**Résumé du Doctorat : Typage moléculaire des mycobactéries responsables de la tuberculose bovine dans quelques abattoirs d’Alger**

**Auteur : Belakehal, Faiza,**

**Résumé :**

**Abstract**

**Bovine tuberculosis (BT) caused by M. bovis and M. caprae is a transmissible disease of livestock with high economic consequences and notifiable to the World Organization for Animal Health (OIE). To estimate the prevalence and risk factors associated to BT and elucidate the propagation route, a study was conducted in Algerian abattoirs during the period of 2013-2017, involving detailed inspection, microscopic examination, culture of tissue samples and molecular investigation. Out of 3848 bovine carcasses examined, 184 (4.78%) exhibit visible lesions suggestive of tuberculosis. Anatomically 84.8% of the lesions were found in thoracic cavity. Lesions were predominant in tracheobronchial lymph nodes (71.7%), lung tissue (4.9%) and retropharyngeal lymph nodes (4.9%), followed by hepatic tissue and associated lymph nodes (7.6%). Less frequently, lesions were observed in prescapular lymph nodes (1.6%), digestive tract (0.5%) and kidney (0.5%). The study revealed statistically high (p<0.0001) infection rate in males (78.8%) than females (21.2%). A Significant difference (p<0.05) in tuberculosis infection rate was recorded between the three age animal categories: 2 to 6 years (42.9%), <2 years (39.1%) and ≥6 years (17.9%). Analysis of data recorded in the present study showed a high significant variation (p<0.0001) in seasonal prevalence of BT with a higher frequency during dry season than in rainy season. Microscopic examination of 105 samples revealed that 60 (57.1%) harbored acid-fast-bacilli (AFB) and 45(42.9%) were negative (p˃0.05). Culture yielded 60 (57.1%) positive, 43(41%) negative and only 2(1.9%) samples were contaminated. In PCR RD9 analysis, all isolated strains were belonging to the Mycobacterium tuberculosis complex (MTC). In order to better understand the route of spreading, characterization of mycobacteria has been performed. Sixty strains have been analyzed by spoligotyping, thereof 42 by 19-locus-MIRU-VNTR-typing. Spoligotyping revealed 16 distinguishable patterns (HGDI=0.8294), with types SB0120 (n = 20) and SB0121 (n = 13) being the most frequent patterns, representing 55% of the strains. Analyses based on 19-locus-MIRU-VNTR yielded 32 different profiles, five clusters and one orphan pattern, showing higher discriminatory power (HGDI = 0.9779) than spoligotyping. Seven VNTR-loci [VNTR 577 (alias ETR C), 2163b (QU11b), 2165 (ETR A), 2461 (ETR B), 3007 (MIRU 27), 2163a (QUB11a) and 3232 (QUB 3232)] were the most discriminative loci (HGDI ˃ 0.50). In conclusion, 19-locus-MIRU-VNTR yielded more information than spoligotyping concerning molecular differentiation of strains and better supports the elucidation of transmission routes of M. bovis between Algerian cattle herds. The present findings can serve as background information to elaborate an adequate eradication program for BT in Algeria.**

**Key words: bovine tuberculosis, lesions, slaughterhouses, prevalence, risk factor, Algeria, Mycobacterium bovis, Mycobacterium caprae, molecular characterization, spoligotyping, MIRU-VNTR-typing, cattle.**

**Résumé**

**La tuberculose bovine (TB) causée par M. bovis et M. caprae est une maladie transmissible du bétail ayant des conséquences économiques considérables et notifiée à l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE). Afin d'estimer la prévalence et les facteurs de risque associés à la TB et pour mieux comprendre les voies de propagation, une étude a été menée dans quelques abattoirs algériens durant la période 2013-2017, incluant l’inspection des carcasses bovines, la culture et l’examen microscopique d'échantillons de tissus ainsi qu’une analyse par caractérisation moléculaire des souches isolées. Sur les 3848 carcasses bovines examinées, 184 (4,78%) présentaient des lésions visibles suspectes de TB. 84,8% des lésions sont observées dans la cavité thoracique. Les lésions sont prédominantes dans les ganglions lymphatiques trachéobronchiques (71,7%), le tissu pulmonaire (4,9%), les ganglions lymphatiques rétropharyngés (4,9%), le tissu hépatique et les ganglions lymphatiques associés (7,6%). Elles sont moins fréquentes, dans les ganglions lymphatiques préscapulaires (1,6%), le tube digestif (0,5%) et les reins (0,5 %). Nos résultats ont révélé un taux d'infection plus élevé (p<0,0001) chez les mâles (78,8%) que chez les femelles (21,2%). Une différence significative (p<0,05) du taux d'infection est enregistrée entre les trois catégories d'âge : 2 à 6 ans (42,9%), <2 ans (39,1%) et ≥6 ans (17,9%). L'analyse des données enregistrées montre une variation saisonnière significative (p<0,0001) de la prévalence de la TB avec une fréquence plus élevée durant la saison sèche par rapport à la saison humide. L'examen microscopique de 105 échantillons a révélé que 60 (57,1%) hébergeaient des BAAR et 45 (42,9%) étaient négatifs (p˃0,05). La culture a révélé 60 (57,1%) échantillons positifs, 43 (41%) négatifs et seulement 2 (1,9%) échantillons contaminés. Selon, l'analyse par PCR-RD9, toutes les souches isolées appartenaient au CMT. Soixante souches ont été caractérisées par spoligotypage, dont 42 par 19 locus MIRU-VNTR. Le spoligotypage a révélé 16 profils distincts (HGDI=0,8294), les types SB0120 (n = 20) et SB0121 (n = 13) étant les profils les plus fréquents, représentant 55 % des souches analysées. Les analyses basées sur le typage 19 locus MIRU-VNTR ont révélé la présence de 32 profils différents, cinq clusters et un profil orphelin, indiquant un pouvoir discriminatoire plus élevé (HGDI = 0,9779) que le spoligotypage. Sept loci VNTR [VNTR 577 (alias ETR C), 2163b (QU11b), 2165 (ETR A), 2461 (ETR B), 3007 (MIRU 27), 2163a (QUB11a) et 3232 (QUB 3232)] sont les plus discriminants (HGDI ˃ 0,50). En conclusion, les 19 loci MIRU-VNTR ont révélé plus d'informations que le spoligotypage concernant la différenciation moléculaire des souches et facilite mieux l'élucidation des voies de transmission de M. bovis dans les troupeaux de bovins algériens. Les présents résultats peuvent servir d'informations de base pour élaborer un programme d'éradication adéquat de la TB en Algérie.**

**Mots clés : tuberculose bovine, lésions, abattoirs, prévalence, facteur de risque, Algérie, Mycobacterium bovis, Mycobacterium caprae, caractérisation moléculaire, spoligotyping, typage MIRU-VNTR, bovins.**

**: ملخص**

**مرض السل عند الابقار الذي تسببه بكتيريا عصيات السل البقرية و الماعزية هو مرض معد يصيب الماشية وله عواقب اقتصادية كبيرة ويتم إخطاره بالمنظمة العالمية للصحة الحيوانية (م ع ص ح) .**

**من أجل فهم بشكل افظل لمدى و طرق إنتشار هذا المرض و تقدير عوامل الخطر المرتبطة به، تم إجراء دراسة في بعض المسالخ ألجزائرية خلال الفترة من 2013 إلى 2017 بما في ذلك فحص الأبقار بعد الذبح ، عزل البكتيريا والفحص المجهري لعينات الأنسجة وكذلك التوصيف الجزيئي للحمض النووي للبكتيريا. من بين 3848 ذبيحة بقر تم فحصها ، وجدنا لدى 184 (4.78٪) أضرار مرئية يشتبه في إصابتها بمرض السل. من الناحية التشريحية ، لوحظت 84.8٪ من الاضرار في التجويف الصدري.الاضرار سائدة في العقد اللمفاوية الرغامية القصبية (71.7٪) ، ونسيج الرئة (4.9٪) ، و العقد اللمفاوية خلف البلعوم (4.9٪) ، تليها أنسجة الكبد والعقد اللمفاوية المرتبطة بها (7.6٪). أقل شيوعًا ، شوهدت الآفات في العقد اللمفاوية للكتف (1.6 ٪) والجهاز الهضمي (0.5 ٪) والكلى (0.5 ٪). أظهرت نتائجنا إرتفاع معدل الإصابة (p <0.0001) عند الذكور (78.8٪) مقارنة بالإناث (21.2٪). تم تسجيل فرق معتبر (p <0.05) في معدل الإصابة بين الفئات العمرية الثلاث: 2-6 سنوات (42.9٪) ، أقل من سنتين (39.1٪) و 6 سنوات (17.9٪). يُظهر تحليل البيانات المسجلة إختلافا موسميًا كبيرًا (p <0.0001) في إنتشار مرض السل مع تسجيل إرتفاع ملحوظ خلال موسم الجفاف مقارنة بالموسم الرطب. كشف الفحص المجهري لـ 105 عينة أن 60 (57.1٪) تحتوي على عصيات مقاومة للحمض (ع م ح) و 45 (42.9٪) كانت سلبية (p˃0.05). كشفت نتائج العزل المخبري للبكتيريا عن 60 (57.1٪) عينة إيجابية ، 43 (41٪) عينة سلبية وعينتان فقط (1.9٪) ملوثة. وفقًا لتحليل الحمض النووي للبكتيريا بطريقة تفقد تفاعل إنزيمات منطقة اختلاف 9 ، فإن جميع السلالات المعزولة تنتمي إلى معقد المتفطرات السلية (م م س).**

**تم تمييز 60 سلالة بواسطة طريقة تنميط بنية الموضع المتكررالمباشر للجينوم ، بما في ذلك 42 بواسطة طريقة تنميط الوحدة المتكررة المتناثرة السلية-عدد متغير من التكرارات الترادفية-19. كشفت طريقة تنميط بنية الموضع المتكررالمباشرعن 16 صنف مختلف (مؤشر هنترجاستون التمييزي م ه ج ت = 0.8294) ، الأصناف 0120 (ن = 20) و 0121 (ن = 13) هي الاكثر شيوعًا و تمثل نسبة 55 ٪ من السلالات التي تم تحليلها. تبين نتائج تحاليل الوحدة المتكررة المتناثرة السلية-عدد متغير من التكرارات الترادفية-19 الى وجود 32 صنف مختلفً ، خمس أصناف متطابقة ونوع واحد غير مصنف ، مما يشير إلى قوة تمييزية أعلى (م ه ج ت = 0.9779) مقارنة بطريقة بنية الموضع المتكررالمباشر. سبعة مواقع علي الجينوم البكتيري 577، 2163 ب، 2165 ،2461 ،3007 ،2163 أ ، و 3232 أضهرت أعلى قدرة في التمييز بين السلالات (م ه ج ت ˃0.50). في الختام كشف التنميط بطرقة الوحدة المتكررة المتناثرة السلية-عدد متغير من التكرارات الترادفية-19عن معلومات أكثر من التنميط بطرقة بنية الموضع المتكرر المباشر للجينوم فيما يتعلق بالتمايز الجزيئي للسلالات ويسهل بشكل أفضل توضيح مسارات انتقال عصيات السل البقرية في قطعان الماشية ألجزائرية . يمكن أن تكون النتائج الحالية بمثابة معلومات أساسية لتطوير برنامج مناسب للسيطرة على مرض السل البقري في الجزائر.**

**الكلمات المفتاحية: السل البقري ، أضرار ، المسالخ ،نسبة الانتشار ، عامل الخطر ، الجزائر ، عصيات السل البقرية ، عصيات السل الماعزية ، التوصيف الجزيئي ، بنية الموضع المتكررالمباشر للجينوم ، الوحدة المتكررة المتناثرة السلية-عدد متغير من التكرارات الترادفية-19، الماشية.**