre (wilaya de Blida et wilaya de d'Alger).
2. Déterminer la prévalence des cas suspects de tuberculose bovine dans la population étudiée par un examen microscopique et bactériologique et par biologie moléculaire.
3. Mettre en évidence les facteurs favorisant de la répartition de la tuberculose bovine.
4. Déterminer les profils génomiques du complexe *Mycobacterium* des souches isolées par la technique typage oligonucléotidique (Spoligotypage) et éventuellement déterminer les lieux géographiques originales de *M.bovis*.

Chapitre VI : Matériels et Méthodes

1. méthodologie de travail

Cette étude a été réalisée sur une période de six mois (01 décembre 2018 ; 31 mai 2019) organisée en deux phases ; la première au niveau de trois abattoirs consiste au collecte des échantillons : l'abattoir de Boufarik de la wilaya Blida, l'abattoir de El-Harrach et l'abattoir des Eucalyptus de la wilaya d'Alger, et la deuxième phase au niveau du laboratoire de Tuberculose de l'Institut Pasteur d'Alger consiste au l'isolements et l'identifications biochimique et moléculaire des prélèvements.

2. Matériels et méthodes

Notre étude s'est déroulée en deux phases, l'une dans les trois abattoirs (Boufarik, El-Harrach et Eucalyptus), et l'autre au niveau du Laboratoire de Tuberculose de l'Institut Pasteur d'Alger.

2.1. Au niveau des abattoirs

Notre méthodologie de travail a été réalisée comme suite :

2.1.1. Inspection ante-mortem

Au niveau trois abattoirs (Boufarik, El-Harrach et Eucalyptus), nous avons inspecté 300 bovins qui y sont parvenus et 100 carcasses ont été prélevées. Ces bovins proviennent des élevages agréés ou non agréés, donc soumis au contrôle de la tuberculose ou non. Ils sont introduits dans ces abattoirs, alors qu'aucune donnée sur leur provenance n'était disponible.

Nous avons procédé à l'examen des animaux, après avoir pris les renseignements sur :

- le sexe.
- la race (locale, croisée ou importée).
- l'âge (moins de 2 ans, entre 2 ans et 5 ans et plus de 5 ans). (Annexe 1)

Cet examen a été réalisé afin d'éviter l'abattage des femelles gestantes et d'effectuer un abattage sanitaire pour les animaux atteints de tuberculose, de brucellose ou de la leucose bovine enzootique.

2.1.2. Inspection poste-mortem

Après la saignée, le dépouillement et l'éviscération, nous avons effectué l'inspection proprement dite des carcasses et les abats en vue de rechercher les lésions suspectes de tuberculose bovine (Cf. Figure n°09). Cette inspection consiste à réaliser un examen systématique et à une incision par un couteau propre de tous les nœuds lymphatiques (NL) ainsi que les organes drainés, comme suit :

- tête : les NL mandibulaires et rétro pharyngiens.
- les poumons, la trachée, les NL trachéobronchiques (crânial, droite et gauche) et médiastinaux caudaux.
- le tractus intestinal et les NL gastriques et mésentériques.
- le tractus génital.

Par la suite, après le porte d'une paire de gants stérile, nous avons prélevés des échantillons sur les organes suspects et leurs ganglions dans des boites stériles transportés par une glacière (+4°C) et acheminements rapidement au laboratoire.

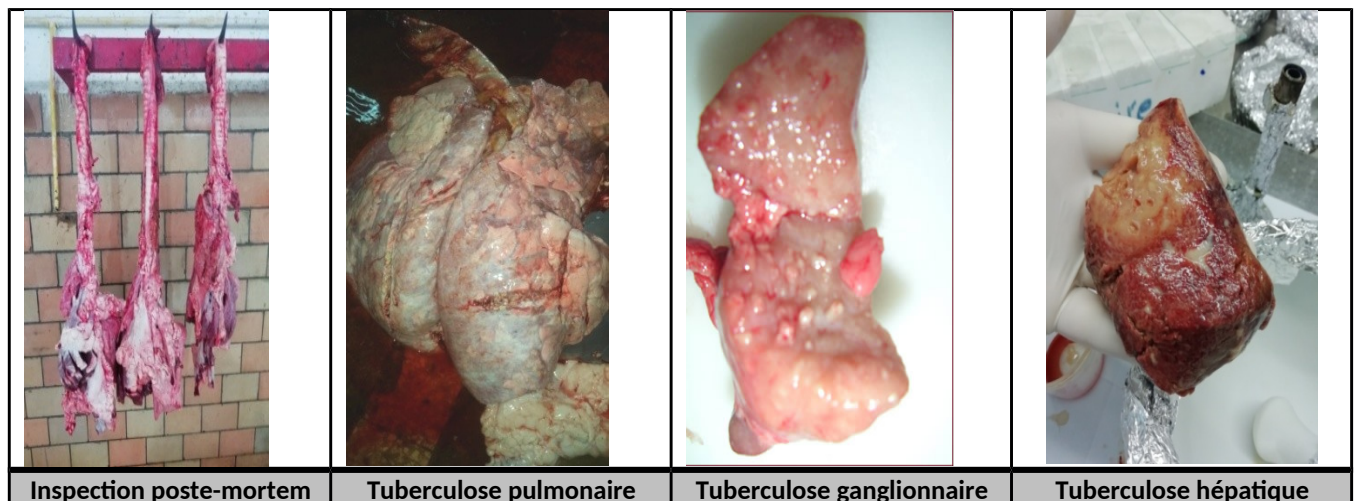


Figure n°09 : les trois aspects les plus rencontrés au niveau d'abattoir.

2.2. Au niveau du laboratoire

Nous avons fait nos prélèvements à partir des lésions suspects de tuberculose bovine. Ces lésions siégeaient sur les différents organes principalement au niveau des poumons et leurs principaux ganglions (trachéobronchiques et médiastinaux) et dans le foie.

Nous avons procédé à la dissection de l'échantillon en utilisant des boîtes de pétri et des lames bistouris à usage unique. Au moyen de mortiers stériles, les fragments des prélèvements sont finement broyés à l'aide d'un pilon, en utilisant dès fois le sable stérile lorsque les fragments ont difficile à broyer. Le produit de broyage ainsi obtenu est servi pour l'examen microscopique aussi bien que la culture.

2.2.1. Examen microscopique (méthode de Ziehl-Neelsen)

a. Matériels

- pipette pasteur, anse de palatine, lames, bec de bunsen, huile d'émersion, microscope optique.
- des colorants et Réactifs : fuchsine phénique, bleu de méthylène, acide sulfurique 25%, d'alcool 90°.

b. Méthodes

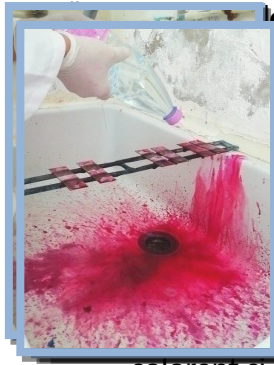
La bacilloscopie a été effectuée de la manière suivante :

➤ L'étalement du frottis

On prélève l'échantillon à l'aide d'une anse stérile, le contenu de l'anse est étalé en couche mince au centre de la lame sur une surface (1 X 2) qui est préalablement numérotée. Une fois l'étalement est terminé, l'anse est immédiatement flambée et le frottis est laissé sécher à l'air. Par la suite, le frottis est fixé par 2 à 3 passages rapides au-dessus de la flamme.

➤ Coloration de Ziehl-Neelsen

Elle comporte trois étapes : (Cf. Figure n°10) (Annexe 2)



Coloration :

par la fuchsine à chaud.

me sur un support métallique.

ir en totalité de fuchsine phéniquée de Ziehl filtré sur papier.

trois fois toutes les 3 minutes pendant 1 à 3 minutes jusqu'à émission

ut en évitant l'ébullition et le dessèchement du frottis (rajouter du

colorant si il est nécessaire).

- Rejeter le colorant et rincer la lame à l'eau ordinaire.

2^{ème} étape de décoloration :

- Recouvrir la lame avec la lame d'acide sulfurique 25% pendant 3 minutes.
- Rincer à l'eau ordinaire.
- Recouvrir la lame d'alcool éthylique à 90° et laisser agir pendant 5 minutes.
- Rincer à l'eau.

Le frottis est alors incolore ou légèrement teinté en rose.

3^{ème} étape : contre coloration :

- Recolorer la lame par la solution de bleu de méthylène et laisser agir pendant 30 secondes à 1 minute.
- Rincer et sécher bien la lame.
- Observation au microscope optique avec objectif à immersion (x100).

➤ **Lecture**

Les frottis examinés avec microscope optique à lumière blanche mené d'un objectif (x100) et d'un oculaire de grandissement moyen (x 6 ou x 8).

Avant tout examen, il faut laisser tomber une goutte d'huile à immersion sur la préparation, en évitant de toucher les lames pour éviter toute les contaminations.

Les lames est ensuite placée sur le chariot du microscope, la goutte de l'huile dans l'axe de la lentille de l'objectif, et à l'aide de la vis micrométrique, on baisse l'objectif pour se prolonger dans la goutte d'huile.

1. Préparation des Réactifs	2. Recouvrir la lame par la fuchsine	3. Chauffer les lames 3 fois chaque 3 minutes	4. Rincer à l'eau ordinaire


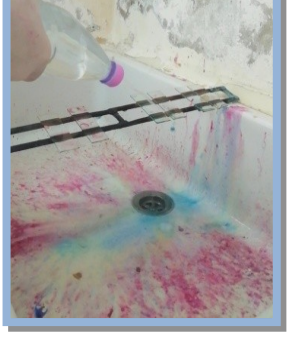
			
4. Recouvrir la lame d'acide sulfurique 25%	5. Rincer à l'eau ordinaire	5. Recouvrir la lame d'alcool éthylique	7. Rincer à l'eau ordinaire
8. Recolorer la lame par bleu de méthylène	9. Rincer à l'eau ordinaire	10. Mettre les lames sur le portoir de lames	11. Sécher bien la lame avant la lecture

Figure n°10: les étapes de la Coloration de Ziehl-Neelsen

La mise au point étant faite en manipulant la vis micrométrique et en regardant dans les oculaires. Dès la mise au point ; on commence à lire systématiquement champ par champ et en examinant chaque champ de la périphérie vers le centre à la recherche des bâtonnets fins, droit ou incurvés, réguliers ou granuleux, isolés ou en amas colorés en rose sur fond bleu. Simultanément, on compte tout les bacilles ainsi observés aux champs 10, 20 ou 100 selon que le frottis est très riche, moyennement riche ou pauvre. Si l'on ne découvre pas des bacilles au cours d'examen, on explore en moins 300 champs microscopiques avant de noter la lame négative. (Cf. Figure n°11)

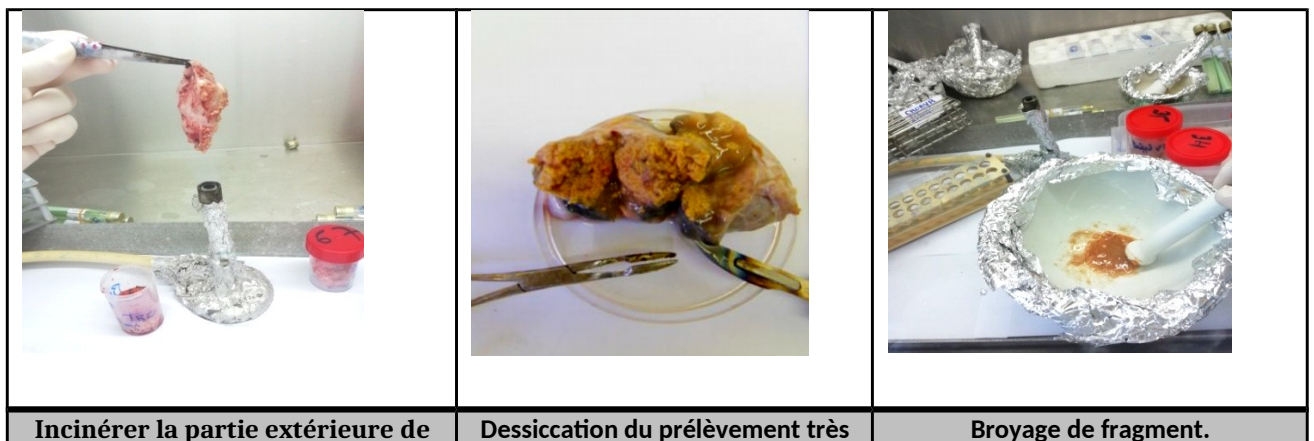


Figure n°11 : Examen au microscope optique avec l'objectif à l'immersion (x100).

2.2.2. La culture

a. Préparation des échantillons

Au niveau de la hotte, on ouvre le flacon on prend la biopsie avec un pince de préhension et flamber la partie extérieur pour minimiser les contaminations, sur une boîte de pétrie avec un bistouri on fait des coupes très finement, et à l'aide d'un mortier stérile on broie l'échantillon (Cf. Figure n°12), et si le broyage est difficile on ajoute le sable stérile pour faciliter le travail.





préparation des échantillons

illons

co troff modifié à la soude 4% (sans neutralisation), elle e à 4%, en doublant son volume par rapport à l'homogénéisât. La suspension ainsi obtenue est agitée sur agitateur Kahn pondent 15 minutes, elle est centrifugée 3000 tours pendant 15 min, jeter les surnageants et ajouter de H2O pour le rinçage. Nous procédons par la suite à une recentrifugation 3000 tours pendant 15 min et à un rejet des flottants après avoir lavé le culot à l'eau distillée stérile.

c. La mise en culture

Le culot final estensemencé sur quatre tubes de Löwenstein-Jensen en raison de 0,2 à 0,3 ml (3 à 5 gouttes) par tube (Cf. figure 13). Ces tubes ont été placés à l'étuve à 37°C (Cf. figure 14) pendant 12 semaines sur des portoirs spéciaux en position inclinée et ne sont fermés hermétiquement qu'après évaporation du liquide pendant 2 ou 3 jours .Le milieu doit être sec mais non desséché pour que les mycobactéries puissent s'y développer. Une observation hebdomadaire de la croissance des colonies a été faite pour être en mesure de préciser la date exacte de l'apparition des colonies.

Figure n°13 : Ensemencement sur de L-J	Figure n°14 : l'étuve à 37°C

- **Lecture**

Après 48 h, nous examinons les tubes pour contrôler la qualité de la décontamination, le changement de couleur du milieu et la poussée des mycobactéries à croissance rapide. S'il y a des contaminations éventuelles (Cf. figure 15), ces dernières entraineront un virage de la couleur du milieu. Dans ce cas, ces milieux de culture sont écartés et refaits à partir du prélèvement initial. Si des colonies apparaissent, nous confectionnons des frottis à partir des colonies observées et nous réaliserons la coloration par la technique de Ziehl-Neelsen.



Figure n° 15: Tubes contaminés.

S'il y a présence de colonie (Cf. figure 16), la culture sera déclarée positive et nous procéderons à une identification biochimique (le teste de nitratase).

Les tubes négatifs sont remis à l'étuve et après 12 semaines d'incubation, et si la culture reste négative, elle sera déclarée négative.



Figure n°16: une culture positive.

2.2.3. Identification biochimique

Une fois la culture est déclarée positive, nous procédons à l'identification des mycobactéries par teste de réduction des nitrates.

- **La réduction des nitrates**

Les étapes sont les suivantes :

- prélever une masse de culture riche, à l'aide d'une anse de plastique.
- Placer la culture un tube à hémolyse contenant 2 gouttes d'eau distillée.
- ajouter 2 ml de la solution de nitrate de soude Na NO_3 à 0,085%.
- agiter le tube à la main puis incuber à 37°C pendant 2 heures au bain marie
- sortir le tube du bain marie et laisser le à la température ambiante au moins 5 minutes
- ajouter les réactifs, en raison de deux à trois gouttes de NRI (Acide Sulfanilique+ Acide Acétique) puis 2 à 3 gouttes de NRII (alpha-naphtylamine+acide acétique).
- Noter bien : Il faut à chaque fois ajouter un témoin positif et un témoin négatif pour prouver qu'il n y a pas des faut positif.

Lecture :

Le test est :

- négatif, en absence de coloration
- positif, lorsqu'il y a apparition d'une coloration rose, à rouge foncé (Cf. Figure 17).

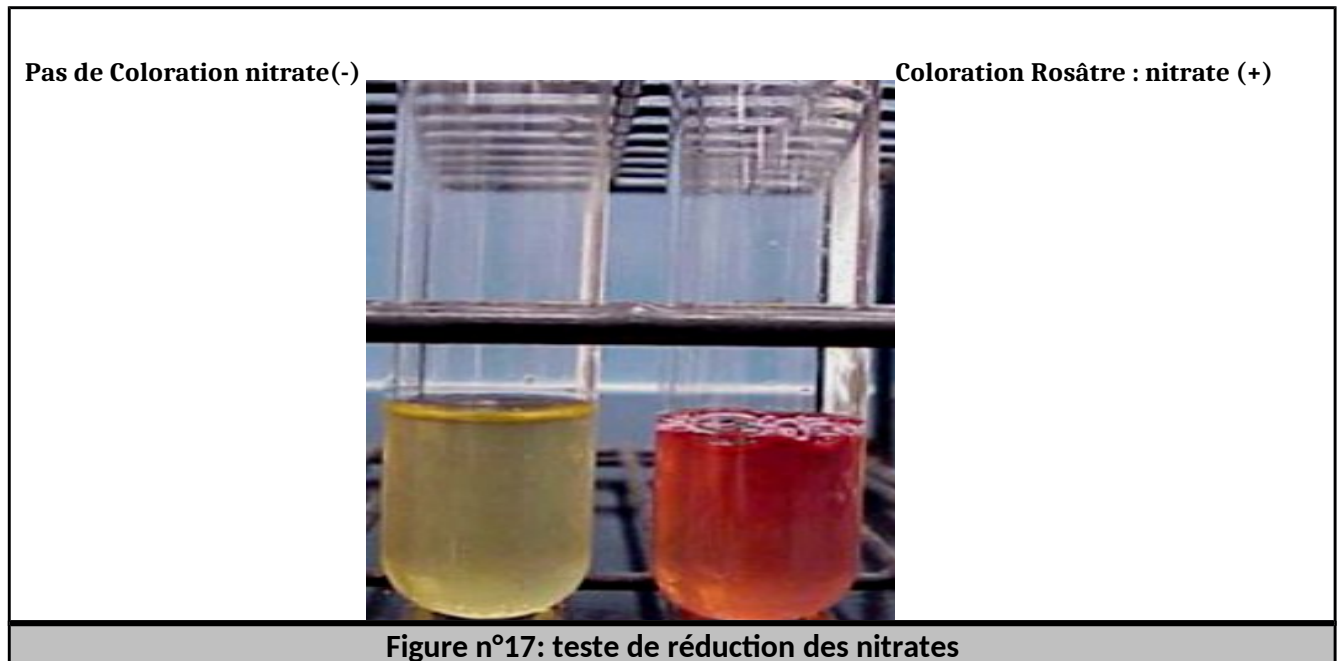


Figure n°17: teste de réduction des nitrates

2.2.4. L'identification moléculaire par Spoligotypage

Un examen microscopique est réalisé selon la méthode Ziehl-Neelsen sur chaque prélèvement, suivi d'une culture sur milieu L-J puis le typage moléculaire selon la technique de Spoligotype.

e.1. Le choix de technique :

Le typage moléculaire représente actuellement une contribution majeure aux enquêtes épidémiologiques classiques concernant la tuberculose.

La méthode standardisée utilisée dans cette étude est celle décrite par Kamerbeek et Al, qui repose sur la détection du polymorphisme de la région DR (Direct Repeat) , dit méthode de typage par spoligotyping

Nous l'avons choisi la pour deux raisons : d'une part parce qu'elle permet l'identification des espèces du complexe tuberculosis et de différencier les souches au sein d'une même espèce.

D'autre part, pour sa rapidité car elle permet de traiter 43 souches en une seule manipulation, dans une durée de 48 heures seulement.

Technique facile, non onéreuse, les résultats peuvent être analysés par logiciel ou par Excel et comparés à une base de données mondiale disponible sur le net.

Le Kit nécessaire à cette technique est commercialisé par la firme isogene® (Biosciences BV), composé d'un couple d'amorces de deux souches de référence pour le contrôle interne d'une membrane .

L'avantage de ce Kit, c'est que la membrane est réutilisable plusieurs fois.

e. 2. Principes de la méthode Spoligotyping

La méthode de typage est basée sur l'étude du polymorphisme de l'ADN au niveau du locus DR, ce dernier est présent uniquement chez les bactéries du complexe *Mycobacterium tuberculosis*, après séquençage de la souche *Mycobacterium bovis* BCG. La région DR de *M.bovis* BCG se trouve composer de séquences répétées de 36 paires de base, intercalées par d'autre séquence non-répétitives appelées « spacers », longue de 35 à 41 paires de base. Le nombre de copie de la séquence DR chez *M.bovis* BCG est de 49 ; alors que chez les autres souches *M.tuberculosis* elle est significativement variable. (Cf. Figure : 18).

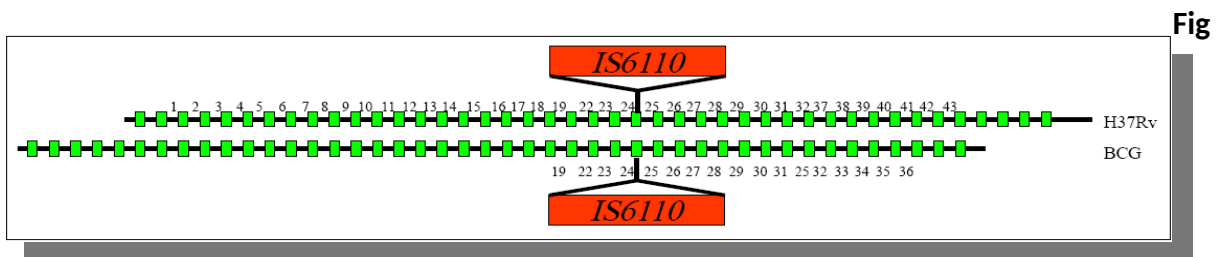


Figure 18 : structure de locus DR du génome des souches *M.tuberculosis* H37Rv et *M.bovis* BCG P3. Les rectangles verts représentent les 36 pb du Direct Repeat (DR).

Une séquence DR et son spacer voisin sont appelés « Direct Variant Repeat » DRV. Quand cette région DR de plusieurs souche a été comparée, il a été constaté que l'ordre des ces spacers étaient le même chez tout les souches, mais des délétions et/ou des insertions de spacers ou DRs étaient aussi possible (Cf. Figure : 19).

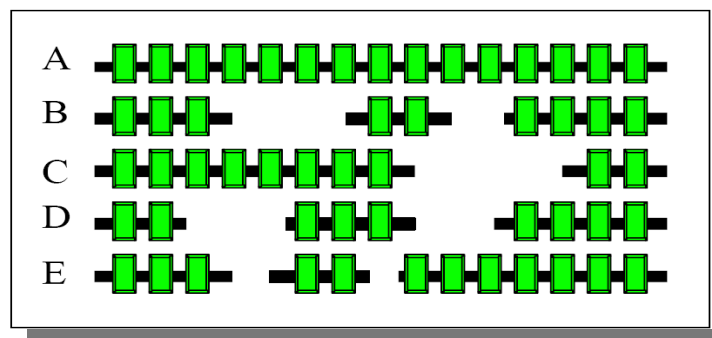


Figure 19: schéma représentant de polymorphisme de la région DR.

Le mécanisme par le quel ces spacers et ces copies de DRs sont générées est inconnu. Avec cette méthode, la présence ou l'absence au niveau de la région DR d'un ou de plusieurs 43 connu sous le nom de spacers peut être détecté par hybridation du produit de l'amplification avec l'ensemble 43 oligonucléotide immobilisées sur une membrane en nitrocellulose commercialisée par isogene®. On peut détecter la présence ou l'absence des spacers connus.

La première étape consiste à amplifier les différents spacers la région DR, grâce à un couple d'amorces

Les produits d'amplification sont ensuite hybridés perpendiculairement aux oligonucléotides fixés sur la membrane en monobrins. Après hybridation, la membrane est incubée avec la streptavidine-peroxydase, qui se lie à la biotine fixée à l'une des amorces. La détection du signal de l'hybridation est optimisé par un mécanisme de détection chimio-lumineux (enhanced chimiluminescence-ECL) la peroxydase présentent sur la streptavidine catalyse une réaction provoquant une émission de lumière, cette dernière peut être détectée par autoradiographie de la membrane.les résultats s'expriment sous forme d'un code binaire, l'interprétation des résultats se fait après confrontation des différents profils à ceux de la banque de donnée mondiale spoligotyping *M.bovis*.

e.3. Procédures et étapes de la technique de Spoligotypage

➤ Extraction de l'ADN

A l'aide d'une anse en palatine, nous avons prélevé à partir du milieu de L-J quelque colonies de culture de MTb et mises dans un tube à vis de 2 ml contenant 150 µl d'eau de pureté biologique ou de TE (Trizma-base _ EDTA).

- ce mélange a été chauffé pendant 30 min à 100° dans un bloc chauffant sous hotte de sécurité bactériologie. les produits d'extraction ont été conservés à -20°C jusqu'à utilisation.

➤ Amplification par PCR

L'amplification des spacers est accomplie par l'utilisation d'un couple d'amorces Dra biotiné et DRb, qui permettent d'amplifier les espaces inter DR (figure : 20).

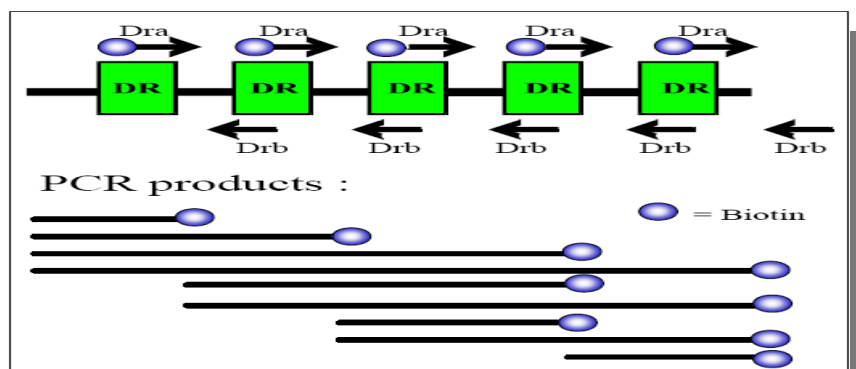


Figure n° 20: principe de l'amplification in vitro de l'ADN au niveau de la région DR.

Une petite quantité d'ADN est requise pour la réaction. Théoriquement, la PCR est exécutée avec 10 ng d'ADN chromosomique mycobactérien purifié mais, avec des adaptations mineures, l'ADN extrait d'échantillons clinique ou bactérie lysées peut aussi servir pour la PCR. Dans une chambre blanche exempte d'ADN mycobactérie (afin d'éviter la contamination par d'autre ADN) une quantité suffisante d'un mix (mélange de réactifs nécessaire pour la PCR) été préparée.

Pour nos réactions, on a besoin des quantités des réactifs suffisantes, mentionnées dans le tableau n°06 :

Tableau n° 06 : La quantité des réactifs nécessaire pour les PCR* 50 réactions de souche + 3 réactions de témoins (témoin négative +2 témoin positif ++ s: Le BCG et la H37Rv).

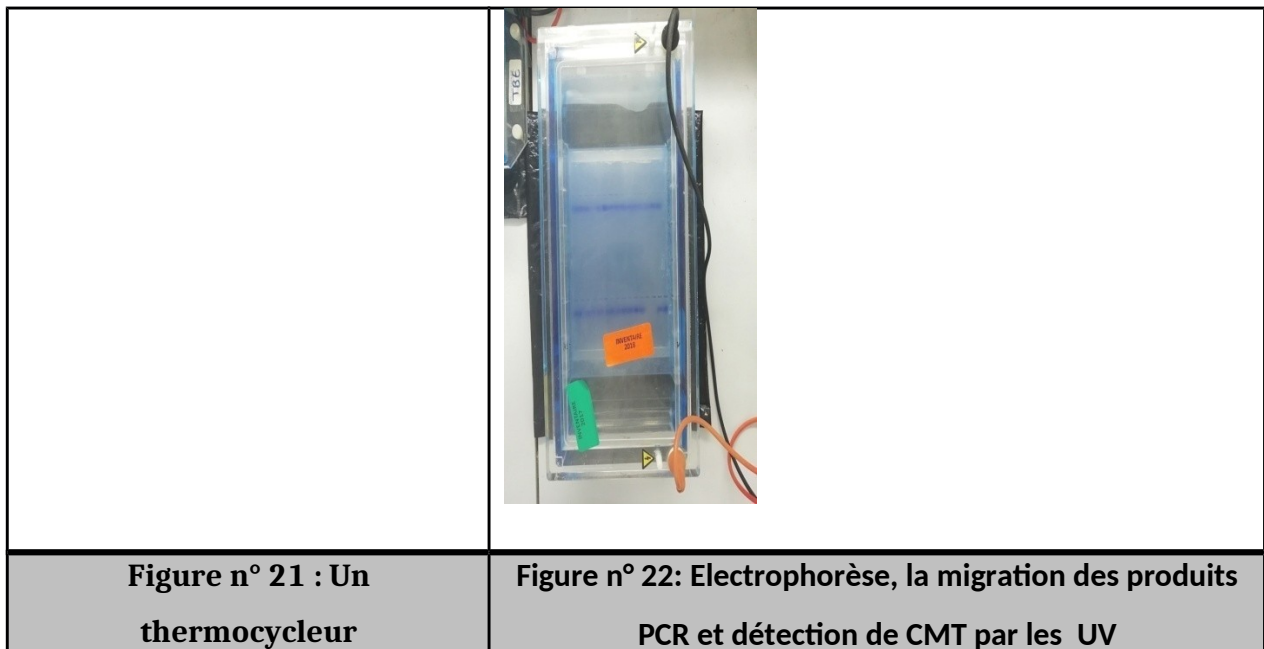
Réactif pour PCR	Pour 1 réaction	Pour 53 réactions*
H2O	14,9 µl	789,7 µl
Tampon taq	10 µl	530 µl
Mg Cl2 50 mM	7 µl	771 µl
Amorce 1 (Dra 20 pmol)	4 µl	212 µl
Amorce 2 (Dra 20 pmol)	4 µl	212 µl
DNTP 2,5 mM	8 µl	424 µl
Taq Tth polymérase	1,01 µl	0,53 µl

- Répartir à l'aide d'une micropipette 48 µl du mix par microtube stérile de 0,2 ml.
- Dans une autre pièce différents de la chambre blanche, on rajoute 2 µl du surnageant du produit d'extraction.
- les microtubes ont été placés dans un thermocycleur (Cf. Figure : 21). Selon le programme de la technique spoligotyping (tableau n°07).

Tableau n°07: le programme PCR pour technique spoligotyping

	Temps	Température	Nombre
N	3 minutes	96 ° C	1 cycle
	1 minute	96 ° C	30 cycles
	1 minute	55° C	
	30 seconds	72° C	
E	5 minutes	72° C	1 cycle
	99 h 99 min	4 ° C	

Les produits sont estimés sur un gel d'agarose à 1.5 %, afin d'apprécier la quantité de la PCR et la disponibilité de l'ADN bactérien pour l'hybridation. En prélevant 2 µl de chacun des produits d'amplification mélangés au bleu de dépôt puis déposés dans des puits. Après migration sous l'effet d'un courant de 90 volts pendant 30 à 90 minutes, les produits sont visualisés sous une rampe UV, et la couleur rose des produits confirme qu'ils sont de complexe *Mycobacterium tuberculosis*. (Cf. Figure : 22).



➤ Hybridation

➤ **Préparation de la membrane Isogen® pour le typage et son montage dans le miniblotter :**

- rincer la membrane (la membrane doit être tenue à l'extrémité par des pinces).
- nettoyer parfaitement le miniblotter.

Monter la membrane avec son support de mousse dans le miniblotter de telle sorte que les lignes d'encre soient au même niveau que les orifices des canaux, et que les lignes de dépôt contenant les oligonucléotides (sondes des spacers) soient juxtaposées avec leurs canaux

homologue au niveau de la partie supérieure de miniblotter, ainsi chaque canal en compagnie de sa ligne de dépôt servira à analyser le locus DR d'une souche. (Cf. figure n°23)

- les parties supérieure et inférieure du miniblotter englobant la membrane et le support de mousse ont été fermées et visées par 6 vis en plastique.

- à l'aide d'une pompe à vide, on aspire le liquide résiduel au niveau des canaux. (Cf. figure n°24)

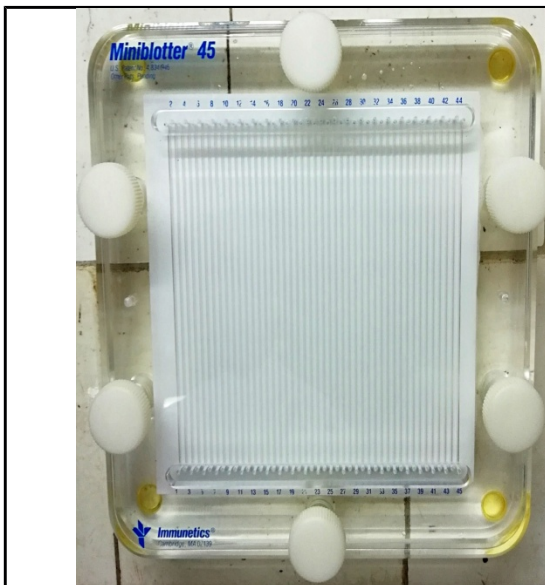


Figure n°23 : Préparation de la membrane Isogen® pour le typage

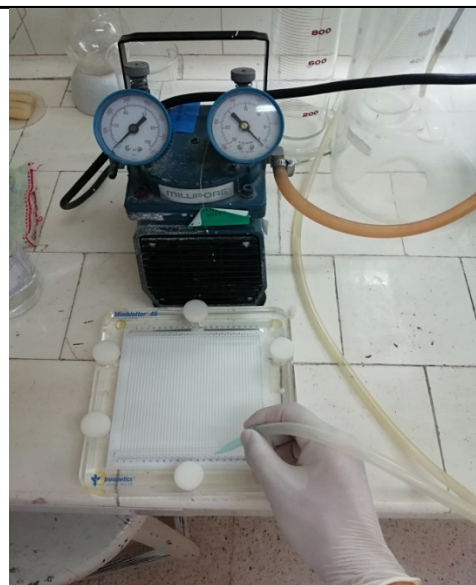


Figure n°24 : aspire le liquide résiduel au niveau des canaux

Figure n°17: Préparation de la membrane Isogen® pour le typage

➤ **Préparation des échantillons**

- 20 µl de chacun des produits PCR a été dilué dans 150 µl de tampon 2X SSPE / 0.1 SDS ; ainsi on prépare 40 échantillons de souches, en plus de 2 témoins positifs (souche BCG et H37Rv) et un témoin négatif, ce qui fera 43 tubes à préparer.

- chauffer les tubes à 100° C pendant 10 min afin de dénaturer l'ADN, puis les prélèvements sont placés immédiatement dans de la glace pour maintenir cette dénaturation.

➤ Remplissage du miniblatter

- on procède au remplissage des canaux successivement et en notant l'ordre de remplissage. (Cf. figure n°17)

- le premier et dernier canal, seront remplis avec du tempon 2X SSPE / 0.1 SDS afin d'éviter tout phénomène de bavage (contamination inter-échantillons).

- remplir les 43 canaux avec 150 µl du contenu des tubes chauffés puis refroidies.

➤ Incubation la membrane

- Le miniblatter est incubé en position horizontale pendant 1 heure à 60 C°. (Cf. figure n°26)

- Après incubation, on retire miniblatter pour aspirer les solutions des canaux dans l'ordre du dépôt, après séparation des deux parties du miniblatter, la membrane est retiré délicatement grâce à une paire de pince.

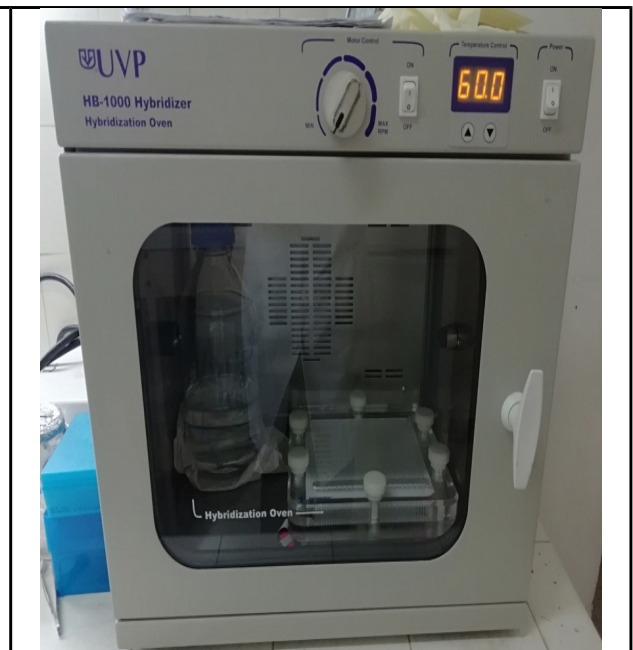
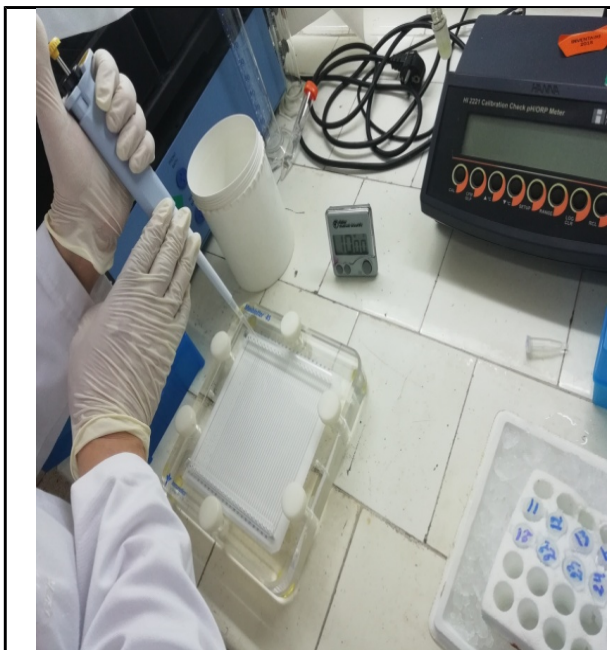


Figure n°25 : Remplissage du miniblotter

Figure n°26 : Incubation la membrane 60 C°

➤ **Traitement de la membrane**

- La membrane est lavées 2 fois avec une solution de 150 µl de 2X SSPE / 0.5 SD à 60 C° pendant 10 min avec agitation puis placer dans une bouteille rotative (Cf. figure n°27) contenant une solution de conjugué streptavidine-peroxydase diluée au 1/4000 (3.5 µl de conjugué de streptavidine-peroxydase dans 14 ml de 2 X SSPE / l. 5) cette bouteille à été placé en rotation pendant 45 minutes à 1 heure température de 42 C° Laver de nouveau de la membrane 2 fois dans solution de 250 ml de 2 X SSPE /0.5 SDS à 42 C° cependant 10 minutes sous agitation puis dans 250 ml de 2 X SSPE pendant 5 minutes à température ambiante sous agitation aussi (Cf. figure n°28).

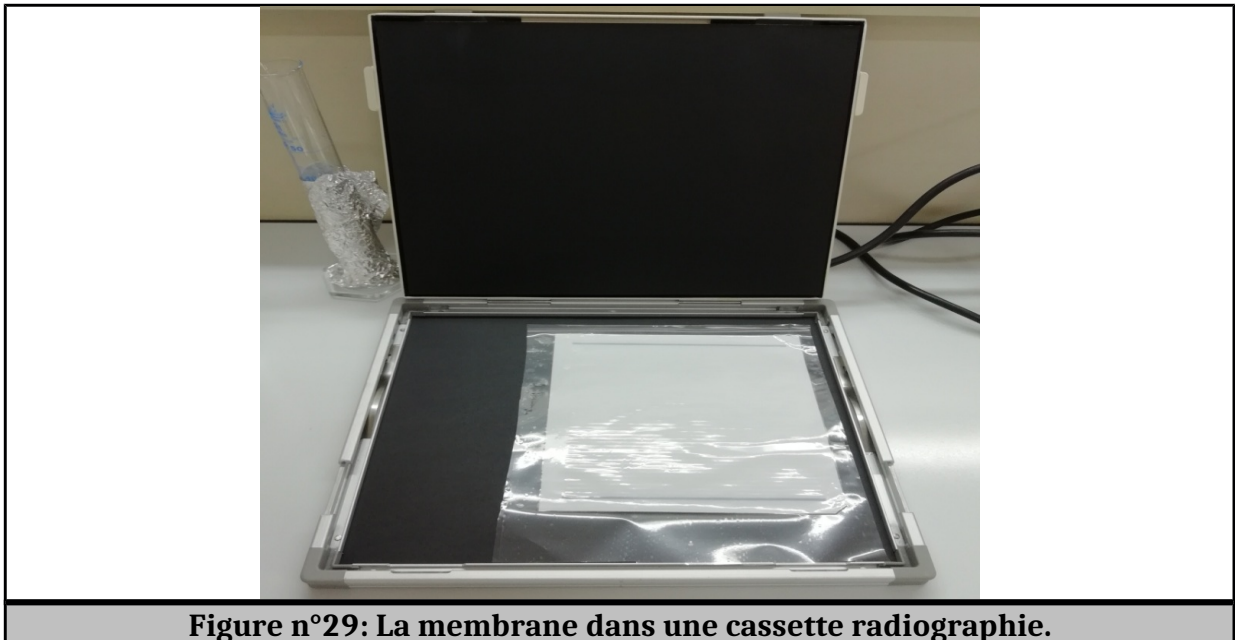


Figure n°27: Une bouteille rotative

Figure n°28 : Traitement de la membrane à température ambiante sous agitation

➤ **Détection de la chimioluminescence**

- Incuber la membrane pendant 2 minutes dans 40 ml de solution de détection ECL (mélange des réactifs 1 et 2 en quantité égale) en agitant doucement à la main.
- La membrane est mise dans une pochette transparente en plastique en chassant les liquides et les bulles d'air formées puis placé dans une cassette de radiographie. (Cf. figure n°29)



- Au niveau de la chambre noire on expose notre membrane à un film ECL ultra sensible (radiographie) placé à l'intérieure de la cassette contre la face de la membrane portant les oligonucléotides à raison de deux expositions

Une pendant une minute, puis répété avec un autre film pendant 5 min à 30 minutes.

- Le film est révélé et les résultats de l'hybridation sont obtenus.

➤ **Déshybridation et conservation de la membrane.**

- Après chaque manipulation, on procède à l'élimination des oligonucléotides fixés sur la membrane par déshybridation, en la lavant 3 fois dans 250 ml de SDS 1 % à 85° C pendant 30 minutes et sous agitation puis la conservant scellée dans du Saran-Wrap dans un endroit frais et sec jusqu'à usage ultérieure (chaque membrane peut être réutilisée être lavage soigneux, plusieurs fois). (Cf. figure n°30)



Chapitre VII : Résultats

1. Résultats des cas de saisies pour tuberculose bovine

L'inspection de 300 carcasses bovines au niveau des trois abattoirs durant six mois, a montré que 100 carcasses portaient des lésions suspectes de tuberculose bovine, soit un pourcentage de 33.33 %. Nous sommes utilisés le programme d'EXCEL pour analyser les différentes statistiques. La proportion des cas suspects de tuberculose bovine de chaque abattoir est illustrée par la figure n° 31 et rendus par le tableau d'annexe n°03.

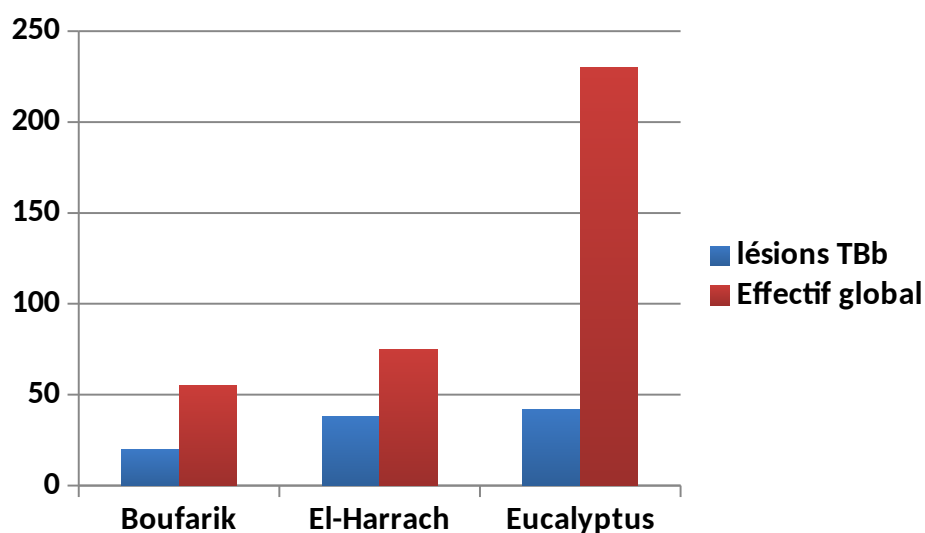


Figure n°31 : Saisies pour tuberculose bovine dans les trois abattoirs durant six mois (01 decembre2018 jusqu'à 31 mai 2019)

Cette étude a montré qu'il y a une différence significative de nombre des saisies pour tuberculose bovine entre les trois abattoirs avec un fort pourcentage à l'abattoir d'El-Harrach (50.66%).

2. Etude des facteurs influençant sur la répartition de tuberculose bovine

En fonction des données dont nous disposons, nous avons pris en considération les facteurs qui peuvent influencer la fréquence de l'affection tuberculose bovine, dans notre étude ces facteurs sont représentés par : sexe, âge, race, localisation, et le type :

2.1. La répartition des cas de tuberculose bovine en fonction du sexe

Les résultats relatifs au taux des lésions suspectes de tuberculose bovine en fonction du sexe sont illustrés sur la figure n°32 et redonnés dans le tableau d'annexe n°04.

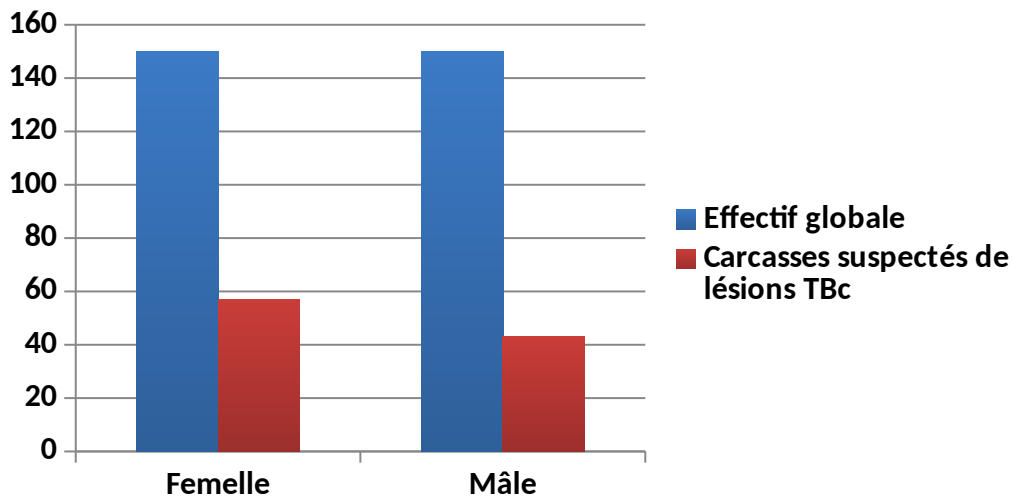


Figure n°32: Proportion des lésions suspectes de tuberculose bovine en fonction du sexe

La figure montre que le pourcentage des saisies pour tuberculose bovine est plus élevé chez le sexe féminin (38%) par rapport aux mâles.

2.2. La répartition des cas de tuberculose bovine en fonction de l'âge

Les résultats relatifs au pourcentage des lésions suspectes de tuberculose bovine en fonction de l'âge sont illustrés dans la figure n°33 et ramenés par le tableau d'annexe n°05.

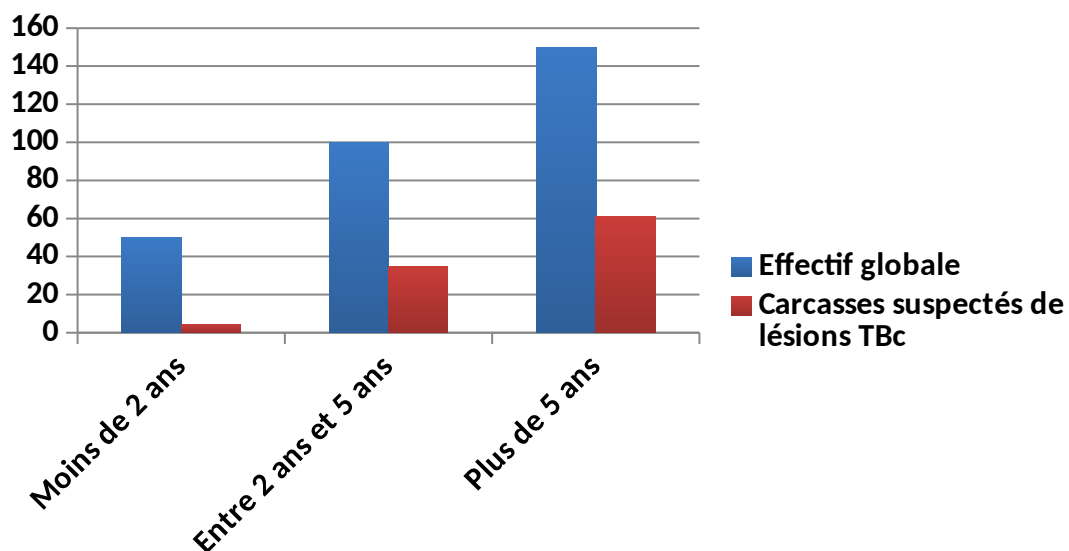


Figure n°33 : Proportion des lésions suspectes de tuberculose bovine en fonction du l'âge

Les résultats montrent qu'il y a une différence très importante des proportions des saisies pour tuberculose bovine entre les classes d'âge et que les animaux âgés plus de 5 ans sont les plus touchés (30.33%).

2.3. La répartition des cas de tuberculose bovine en fonction de la race

Les résultats relatifs à la proportion des lésions suspectes de tuberculose bovine en fonction de la race sont illustrés par la figure n° 34 et rendus par le tableau d'annexe n°06.

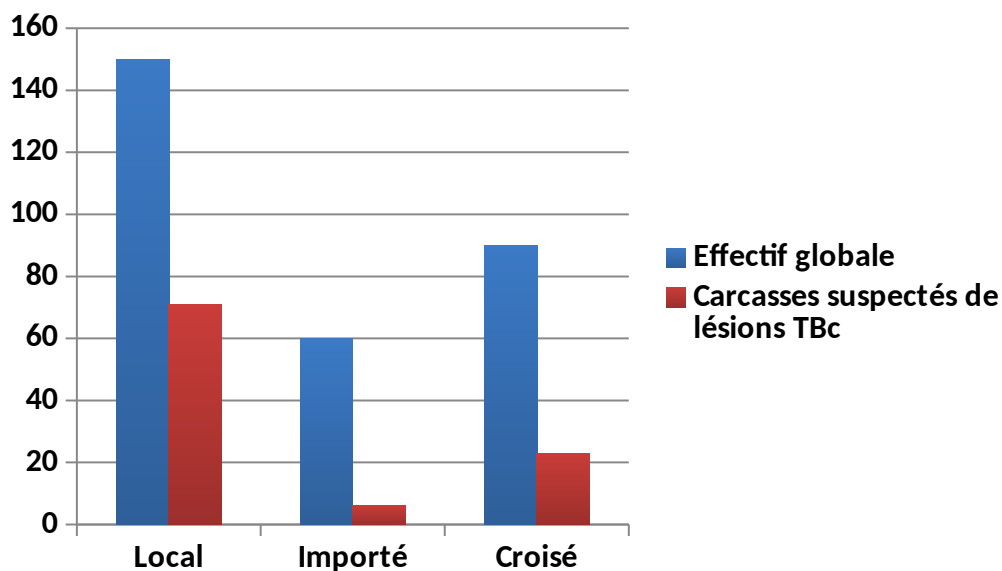


Figure n°34: Proportion des lésions suspectes de tuberculose bovine en fonction de la race.

L'étude indique que la différence des proportions des saisies pour tuberculose bovine entre les trois races est importante, donc elles ne présentent pas la même sensibilité à l'affection et la race locale apparaît plus sensible (43.33%).

2.4. La localisation des lésions

La répartition des lésions tuberculeuses en fonction de leurs localisations est illustrée dans la figure n° 35 et rendus par le tableau d'annexe n°07.

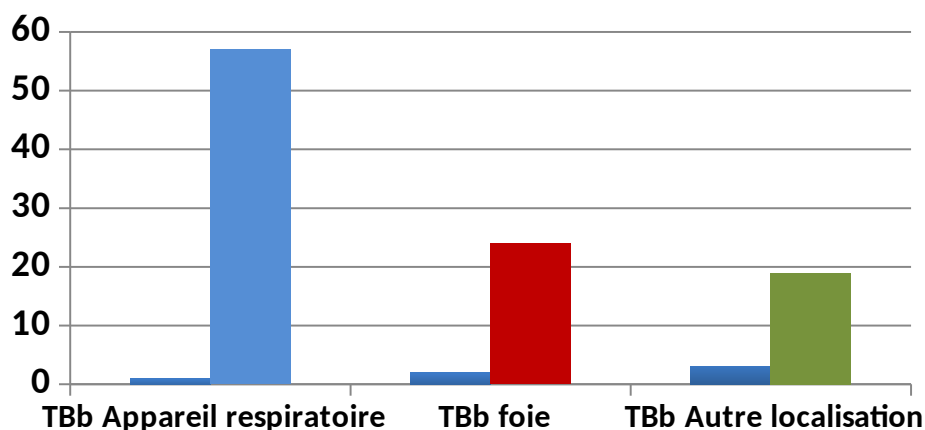


Tableau n°35 : Proportion des lésions tuberculeuses en fonction de leurs localisations.

Ces résultats nous ont permis de constater que les lésions sont essentiellement localisées dans l'appareil respiratoire avec un pourcentage de 57% suivi de 24% dans le foie. Pour les autres localisations (appareil génital, les oses et intestins), nous avons noté 19%.

2.5. Répartition des saisies par type de tuberculose bovine

Nous montrons dans cette partie les proportions des lésions suspectes en fonction de type de tuberculose localisé ou généralisé comme est illustrée dans la figure n° 36 et redonnés par le tableau d'annexe n°08.

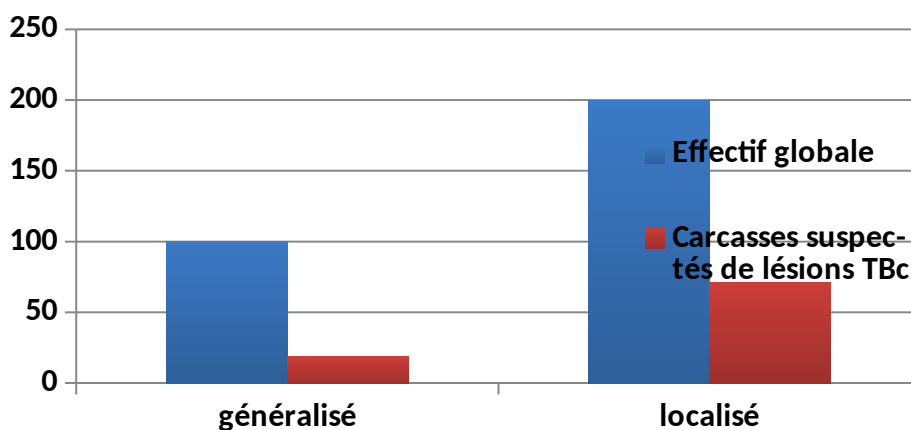


Figure n°36 : Cas de tuberculose bovine en fonction de type

Il en ressort que la majorité des lésions sont de type localisé avec un pourcentage de 35.5% mais il est intéressant de noter que l'atteinte généralisée est non négligeable avec un pourcentage de 19%.

3. Diagnostic au laboratoire

3.1. Diagnostic par examen direct (bacilloscopie)

L'examen microscopique des prélèvements révèle les résultats suivants : la figure n°37 suivante et rendus par le tableau d'annexe n°09 :

Résultats de bacilloscopie

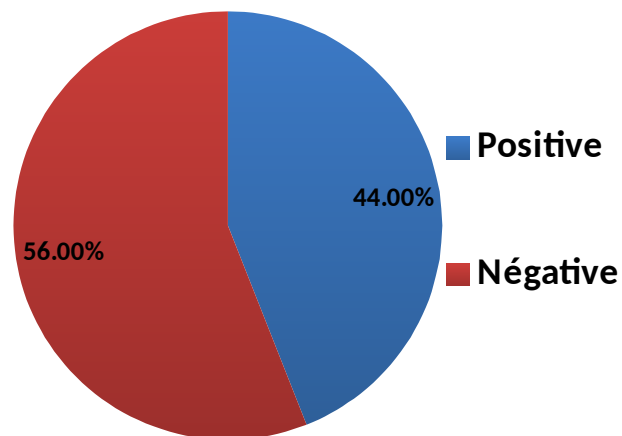


Figure n°37: Pourcentage du diagnostic de la tuberculose bovine par examen microscopie

Les résultats montrent que la bacilloscopie est positive pour 44 sur le total de 100 prélèvements, soit une proportion de 44%.

3.2. Diagnostic par culture

La culture des prélèvements révèle les résultats rendus dans la figure n°38 et redonnés par le tableau d'annexe n°10 :

Résultats de culture

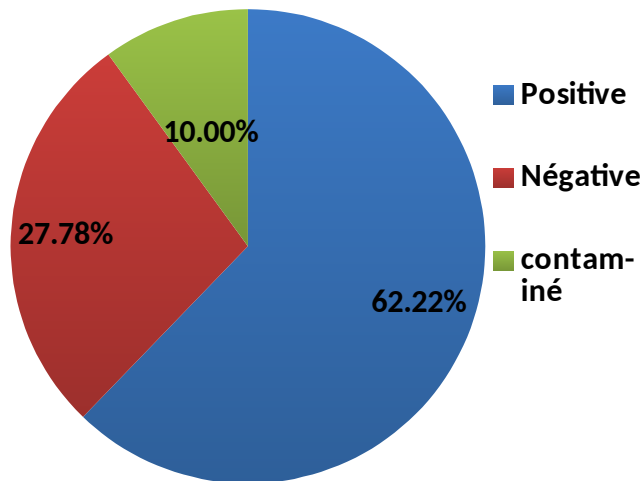


Figure n°38: Pourcentage du diagnostic de la tuberculose bovine par la culture

Sur un total de 90 cultures, les résultats montrent que 56 cultures étaient positives (62.22%) contre 25 négatives (27.77%) et de 9 cultures étaient contaminées (12%).

3.3. Identification biochimique

La recherche de la nitratase effectuée sur les cultures fraîches sont revenues négatives, caractéristique de *M.bovis*.

3.4. Typage par la technique de Spoligotypage.

L'identification moléculaire des 40 souches typées a révélé l'absence de spacers caractéristiques du *M. bovis* qui sont : 3, 9, 16 et 39 à 43, exception faite pour deux souches SB2653 qui elles étaient dépourvus des espaceurs 5, 23, 24, 30, 36 et 39 à 43.

(Cf. figure 39)

L'analyse des profils par EXCEL a retrouvé 19 spoligotypes différents, répartis en 8 clusters (le nombre de souche par cluster varie entre 2 et 5), 4 cas isolées et 7 profils orphelines non encore répertoriés dans la banque mondiale. (Annexe 11)

Les résultats de spoligotypes de souches de MTC isolées chez des bovins des abattoirs d'Alger et de Blida ont été représentés par les schémas suivants :

Chapitre VIII : Discussion

Les résultats de la présente étude seront discutés suivant la phase de travail :

Au niveau d'abattoir

Cette étude a été menée au niveau trois abattoirs (Boufarik, El-Harrach et Eucalyptus) s'étalant sur une durée de six mois (01 décembre 2018 au 30 mai 2019), sur un ensemble de 300 carcasses bovines inspectées, 100 carcasses étaient porteuses de lésions suspectes de tuberculose, soit une proportion de 33.33%. Les principaux facteurs de variation pouvant influencer l'apparition de la tuberculose sont :

- **L'âge :**

Selon les résultats de cette étude, la proportion de l'infection augmente avec l'âge. Elle est de 1.33% chez les animaux moins de 2 ans, de 11.33% chez ceux âgés de 2 ans à 5 ans et de 30.33% chez ceux âgés de plus de 5 ans, une différence très importante entre les différentes classes d'âge. Cela peut être expliqué par la nature de la maladie qui a une évolution chronique et l'éventualité d'une exposition à l'infection augmente avec le temps, raison pour laquelle la maladie se manifeste fréquemment chez les animaux âgés. Des résultats similaires ont été obtenus par Kardjadj (2011) à partir d'une étude faite dans l'abattoir d'El-Harrach, qui montre que les animaux âgés de plus de 5 ans sont les plus touchés avec un pourcentage de 7,29 % et les jeunes animaux présentaient un taux de 3,05 % seulement. En revanche, ces résultats diffèrent de ceux présentés par Sahraoui en 2009 qui elle rapporte que la classe d'âge entre 2 et 5ans est la plus touchée avec un pourcentage de 4,7%, de 2,8% pour les animaux âgés plus de 5ans et de 2,5% pour ceux âgés de moins de 2 ans et elle explique ces résultats par la nature des prélèvements qui sont isolées principalement chez des animaux âgés entre 2 et 5ans.

- **Le sexe :**

L'étude indique que 24 sujets femelle touchés parmi 65 inspectées (38.92%) sont plus atteintes que les 10 sujets males touchés parmi inspectés 35 (28.57%) avec une différence remarquable. Ce même constat a été fait par Yacob et *al.* (2008) et kardjadj (2011). Cela peut être lié à la sensibilité des femelles qui devaient supporter une gestation, une parturition puis une lactation et à sa longue vie productive (Teklu et *al.* 2004 et Miliano-Suazo et *al.*2000). Nous concluons donc que le sexe a un effet sur la prévalence des lésions suspectes de tuberculose; cette observation est similaire à celle de Sahraoui (2009).

Le taux élevé de 38.92% chez les femelles pourrait avoir pour conséquence la survenue des mammites tuberculeuses qui constituent un grave problème de santé publique ; cette même constatation a été rapportée par Traoré et *al.*, en 2004.

- **La race :**

Nous avons constaté dans cette étude que les trois races présentent une sensibilité à l'infection. Nous avons enregistré 43.33% pour la race locale, 25.55% pour la race croisée et 10% pour la race importée. Ces résultats sont différents par rapport à ceux qui rapportés par Friki (1999). Il a noté que les races croisées (50%) et importées (36%) sont plus atteintes que les races locales (14%). D'après les constatations précédemment citées, la race locale est sensible à la tuberculose bovine malgré sa rusticité, l'adaptation aux conditions difficiles et la résistance aux maladies (Yakhlef, 1989).

- **Répartition des cas suspects de tuberculose :**

L'étude a constaté que la majorité des lésions sont de type localisé. sur 71 cas suspectés parmi 200 inspectés cas avec un pourcentage de 35.5% mais il est intéressant de noter que l'atteinte généralisée est relativement non négligeable 19 cas suspectés parmi 100 inspectés avec un pourcentage de 19%. Il y a une prédominance des lésions tuberculeuses respiratoires (57%), expliquée par la transmission de *M.bovis* par voie respiratoire qui se fait par aérosols contenant des bacilles et passant immédiatement d'un animal excréteur à un autre sain (OIE, 2005). Cette observation est comparable à celle obtenue par Schelling et *al.* (2005) au Tchad.

Au niveau du laboratoire

Dans le but de confirmer la nature des lésions suspectées tuberculeuses par l'examen bactériologique qui comporte trois volets: bacilloscopie, la culture bactérienne et l'identification par biologie moléculaire.

- **L'examen direct :**

L'examen direct des frottis a révélé 44% de lames positives. Ces résultats sont des BAAR insuffisants mais ce n'est pas étonnant du moment que l'examen microscopique n'est pas sensible et il n'est positif que si le prélèvement contiendra de 5000 à 10.000 bacilles /ml (Proano-Pérez et *al.* 2011). Les résultats de la présente étude sont comparables à ceux rapportés par Sulieman et Hamid (2002) avec une positivité de 64 sur 120 lésions collectées dans les abattoirs du soudan (53,3%), et Supérieur à ceux rapportés par Sahraoui et *al.* (2008) avec 28,85% de cas positive.

- **Culture**

Sur 90 cultures, nous avons obtenu 56 cultures positives (62.22%) contre 25 cultures négatives (27.77%). Il est remarquable que le protocole de décontamination suivi et l'état des prélèvements ont un rôle important dans les résultats de la culture, plus l'état de prélèvement est frais et non congelé et le temps de contacté avec la soude lors de la décontamination bien respecté plus la possibilité que les bacilles poussent.

- Ces résultats sont semblables à ceux rapportés par : Chadi (2013), Sahraoui et *al.* (2008) et Kardjadj (2011) avec des taux de positivité de 66.66%, 51,54% et 70,83% respectivement.

- Par contre, ils sont supérieurs à ceux rapportés par Proano-Perez et *al.* (2011) avec un pourcentage de 36,4%.

- Faibles à ceux rapportés par Latini et *al.* (1997) dans les abattoirs de la province de Santa Fe, (Argentine) qui ont obtenu 85,88% de cultures positives.

- La culture bactérienne révèle que 10% des cultures étaient contaminées, ce pourcentage légèrement élevé par rapport ce que Sahraoui et *al.* On obtenu en 2008 avec un pourcentage de 7.69%.

* Relation entre bactérioscopie et cultures

Les frottis microscopiquement positifs se sont révélés positifs par culture et 9 frottis négatifs sont révélés positifs par culture et cela est lié à la sensibilité des méthodes de diagnostic par cette dernière.

- **l'identification par biologie moléculaire**

À notre connaissance, il s'agit de la deuxième étude portant sur la caractérisation moléculaire de souches de *M. bovis* isolées chez des bovins en Algérie après les travaux de Sahraoui en 2008.

Cette technique moléculaire permet en plus de l'identification, effectuer des études épidémiologiques (la diversité génétique = les différents spoligotypes, l'étude de la transmission...etc.)

Il est à noter que la fréquence des différents spoligotypes de *M. bovis* détectés ne différait pas nettement entre les trois abattoirs d'Alger et de Blida.

Sur les 19 spoligotypes identifiés dans notre étude : (voir annexe 11)

- Le profile **SB0856** à été isolé chez 5 vaches importées, ce même profile à été signalé en France.
- Le profile **SB1204** a été isolé chez 5 vaches importées, ce même profile à été pareillement trouvé en France.
- Le profile **SB0119** a été isolé chez 2 vaches importées, ce même profile à été signalé similairement en France.
- Le profile **SB0818** a été isolé chez une vache importée, ce même profile à été identiquement détecté en France.
- Le profile **SB0120** a été isolé chez 2 vaches importées, ce même profile à été également détecté en Belgique.
- Le spoligotype **SB1640** a été isolé chez une vache locale, ce même profile à été également détecté en Espagne.
- Les deux profile suivants **SB1209** et **SB2257** ont été identifié chez quatre vaches croisées ces deux profiles ont été signalés respectivement en Mexique et en Italie.
- Les spoligotypes **SB1060** et **SB0120** ont été identifiés chez des vaches locales d'origine Algérienne, ces même profile a été signalé dans la banque des données mais l'origine du pays reste inconnue.

Les modèles de spoligotype de *M. bovis*, non signalés auparavant, ont été nommés SB2651, SB2652 et SB2653 par <http://www.Mbovis.org>, et sont été enregistrés comme des spoligotypes d'origine algériens. , il s'agit du :

- **SB2651** : identifié chez 07 bovins, ce profile est caractérisé par l'absence des spacers 3, 9,15, 16, 20, 36 et 39-43.
- **SB2652** : identifié chez 04 bovins, ce profile est caractérisé par (absence des spacers 3, 9,15, 16, 21, 36 et 39-43).
- **SB2653** : identifié chez 02 bovins, ce profile est caractérisé par (absence des spacers 5, 23, 24, 30, 36, et 39-43).

Sur les 19 spoligotype de *M. bovis* détectés, 20 souches, représentant 50% de toutes les souches isolées, ont été déjà détectés parmi les souches isolées de bovins français (SB0856, SB0121, SB1204, SB0818). Les trois types de spoligotypes les plus fréquemment détectés en Algérie (SB0856, SB0121, SB1204) sont également les trois types les plus fréquents observés en France et sont également retrouvées dans d'autres pays d'Europe continentale. L'importation d'animaux vivants infectés non malades d'origine Européenne en Algérie est probablement la cause majeure de transmission des souches d'origine étrangères à la population algérienne de bovins. Comme les spoligotypes : SB1209, SB0119 et SB1640 d'origine Italiennes, Belge et d'Espagne successivement retrouvées dans notre étude.

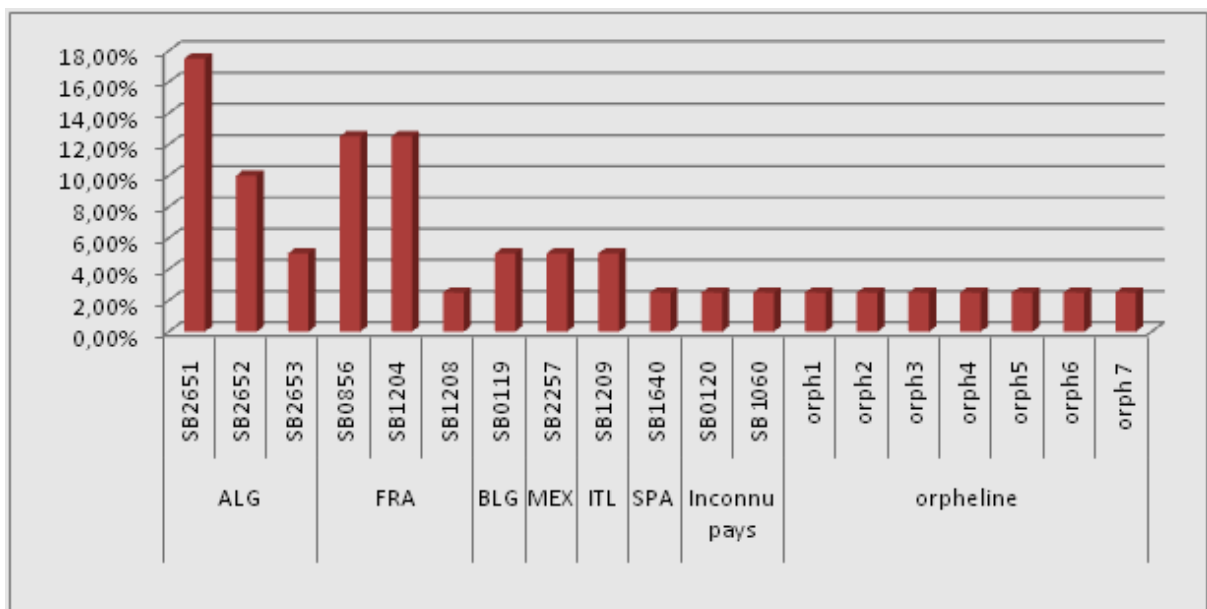


Figure n°40 : Pourcentage des spoligotypes bovines de souches de MTC isolées chez des bovins poste-mortem.

Il est à noter que les spoligotypes SB2651, SB0856, SB1204 et SB2652 ont été retrouvées respectivement avec les pourcentages suivants : 17.50%, 12.50%, 12.50% et 10.00% (Cf. Figure 40) cela reflète la transmission inter animales de ces souches. La confirmation par un autre technique plus discriminant tell que MIRU-VNTR est souhaitable.

En raison de la petite taille de notre échantillonnage, de la période d'enquête restreinte à trois abattoirs seulement au de centre de l'Algérie, l'échantillon de population des souches de *M. bovis* collectées ne peut pas refléter la diversité de la population bactérienne au sein de notre cheptel bovin.

Conclusion

Au terme de ce travail, il ressort que:

La tuberculose bovine on Algérie est un problème majeur dans les élevages bovine, qui cause des pertes économique importantes.

Plusieurs facteurs influencés sur la répartition de la tuberculose bovine à savoir : l'âge, le sexe, la race, et localisation des lésions tuberculeuses.

L'analyse des données du laboratoire à savoir la microscopie, la culture, complétés par l'identification nous ont orienté vers l'origine bovine de la tuberculose bovine.

L'analyse génotypique des 40 sur les 56 souches isolés, nous a permis d'identifier et de confirmer le diagnostic de la tuberculose bovine, de déterminer les différents profils

génomiques circulants parmi notre cheptel animal, de mettre en évidence des profils génomiques orphelins non encore répertoriés dans la banque de données .L'évaluation de certains génotypes nous a permis d'avoir un aperçu sur des cas de transmission.

La comparaison de nos résultats à ceux rapportés en littérature nous a permis aussi de trouver des liens avec d'autres souches circulantes en Europe surtout en France et en Belgique.

Jusqu'à l'heure actuelle, il y'a peu d'études d'épidémiologie moléculaire faites sur la tuberculose bovine chez l'animal , et pas de diagnostic de certitude même en post mortem , les seules critères dont nous disposons sont des critères de présomptions.

A cet effet la confirmation bactériologique et l'identification restent les seuls moyens pour poser un diagnostic de certitude de l'origine bovine de la tuberculose.

Le développement de l'épidémiologie moléculaire a également joué un rôle important dans les études de la dynamique des souches et la transmission, la détermination des souches les plus prévalentes voir les plus virulentes.

Actuellement plusieurs travaux sont en cours de réalisation, afin de pouvoir poser le diagnostic de la tuberculose bovine in vivo et ce pour minimiser les pertes économiques en cheptel animal.

Recommandations

La tuberculose sévit toujours à l'état enzootique en Algérie et représente un danger sérieux dans l'élevage bovin. Afin de minimiser la prévalence et d'éradiquer cette pathologie, nous proposons les recommandations suivantes :

- Identification stricte et rigoureuse des cheptels.
- Obligation de dépister tout le cheptel bovine.
- Obligation de déclarer l'existence de cas de suspicion de la tuberculose bovine par les vétérinaires praticiens.
- Nous recommandons d'importer que des animaux venant d'élevage ou de pays d'état sanitaire connu.
- Obligation d'abattage sanitaire pour les cas déclarés positifs.
- Eviter l'entrée dans les étables de personnes tuberculeuse et animales étrangers.
- Séparer les espèces animales susceptibles d'être une source de contamination.
- Désinfection et aménagement hygiénique des étables infectées.
- Informer le personnel de l'abattoir du danger de la tuberculose et des précautions à prendre devant un cas de tuberculose.
- Renforcement de la surveillance, au niveau des abattoirs, sur l'origine des animaux
- Afin d'avoir la traçabilité permettant de remonter aux élevages infectés.
- Sensibiliser les éleveurs à propos de cette zoonose et augmenter les indemnités.
- Diffuser l'interdiction de la consommation du lait cru et exiger sa pasteurisation.
- Créer des laboratoires de mycobactériologie pour confirmer ou infirmer les lésions suspectes de tuberculose bovine en utilisant les biologies moléculaires à savoir la spoligotyping.
- Mettre en évidence la technique de diagnostic de Spoligotypage pour enrichi la banque des données algérienne.
- Les vétérinaires procèdent au dépistage par la tuberculination de la tuberculose bovine dans les centres de quarantaine.

Références bibliographiques

A

A.C.I.A, 2003 : Agence canadienne d'inspection d'aliment2003, division de la santé des animaux et la reproduction, tuberculose bovine.

Anonyme 01 : Cours tuberculose bovine Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière, Service de Bactériologie 2003.

Anonyme 02 : Comité scientifique de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, 2015.

Acha P.N, Szyfres B, 2003 : Zoonoses et maladies transmissibles à l'homme et à l'animales2ème éd.

Acha N, Szyfres B 2005 : Zoonoses et maladies transmissibles commune à l'homme et aux animaux. Vol.1 Bactérioses et mycoses, 3ème éd., Paris, OIE, 379 p.

Avril J.L, Dabernat H., Denis F, Menteil H, 2003 : Bactériologie clinique édition ellipses.534p.

Awah-Ndukum J, Ayele W.Y. Neili D, Zinsstag J, Weiss M G, Paviik I, 2004 : Bovine tuberculosis: an old disease but a new threat to Africa.

Benet JJ, Boschioli M.L, Dufour B, Garin-Bastuji B, 2006: Analyse de la pertinence épidémiologique de l'évolution de la réglementation, Vol.50, p.127-143.

Benet JJ, 2008 : La tuberculose animale, Polycopié des Unités de Maladies contagieuses des Ecoles vétérinaires françaises, Merial(Lyon) :74p.

Benkirane A, 1997 :Etat actuel de la tuberculose bovine en Afrique et au Moyen Orient. In: Proceedings of the Second International Conference on Animal Tuberculosis in Africa and the Middle-East, pp. 11-18.

Bensid, 2018 : Hygiène et inspection des viandes rouges Bensid.

Blood et Henderson, 1976 : VETERINARY MEDCIN

Boukary A.R, Thyse E, Mamadou S, Rigouts L, Mattyse F, Vias Franck S.G, Gamatie, 2011 : La tuberculose à Mycobacterium bovis en Afrique subsaharienne.

Boulahbal F, 1998 : The laboratory and its role in the epidemiological surveillance of tuberculosis inla tuberculose en medecine humaine et vétérinaire.Elsevier.

Bourguoi A, Agius G, 1995 : Le point sur les méthodes classiques d'identification des Mycobactéries. In : revue française des laboratoires, N°273, p.21-26.

Buddle B. M, Wedlock D. N, Denis M, Vordermeier H.M, Hewinson R.G, 2011: Update on vaccination of cattle and wildlife populations against tuberculosis, Vol.151, p.14-22.

Brisson N, Gicquel B, Lecossier V, Levy-Frebault V, Nassif X, Hance A.J, 1989 : Rapid diagnosis of tuberculosis for amplification of Mycobacterial DNA in clinical samples. Lancet, p.1069-1071.

C

Carbonelle B, Dailloux M, Lebrun L, Maugein J, Pernot C, 2003 : Mycobactéries et mycobactériose-cahier de formation de biologie médicale n°29, p.14-70.

Cardoso MA, Cardoso R.F, Hirata R.D.C, Hirata M.H, Leite C.Q.F., Santos A.C.B, Siqueira V.L.D, Okano W, Rocha N.S, Lonardon M.V.C, 2007 : Direct detection of Mycobacterium bovis in bovine lymphnodes by PCR. In : Zoonoses and public health, Vol.56, p.465-470.

Cattoir V, 2004 : Identification moléculaire des mycobactéries et détection de la résistance aux antibiotiques, vol.62, n°4, p.405-413.

Chadi H, 2013. Enquête sur la tuberculose bovine dans trois abattoirs de la région Est de l'Algérie.

Chartier F, Chartier C, Thorel M.F, Crespeau F, 1991: A new case of Mycobacterium bovis. Pulmonary tuberculosis in the dromedary (Camelus dromedarius) in Mauritania, Vol. 44(1), p. 43-47.

Cherel Y, Couillandeu P, Lecomte O, Spindler C, Larcher T, 2006 : Autopsie des bovins. Edition, le point vétérinaire.

Coetzer J.A.W., Tustin R.C., 2004: Infections diseases of livestock. Chapter Mycobacteria-Introduction. Section 5 Bacterial diseases. Volume 3, p.1965-1972
Collins JD, 2006. Tuberculosis in cattle: strategic planning for the future. In, Vol.112, p.369-381.

Cousins D, 2001: Mycobacterium bovis infection and control in domestic livestock.

Chantal J, 2001. Le laboratoire dans le diagnostic et la surveillance épidémiologique de la tuberculose.

Chantal Pernot, Nicolas Veziris, Alexandra Aubry, Vincent Jarlier, Nacer Lounis, 2003: Fluoroquinolone-Containing Third-Line Regimen against Mycobacterium tuberculosis In Vivo

Cosivi O, Meslen F.X, Daborne C.J, Grange J.M, 1995: Epidemiology of Mycobacterium bovis animals and humans, with particular reference to Africa.

Cosivi O, Grange J.M, Daborne C.J, Raviglione M.C, Fujikura T, Cousins D, Robinson A.R, Huchzermeyer H.F, Meslin F.X,1998 : Zoonotic tuberculosis due to Mycobacterium bovis in developing countries. In: Emerg. Infect. Dis. Vol.4, p.59-70.

Crubézy E, Ludes B, Poveda JD, Clayton J, Crouau-Roy B, Montagnon D, 1998: Identification of Mycobacterium DNA in Egyptian Pott's disease of 5400 years old. Vol.312, p.941-951.

COSTELLO, QUIGLEY F, FLYNN O, GOGARTY A, McGUIRK J, MURPHYA et al, 1998: laboratory examination of suspect tuberculosis lesions detected on abattoir postmortem examination of cattle from non-reactor herds.

D

DE LA RUA-DONECH R, GOODCHILD AT, VORDERMEIER HM , HEWINSON RG, CHRISTIANSEN KH, CLIFTON-HADLEY RS, 2006: Ante mortem diagnostic of tuberculosis in cattle research in veterinary science.

De List G, Mackintosh C.G, Bengis R.G, 2001: Mycobacterium bovis in free-living and captive wild life, Vol.20, p.86-111.

Denis F, Perronne C, 2004 : Mycobacterium tuberculosis et mycobactéries atypiques, Elsevier Masson, 298p.

Denis F, Martin C, 2007: Mycobactéries. In : Bactériologie médicale : techniques usuelles. Masson, Vol.34, p. 467-488.

Dirat C, 2013: Tuberculose bovine : Thèse pour le doctorat vétérinaire, Creteil, école nationale vétérinaire d'Alfort, 71p.

Direction des services vétérinaires, 2012 : Données de la tuberculose bovine de 1995-2011

DSV, Direction des services vétérinaires, 2019: Données de la tuberculose bovine de 2015-2018.**DUBOIS, 2002**: Les tuberculoses chez l'animal et l'homme : actualités épidémiologique et diagnostique.

E

Ecoles Nationales Vétérinaires Françaises, 1990 : Maladies contagieuses ;La tuberculose. Septembre 1990,152 p.

Elodie B, 2016 : Prévalence de Mycobacterium bovis dans les agro-écosystèmes

F

Freney J, Renaud F, Leclercq R, Riegel P, 2007 : Précis de bactériologie clinique. Paris, éditions ESKA, 1274p.

Frédéric Simon, 1990 : Evaluation du dépistage tuberculinique de la tuberculose bovine dans une clientèle de la Loire.

Frédéric, 2004 : Place des tests à l'interféron (IGRAs) dans le dépistage de la tuberculose latente (TBL) avant prescription d'agents anti-TNF.

G

Gianpaglia C.M.S, Martins M.C, Inumaru V.T.G, Butuem I.V, and Tells M.A.S, 2005: Evaluation of rapid differentiation test for the Mycobacterium tuberculosis complex by selective Inhibition with p-nitrobenzoic acid and thiophene -2-carboxylic acid hydrazid.In:INT. J.TUBERC. LUNG. DIS, Vol.9 (2), p.206-209.

Grosset J, Boisvert H, Truffot-Pernot C, 1990: In : bactériologie médicale, Paris. p.965-1017.

Good R.C., Shinnick T.M., 1998: Mycobacterium; Systematic Bacteriology, vol. 2.Arnold, London, UK, p.549– 576.

Gutierrez M, Tellechea J, Garcia Marin J.F, 1998: Evaluation of cellular and serological diagnostic tests for the detection of Mycobacterium bovis infected goats. In: Veterinary Microbiology, Vol.62, p.281-290.

Gutierrez, Sylvian B, Roland B, Michel F, Bahia O, Magali M Philip S, Veronique V, 2005: Ancient Origin and Gene Mosaicism of the Progenitor of Mycobacterium tuberculosis.

Guiguen, 2007: Recruitment of P-TEFB (Cdk9-Pch) to chromatin by the cap- methyl transferase Pcm 1 in fission yeast.

H

HADDAD N, MASSELO M, DURAND B (2004): Molecular differentiation of *Mycobacterium bovis* isolates. Review of main techniques and applications. Research in Veterinary Science, 76, 1-18.

Harris NB, 2006: Mycobacterium bovis infection in animals and humans second edition, Blackwell publishing.

Hénault S, Karoui C, Boschioli ML, 2006: A PCR-Based method for tuberculosis detection in wildlife.In: Developments in Biological, Vol.126, p. 123-132.

J

Jungersen G, Huda A, Hansen J.J, Lind P, 2002: Interpretation of the gamma interferon test for diagnosis of subclinical paratuberculosis in cattle, Vol.9 (2), p.453-460.

K

Kamerbeek J, Schouls L, Kolk A, Van Soolingen D, Kuijper S, Bunschoten A, 1997: Simultaneous detection and strain differentiation of Mycobacterium tuberculosis for diagnosis and epidemiology., Vol.35, p.907-914.

Kardjadj M, Yala D, 2010 : Situation épidémiologique de la tuberculose bovine dans le cheptel identifié en Algérie (1995-2009), 21-22 Novembre.

Kardjadj M, 2011 : Mémoire de magistère en science vétérinaire, Alger, ENSV, 73p.

Hamza KHALED, 2015 : La thèse Etude sérologique et moléculaire de coxilla burnetii agent de la fièvre Q chez les petits ruminants dans certaines régions d'Algérie.

Kinne J, Johnson B, Jahans K.L, Smith N.H, 2006: Camel tuberculosis, a case report. In: Trop. Anim. Health. Prod., Vol.38 (3), p. 207-213.

Kang TH, Hwang EI, Yun BS, Park KD, Kwon BM, Shin CS, Kim SU, 2007: Inhibition of chitin synthesis and antifungal activities by 2'-benzoyloxycinnamaldehyde from *Pleuropterus ciliinervis* and its derivatives : p 598-602.

KOPECKY, 1971: Cloning and mutational analysis of the gene encoding subunit C of yeast vacuolar H (+)-ATPase. *J Biol Chem* 267(2) :774-9.

L

Latini O, Canal A.M, Ferrara M.E, Sequeira M.D, Sequeira G, Bagnaroli R, Torres P, 1997 : Fiabilité dans la détermination de la prévalence Mycobacterium bovis chez les bovins par crises dans les réfrigérateurs. Vol.29, N°2.

Lavie P, Calavas D, 2007: La tuberculose-Fiche Zoonoses-Afssa Lyon, N°38,91-92 p.

Léa Lebruna Nevriye G, Névine B, Axelle D, Michèle G, Didier I, Jean C, Ghnassiab V, Vincentc F, Doucet P, 2003: Use of INNO-LIPA assay for rapid identification of mycobacteria.

Lécu A, Riquelme L, 2008: Evolution des outils diagnostiques de la tuberculose des espèces animales sauvages. In: Bull. Acad. Vét. France, Vol. 161, p. 151-157.

Lobue P, 2006: Public health significance of M.bovis.

Le Minore et Verron, 1990: Médecine et Maladies Infectieuses Volume 21.

Levingstone, 2000: Regionalization: A strategy that will assist with bovine tuberculosis control and facilitate trade.

Ly, 2007 : [La tuberculose à Mycobacterium bovis en Afrique subsaharienne.](#)

M

Michel A. L, Muller B, Helden P.D.V, 2010: Mycobacterium bovis at the animal-humain Interface: a problem, or not? In: veterinary microbiology, 140, p.371-381.

Mérial, 2006: École vétérinaire Alford_France.

Mélanie, Franoise, Sophie du bois, 2002: la tuberculose chez l'animal et l'homme actualité épidémiologique et diagnostique.

Maeder S, Hars J, Rambaud T, Game Y, Boschioli M, 2008: Épidémiologie et Santé Animale 2008 No.53 pp.129-144 ref.18.

N

Ngandolo B.N, 2012 : Diagnostic et Épidémiologie Moléculaire de la Tuberculose Bovine au Tchad : Cas des Bovins Destinés à l'Abattage, 197p.

Nolte F.S, Metchock B, 1995: Mycobacterium. In manual of clinical microbiologie 6thed, American society for microbiology Washington Dc, Vol.34, p 400-437.

O

OIE, Office International des Epizooties, 2000.[http :WWW.oie.int.fr](http://WWW.oie.int.fr).

OIE, Office International des Epizooties, 2002.[http :WWW.oie.int.fr](http://WWW.oie.int.fr).

OIE, Office International des Epizooties, 2005.[http :WWW.oie.int.fr](http://WWW.oie.int.fr).

OIE, Office International des Epizooties, 2009.[http:WWW.oie.int.fr](http://WWW.oie.int.fr).

p

Palmer M.V, Whipple D.L, 2006. Survival of Mycobacterium bovis on feedstuffs commonly used as supplemental feed for White-tailed Deer (Odocoileus virginianus). In:J. Wild. Dis, Vol. 42(4), p.853-858.

Pilet C, Bourdon J.L, Toma B, Marchal N, Balbastre C, 1981: Bactériologie médicale et vétérinaire : systématique bactérienne.2ème édition, 436p.

Proano-Perez F, Benitez-Ortiz W, Desmecht D, Coral M, Ortiz J, Ron L, Partaels F, Rigouts, Linden A, 2011. Post-mortem examination and laboratory-based analysis for the

diagnosis of bovine tuberculosis among dairy cattle in Ecuador. In: Preventive Veterinary, Medicin, Vol.101, p.65-72.

R

Rastogi N, Legrand E, Soca C, 2001. The Mycobacteria: in introduction to nomenclature and pathogenesis. Vol. 20 (1), p.21-46.

Rotschild B.M, Martin L.D, Lev G, Bercovier H, Bark-Gal G.K, Green-Blatt C, Donoghue H Spigman M, Britain D, 2001. Mycobacterium tuberculosis complex DNA from an extinct bison dated 17,000 years before the present, Vol.33, p.305311.

S

Sahraoui N, Muller B, Yala D, Ouzrout R, Zinsstag J, Boulahbal F, Guetarni D, 2008: Investigation about the bovine tuberculosis in two Algerian slaughterhouses .In: African Journal of Agricultural Research, Vol. 3 (11), p. 775-778.

Sahraoui N, 2009: La tuberculose bovine et son impact sur la santé humaine. Thèse de doctorat, Taref, Institut des sciences vétérinaires, 155p.

Sahraoui N, Muller B, Guetarni D, Boulahbal F, Yala D, Ouzrout R, Zinsstag J, 2010 : Première caractérisation moléculaire de souches de Mycobacterium bovis et Mycobacterium caprae par spoligotypage en Algérie, Vol.57, p.147-154.

Sieng M, 2011: Détection de la tuberculose bovine dans les abattoirs du Sud-ouest de 2001 à 2010 ; analyse des données d'inspection et des résultats histologiques et bactériologiques. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire, 64p.

Sulieman M.S, Hamid M.E, 2002: Identification of acid-fast bacteria from caseous lesions in cattle in Sudan. Vol.49, p. 415-418.

T

Thoen C, Lobue P, De Kantor I, 2006. Importance of Mycobacterium bovis as a zoonosis. Vol.112, p. 339-345.

Thorel M.F, 1994 : Le rôle du laboratoire dans le contrôle de la tuberculose chez les animaux. Point Vêt, Vol.26, p.33-40.

Thorel M.F, Karoui C, Varnerot A, Fleuv A. 1998: Isolation and pathogenic of Mycobacterium bovis in animals and humans. Vol.29, p. 207-218.

Thorel M.F, 2003: Tuberculose. In Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail, Coordinateurs : Lefèvre P.C, Blancou J, Chermette R, Uilonberg G, chapitre75.

V

Vincent V, 1995 : Taxonomie des Mycobactéries, Février, n°273, p.27-31.

W

Walravens K, Allix C, Supply P, Rigouts L, Godfroid J, Govaerts M, Portaels F, Dufey J, 2006: Dix années d'épidémiologie moléculaire de la tuberculose bovine en Belgique. Vol.49, p.103-111.

Watrelet-Virieux D, Drevon-Gaillot E, Toussaint Y, Belli P, 2006: Comparaison of three diagnostic detection methods for tuberculosis in French cattle. Vol.53, p.321-325.

Wilson et Miles, 1975: Topley and Wilson's principles of bacteriology, virology and immunity. 1975 Vol.2 No.6th edition.

Wirth, Falk H, Caroline A-B, Florian W, Tanja K, Kristin Kremer, Dick Van Soolingen, 2008: Origin, Spread and Demography of the Mycobacterium tuberculosis Complex.

Y

Yakhlef, 1989 : La production extensive de lait en Algérie, N°6, p.135-139.

Z

Zinsstag J, Kazwala R.R, Cadmus I, and Ayanwale L, 2006: Mycobacterium bovis in Africa: Mycobacterium bovis in animals and humans second edition, Blackwell publishing.

Annexes

Annexe 1 : Fiche de renseignements de l'animal.

Date :	<input type="text"/>	Abattoir :	<input type="text"/>
N° de l'animal :	<input type="text"/>		
Sexe :	<input type="text"/>		
Age :	<input type="text"/>		
Race :	<input type="text"/>		
Partie touchée :	<input type="text"/>		
Marqué T ou pas :	<input type="text"/>		
Type de tuberculose (généralisé ou localisé) :	<input type="text"/>		
N° du pot :	<input type="text"/>		

Annexe 2 : Coloration de Ziehl Neelsen (à chaud)

Fuschine de Ziehl

Fuch sine basique RAL pour Bactériologie10 g

Phénol 55 g55 g

Alcool à 90°100 ml

Eau distillée1000 ml

Verser les 100 ml d'alcool dans un mortier de 2 litres. Ajouter la totalité du colorant en broyant au fur et à mesure, puis peu à peu, l'acide phénique en triturant. Verser le mélange dans un flacon de verre teinté. Rincer le mortier avec de l'eau distillée, plusieurs fois dans le flacon jusqu'à concurrence de 1 litre.

Laisser reposer 24 heures à l'étuve à 37°C. Filtrer sur papier.

Décolorant

Acide sulfurique.....100 ml

Eau distillée..... 300 ml

Verser toujours l'acide très lentement dans l'eau.

Bleu de méthylène

Bleu de méthylène 1 g

Alcool à 95°..... 10 ml

Phénol..... 1 g

Eau distillée..... 100 ml

Tous les réactifs se conservent à température ambiante pendant une longue durée

Annexe 03: Proportion des cas suspects de lésions tuberculeuses dans les trois abattoirs.

abattoir	Nombre de bovins abattus		Effectif global	Carcasses suspectés de lésions TBb	Pourcentage TBb(%)
	♂	♀			
Boufarik	22	33	55	20	36.36
El-Harrach	58	17	75	38	50.66
Eucalyptus	112	58	230	42	18.26

Annexe 04: Proportion des lésions suspectes de tuberculose bovine en fonction du sexe

sexe	Effectif globale	Carcasses suspectés de lésions TBc	Pourcentage(%)
male	35	10	28.57%
femelle	65	24	36.92%
Total	100	34	66.66%

Annexe 05 : Proportion des lésions suspectes de tuberculose bovine en fonction du l'âge

Age	Effectif globale	Carcasses suspectés de lésions TBc	Pourcentage(%)
Moins de 2 ans	50	4	1.33%
Entre 2 ans et 5 ans	100	35	11.33%
Plus de 5 ans	150	61	30.33%
Total	300	100	43%

Annexe 06 : Proportion des lésions suspectes de tuberculose bovine en fonction du la race.

Race	Effectif globale	Carcasses suspectés de lésions TBc	Pourcentage(%)
------	------------------	------------------------------------	----------------

Local	150	71	43.33%
Importé	60	6	10%
Croisé	90	23	25.55%
Total	300	100	33.33%

Annexe 07 : Proportion des lésions tuberculeuses en fonction de leurs localisations.

Localisation des lésions	Effectif globale	Carcasses suspectés de lésions TBc	Pourcentage (%)
Appareil respiratoire	100	57	57%
foie	100	24	24%
Autre localisation	100	19	19%
Total		100	100%

Annexe 08 : Cas de tuberculose bovine en fonction de type.

localisation	Effectif globale	Carcasses suspectés de lésions TBc	Pourcentage (%)
généralisé	100	19	19%
localisé	200	71	35.5%
Total	300	100	33.33%

Annexe 09: Pourcentage du diagnostic de la tuberculose bovine par examen microscopie

Résultats	Nbr prélèvements(n)	pourcentage(%)
Positive	44	44%
Négative	56	56%
total	100	100%

Annexe 10: Pourcentage du diagnostic de la tuberculose bovine par la culture

Résultats	Nbr prélèvements(n)	pourcentage(%)
Positive	56	62.22%
Négative	25	27,77%
contaminé	9	10%
total	90	100%

Annexe 11 : Récapitulatif de la partie expérimentale

Table des matières

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Table des matières

LA PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION.....1

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LA TUBERCULOSE.....3

1. Définition.....	3
2. Historique et répartition de la maladie.....	3
3. Importance.....	4
3.1. Sur le plan économique.....	4
3.2. Sur le plan hygiénique.....	5
4. La tuberculose en Algérie.....	5
CHAPITRE II : CARACTERES BACTERIOLOGIQUES.....	7
1. Classification.....	7
2. Caractères.....	8
2.1. Caractères bactériologiques.....	8
2.2. Caractères morphologiques.....	8
2.3. Caractères culturaux.....	8
2.4. Caractères biochimique.....	9
2.5. Résistance et sensibilité.....	11
CHAPITRE III: ESPECES INFECTEES PAR M. BOVIS ET PHYSIOPATHOLOGIE.....	12
1. Espèce infectées par <i>M.bovis</i>	12
2. Physiopathologie.....	13
2.1. Période de primo-infection.....	13
2.2. Période de surinfection.....	14
CHAPITRE IV : SYMPTOMES ET LESIONS.....	15
1. Symptômes.....	15
1.1. Symptômes généraux.....	15
1.2. Symptômes locaux.....	15
2. Lésions.....	16
CHAPITRE V : DEPISAGE, DIAGNOSTIC, TRAITEMENT ET PROPHYLAXIE.....	18
1. Dépistage de la tuberculose bovine.....	18
1.1. La tuberculisation.....	18
1.2. Différentes méthodes de la tuberculation.....	18
2. Diagnostic.....	20
2.1. Diagnostic clinique.....	20
2.2. Diagnostic histopathologique.....	20
2.3. Diagnostic nécropsique.....	20

2.4. Diagnostic expérimental.....	21
2.4.1 Diagnostique bactériologique.....	21
2.5. Le diagnostic moléculaire:.....	23
3.5.1. Amplification génique.....	24
3.5.2. Typage génétique:.....	24
2.6. Le diagnostic différentiel.....	25
3. Traitement et prophylaxie.....	25
3.1. Traitement.....	25
3.2. Prophylaxie.....	25
LA PARTIE EXPERIMENTALE	
Objectifs.....	27
Chapitre VI : Matériels et Méthodes.....	28
1. méthodologie de travail.....	28
2. Matériels et méthodes.....	28
2.1. Au niveau des abattoirs.....	28
2.1.1. Inspection ante-mortem.....	28
2.1.2. Inspection poste-mortem.....	29
2.2. Au niveau du laboratoire.....	30
2.2.1. Examen microscopique (méthode de Ziehl-Neelsen).....	30
2.2.2. La culture.....	33
2.2.3. Identification biochimique.....	36
2.2.4. L'identification moléculaire par Spoligotypage.....	37
Chapitre VII : Résultats.....	48
1. Résultats des cas de saisies pour tuberculose bovine.....	48
2. Etude des facteurs influençant sur la répartition de tuberculose bovine.....	48
2.1. La répartition des cas de tuberculose bovine en fonction du sexe.....	49
2.2. La répartition des cas de tuberculose bovine en fonction de l'âge.....	49
2.3. La répartition des cas de tuberculose bovine en fonction de la race.....	50
2.4. La localisation des lésions.....	50
2.5. Répartition des saisies par type de tuberculose bovine.....	51
3. Diagnostic au laboratoire.....	52
3.1. Diagnostic par examen direct (bacilloscopie).....	52

3.2. Diagnostic par culture.....	52
3.3. Identification biochimique.....	53
3.4. Typage par la technique de Spoligotypage.....	53
Chapitre VIII : Discussion.....	55
Au niveau d'abattoir.....	55
• L'âge :.....	55
• Le sexe :.....	56
• La race :.....	56
• Répartition des cas suspects de tuberculose :.....	56
Au niveau du laboratoire.....	57
• L'examen direct :.....	57
• Culture.....	57
• l'identification par biologie moléculaire.....	58
Conclusion.....	61
Recommandations	
Références bibliographiques	
Annexes	

N° de BV	La date de biopsie	Num prélèvement	Le sexe M : male F:femelle	La race	L'âge /ans	Circonstance d'apparition de la lésion	Origine	Bacilloscopie	Culture	Aspect des colonies	N° PCR	nom de Spoligotype	Pays Originale de spoligotype selon database M.bovis
Bv01	12-déc.	1	M	Holstein	5	Poumon	Blida	Positive	Positive 3 tubes	Lisses fines circulaires	14	SB0856	France
Bv02	12-déc.	2	M	charollaise	4	Poumon	Blida	Négative	contaminés	Oranges colonies			
Bv03	15-déc.	3	F	Holstein	9	Ganglion	Blida	Positive	Positive 3 tubes	Lisses fines régulières	7	SB0856	France
Bv04	18-déc.	4	M	Montbéliard	5	Ganglion	Alger	Positive	Positive 1 tube	Lisses grosses	2	SB0856	France
Bv05	21-déc.	5	F	chaurfa	7	Ganglion	Ain défla	Négative	Positive 3 tubes	Une seul briante	5	SB0856	France
Bv06	24-déc.	6	M	charollaise	5	Ganglion	Alger	Négative	Négative	Fines muqueuses			
Bv07	28-déc.	7	F	Holstein	2	Poumon	Alger	Négative	contaminé	colonies bombées			
Bv08	06-janv.	8	F	Holstein	8	Poumon	Blida	Positive	Positive 2 tubes	Colonies riches	11	SB0856	France
Bv09	06-janv.	9	F	Holstein	5	Poumon	B, bouriridj	Négative	Positive 1 tube	Riches colonies	25	SB1204	France
Bv10	09-janv.	10	M	Montbéliard	5	Poumon	Blida	Négative	Positive 4 tubes	Riches colonie	1	SB1204	France
Bv11	13-janv.	11	M	tarentaise	5	Ganglion	Alger	Positive	Positive 3 tubes	Lisses fines	10	SB1204	France
Bv12	16-janv.	12	M	Holstein	4	Poumon	Alger	Positive	Positive 4 tubes	Une seul briante	9	SB1204	France
Bv13	18-janv.	13	F	Montbéliard	5,5	Poumon	Médéa	Positive	Positive 4 tubes	Lisse fine	26	SB1204	France
Bv14	22-janv.	14	F	Montbéliard	5,5	Poumon	Blida	Positive	Positive 4 tubes	Lisses grosses	15	SB0818	France
Bv15	28-janv.	15	M	chaurfa	4	Poumon	Médéa	Positive	Positive 1 tube	Grosses brillante	3	SB0119	Belgique
Bv16	30-janv.	16	F	Holstein	8	Généralisé	Blida	Positive	Positive 2 tubes	Fines muqueuse	5	SB0119	Belgique
Bv17	02-févr.	17	M	charollaise	5	Ganglion	boumèrdes	Négative	Négative	Une seule colonie			
Bv18	03-févr.	18	M	Holstein	3,5	Ganglion	boumèrdes	Positive	Positive 2t	Colonies riches	23	SB2257	Mexique
Bv19	09-févr.	19	F	chaurfa	6	Poumon	Blida	Négative	Négative	Riches colonies			
Bv20	14-févr.	20	F	brun atlas	8	Ganglion	Blida	Positive	Positive 1 tube	Riches colonie	16	SB2257	Mexique
Bv21	18-févr.	21	F	Montbéliard	7	Poumon	Alger	Positive	Positive 4 tubes	Lisses fines	6	SB1209	Italie
Bv22	23-févr.	22	M	pie noir	5	Généralisé	Alger	Positive	Positive 4 tubes	Lisses fines	13	SB1209	Italie
Bv23	24-févr.	23	M	brun atlas	4	Poumon	inconnu	Positive	Positive	Une colonie briante	4	SB1640	Espagne
Bv24	27-févr.	24	M	pie noir	4	Poumon	Blida	Négative	Négative	Lisse fine			
Bv25	28-févr.	25	M	brun atlas	4,5	Poumon	Blida	Négative	Négative	Lisses grosses			
Bv26	05-mars	26	M	chaurfa	4,5	Foie	Blida	Positive	Négative	Grosses brillante			
Bv27	07-mars	27	F	pie noir	7	Généralisé	Alger	Négative	Négative	Fines muqueuse			
Bv28	10-mars	28	F	brun atlas	7	Ganglion	Alger	Positive	Positive	Une seule colonie	31	SB0120	Pays inconnu
Bv29	10-mars	29	M	charollaise	4	Foie	Alger	Positive	Positive 4 tubes	Colonies riches	22	SB1060	Pays inconnu
Bv30	14-mars	30	M	chaurfa	5,5	Poumon	Tipaza	Positive	Positive 4 tubes	Lisses fines	21	SB2651	Algérie
Bv31	19-mars	31	F	brun atlas	7	Poumon	Tipaza	Positive	Positive 4 tubes	Une seul briante	20	SB2651	Algérie
Bv32	21-mars	32	M	charollaise	4	Poumon	inconnu	Positive	Positive 4 tubes	Lisse fine	19	SB2651	Algérie
Bv33	23-mars	33	M	Aubrac	4	Poumon	Tipaza	Négative	Positive 4 tubes	Lisses grosses	17	SB2651	Algérie
Bv34	26-mars	34	F	Holstein	9	Poumon	Alger	Positive	Positive 4 tubes	Grosses brillante	8	SB2651	Algérie
Bv35	28-mars	35	M	montbéliarde	5	Généralisé	Alger	Négative	Positive 3 tubes	Fines muqueuse	33	SB2651	Algérie
Bv36	29-mars	36	F	tarentaise	8	Ganglion	Blida	Négative	Négative	Une seule colonie			
Bv37	01-mars	37	F	brun atlas	8	Généralisé	Blida	Négative	Négative	Colonies riches			
Bv38	05-mars	38	F	chélienne	5	Généralisé	Tipaza	Positive	Négative	Riches colonies			
Bv39	28-déc.	39	F	Montbéliard	8	Poumon	Alger	Négative	Négative	Riches colonie			
Bv40	29-déc.	40	F	Montbéliard	10	Poumon	Alger	Négative	Négative	Lisses fines			
Bv41	15-janv.	41	M	montbéliarde	4	Généralisé	Tipaza	Positive	Négative	Une seul briante			
Bv42	19-janv.	42	F	Montbéliard	6	Poumon	Tipaza	Positive	Négative	Lisses fines régulières			
Bv43	21-janv.	43	F	Montbéliard	8	Poumon	Blida	Positive	Négative	Une seul briante			
Bv44	21-janv.	44	F	brun atlas	7,5	Généralisé	boumèrdes	Négative	Négative	Lisse fine régulières			
Bv45	22-janv.	45	F	sétifienne	2	Généralisé	Sétif	Positive	Négative	Lisses grosses			
Bv46	22-janv.	46	F	sétifienne	7	ganglion	Sétif	Négative	Négative	Grosses brillante			
Bv47	24-janv.	47	F	brun atlas	8	Poumon	Blida	Positive	Négative	Fines muqueuses			
Bv48	26-janv.	48	F	pie noir	6	Poumon	B, bouriridj	Négative	Négative	Une seule colonie			
Bv49	02-févr.	49	M	charollaise	4,5	Généralisé	Alger	Positive	Négative	Colonies riches			
Bv50	02-févr.	50	F	pie noir	6	Poumon	Blida	Négative	contaminé	Riches colonies			
Bv51	02-févr.	51	F	pie noir	9	Poumon	Alger	Positive	contaminé	Riches colonie			
Bv52	06-mars	52	F	Holstein	8,5	foie	B, bouriridj	Négative	contaminé	Lisses fines			
Bv53	06-mars	53	F	montbéliarde	8,5	Poumon	Blida	Positive	Négative	Une seul briante			
Bv54	14-mars	54	F	Holstein	10	Généralisé	B, bouriridj	Négative	Positive	Fines muqueuses	29	SB2651	Algérie
Bv55	29-mars	55	F	brun atlas	6	Poumon	Alger	Positive	Positive 4t	Une seul briante	18	SB2652	Algérie
Bv56	04-avr	56	F	Aubrac	9	foie	Tipaza	Positive	Positive 2t	Lisse fine régulières	34	SB2652	Algérie
Bv57	07-avr	57	M	montbéliarde	5	Ganglion	Tipaza	Positive	Positive 2t	Lisses grosses			
Bv58	15-janv.	58	F	brun atlas	8	foie	Médéa	Négative	contaminé	Grosses brillante			
Bv59	17-déc.	59	F	brun atlas	8	Poumon	Blida	Négative	contaminé	Fines muqueuse			
Bv60	19-déc.	60	F	brun atlas	7	Généralisé	Tipaza	Négative	contaminé	Une seule colonie			
Bv61	22-déc.	61	M	montbéliarde	8	Poumon	Blida	Positive	Positive 2t	Colonies riches			
Bv62	02-janv.	62	F	brun atlas	7	Poumon	Sétif	Positive	Négative	Riches colonies			
Bv63	22-janv.	63	M	brun atlas	9	Généralisé	Médéa	Positive	contaminé	Riches colonie fine			
Bv64	24-janv.	64	F	Holstein	7	Poumon	Sétif	Positive	Positive 2 tubes	Lisses fines	28	SB2652	Algérie
Bv65	28-janv.	65	F	brun atlas	7	Poumon	Alger	Positive	Positive 2 tubes	Une seul briante	20	SB2652	Algérie