

République Algérienne Démocratique et Populaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de la Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي و البحث

Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire -Alger

الوطنية العليا للبيطرة -

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

Magistère

En Sciences Vétérinaires

Option : Microbiologie Médicale Vétérinaire

Thème :

**Enquête sur la tuberculose bovine dans trois abattoirs de la région
Est de l'Algérie**

Présenté par : Dr CHADI HAFIDHA

Soutenu publiquement le : 07/11/2013

Devant le jury composé de :

Dr TEMIM S.	Professeur ENSV Alger	Présidente
Dr SAHRAOUI N.	Maitre de conférences classe A USD Blida	Promotrice
Dr HAMDI T.	Professeur ENSV Alger	Examineur
Dr AIT-LOUDHIA K.	Maitre de conférences classe A ENSV Alger	Examinatrice
Dr BOUKHORS K.	Professeur ENSV Alger	Examinatrice

Année Universitaire : 2013/2014

DÉDICACES

Je dédie ce modeste mémoire:

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

A mon très cher père pour son inestimable sacrifice et ses efforts consentis dans le souci de ma réussite, que Dieu le bénisse ;

A mes chères sœurs AMEL et IMENE ;

A mes chers frères ABDELKRIM et ABDESLEM ;

A mes chères amies et sœurs ASMA, HOUDA, HADIA et ZHOR ;

A mes chères belles sœurs RADHIA et HAKIMA ;

A mes chers beaux-frères LARBI et SALIM ;

A mes adorables neveux et nièces surtout DOUAA ;

A toute ma grande famille pour son soutien et encouragement ;

A mes très chers amis avec lesquels j'ai passé de bons moments :DJAMILA,ZAKIA,MANEL,MERIEM ,IMENE

OMAR et TAHAR ;

Sans oublier mes collègues de la promotion : RATIBA , RIMA et ABDENOUR ;

A toutes les personnes que j'aime .

HAFIDHA

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, je tiens avant tout, à exprimer mes sincères remerciements et ma profonde gratitude à Dr *SAHRAOUI N.*, Maitre de conférences à l'université Saad Dahleb de Blida de m'avoir proposé ce sujet de mémoire. Ses compétences, sa rigueur scientifique m'ont été d'une grande aide.

J'adresse mes vifs remerciements au professeur *TEMIM S.*, de l'école nationale supérieure vétérinaire pour l'honneur qui nous fait de présider ce jury.

Que Monsieur *HAMDI T.*, Maitre de conférences à l'ENSV trouve ici l'expression de nos sincères remerciements pour l'honneur qu'il nous fait de siéger à notre jury.

Je prie Dr. *AIT OUDHIA K.*, maitre de conférences à l'ENSV, qui nous fait l'honneur de faire partie du jury, de bien vouloir trouver ici l'assurance de ma respectueuse gratitude.

Je prie professeur *BOUKHORS K.*, de l'ENSV , pour accepter de faire partie du ce jury.

Mes profonds respects envers monsieur *ALLEG M.*, responsable du dispensaire anti-tuberculeux de la wilaya de Tébessa.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à monsieur le professeur *GUETARNI D.*, pour l'aide qu'il a bien voulu accorder à ce travail.

Je tiens à remercier chaleureusement les gents de l'institut Pasteur: professeur *BOULAHBAL F.*, Dr *YALA D.*, Dr *NADHIRA* et Dr *SAMIRA* de m'avoir mise à ma disposition les produits nécessaires.

Je remercie vivement Monsieur *BELABBAS RAFIK*, maitre-assistant classe B à l'université Saad Dahleb de Blida pour son soutien et son aide lors de la réalisation de mon mémoire.

J'adresse également mes vifs remerciements à mes amis : Dr *SEDRATI TAHAR* et Dr *AZZI OMAR* de L'ENSV, pour leur soutien moral et leur aide précieuse sans oublier Dr *CHEFFEROUR CHEMS ANOUR*, Dr *MADJID*, Dr *KHELIFI MOHAMED*, Dr *BELGHOUL KHADIDJA*,

Dr YEFTEN ROKIA, Dr AMOUKRAN IDRISSE , ainsi qu'à l'inspecteur *ABDELLAOUI YAZID* de m'avoir aidée pour la réalisation de ce travail.

J'exprime toute ma reconnaissance au *Dr ACHEK RACHID* pour son aide au cours de la réalisation de ce travail.

Je tiens à remercier aussi les agents de la bibliothèque de l'ENSV : *MERIEM, HAMID, TCHIKOU, DJAMILA, YASSINE*. Hommages respectueux.

Mes profonds respects envers le professeur *HAMDI P.*, directeur de l'école nationale supérieure vétérinaire.

Et à monsieur *DERFELOU K.*, de l'école nationale supérieure vétérinaire.

Comme on dit souvent on garde le meilleur pour la fin et ces remerciements ne seraient pas complets sans remercier ma sœur *Dr BERKANI ASMA*, pour son aide, ses conseils pertinents et son soutien moral.

Enfin, je voudrais remercier toutes les personnes qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de ce travail.

Résumé

La présente étude, a été menée dans trois abattoirs de la région Est de l'Algérie et a comporté :

- une étude rétrospective pour déterminer la prévalence des lésions suspectes de la tuberculose bovine au cours des quatre années précédentes (2008 à 2011) où le taux le plus élevé était enregistré en 2008 (8,82%) ;
- une étude prospective focalisée sur la population étudiée durant quatre mois (1^{er} aout-30 novembre 2011) pour mettre en évidence les agents responsables des lésions.

De ce fait, les résultats de l'étude prospective montrent que, sur un total de 696 carcasses inspectées, 39 présentaient des lésions suspectes de tuberculose, soit une proportion de 5,6% .Ces lésions ont été plus fréquentes chez les femelles (19,85%) que chez les mâles (1,98%).

Par ailleurs, les animaux adultes ont présenté plus de lésions suspectes de tuberculose bovine (22 ,22%) par rapport aux deux autres classes (moins de 2ans et de 2ans à 5ans avec des taux de 1 ,63% et 5,49% respectivement).

La distribution des lésions montre une atteinte de l'appareil respiratoire principalement avec un taux de 57,14% .Par ailleurs, nous avons noté aussi que l'atteinte généralisée est non négligeable avec un taux de 10,25%.

L'examen microscopique des 39 frottis confectionnés a montré une positivité de 43,58%.L'isolement et l'identification de cultures ont permis de confirmer un taux de 66,66% de culture positive. Parmi ces dernières, 19,23% des cultures étaient *Mycobacterium bovis* et 80,76% des souches atypiques.

Par conséquent, les bovins de la région Est sont plutôt touchés par les autres mycobactérioses que par la tuberculose à *Mycobacterium bovis*.

L'affection tuberculeuse est présente dans les abattoirs de cette région de l'Algérie.

Mots clés : tuberculose bovine, abattoir, enquête, région Est, culture, bacilloscopie.

Summary

This study was conducted in three slaughterhouses in the eastern region of Algeria and included:

- a retrospective study to determine the prevalence of suspicious lesions of bovine tuberculosis during the previous four years (2008 to 2011) where the highest rate was recorded in 2008 (8,82%);
- a prospective study focused on the population studied for four months (1st August-30 November 2011) to highlight lesions agents.

Therefore, the results of the prospective study showed that a total of 696 carcasses inspected, 39 had suspicious lesions of tuberculosis, a proportion of 5,6%. These lesions were more frequent in females (19, 85%) than in males (1,98%).

In addition, adult animals showed more suspicious lesions of bovine tuberculosis (22, 22%) compared to the other two classes (under 2 years , 2 years to 5 years, with rates of 1, 63% and 5,49% respectively).

The distribution of the lesions demonstrated an affection of the respiratory organs with a rate of 57,14%. Moreover, we also noted that the generalized affection is a significant with a rate of 10,25%.

Microscopic examination of 39 smears showed a positivity of 43,58%. The isolation and the identification of cultures have confirmed a rate of 66,66% of positive culture. Of these, 19,23% of the cultures was *Mycobacterium bovis* and 80,76% was atypical strains.

Therefore, cattle in the eastern region are more affected by other mycobacterial tuberculosis than *Mycobacterium bovis*.

Tuberculosis is present in slaughterhouses surveyed of this region of Algeria.

Keywords: bovine tuberculosis, abattoir survey, Eastern Region, culture, smear.

هذه الدراسة استعادية من اجل تحديد نسبة التفرحات المشبوهة للسل البقري خلال السنوات الاربعة الاخيرة (2008-2011) اين

- دراسة استعادية من اجل تحديد نسبة التفرحات المشبوهة للسل البقري خلال السنوات الاربعة الاخيرة (2008-2011) اين

٢٠٠٨ (٨,٨٢) .

- دراسة مستقبلية على العينة المدروسة خلال اربعة اشهر (١١-٣٠ ٢٠١١) لتسليط الضوء على العوامل

التي تسبب هذه التفرحات .

بينت نتائج الدراسة المنتظرة انه من بين 696 ذبيحة مكشوف عليها، 39 منها اظهرت اصابة مشبوهة للسل و هو ما

يمثل نسبة قدرها 5,6 .

هذه التفرحات اصبحت اقل شيوعا (١٩,٨٥) مقارنة بـ (١,٩٨) .

من جهة اخرى، أظهرت الحيوانات البالغة اصابة اصابتها المشبوهة للسل البقري (٢٢,٢٢) الفئتين

الريتين (١٠ سنوات و من سنتين ٥ سنوات) ١,٦٣ و ٥,٤٩ .

يبين توزيع التفرحات اصابة الجهاز التنفسي بالدرجة الاولى بمعدل ٥٧,١٤ ، ، ، ايضا ان الاصابة المعممة

لا يستهان بها مع معدل ١٠,٢٥ .

اظهر الفحص المجهرى ل 39 عينة 43,٥٨ ٪ من الايجابية . ان عزل و تحديد اصابة بتأكيد 66,٦٦

من بين هذه الاخيرة تحصلنا على 19,٢٣ اصابة ميكوبكتيريوم بوفيس 80,٧٦

التي تسبب هذه التفرحات .

ومنه، فإن ابقار المنطقة الشرقية اصابها ميكوبكتيريوم بوفيس .

التي تسبب هذه التفرحات في مزاب هذه المنطقة من الجزائر .

الكلمات المفتاحية: المنطقة الشرقية، ، ، ، ، الفحص المجهرى .

La liste des tableaux

Tableau N°		Page
<i>Partie bibliographique</i>		
I	Caractères de différenciation des espèces.	12
II	Grille de lecture de l'IDC.	27
<i>Résultats</i>		
III	Nombre de bovins abattus et de saisies pour tuberculose bovine dans les abattoirs (2008-2011).	59
IV	Proportion des cas suspects de lésions tuberculeuses dans les trois abattoirs.	61
V	Proportion des lésions suspectes de tuberculose bovine en fonction de l'âge.	62
VI	Proportion des lésions suspectes de tuberculose bovine en fonction du sexe.	63
VII	Proportion des lésions suspectes de tuberculose bovine en fonction de la race.	64
VIII	Proportion des cas de saisies par type de tuberculose.	65
IX	Proportion des lésions tuberculeuses en fonction de leur localisation.	67
X	Résultats de l'examen microscopique.	70
XI	Résultats de la culture bactérienne.	70
XII	Résultats de l'identification bactérienne.	72
XIII	Résultats de la décontamination des deux méthodes.	74

Liste des figures

Figure N°		Page
Partie bibliographique		
01	Morphologie des mycobactéries.	9
02	La structure de la paroi des mycobactéries.	10
03	Colonies positives de <i>M. bovis</i> .	11
04	Colonies positives de <i>M. tuberculosis</i> .	11
05	Tuberculose milliaire sur la plèvre.	17
06	Abcès caséux pulmonaire.	17
07	Répartition géographique de la tuberculose bovine dans le monde.	18
08	Représentation schématique des relations écologiques permettant la transmission de tuberculose animale à <i>M.bovis</i> , à partir d'un hypothétique réservoir sauvage.	24
09	Aspect histologique d'une follicule tuberculoïde(E: cellules épithélioïdes , G:cellules géantes, Ly:lymphocytes).	29
10	Frottis positif après Colorisation de Ziehl Neelsen .	31
11	Frottis positif après Colarisation à l'auramine.	32
12	La région DR (pour l'isolat B, les «spacers» 3, 7 et 9 sont absents.	35
13	Les risques de dissémination de l'infection tuberculeuse à partir d'un élevage infecté.	38
Matériel et méthodes		
14	Situation géographique des trois abattoirs. (A:Souk-Ahras, B:Sedrata et C:Ain Beida).	41

15	Dessiccation du prélèvement.	45
16	Broyage de fragment.	45
17	Etalement du frottis.	46
18	Coloration par la fuchsine.	46
19	Rinçage des lames à l'eau ordinaire.	47
20	Lames recouvertes d'acide sulfurique.	47
21	Lames recouvertes d'alcool.	48
22	Contre coloration par le bleu de méthylène.	48
23	Lecture sous microscope optique.	49
24	Décontamination de l'homogénéisât.	50
25	Agitation de tube sur agitateur de Kahn.	50
26	Centrifugation de la suspension.	50
27	Ensemencement sur milieu de Lowenstein-Jensen.	51
28	Tubes placés sur portoirs dans l'étuve.	51
29	Tubes contaminés.	52
30	Prélèvement d'une masse de culture.	53
31	Culture positive.	53
32	Réactifs de nitrate.	55
33	Réaction nitrate.	55
34	Catalase positive.	56
35	Tube témoin et tube contenant du PNB.	58

36	Tube témoin et tube contenant du TCH.	58
Résultats		
37	Evolution des cas de saisies pour tuberculose bovine aux abattoirs (2008-2011).	60
38	Evolution des cas de saisies pour tuberculose bovine ♂ ♀.	60
39	Saisies pour tuberculose bovine dans les 3 abattoirs.	62
40	Répartition des lésions suspectes de tuberculose bovine en fonction de l'âge.	63
41	Répartition des lésions suspectes de tuberculose bovine en fonction du sexe.	64
42	Répartition des lésions suspectes de tuberculose bovine en fonction de la race.	65
43	Type de tuberculose.	66
44	Tuberculose de type généralisé.	66
45	Répartition des lésions suspectes de tuberculose en fonction de leurs localisations.	68
46	Lésions suspectes de tuberculose au niveau des poumons.	68
47	Lésion suspectes de tuberculose ganglionnaire (ganglion thoracique).	69
48	Lésions suspectes de tuberculose ganglionnaire (ganglion préscapulaire).	69
49	Lésions suspectes de tuberculose au niveau du foie.	69
50	Culture positive à <i>M .bovis</i> .	71
51	Culture positive à MNT.	71
52	Présentation schématique des résultats des différentes techniques.	73

Liste des abréviations

Les abréviations	
AAR	Acido-alcool-résistant.
ADN	Acide désoxyribonucléique.
ARNr 16S	Acide ribonucléique ribosomal 16 Svedberg.
BAAR	Bacille-acido-alcool-résistant.
BCG	Bacille Calmette Guérin.
CMT	Complexe <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .
CO₂	Dioxyde de carbone.
DAT	Dispensaire anti tuberculeux.
DR	Direct repeat.
GC	Guanine cytosine.
GI	Growth index.
IDC	Intradermo tuberculation comparative.
IDR	Intradermo réaction
IDS	Intradermo tuberculation simple.
INFγ	Interféron gamma.
IS	Sequence d'insertion.
LJ	Lowenstein-Jensen.
M.	<i>Mycobactérium</i> .
MAPIA	Multi antigen print immuno assay.
MGIT	Mycobacteria growth indicator tube.
MNT	Mycobactérie(s) non tuberculeuse(s).
NaOH	Hydroxyde de sodium.
NL	Noeud lymphatique.
NR	Nitrate réductase.

PCR	Polymerase chain reaction.
PH	Potentiel hydrogene.
PNB	Acide para nitro benzoique.
PPD	Dérivés protéiniques purifiés ou tuberculine.
TCH	Hydrazide de l'acide thiophène-2-carboxylique.
RFLP	Restriction fragment lenght polymorphysm.
SIDA	Syndrome d'immunodéficience acquise.
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine.
VNTR	Variable number tandem repeat.

Sommaire	Pages
Dédicaces	
Remerciements	
Résumé en français	
Résumé en anglais	
Résumé en arabe	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1
Partie I : Partie bibliographique.	
Chapitre I : Généralités sur la tuberculose bovine.....	3
I.1.Définition.....	3
I.2.Historique.....	3
I.3.Importance.....	4
I.3.1.Le plan économique.....	4
I.3.2.Le plan hygiénique.....	5
Chapitre II : Etude de l'agent étiologique.....	6
II.1.Taxonomie et classification.....	6
II.2.Caractères bactériologiques.....	9
II.2.1.Caractères morphologiques.....	9
II.2.2.Caractères culturels.....	10
II.2.3.Caractères biochimiques.....	11
II.3. Résistance aux agents physiques et chimiques.....	13
Chapitre III : pathogénie, symptômes et lésions.....	14
III.1.Pathogénie.....	14
III.2.Symptômes.....	15
III.3.Lésions.....	16
Chapitre IV : Etude épidémiologique.....	18
IV.1.Epidémiologie descriptive.....	18
IV.1.1.Dans le monde.....	18
IV.1.2.En Afrique.....	19
IV.1.3.En Algérie.....	19

IV.2.Epidémiologie analytique.....	20
IV.2.1.Les sources de contagion.....	20
IV.2.1.1.Les animaux infectés.....	20
IV.2.1.2.Les matières virulentes.....	20
IV.2.2.Les modalités de contagion.....	22
IV.2.2.1.Modes de transmission.....	22
a. La transmission horizontale.....	22
b. La transmission verticale.....	22
IV.2.2.2.Voies de pénétration.....	22
a. La voie respiratoire.....	22
b. La voie digestive.....	23
c. Autres voies.....	23
IV.2.3.Réservoirs animaux.....	23
Chapitre V : Diagnostic.....	25
V. Méthodes de diagnostic.....	25
V.1.Diagnostic clinique.....	25
V.2.Diagnostic nécropsique.....	25
V.3.Diagnostic expérimental.....	25
V.3.1.Diagnostic immunologique.....	25
V.3.1.1.Mise en évidence de l'immunité à médiation cellulaire.....	25
V.3.1.1.1.Intradermoréaction(IDR).....	25
V.3.1.1.1.1.Intradermo-tuberculation simple (IDS).....	26
V.3.1.1.1.2.Intradermo-tuberculation comparative (IDC)	26
V.3.1.1.2.Test de l'interféron gamma.....	27
V.3.1.2.Mise en évidence de l'immunité à médiation humorale.....	28
V.3.1.2.1.Les tests sérologiques.....	28
V.3.2.Diagnostic histologique.....	29
V.3.3.Diagnostic bactériologique.....	30
V.3.3.1.Examen microscopique.....	30
V.3.3.1.1.Coloration de Ziehl Neelsen.....	31
V.3.3.1.2.Coloration à l'auramine.....	31
V.3.3.2.Culture bactérienne.....	32
V.3.3.2.1.Milieus solides.....	32

V.3.3.2.2.Milieux liquides.....	33
V.3.3.3.Identification.....	34
V.3.4.Le diagnostic moléculaire.....	34
V.3.4.1.Amplification génique	35
V.3.4.2.Typage génétique.....	35
a. Le spoligotypage.....	35
b. RFLP ou Restriction Fragment Length Polymorphism.....	36
c. Technique VNTR ou Variable Number Tandem Repeat.....	36
Chapitre VI : Traitement et prophylaxie.....	37
VI.1. Traitement.....	37
VI.2.Prophylaxie.....	37
VI.2.1.Prophylaxie sanitaire.....	37
VI.2.1.1.Mesures défensive.....	38
VI.2.1.2.Les mesures offensives.....	39
Partie II : partie expérimentale	
Chapitre I : Matériel et méthodes.....	40
I.1.Objectifs.....	40
I.2.Cadre de l'étude	40
I.2.1. Lieu et période de l'étude.....	40
I.3. Matériel et méthodes	41
I.3.1.Au niveau des abattoirs	41
I.3.1.1.Matériel.....	41
a. Matériel biologique (Animaux).....	41
b. Matériel non biologique.....	42
I.3.1.2.Méthodes.....	42
a. L'examen ante-mortem.....	42
b. L'examen post-mortem.....	42
c. L'analyse statistique.....	43
I.3.2. Au niveau de laboratoire.....	44
I.3.2.1. Matériel.....	44
I.3.2.1.1 .Matériel biologique (prélèvements).....	44
I.3.2.1.2. Matériel non biologique.....	44
I.3.2.2. Méthodes	44

I.3.2.2.1.Traitement des échantillons	44
I.3.2.2.2. Examen microscopique	45
a. Préparation des frottis	45
b. Coloration de Ziel-Neelsen	46
I.3.2.2.3. Culture bactérienne	49
a. Décontamination des échantillons	49
a1. Méthode de neutralisation	49
a2. Méthode de Petroff à la soude	50
b . Ensemencement	50
c. Incubation	51
d . Lecture	52
I.3.2.2.4. Identification biochimique	53
I.3.2.2.4.1. La réduction des nitrates	54
I.3.2.2.4.2. L'activité catalasique à 22°C	55
I .3.2.2.4.3. L'activité catalasique à 68°C	56
I.3.2.2.4.4. Croissance en présence de PNB	56
I.3.2.2.4.5. Croissance en présence de TCH	57
ChapitreII : Résultats de l'enquête aux abattoirs	59
II. Résultats.....	59
II.1.Etude rétrospective	59
II.2. Etude prospective.....	61
II.2.1.Etude des facteurs de variation	62
a . L'âge	62
b . Le sexe	63
c . La race	64
II.2.2.Répartition des saisies par type de tuberculose	65
II.2.3.Formes de tuberculose localisée	67
Résultats de laboratoire.....	70
II.3. Diagnostic de laboratoire	70
II.3.1.L'examen microscopique	70
II.3.2.La culture bactérienne	70
II.3.3.L'identification bactérienne	71
II.4.Comparaison entre deux méthodes de décontamination	73

Chapitre III : Discussion.....	75
III.Discussion.....	75
Conclusion.....	83
Recommandations.....	84
Références bibliographiques	
Annexes	

INTRODUCTION



INTRODUCTION

La tuberculose à *Mycobacterium bovis* est un fléau majeur de l'élevage bovin .Elle affecte le bétail de manière chronique et insidieuse (Boukary et *al.*,2011).

Cette affection est aussi une des sept zoonoses endémiques à travers le monde, en particulier dans les pays en voie de développement (Boukary et *al.*,2011).

Autrefois, l'Office International des Epizooties (OIE) a classé la tuberculose bovine parmi les maladies de la liste B en raison des graves problèmes qu'elle peut engendrer aux pays affectés sur le plan socio-économique et/ou sanitaire et son impact sur le commerce international des animaux et des produits d'origine animale . Mais actuellement, cette classification est remplacée par une nouvelle liste unique au lieu des deux précédentes (A et B) et qui a donné à toutes les maladies le même niveau d'importance (OIE,2013).

En Afrique, l'affection tuberculeuse figure parmi les principales maladies qui entraînent des pertes économiques .Elle constitue également une sérieuse menace pour la santé humaine vu l'insuffisance des mesures d'hygiène , à savoir, la pasteurisation du lait , le contact étroit entre l'homme et le réservoir animal et l'extension de la pandémie de VIH/SIDA (Boukary et *al.*,2011). Toutefois, les informations du taux de sa prévalence sont relativement peu nombreuses en raison de déficience des moyens (capacité humaine et financière) fournis par les états (Marcotty et *al.*,2009).

L'Algérie est un pays reconnu infecté de la tuberculose bovine et les foyers sont répartis sur tout le territoire national (DSV, 2012). Cette maladie occupe une place importante, en raison des énormes pertes qu'elle produit, liées à la saisie aux abattoirs .Mais malgré cela, elle reste négligée aussi bien chez l'homme que chez l'animal.

Néanmoins, des études ont été réalisées sur le diagnostic et la caractérisation moléculaire des agents responsables par Sahraoui et ses collaborateurs (2008 ,2009) et Kardjadj (2011) .Ces travaux ont été menés dans les abattoirs de la région nord et ont pu confirmer la présence de la tuberculose et de mettre en évidence les mycobactéries responsables de cette maladie.

Pour cette raison, nous nous sommes intéressées à effectuer une enquête au niveau des abattoirs de la région Est puisque à notre connaissance cette dernière n'a été jamais étudiée auparavant, tout en visant les objectifs suivants :

- évaluer les cas de saisie pour tuberculose bovine dans trois abattoirs de cette région au cours des quatre dernières années (2008-2011) ;
- déterminer la prévalence des cas suspects de tuberculose dans la population étudiée durant l'année 2011 ;
- isoler et identifier les agents responsables.

Enfin, ce document consiste en deux parties :

La partie bibliographique qui englobe : des généralités sur la tuberculose bovine, par l'étude de l'agent étiologique. Nous aborderons ensuite la pathogénie, le tableau symptomatique et lésionnel puis l'épidémiologie de la maladie .Nous montrerons successivement les différentes méthodes de diagnostic utilisées, le traitement et la prophylaxie envisagés à ce propos.

La partie expérimentale comprendra : le matériel et méthodes mis en œuvre pour la réalisation de cette étude, ainsi que les résultats obtenus. Enfin, nous terminerons par une discussion générale qui permettra de faire une synthèse des résultats et de proposer quelques recommandations.

PARTIE

BIBLIOGRAPHIQUE



Chapitre I

Généralités sur la tuberculose bovine

I.1.Définition:

La tuberculose bovine est une maladie infectieuse, contagieuse (ENVF, 2004), d'évolution chronique (Lackech et *al.*, 2012), transmissible à l'homme et à de nombreuses espèces animales (Haddad et *al.*, 2004). Elle est considérée comme une zoonose majeure (Thoen et *al.*, 2006 ; Awah-Ndukum et *al.*, 2012). Cette affection est due principalement à *Mycobacterium bovis* (OIE, 2009 ; Allen et *al.*, 2010). Elle a été signalée dans le monde entier (El Idriss et Parker, 2012). De même, C'est une maladie à déclaration obligatoire (Toma et *al.*, 2004).

I.2.Historique:

La tuberculose est une maladie qui a été reconnue depuis l'antiquité (Cosivi et *al.*, 1995). En effet, des signes cliniques pathologiques (lésions osseuses du mal de pott) révélateurs d'une dégénérescence tuberculeuse ont été retrouvés dans la colonne vertébrale de momies égyptiennes, après séquençage des fragments d'ADN. Ceux-ci sont avérés être spécifiques du complexe *Mycobacterium tuberculosis* (Crubezy et *al.*, 1998).

- En 1810, Laennec effectua une étude clinique et nécrosique complète de la maladie qui lui permit d'affirmer l'unicité de la tuberculose. Il pensa que la maladie "perlière ou pomelière" des bovidés fut de nature tuberculeuse (Thorel, 2003).
- En 1865, Villemin fournit les épreuves expérimentales de l'inoculabilité de la tuberculose humaine au lapin et, l'année suivante, il certifia la ressemblance de la tuberculose humaine et bovine (ENVF, 1990). La maladie devint donc infectieuse, contagieuse et inoculable (Bates et Stead, 1993).
- En 1882, Robert Koch mit en évidence le bacille tuberculeux à partir de lésions d'origine humaine, bovine et aviaire (Thorel, 2003). Pour lui, la maladie chez l'homme et chez l'animal fut causée par le même organisme (Gallagher et Jenkins, 1998). Par la suite, Ehrlich montra son acido-alcool-résistance qui fut révélée dès 1883 par la méthode de coloration de Ziehl et Neelsen (Thorel et *al.*, 1998; Grange et *al.*, 2001)
- En 1890, Koch mit au point la tuberculine dont l'application au diagnostic allergique de la maladie, proposée par Guttman (Benet, 2008).
- En 1896, Theobald Smith fit la distinction entre le bacille humain et le bacille bovin sur la base de leurs caractéristiques culturelles in vitro et l'étude de leur virulence (Gallagher et Jenkins, 1998).

- En 1896, le genre *Mycobacterium* fut créé par Neuman (Thorel et *al.*,1998; Grange et *al.*,2001).
- De 1908 à 1920, une souche de *M.bovis* fut repiquée sur un milieu bilié à base de pomme de terre par Calmette et Guérin (Grange,1980; Lowell,1984). Le B.C.G fut appliqué à l'homme pour la première fois en 1921 et par la suite sur un milliard de personnes (ENVF,1990).
- A partir de 1944, plusieurs antibiotiques furent découverts, notamment les cinq (05) antituberculeux de première ligne encore utilisées aujourd'hui: streptomycine, pyrazinamide, isoniazide, rifampicine, ethambutol (Guiard ,2008).
- En 1953, d'autres mycobactéries acido-alcool-résistantes, à savoir, le bacille paratuberculeux fut mis en évidence dans les milieux les plus divers (eau et terre) (ENVF,1990).
- Pollak et Buhler confirmèrent le pouvoir pathogène occasionnel de certaines espèces de mycobactéries (Buhler et Pollak, 1955).

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

I.3.Importance:

Son importance est évaluée sur :

I.3.1.Le plan économique:

La tuberculose bovine est un fléau majeur de l'élevage bovin (Boukary et *al.*2011).Elle entraîne des pertes en viandes (saisies aux abattoirs), en lait et gêne l'exportation (ENVF,1990) (les échanges internationaux d'animaux et de produits d'origine animale (Michel et *al.*, 2010)). Elle provoque aussi des mortalités précoces (Ward et *al.*,2010).

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 (Zinsstag, 2006; Michel et *al.*,2010; Boukary et *al.*,2011).

En Afrique, elle figure parmi les maladies entraînant des pertes estimées à plusieurs millions de dollars annuellement. Malheureusement, elle n'a été que très peu étudiée, aussi bien chez l'homme que chez le l'animal (Boukary *et al.*,2011).

De même qu'en Algérie, d'énormes pertes à la saisie aux abattoirs ont été déclarées d'après la direction des services vétérinaires du ministère de l'agriculture et du développement rurale. Ces saisies sont estimées à plus de 2 milliards de dinars durant la période qui s'étend de 2006 à 2010 et de près de 300 millions de dinars chaque année (DSV ,2012).

1.3.2.Le plan hygiénique :

La tuberculose bovine est une zoonose majeure (Thoen *et al.*,2006; Benet,2005;Michel *et al.*,2009; Boukary *et al.*,2011) qui peut se transmettre à l'homme par inhalation d'aérosols contaminés (voie respiratoire) ou par ingestion de lait cru ou produits laitiers non pasteurisés (Biet *et al.*,2005; Thoen *et al.*,2006; O'reilly et Daborn.,1995;Michel *et al.*,2010; De la Rua Domenech ,2006; De kantor *et al.*,2008),de viande ou d'abats contaminés (voie orale) (Hars *et al.*,2011). Cependant, la voie digestive est devenue moins importante suite au développement des usines de pasteurisation du lait partout dans le monde (Thoen *et al.*, 2006).

La tuberculose zoonotique est considérée comme un risque professionnel pour les travailleurs ruraux (Lobue,2006; Thoen *et al.*,2006; Michel *et al.*,2010), le personnel d'abattoir (carcasse avec lésions ouvertes), les bouchers et les tripiers (Anaelom *et al.*,2010) ainsi que les vétérinaires sanitaires et les personnels de laboratoire (Boulahbal *et al.*,1998;Cosivi *et al.*,1998; Biet *et al.*,2005; De la Rua Domenech ,2006; De kantor *et al.*,2008; Wilkins *et al.*,2008; Sunder *et al.*,2009; Anaelom *et al.*,2010).

Chapitre II

Etude de l'agent étiologique

II.1.Taxonomie et classification:

Mycobacterium est considéré comme le seul genre de la famille des *Mycobacteriaceae*, de l'ordre des *Actinomycétales* (Cattoir, 2004; Rastogi *et al.*,2001) .Il est caractérisé par :

- une propriété tinctoriale particulière : l'Acido-Alcool-Resistance (AAR) ;
- la présence d'acides mycoliques (avec 60 à 90 atomes de carbone) et un contenu en Guanine-Cytosine (GC%) de l'ADN compris entre 61% et 71% (Vincent,1995 ; Freney *et al.*,2007), à l'exception de *M.leprae* avec 57.8% (Honore,2001; Vincent,1995 ; Freney *et al.*,2007).

Ce genre comporte actuellement 158 espèces (Boukary *et al.*,2011) .Leur classification est due soit :

☒ à leur importance clinique dont trois groupes sont distingués :

- ✓ **les mycobactéries pathogènes strictes** qui sont responsables des tuberculoses humaine, bovine, aviaire et caprine (mycobactéries tuberculeuses),de l'entérite hypertrophique des ruminants ou paratuberculose (*M.paratuberculosis*) ,de lèpre humaine(*M.leprae*),de lèpre murine ou de farcin du bœuf (*M.farcinogènes*) (Coetzer et Tustin,2004; Benet,2008) ;
- ✓ **les mycobactéries opportunistes** qui provoquent des infections peu ou pas contagieuses, cliniquement identiques à la tuberculose mais habituellement bénignes (sauf exceptions) (Biet *et al.* , 2005) ;
- ✓ **les mycobactéries saprophytes** qui sont très rarement responsables de l'infection (Coetzer et Tustin, 2004).

☒ en fonction de leur vitesse de croissance (Vincent,1995;Thorel,2003) ,on distingue : les mycobactéries à croissance rapide(<7jours) et celles à croissance lente (>10 jours) (Freney *et al.*,2007).

Pour des raisons pratiques, on distingue les mycobactéries tuberculeuses du complexe *M. tuberculosis* et les mycobactéries non tuberculeuses (mycobactéries atypique) (Avril *et al.*,2003 ; Cattoir ,2004).

- **Le complexe *Mycobacterium tuberculosis* (CMT):**

Il regroupe des espèces extrêmement proches sur le plan phylogénétique, présentant 99,9% de similarité au niveau des nucléotides et des séquences d'acide ribonucléique ribosomal 16S (ARNr 16S) (Brosch et al.,2002 ;Haddad et al.,2004). Ces dernières sont responsables de la tuberculose humaine et animale (Cattoir, 2004). Ce complexe inclut les espèces bactériennes suivantes:

- ✓ ***Mycobacterium bovis*:**

C'est l'agent principal de la tuberculose bovine et peut infecter l'homme et d'autres animaux (Karlson et Lessel,1970;Brosch et al.,2002;Aranaz et al.,2003) comme les ongulés (bison , buffle, cerf et sanglier) et également le blaireau ,le phalanger-renard, le furet ,le hérisson ,les primates ,les grands carnivores (lion et tigre),le perroquet et les petits carnivores domestiques (Hars et al.,2006) . Il existe 2 sous espèces de *M.bovis*.

- ❖ ***M.bovis* B.C.G:**

C'est la souche vaccinale dérivée de *M.bovis* (Demangel et al.,2004). Elle a été obtenue par Calmette et Guérin en 1921(Calmette,1927).

- ❖ ***M.bovis caprae*:**

C'est un agent responsable de la tuberculose caprine mais aussi bovine (Sahraoui et al., 2009) ;il a été initialement identifié à partir d'un isolat de chèvre en 1999 par Aranaz et ses collaborateurs qui l'avait nommé *Mycobacterium tuberculosis subsp.caprae* (Prodinger et al.,2005), puis il a été reclassée sous le nom de *M.bovis subsp.caprae* (Neimann et al.,2002).

- ✓ ***Mycobacterium tuberculosis***

C'est le principal agent de la tuberculose humaine. Il ne se trouve pas dans la nature en dehors des produits provenant de l'homme infecté. Les animaux domestiques peuvent occasionnellement être contaminés (Michalak et al., 1998).

- ✓ ***Mycobacterium africanum***

Comme son nom l'indique, il est fréquemment isolé chez les tuberculeux en Afrique de l'ouest et du centre (Castets et al., 1968).

✓ *Mycobacterium canetti*

C'est un agent également responsable de la tuberculose humaine en Afrique (Pfyffer et al., 1998; Miltgen et al., 2002); il a été initialement découvert en 1969 par Canetti chez un patient français. Il a été décrit comme une espèce du CMT en 1997 (Van Soolingen et al., 1997).

✓ *Mycobacterium microti*

Découvert par Wells en 1937 sur la chauve souris, c'est l'agent principal de la tuberculose des petits rongeurs mais il a été retrouvé occasionnellement chez le chat (Huitem et Jaartsveld, 1967), et plus rarement chez d'autres espèces (bovins, porcs, chiens, blaireaux) (Smith et al., 2009). Des infections chez l'homme ont été également décrites (Van Soolingen et al., 1998).

✓ *Mycobacterium pinnipedii*

Il a été isolé et décrit chez des mammifères marins pinnipèdes (phoque, morse et léopards de mers) (Cousins et al., 2003; Brennan, 2009; Olsen et al., 2010). Il est également pathogène pour les cobayes, les lapins, l'homme et éventuellement les bovins (Cousins et al., 2003).

✓ *Dassie bacillus* :

Il a été identifié pour la première fois en 1950 comme agent responsable d'une tuberculose pulmonaire chez un daman des rochers (petit mammifère commun en Afrique du Sud) (Parsons et al., 2008). Puis à nouveau isolé, en 1980 dans une colonie de damans d'un zoo australien et d'un zoo canadien et aussi chez un suricate d'un zoo suisse (Lutze-wallace et al., 2006).

✓ *Oryx bacillus*

Plusieurs fois isolé chez des oryx, cet agent responsable de tuberculose est au départ considéré comme une sous-espèce de *M.tuberculosis* (Lomme et al., 1976). Des études phylogénétiques ont permis de le distinguer des autres mycobactéries du complexe *tuberculosis* (Huard et al., 2006).

- **Les mycobactéries atypiques** sont retrouvées dans l'environnement hydro-tellurique à partir duquel l'homme et les animaux se contaminent. Leur classification est habituellement basée sur des critères phénotypiques (pigmentation et vitesse de croissance) (Runyon, 1959), des caractères biochimiques et de la sensibilité aux agents antibactériens (Bourgoin et Agius, 1995).

II.2.Caractères bactériologiques:

II.2.1.Caractères morphologiques:

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



Figure 1: Morphologie des mycobactéries (Elawad, 2013).

Elles sont liées phylogénétiquement aux bactéries à Gram positif, même si leur coloration de Gram est souvent faible ou variable (Coetzer et Tustin, 2004).

Le critère bien connu du genre c'est sa propriété tinctorial particulière : l'acido -alcool-résistance qui est liée à la présence dans leur paroi (Cf. figure 2) de forte proportion de lipide qui sont principalement, les acides mycoliques .Ces acides gras à longue chaîne carbonnée (α ramifiés, β -hydroxylés) sont liés au peptidoglycane (PG) par l'intermédiaire d'arabino-galactane (AG) (arabinose et galactose) .Ils constituent une barrière hydrophobe tout autour de la cellule. Ils gênent ainsi la libération par traitement acide et alcool puissant, des colorants une fois absorbés (Vincent,1995).

Au sein de cette structure se trouvent des protéines et des peptides qui ont des activités antigéniques ou physiologiques diverses (le support de l'activité tuberculinique) (Carbonelle et *al.*, 2003).

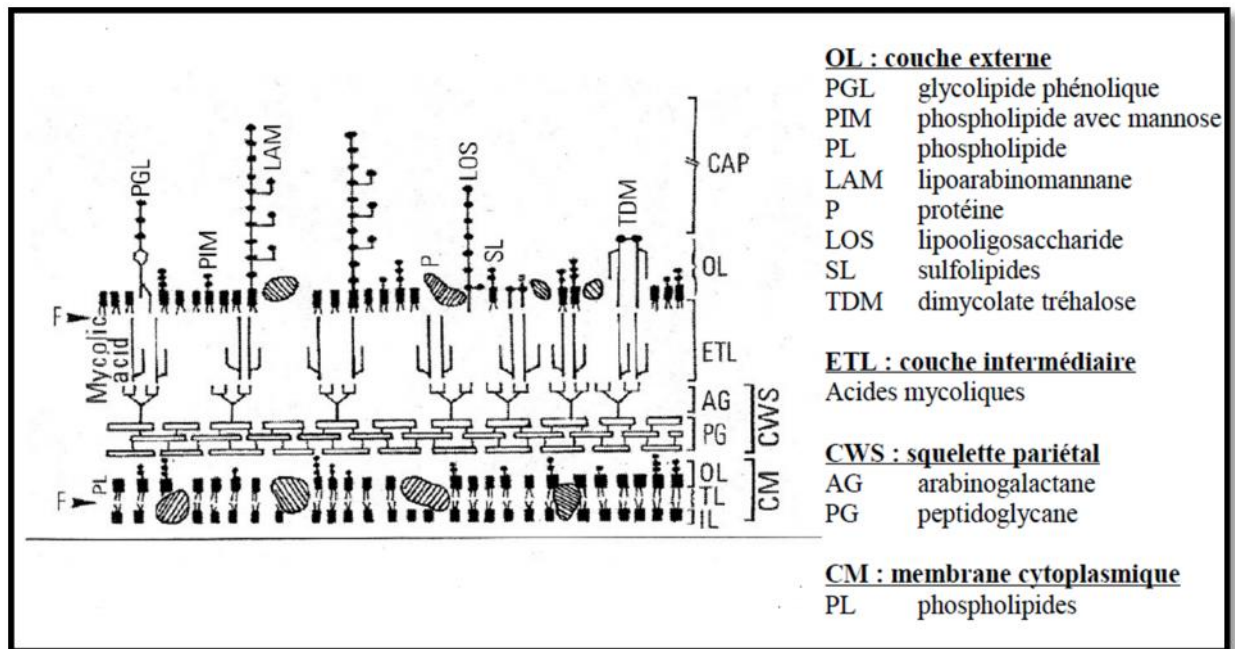


Figure 2: La structure de la paroi des mycobactéries (Rastogi *et al.*, 2001).

II.2.2.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, Lowenstein-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 4), des colonies blanchâtres (1 à 2 mm), brillantes et lisses «dysgoniques» pour *M.bovis* (Cf.figure 3) et des colonies rugueuses, plates, de couleur mate avec un bourgeon centrale et à croissance dysgonique pour *M.africanum* (Denis et Martin, 2007).



Figure 3: Colonies positives de *M. bovis* (Ngandolo,2012).

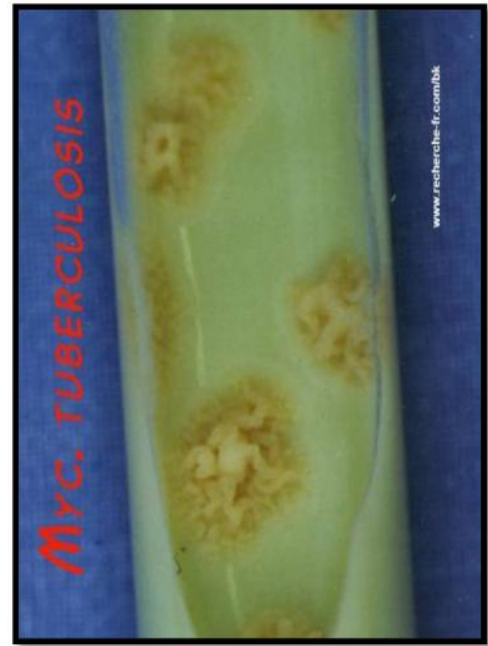


Figure 4 : Colonies positives de *M. tuberculosis* (Ngandolo,2012).

La culture est lente (3 à 4 semaines pour *M.tuberculosis* , 45 à 60 jours pour *M.africanum* et *M.bovis*) car le temps de génération est d'environ 20 heures sur les milieux de culture (Avril et *al.*,2003) (elles se différencient ainsi de certaines mycobactéries dites à croissance rapide formant des colonies visibles en moins de 7 jours (ENVF,1990)).

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 gélifiés;
- 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).

II.2.3.Caractères biochimiques:

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 I).

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 ; Bourgoin 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).

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 I: Caractères de différenciation des espèces.

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.

*(Carbonelle et al., 2003) ; ** (Freney et al., 2007) ; *** (Gianpaglia et al., 2005 ; Boulahbal) ; **** (Avril et al., 2003).

II.3.Résistance aux agents physiques et chimiques:

- **Agents physiques:**

Les mycobactéries sont sensibles à la chaleur (20 minutes à 60°C ,20 secondes à 75°C) (ENVF,1990) ; d'où l'importance de la pasteurisation ou de la stérilisation du lait ; et aux rayons ultra-violetts (Palmer et Whipple, 2006).

En revanche, elles résistent bien au froid à +4°C et à la dessiccation. La lyophilisation est d'ailleurs un excellent moyen de conservation (Avril et *al.*,2003).

Plusieurs études ont notamment démontré que *Mycobacterium bovis* pouvait persister pendant des périodes plus ou moins prolongées dans l'environnement :

- ❖ 4 jours dans une pâture directement exposée à la lumière (Tanner et Michel, 1999);
- ❖ de 7 à 28 jours dans une tanière de possum (Jackson et *al.*, 1995);
- ❖ de 4 à 6 semaines dans un environnement frais, non directement exposé à la lumière (Tanner et Michel, 1999);
- ❖ 6 mois dans une bouse de vache (en hivers) (Palmer et Whipple, 2006).

- **Agents chimiques:**

Les mycobactéries sont beaucoup plus résistantes que les bactéries usuelles aux antiseptiques et désinfectants chimiques (Denis et Martin, 2007).

Elles sont détruites par les acides et les bases, mais moins vite que les germes banals. Cette propriété est mise à profit pour décontaminer certains prélèvements (crachats, urine) tout en conservant la viabilité des mycobactéries (Avril et *al.* , 2003).

Elles sont aussi sensibles à l'iode, à l'alcool isopropylique ou éthylique (destruction en quelques minutes), aux dérivés phénoliques (elles sont tuées en 10 à 30 minutes) aux hypochlorites et au formol (ENVF,1990 ; Avril et *al.*,2003).

Les ammoniums quaternaires n'ont pas d'action sur les mycobactéries (Avril et *al.*,2003). Elles sont résistantes aux antibiotiques usuels (pénicilline ,tétracycline et ,chloramphénical)(Jager,2010).

Chapitre III

Pathogénie ,symptomes et lésions

III.1.Pathogénie:

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). Elle se caractérise par :

- ❖ la primo-infection qui correspond à la pénétration dans l'organisme de bacilles tuberculeux (voie respiratoire, digestive ou percutané) qui sont rapidement phagocytés par les macrophages .Une partie est détruite ; l'autre se multiplie dans les cellules qui les ont phagocytés (Thorel, 2003;Acha et Skyfres, 2003;Pollock et *al.*, 2006; Benet,2008) ;
- ❖ l'apparition d'un complexe primaire qui comprend une lésion initiale, le chancre d'inoculation et de l'adénopathie tuberculeuse satellite (pulmonaire à 95% chez les bovins) (Lavie et Calavas, 2007).

Les évolutions possibles de ce complexe sont soit: une guérison, une stabilisation ou une généralisation précoce (Radostits et *al.*, 1994;Thorel,2003;Benet,2008).

La guérison est marquée par une destruction du bacille tuberculeux et une cicatrisation des lésions après résorption du caséum (cas habituel lors d'infection des bovins par *M. tuberculosis* ou *M .avium*) (ENVF, 1990).

En effet, dans certains cas défavorables, comme le passage des bacilles par la voie lympho-hématogène, une tuberculose de généralisation précoce apparaîtra. Elle se traduit par une tuberculose milliaire aigue ou une tuberculose de généralisation progressive (ENVF, 1990;Thorel, 2003;Panteix, 2007).

Cependant, ces formes peuvent se stabiliser, et se caractériser soit par :

- une calcification des lésions ;
- un enkystement ;
- un remaniement fibreux.

Ces formes peuvent demeurer dans cet état toute la vie de l'animal ou donner lieu à une généralisation tardive (Radostits et *al.*,1994; Thorel, 2003;Pollock et *al.*, 2006; Michel et *al.*,2010).

Chez les bovins, la primo-infection est généralement asymptomatique et sera révélée par une réaction tuberculinique positive (Panteix, 2007).Par ailleurs, une surinfection endogène ou exogène peut donner lieu à une tuberculose chronique d'organe si les défenses de l'organisme sont efficaces. Dans le cas d'un affaiblissement général, la surinfection se propage traduisant une tuberculose de généralisation tardive : tuberculose milliaire aigue ou tuberculose caséeuse de surinfection. Cependant, ces deux formes sont susceptibles d'une stabilisation définitive ou d'une nouvelle poussée évolutive (Thorel, 2003;Acha et Szyfres, 2003; Benet et *al.*,2006).

III.2.Symptômes:

Les symptômes de la tuberculose bovine passent souvent inaperçus pendant longtemps et l'animal tuberculeux conserve toutes les apparences d'une santé parfaite (Jager, 2010). C'est lorsqu' un organe et/ou tissu est gravement atteint que les symptômes peuvent faire l'objet d'une suspicion (Bengis, 1999).

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

- pulmonaire qui se traduit par une toux sèche puis grasse accompagnant alors un jetage muco-purulent jaunâtre (ENVF, 1990) ;
- intestinale c'est une forme généralement asymptomatique ou s'accompagne d'une entérite chronique (Acha et Szyfres, 2003) ou alternance de constipation et de diarrhée (OIE, 2005) ;
- mammaire se traduisant à un stade avancé, par une hypertrophie de l'organe qui devient dur et indolore (grosse mamelle de bois) (ENVF, 1990) ;
- génitale aboutit chez le male à une vaginalite ou vaginalo-orchite à évolution lente et chez la femelle une métrite chronique (Acha et Szyfres, 2003).

Ces dernières évoluent seules ou associées (ENVF,1990).

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).

Toutes ces manifestations entraînent progressivement chez l'adulte une baisse de poids, la faiblesse, l'anémie et la cachexie (Thorel et *al.*, 1998). Chez les jeunes, la croissance devient irrégulière et tardive (Thorel et *al.*, 1998; Acha et Szyfres,2003). Les symptômes sont plus marqués lors de tuberculose généralisée (Koffi, 1992).

Quoiqu'il en soit, le tableau clinique de la tuberculose bovine est frustrant sans signes pathognomoniques (De la Rua-Domenech et *al.*, 2006).

III.3.Lésions:

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 et selon leur stade évolutif, les tubercules sont gris, miliaires (Cf.figure 5), caséux (Cf.figure 6) (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).

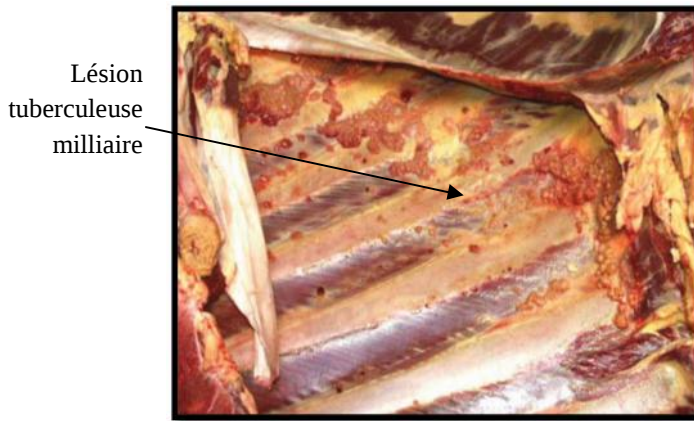


Figure 5 : Tuberculose milliaire sur la plèvre (Sieng, 2011).

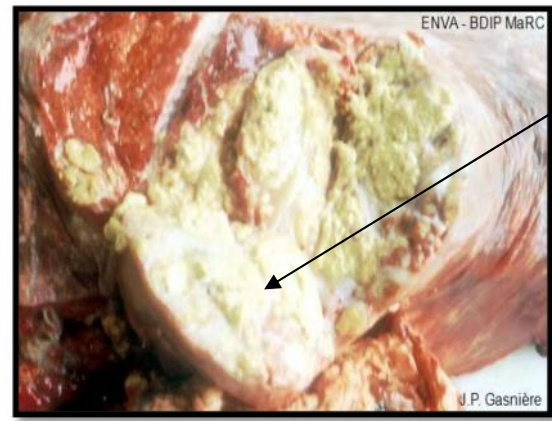


Figure 6: Abscès caséux pulmonaire (Dirat, 2013).

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 IV

Etude épidémiologique

IV.1.Epidémiologie descriptive :

IV.1.1.Dans le monde:

La tuberculose bovine est une maladie répandue au niveau mondial (Cf .figure 7) (cosivi et al., 1998 ;Boukary et al., 2011).Elle affecte le bétail de manière chronique et insidieuse (Rotschild et al., 2001) .La population mondiale de bovins est de l'ordre de 1,3 milliards (OIE,2011) dont 50 millions sont infectés par *M.bovis* (Budelle et al.,2011).

Cependant les programmes d'assainissements ont permis la réduction de la prévalence de la tuberculose bovine dans la plupart des pays industrialisés (Benet, 2006 ; Torgenson et Torgenson, 2009).

De ce fait, à l'heure actuelle, de nombreux pays en Europe et en Amérique du Nord ainsi que l'Australie sont indemnes de la maladie ou proche de son éradication chez le bétail. Néanmoins, le maintien de *M.bovis* chez les espèces sauvages a considérablement compromis les efforts d'éradication dans les pays comme l'Irlande, la Nouvelle Zélande ,le Royaume uni de Grande-Bretagne et dans certaines parties des États-Unis d'Amérique (El Idrissi et Parker, 2012).

Dans les pays en voie de développement, à savoir l'Afrique, l'Asie et l'Amérique latine (El Idrissi et Parker, 2012), la tuberculose bovine est largement diffusée (Ayele et al.,2004) parce que ces pays trouvent du mal à suivre de tels programmes du fait de l'impact financier qui en découle (Benet, 2006 ; Torgenson et Torgenson, 2009) .

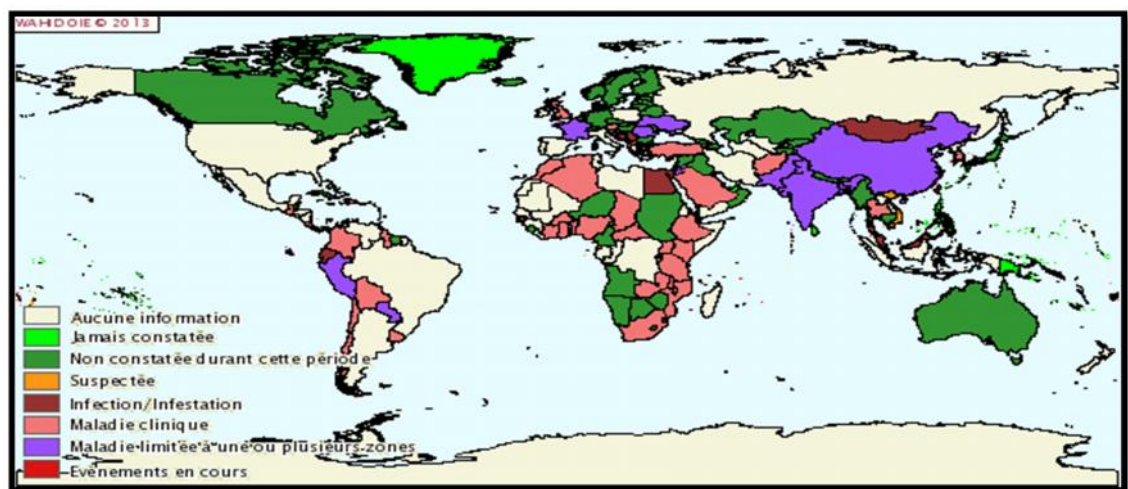


Figure 07 : Répartition géographique de la tuberculose bovine dans le monde (OIE ,2013).

Par ailleurs, cette figure indique que la tuberculose bovine est fréquemment rencontrée dans l'Amérique du sud, le Moyen-Orient et le continent africain.

IV.1.2.En Afrique :

La majeure partie des programmes nationaux de lutte contre la tuberculose en Afrique ignore la part du *M. bovis* en tant que cause de la maladie chez l'homme compte tenue du manque de moyen de diagnostic de pointe, d'où la grande difficulté d'évaluer son impact sur la santé humaine (Ngandolo,2012).

Parmi les 55 pays africains, seuls sept (Afrique du Sud, Algérie, Burkina Faso, Cameroun, Maroc, Namibie et Zambie) disposent d'un programme de lutte contre la tuberculose bovine dans les troupeaux de bétail, utilisant les tests tuberculiniques et l'inspection post mortem pour la surveillance de la maladie. Ces programmes restent toutefois peu efficaces du fait des mouvements de transhumance des animaux dans des zones où ces mesures ne sont pas appliquées et aussi du manque de synergie entre les États impliqués dans la lutte (Ngandolo, 2012).

IV.1.3.En Algérie :

L'Algérie est un pays reconnu infecté de la tuberculose bovine (Sahraoui et *al.*, 2008) et les foyers sont répartis sur tout le territoire national (DSV,2012).

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) (Kardjadj et Yala,2010).

De ce fait, l'introduction de deux mesures réglementaires de santé publique destinées à prévenir la transmission du bacille tuberculeux des bovins à l'homme, s'avère nécessaire. Ces mesures obligatoires sont la pasteurisation du lait et l'abattage systématique des bovins réagissant positivement à la tuberculine (Sahraoui, 2009).

Malheureusement, ces mesures ne sont pas prises pour le cheptel non identifié (plus de 93% de l'effectif bovin demeure inconnu) (Kardjadj et Yala, 2010).

Par conséquent, le nombre de découvertes de tuberculose aux abattoirs ne cesse d'augmenter d'année en année. Selon le Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (MADR), le nombre est passé de 247cas en 2004 à 1758 cas en 2011 dans les 48 wilayas du territoire national. Par contre, les chiffres récoltés pour le dépistage montrent une baisse des bovins réagissant positivement à la tuberculine (DSV,2012).

Devant cette contradiction, il est impératif de revoir la stratégie mise en place, et d'adapter à la réalité du terrain en sensibilisant toutes les parties concernées pour arriver à contrôler cette affection (Kardjadj et Yala, 2010).

IV.2.Epidémiologie analytique :

Cette partie consiste en :

IV.2.1.Les sources de contagion:

Les sources se résument en :

IV.2.1.1.Les animaux infectés:

La principale source de contagion de la tuberculose bovine est un animal infecté qu'il soit malade ou non. Le rejet de *M.bovis* est précoce, durable, important (surtout dans la forme ouverte) et irrégulier (l'excrétion varie en intensité dans le temps) (Benet et *al.*, 2006).

IV.2.1.2.Les matières virulentes:

Elles sont représentées par :

❖ Les tissus divers:

On citera bien évidemment les organes et ganglions, siège du foyer tuberculeux. La bacillemie est rare et transitoire; elle survient lors d'épisodes aigues et surtout à la phase terminale de la

maladie .Concernant les muscles, la virulence est conditionnée par deux facteurs :le premier est la proximité du foyer tuberculeux et le second facteur est la virulence du sang (Benet et *al.*,2006).

❖ L'excrétion:

Le rôle de l'excrétion varie en fonction de la localisation du processus tuberculeux.

- Le jetage, la salive et les expectorations provoquent la dispersion dans l'atmosphère de gouttelettes contenant quelques bacilles tuberculeux responsables d'une transmission aérienne. Les aérosols constituent la plus importante source de contagion. La localisation de l'infection est pulmonaire dans la majorité des cas de la tuberculose chez les bovins et les petits ruminants (Menzies et Neill,2000;Neill et *al.*,2001;Pollock et Neill,2002; Palmer et *al.*,2002; Biet et *al.*,2005;Gannon et *al.*,2007; Benet et *al.*,2008).
- Les fèces (parfois très riche en bacille) et les urines sont des sources de contagion dans le cas de tuberculose digestive et rénale respectivement (Goodchild et Clifton-Hadley.,2001; Pollock et Neill.,2002;Benet et *al.*,2008; Humblet et *al.*,2009).
- Le lait et les produits laitiers sont aussi dangereux lors de mammite tuberculeuse. Cependant, une excrétion de bacilles tuberculeux dans le lait est possible même en absence de lésion macroscopique. Elle joue un rôle significatif dans la transmission de l'infection aux veaux et à l'homme (Benet et *al.*, 2008).
- Les lésions cutanées peuvent parfois constituer des sites riches en bacilles (ENVF, 1990).
- Le sperme n'est virulent qu'en cas de lésion du testicule ou de l'épididyme (Benet et *al.*,2008). Ce cas de figure reste très rare, mais n'est pas impossible (Boukary et *al.*,2011).
- Les sécrétions utérines sont importantes lors de métrites contagieuses (Benet et *al.*,2008).

Les sources secondaires de contamination sont présentes dans le milieu extérieur.

Cependant, le rôle de ce dernier dans la contagion dépend de la durée de survie des mycobactéries (Goodchild et Clifton-Hadley, 2001; Phillips et *al.*,2003; Humblet et *al.*,2009).

IV.2.2.Les modalités de contagion:

Nous devons distinguer les modes de transmission et les voies de pénétration des bacilles tuberculeux dans l'organisme animal.

IV.2.2.1.Modes de transmission:

Ils comportent :

a. La transmission horizontale:

La transmission se fait surtout selon un mode horizontal direct sans relais lors de coït, de tétés, et de contacts étroits prolongés, ou alors indirect (Koffi, 1992). Dans ce dernier cas, les matières virulentes et le milieu extérieur souillé constituent le relais (Acha et Szyfres ,2003; Benet et *al.*, 2006).

b. La transmission verticale:

Elle n'a jamais été réellement prouvée bien qu'on pense qu'elle soit en cause lors de découverte de cas graves de tuberculose hépatique chez de très jeunes veaux (Thorel., 2003). En 2007, les scientifiques turcs ont découvert un cas de tuberculose généralisée chez un veau nouveau-né âgé de 15 jours soupçonné d'origine congénitale (infection par inspiration du liquide amniotique dans l'utérus) (Ozyigit et *al.*, 2007).

IV.2.2.2.Voies de pénétration:

Les principales voies de pénétration sont :

a. La voie respiratoire:

Elle est considérée comme la voie de pénétration la plus fréquente et redoutable chez les bovins et l'homme (Menzies et Neill,2000;Pollock et Neill.,2002; Biet et *al.*,2005; Palmer et Waters ,2006; Van Rhijn et *al.*,2008;Benet et *al.*,2008). L'introduction du bacille se fait par inhalation de microparticules qui se déposent dans les alvéoles où les défenses immunitaires sont les

plus faibles et par conséquent où les bacilles vont se multiplier (Pollock et Neill,2002;Benet et al.,2008).

b. La voie digestive:

Elle est considérée comme secondaire, avec des formes de lésions mésentériques retrouvées en nombre faible dans les cas de bovins. La contamination s'effectue par ingestion d'aliments, comme le lait, l'herbe contaminés par des doses bacillaires massives (Lavie et Calavas, 2007).

c. Autres voies:

D'autres voies ont été rapportées, à savoir :

- la voie vénérienne (les inséminations artificielles (un taureau infecté était responsable de la contamination de 800 vaches en 1968 par l'utilisation de sa semence contaminée pour l'insémination artificielle (ENVF, 2006)) ou le transfert d'embryon (Koffi, 1992)) ;
- la voie cutanée (par piqure ou souillure de plaies)(Biet et al.,2005;Lavie et Calavas,2007) ;
- la voie conjonctivale (possible) (Cosivi et al.,1995;Cousins,2001) .

IV.2.3.Réservoirs animaux:

De nombreuses espèces animales sont sensibles aux mycobactéries (Thoen et Himes, 1981;Fowler,1986),et à *M.bovis* en particulier (Daborne et Grange,1993; Cousins,2001). Les bovins constituent le réservoir principal de *mycobacterium bovis* (Cosivi et al.,1995; De list et al.,2001;Cousins,2001).Toutefois ,la distribution étendue de *M.bovis* dans la population d'animaux domestique et d'animaux sauvages représente aussi un vaste réservoir pour ce micro-organisme (Thoen et Hims,1984).

• Chez les animaux domestiques :

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 (Biet et al.,2005). *M.bovis* est de même rencontré chez le dromadaire (Chartier et al.,1991) et le chameau (Kinne et al.,2006).

- Chez les animaux sauvages:

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) et les grands prédateurs carnivores comprenant lion, tigre, léopard ,lynx, coyote et renard (Hars et *al.*,2006).

Les différentes espèces de mammifères sauvages trouvées infectées par *M.bovis* peuvent être considérées comme réservoirs primaires,qui retransmettent éventuellement la tuberculose aux bovins (transmission retour) comme le cas du blaireau au Royaume-Uni. Dans d'autres situations, les mammifères sauvages peuvent constituer des réservoirs secondaires de l'infection ,celle-ci disparaissant si le réservoir primaire est éradiqué. C'est le cas du sanglier en Australie. Enfin ,les animaux sauvages peuvent être des cul-de-sac épidémiologiques ,incapables d'entretenir ni de transmettre la maladie cas des carnivores sauvages(Hars et *al.*,2011).

Les animaux sauvages infectés représentent un risque à long terme de recontamination des animaux domestiques et/ou de transmission à l'homme (Cf. figure 8) (Hars et *al.*, 2006) et posent un sérieux problème pour le contrôle et l'élimination de cette maladie (Cosivi et *al.*,1995;De List et *al.*,2001;cousins ,2001;Harris et *al.*,2006).

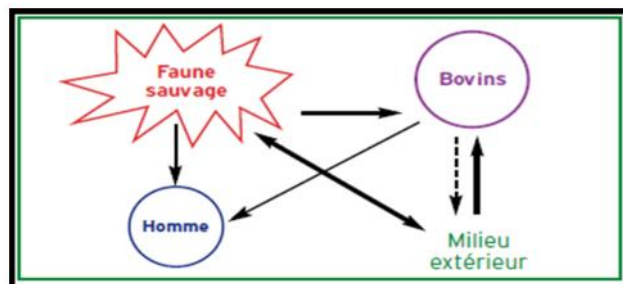


Figure 8 :Représentation schématique des relations écologiques permettant la transmission de tuberculose animale à *M.bovis* ,à partir d'un hypothétique réservoir sauvage (Artois et *al.* ,2004).

Chapitre V

Diagnostic

V. Méthodes de diagnostic:

Le diagnostic de la tuberculose comporte plusieurs étapes :

V.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 Rua-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).

V.2.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.

V.3.Diagnostic expérimental:

Ce diagnostic comporte :

V.3.1.Diagnostic immunologique:

Il se caractérise par :

V.3.1.1.Mise en évidence de l'immunité à médiation cellulaire:

Cette réaction comporte :

V.3.1.1.1.Intradermoréaction(IDR):

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 Rua-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 est généralement évaluée à 72 heures (Jungersen et *al.*, 2002). La réaction spécifique est d'apparition progressive et durable (s'estompe en une huitaine de jours) (ENVF,1990).

On peut réaliser deux types d'IDR:

V.3.1.1.1.1.Intradermo-tuberculation simple (IDS):

Il s'agit d'injecter la tuberculine préparée à partir de cultures de *M.bovis* dans la région du tiers moyen dans l'une des faces latérales de l'encolure (OVF, 2010) ou du pli sous-caudal (Delafosse et *al.*, 2002).

La mensuration de l'épaisseur du pli cutané est évaluée à l'aide d'un cutimètre à ressort. On outre, on examine la région atteinte (congestion et œdème tout autour du site d'injection ou des ganglions lymphatiques régionaux) par inspection et palpation afin de mettre en évidence d'autres modifications (OVF, 2010).

Le résultat de l'IDS est considéré comme:

- négatif, lorsque l'épaississement du pli de peau est inférieur à 2 mm et sans signes cliniques;
- douteux, si aucun de ces signes cliniques n'est observé et si l'épaississement du pli de peau est supérieur à 2 mm et inférieur à 4 mm;
- positif, pour un épaississement supérieur ou égal à 4 mm ou des signes cliniques (OVF, 2010).

Enfin, La sensibilité individuelle de l'IDS varie entre 63,2 % et 100% (avec une valeur médiane de 83,9%) et la spécificité entre 75,5% et 99,0% (avec une valeur médiane de 96,8%) (De la Rua-Domenech et *al.*,2006).

V.3.1.1.1.2.Intradermo-tuberculation comparative (IDC)

Elle consiste à injecter dans l'épaisseur du derme de l'encolure des tuberculines bovine (B) et aviaire (A) en deux points séparés de 12-15cm et à apprécier ,au bout de 72h ,les réactions aux points d'injections (Delafosse et *al.*,2002; OIE, 2009) .En effet, l'IDC est utilisée principalement pour différencier les animaux infectés par *M.bovis* avec ceux sensibilisés à la tuberculine par une exposition à d'autres mycobactéries d'un genre apparenté (OIE,2009). L'interprétation du test est basée sur l'expression de deux résultats (Cf. tableau II) : celui obtenu pour épaississement du pli de peau après injection des tuberculine B et celui obtenu par la différence entre les épaississements des plis après injection des tuberculines B et A (Benet, 2008).

Tableau II: 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.

En fin, l'IDC a une sensibilité (52% à 100%, avec une valeur médiane de 80%) plus faible mais une meilleure spécificité (78,8% à 100%, avec une valeur médiane de 99,5%) que l'IDS (De la Rua-Domenech et *al.*,2006).

V.3.1.1.2.Test de l'interféron gamma:

L'interféron gamma (INF γ) est une lymphokine principalement produite par les lymphocytes T activés (Pollock et *al.*,2006) et à moindre mesure les cellules NK (natural killer) en réponse à certains antigènes (Flynn et *al.*, 1993; Olsen et *al.*,2005).

Le test de l'interféron gamma est un test sanguin permettant d'évaluer in vitro, la réactivité des lymphocytes thymodépendants circulants, mis en culture avec des dérivés protéiques purifiés de bacilles tuberculeux (PPD) (pendant une période d'incubation de 16 à 24 heures (Gornely et *al.*,2006 ;OIE,2009), à travers le dosage de l'INF γ (Lécu et Riquelme, 2008). La détection quantitative de l'interféron gamma bovin est effectuée avec un ELISA sandwich qui utilise deux anticorps monoclonaux de l'interféron gamma bovin (Converse et *al.*,1997;OIE,2009). Il est important de souligner que l'INF γ est spécifique de l'espèce animale, plusieurs trousse de dosage ELISA ont été développées une pour les bovidés, une pour les primates non humain, deux pour l'homme et une pour les cervidés (Lécu et Riquelme, 2008).

En effet, ce test a des impératifs biologiques, notamment le délai d'acheminement des prélèvements de sang au laboratoire et le traitement des échantillons doit être réaliser dans les 24 à 30 heures (Converse et *al.*,1997; Buddele et *al.*, 2001;Gornely et *al.*,2006;OIE,2009) afin de garder les lymphocytes viables (Lécu et Riquelme, 2008).

Par ailleurs, les avantages principaux de cette évaluation cellulaire in vitro par rapport à l'IDR résident en:

- la répétition du test sans restriction (absence d'injection de protéine étrangères dans l'organisme) (Thom et *al.*,2004; Lécu et Riquelme, 2008);
- la présence d'une sensibilité supérieure à celle de l'IDR (Vervenne et *al.*,2004;Cousins et Florisson,2005);
- la réalisation d'une stimulation comparée par deux tuberculines, PPD avium et PPD bovis, en améliore notablement la spécificité (bien que faible en apparence (de De la Rua-Domenech et *al.*,2006)) par rapport à l' IDR (surtout pour l'IDR simple) (Benet ,2008; Lécu et Riquelme, 2008).

Enfin ce test utilisant la tuberculine possède les mêmes inconvénients que le test cutané classique. Il ne permet pas de différencier infection et sensibilisation antérieure par la vaccination par le BCG (Converse et *al.*,1997).

V.3.1.2.Mise en évidence de l'immunité à médiation humorale:

Elle est mise en évidence par :

V.3.1.2.1.Les tests sérologiques:

Ce sont des tests basés sur la détection d'anticorps spécifiques dirigés contre des antigènes mycobactériens (Abebe et *al.*, 2007). Ils suscitent un intérêt pour le dépistage de la tuberculose ,dans la mesure où ils sont peu coûteux et ils sont réalisés à partir d'une simple prise de sang (Ritacco et *al.*,1991 ;Buddle et *al.*,1995 ;Pollock et Neill,2002; Vordermeier et *al.*,2006).

En effet, les tests sérologiques pour un dépistage en début d'infection ont une sensibilité généralement faible par rapport aux tests basés sur l'immunité à médiation cellulaire (De la Rua-Domenech et *al.*, 2006 ; Buddle et *al.*,2009) (la réponse immunitaire humorale , souvent plus tardive et inhibé par l'activation de la voie cellulaire (Chapel et *al.*,2006)). Leur sensibilité augmente principalement avec la sévérité de la maladie (Gutiérrez et *al.*,1998).

Parmi les tests de sérodiagnostic de la tuberculose, la technique d'ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) a été la plus fréquemment utilisée (Collet et *al.*, 2003) .Elle est caractérisée

par sa simplicité, mais sa sensibilité est limitée principalement à cause du développement tardif et irrégulier de la réponse immunitaire humorale chez les bovins au cours de la maladie (OIE,2009).

On peut retrouver d'autres tests sérologiques, comme les tests commerciaux MAPIA (Multi-Antigen Print ImmunoAssay);c'est une technique permettant d'imprimer sur un support linéaire, (nitrocellulose) une série importante d'antigènes mycobactériens purifiés et de tester la présence de différents anticorps en une seule fois (Lécu et Riquelme, 2008).

V.3.2.Diagnostic histologique:

L'examen histologique des lésions peut être réalisé pour préciser la nature des tubercules (identification de matière caséeuse, présence de cellules géantes multinuclées, de cellules épithélioïdes et de macrophages (OIE,2009)) (Cf.figure 09) (Riquelme, 2009). Elle est sensible et le résultat est obtenu en 2 jours (Benet et Praud, 2011). Mais, elle ne suffit généralement pas pour déterminer l'espèce en cause (Riquelme, 2009; Benet et Praud, 2011).

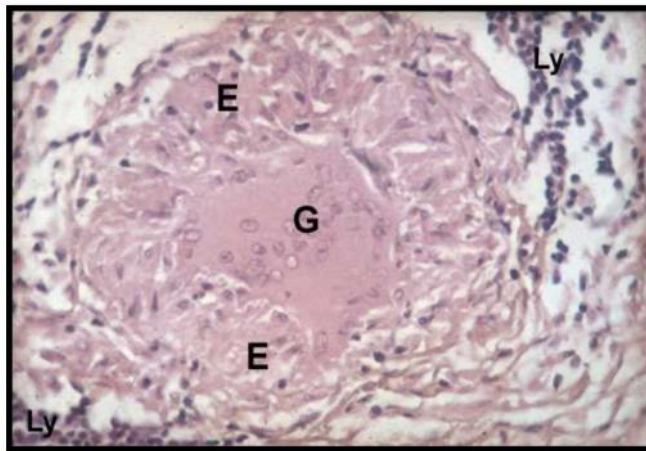


Figure 09: Aspect histologique d'une follicule tuberculoïde(E: cellules épithélioïdes , G:cellules géantes, L:lymphocytes)(Capron et *al.*, 2002).

Toutefois, la culture est toujours considérée comme la méthode standard pour la mise en évidence des mycobactéries (OVF, 2010).

V.3.3.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 (OIE, 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).

Par ailleurs, les mycobactéries induisant la tuberculose sont considérées comme des microorganismes de classe 03(Thorel, 1994;Boulahbal ,1998).Des précautions doivent être prises pour prévenir l'infection des personnels du laboratoire .Toutes les procédures impliquant la culture doivent être réalisées dans une hotte de sécurité biologique (OIE, 2005)

V.3.3.1.Examen microscopique:

L'examen microscopique d'un produit pathologique est la première étape du diagnostic bactériologique de la tuberculose et parfois la seule dans les pays en voie de développement (Carbonnelle et *al.*,2003).

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, fushine 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).

V.3.3.1.1. 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 fushine 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 au grossissement $\times 100$ (Cf.figure 10) (Avril *et al.*, 2003; Freney *et al.*, 2007).

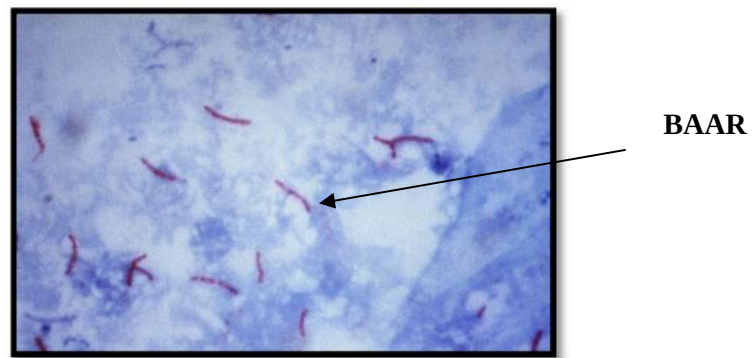


Figure 10 : Frottis positif après Colorisation de Ziehl Neelsen (Carbonnelle *et al.*, 2003).

V.3.3.1.2. Coloration à l'auramine

La coloration repose sur le même principe que celle de Ziel Neelsen mais les lames sont examinées au microscope à fluorescence et les mycobactéries émettent une fluorescence jaune-orange sur un fond noir (Cf.figure 11) (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 (Carbonelle *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 (Carbonelle *et al.*, 2003)) (Nolte et Methchock, 1995).

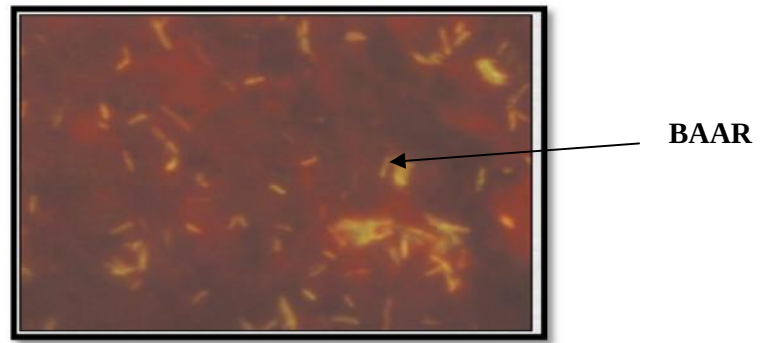


Figure 11: Frottis positif après Colarisation à l'auramine (Carbonnelle *et al.*, 2003).

V.3.3.2.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).

V.3.3.2.1.Milieux solides

- **Milieux de culture solides à l'œuf coagulé:**

Les plus utilisés sont:

✓ Le milieu de Lowenstein-Jensen est le milieu de culture le plus employé actuellement dans le monde (Grosset *et al.*, 1990). Il contient des sels minéraux, du glycérol, du vert malachite et de l'œuf (David *et al.*, 1989; Avril *et al.*, 2003). Ce dernier permet la neutralisation des agents de décontamination encore présent dans le culot de décontamination. (Freney *et al.*, 2007). Lors de la primoculture, 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 Lowenstein-Jensen enrichi de 02 à 04% de pyruvate de sodium favorise la croissance de *M.bovis* (Sahraoui, 2009).

✓ Le milieu de Coletso permet une culture rapide et abondante avec des colonies plus volumineuses que sur Lowenstein-Jensen. C'est un milieu beaucoup plus riche que ce dernier. Il permet l'isolement des mycobactéries particulièrement exigeante (*M.bovis*) (Avril et *al.*, 2003).

L'avantage des milieux à l'œuf est leur sensibilité, l'aspect caractéristique des colonies et leur faible prix de revient (Avril et *al.*, 2003).

- **Milieux solides gélosés (Milieu de Middiebrook et Cohn:7h10 et 7h11)**

Ce sont des milieux transparents qui doivent être incubés sous 5 à 10% de CO₂ dans des sacs plastiques pour conserver l'humidité (Avril et *al.*, 2003). Ils permettent de détecter les colonies en 21 jours en moyenne (Brosch et *al.*, 2004).

L'avantage des milieux c'est leur transparence qui permet d'observer précocement l'apparition de colonies de mycobactéries ainsi que leur morphologie. En revanche, ils se contaminent facilement et donnent un moins grand nombre de résultats positifs que les milieux à l'œuf. En plus, leur prix de revient est élevé (Avril et *al.*, 2003).

V.3.3.2.2.Milieux liquides

La lenteur de développement des colonies sur milieu solide a conduit à la mise au point de nouvelles méthodes de culture. Toutes ces méthodes sont basées sur l'utilisation de milieux de culture liquides (culture plus rapide de 48 à 96 h (Cambau et *al.*, 1999). La croissance microbienne est mise en évidence, soit par la mesure de la consommation d'oxygène, soit par la mesure de la production d'anhydride carbonique. En effet, l'utilisation des milieux liquides ne permet ni l'observation ni le dénombrement des colonies (Carbonelle et *al.*, 2003).

- ✓ **Le système radiométrique Bactec 460 TB**

Cette méthode est basée sur la mesure du CO₂ marqué au carbone 14 (¹⁴C) libéré par les mycobactéries au cours de leurs multiplications dans le milieu liquide contenant de l'acide palmitique marqué au ¹⁴C. Le Bactec® 460 mesure la quantité de ¹⁴CO₂ et le traduit sous une forme numérique appelée GI (Growth Index) proportionnelle au nombre de bactéries et à leur taux de croissance (Freney et *al.*, 2007). Les avantages de cette méthode étaient certainement la réduction

du temps nécessaire pour détecter une primoculture (10-15 jours) et la possibilité d'avoir un résultat rapide de l'antibiogramme. De moins en moins utilisé à cause des contraintes liées à la manipulation de flacons radioactifs et du coût pour l'élimination des déchets (Carbonnelle et *al.*,2003).

✓ Le tube MGIT[®] (Mycobacteria Growth Indicator Tube)

Le milieu Middlebrook 7H9 contient un composé fluorescent (sel de Ruthénium) incorporé à de la silicone au fond du tube ou du flacon .Ce dernier émet une lumière fluorescente lorsque la pression partielle d'oxygène diminue (la croissance des micro-organismes dans le milieu provoque une consommation d'oxygène) (Freney et *al.*,2007).

V.3.3.3.Identification:

L'identification des souches isolées en culture pure sur milieu solide(David et *al.*,1989) se déroule alors en deux temps : par l'étude des caractères cultureux (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) (Cf. tableau I) (Freney et *al.*, 2007).

V.3.4.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) et peuvent aussi constituer une aide précieuse pour la caractérisation épidémiologique d'une infection (Durand et *al.*, 2004).

V.3.4.1. 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.

V.3.4.2. 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 imposées (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) (Cf.figure 12).

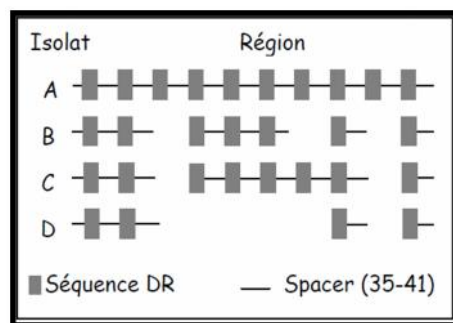


Figure 12: La région DR (pour l'isolat B, les «spacers» 3, 7 et 9 sont absents (Haddad et Durand, 2001)).

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 est plus discriminante que les deux autres techniques précédemment citées (Walravens *et al.*, 2006). De plus, elle est simple et rapide (Frothingham et Meeker O'Connell, 1998; Supply *et al.*, 2001). Cette technique a été utilisée la première fois en Algérie par Sahraoui en 2009.

Chapitre VI

Traitement et prophylaxie

VI.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).

VI.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).

Elle est fondée sur l'application de mesures exclusivement sanitaires .L'emploi de la vaccination (BCG) dans la prophylaxie est interdite. Elle a été utilisée dans le passé, en particulier chez les bovins, avec des résultats encourageants (réduction du taux d'infection et diminution de nombre et de gravité de lésions) (Berdah, 2010), et a été envisagée dans des pays en voie de développement dont le cheptel était profondément infecté (ENVF, 1990).

Ces résultats sont néanmoins insuffisants pour trois raisons essentielles:

- la vaccination sensibilise les animaux qui fournissent une réponse positive à la tuberculation ;
- elle réduit le risque d'infection sans le supprimer;
- les propriétaires sachant leurs animaux vaccinés négligent les prescriptions sanitaires favorisant ainsi leur contamination (Berdah, 2010).

VI.2.1. Prophylaxie sanitaire:

La stratégie de lutte repose sur le dépistage des cheptels infectés, leur assainissement, et la protection des élevages indemnes.

VI.2.1.1. Mesures défensive:

La tuberculose ne peut apparaître spontanément sans intervention d'une source infectante (ENVF,1990). Les circonstances responsables de l'apparition de l'infection tuberculeuse dans un élevage indemne sont bien connues (Cf.figure 13) :

- introduction d'un animal à partir d'un élevage infecté ;
- le voisinage avec un élevage infecté (que ce soit par les bâtiments ou au pâturage) ;
- la résurgence d'un foyer antérieur assaini mais ayant conservé l'agent causal d'une façon ou d'une autre (Benet et *al.*,2006).

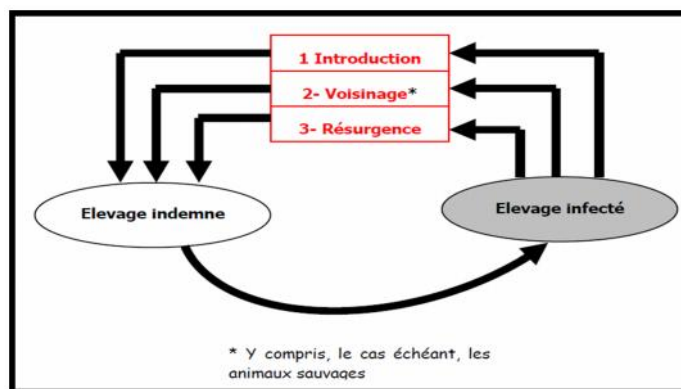


Figure 13: Les risques de dissémination de l'infection tuberculeuse à partir d'un élevage infecté (Benet et *al.*,2006).

A partir de ces différents principes épidémiologiques se sont émergées les mesures défensives suivantes:

- les bovins introduits devaient désormais provenir d'un élevage reconnu indemne ;
- mise en quarantaine et contrôle des animaux introduits (examen clinique et tuberculination) ;
- éviter le contact avec des lots de bovins reconnus infectés ou d'état sanitaire inconnu ou à risque (Benet et *al.*,2006);
- un cheptel assaini est toujours exposé à un certain risque de résurgence (Benet,2006). Pour cette raison, tout élevage reconnu infecté de tuberculose doit faire l'objet d'une surveillance rapprochée pendant aussi longtemps que subsistent des bovins contemporains de l'épisode d'infection (ENVF,1990).

VI.2.1.2. Les mesures offensives:

Elles visent l'assainissement des effectifs infectés. Elles sont fondées sur:

- le dépistage systématique des cheptels infectés par tuberculination, suivi de leur élimination par abattage (Benet et *al.*, 2006);
- la recherche systématique à l'abattoir des bovins tuberculeux (Fediaevsky et *al.*, 2010);
- désinfection et aménagement hygiénique des étables puis repeuplement par des animaux sains (Berdah, 2010).

PARTIE

EXPÉRIMENTALE



MATERIEL ET METHODES



I.1.Objectifs :

En Algérie, la situation de la tuberculose bovine dans la région Est est mal connue. Les lésions de cette affection sont fréquemment suspectées aux abattoirs. Cette suspicion doit être confirmée ou infirmée par les examens de laboratoire .Pour cette raison nous nous sommes intéressés à réaliser une enquête au niveau des abattoirs de la région Est puisque jusqu'à ce jour aucune étude visant la tuberculose bovine n'a été faite dans cette région. Devant ce constat, nous nous sommes assignés les objectifs suivants :

1. réaliser une étude rétrospective pour évaluer le nombre des cas de saisies par tuberculose bovine au cours des quatre dernières années allant de l'an 2008 à 2011 dans trois abattoirs de la région Est de l'Algérie ;
2. déterminer la prévalence des cas suspects de tuberculose dans la population étudiée;
3. mettre en évidence les agents responsables de cette affection dans cette même région.

I.2.Cadre de l'étude :***I.2.1. Lieu et période de l'étude:***

La présente étude a été réalisée dans trois (03) abattoirs de la région Est de l'Algérie (wilaya de Souk Ahras et Oum Elbouaghi) à savoir, l'abattoir de Souk-Ahras, de Sedrata à 53 Km et d'Ain Beida à 100 Km du chef lieu de la wilaya de Souk-Ahras (Cf. figure 14).

Cette enquête a été menée durant la période allant du 01 aout au 30 novembre 2011.

Ces abattoirs ont été choisis de par leur :

- importance de l'abattage ;
- accessibilité.



Figure 14: Situation géographique des trois abattoirs.

(A:Souk-Ahras, B:Sedrata et C:Ain Beida)

I.3. Matériel et méthodes :

Nous présentons dans cette partie le matériel et les méthodes utilisés selon la chronologie des événements.

I.3.1.Au niveau des abattoirs :

I.3.1.1.Matériel:

a. Matériel biologique (Animaux):

Au niveau des abattoirs, nous avons inspecté 696 bovins qui y sont parvenus. Ces bovins (sexe, âge et race différents) 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.

b. Matériel non biologique:

Le matériel suivant a été utilisé :

- des gants ;
- des flacons stériles (pour prélèvements) ;
- des couteaux propres ;
- une glacière avec des pochettes de glace (pour les transporter).

I.3.1.2.Méthodes:**a. L'examen ante-mortem:**

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

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

Cet examen est 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.

b. L'examen post-mortem:

Après la saignée, la dépouille et l'éviscération, nous avons effectué l'inspection proprement dite des carcasses et les abats en vue de rechercher les lésions suspectes de tuberculose. Cette inspection consiste à réaliser un examen systématique et à une incision de tous les nœuds lymphatiques (NL) ainsi que les organes drainés, comme suit (Sieng, 2011) :

- tête : les NL mandibulaires et rétro pharyngiens ;
- les poumons, la trachée, les NL trachéo-bronchiques (crânial, droit et gauche) et médiastinaux caudaux ;
- le tractus intestinal et les NL gastriques et mésentériques ;

- le foie et les NL rétro hépatiques.

La présence d'une lésion tuberculeuse au niveau de ces organes doit entraîner une recherche approfondie sur les autres viscères et sur la carcasse.

L'inspection et l'incision des ganglions rétro-mammaires chez les femelles est réalisée systématiquement pour détecter les formes mammaires.

Au niveau de la carcasse, on procède à l'examen des reins et des principaux amas ganglionnaires dans l'ordre suivant: ganglions iliaques, pré cruraux, poplités, inguinaux, sous - lombaires, rénaux, sus- sternaux, pré- pectoraux et pré- scapulaire (Leclercq, 1973).

Nous avons effectué aussi l'inspection des séreuses, des surfaces musculaires et osseuses.

Toute formation d'aspect nodulaire, de consistance caséuse ou calcifiée, de couleur blanche, grise ou jaune est considérée comme suspecte de tuberculose (Sieng, 2011).

c. L'analyse statistique:

Le traitement statistique des données a été réalisé par le test du khi-deux, la correction de Yates et le test exact de Fisher (c'est une alternative au test du khi-deux lorsque les échantillons sont petits) avec un risque d'erreur de 5%. Ces derniers ont été calculés en utilisant la macro MANNWHIT sur Microsoft Office Excel 2007 et le logiciel R (c'est un logiciel de développement scientifique spécialisé dans le calcul et l'analyse statistique).

Les présentations graphiques ont été effectuées à l'aide de Microsoft Office Excel 2010.

I.3.2. Au niveau de laboratoire:**I.3.2.1. Matériel:*****I.3.2.1.1. Matériel biologique (prélèvements) :***

Nous avons fait nos prélèvements à partir des lésions suspectes de tuberculose. Ces lésions siégeaient sur les différents organes principalement au niveau des poumons et leurs principaux ganglions (trachéo-bronchiques et médiastinaux) et de la tête.

Ces échantillons ont été déposés dans des pots stériles à usage unique , pré-étiquetés et fermés hermétiquement pour éviter tout risque de contamination lors du transport.

Chaque prélèvement porte un numéro qui est reporté sur une fiche de renseignements (Cf. annexe n°1).

Ces échantillons ont été transportés sous glace (+4°) au laboratoire de dispensaire anti-tuberculeux (D.A.T) de la wilaya de Tébessa.

I.3.2.1.2. Matériel non biologique :

Le matériel utilisé dans la présente étude est comme rapporté à ceux des laboratoires de tuberculose (Cf. annexe n°2 et n° 3).

I.3.2.2. Méthodes :

Au laboratoire, le diagnostic de la tuberculose bovine a été effectué de la manière suivante :

I.3.2.2.1. Traitement des échantillons :

Nous avons procédé à la dessiccation de l'échantillon en utilisant des boîtes de pétri et des lames à usage unique (Cf. figure 15).

Au moyen de mortiers stériles, les fragments des prélèvements sont finement broyés à l'aide d'un pilon (Cf. figure 16). Le produit de broyage ainsi obtenu est servi pour l'examen microscopique et la culture bactérienne.

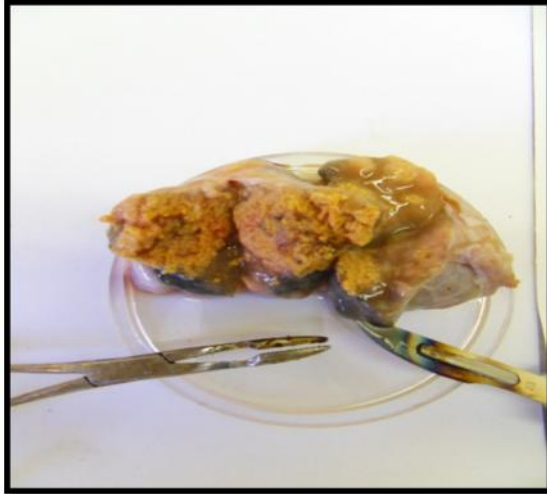


Figure 15: Dessiccation du prélèvement.



Figure 16: Broyage de fragment.

I.3.2.2.2. Examen microscopique :

Cet examen est réalisé après coloration des frottis par la méthode de Ziel-Neelsen.

a. Préparation des frottis :

On prélève une parcelle purulente de l'échantillon à l'aide d'une anse de platine rigide préalablement stérilisée à la flamme et refroidie. Le contenu de l'anse est étalé en couche mince au centre de la lame qui est préalablement numérotée (Cf. figure 17).

L'étalement terminé, l'anse est immédiatement flambée et le frottis est laissé sécher à l'air. Une fois sec, le frottis est fixé par 2 à 3 passages rapides au-dessus de la flamme.



Figure 17 : Etalement du frottis.

b. Coloration de Ziel-Neelsen :

Elle comporte trois temps :

1^{er} temps : coloration par la fuchsine à chaud.

- Placer la lame sur une platine chauffante.
- La recouvrir en totalité de fuchsine phéniquée de Ziehl filtré sur papier.
- Chauffer trois fois toutes les 3 minutes pendant 10 minutes jusqu'à émission de vapeur tout en évitant l'ébullition et le dessèchement du colorant (rajouter du colorant s'il s'évapore trop) (Cf. figure 18).
- Rejeter le colorant et rincer la lame à l'eau ordinaire (Cf. figure 19).



Figure 18: Coloration par la fuchsine.



Figure 19: Rinçage des lames à l'eau ordinaire.

2^{ème} temps :décoloration .

- Recouvrir la lame d'acide sulfurique dilué au quart pendant 3 minutes (Cf.figure 20).
- Rincer à l'eau ordinaire.
- Recouvrir la lame d'alcool éthylique à 90° et laisser agir pendant 5 minutes (Cf. figure 21).
- Rincer à l'eau.

Le frottis est alors incolore ou légèrement teinté en rose.

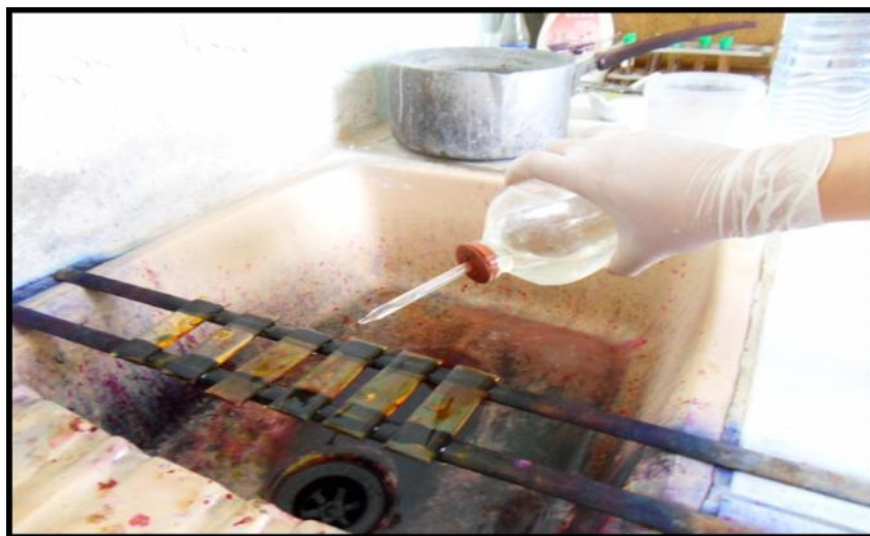


Figure 20 : Lames recouvertes d'acide sulfurique.



Figure 21: Lames recouvertes d'alcool.

3^{ème} temps : contre coloration.

- Recolorer la lame par la solution de bleu de méthylène et laisser agir pendant 30 secondes à 1 minutes (Cf. figure 22).
- Rincer bien la lame.
- Sécher les lames et observer au microscope optique avec objectif à immersion (x100) (Cf. figure 23) (Cf. annexe n°4).



Figure 22: Contre coloration par le bleu de méthylène.



Figure 23 : Lecture sous microscope optique .

I.3.2.2.3. Culture bactérienne :

Elle est réalisée comme suit :

a. Décontamination des échantillons :

Nous avons utilisé deux méthodes :

a1. Méthode de neutralisation :

Cette méthode consiste à décontaminer l'homogénéisât préparé en pratiquant la technique d'acide sulfurique à 4% qui est basée sur le rajout de ce dernier à l'homogénéisât en le laissant agir pendant 15 minutes , puis neutralisé par NaOH à 6% en utilisant 2 gouttes de bleu de bromothymol comme indicateur de pH.

La neutralisation a été atteinte lorsque la couleur de la solution a changé, passant du jaune au vert (Cf. figure 24).

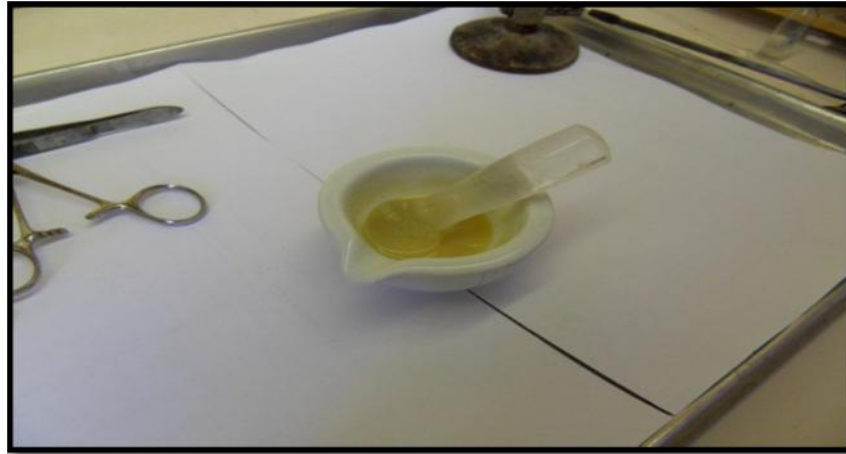


Figure 24: Décontamination de l'homogénéisât.

a2. Méthode de Petroff à la soude :

Elle consiste à rajouter de la soude à 4%, en doublant son volume par rapport à l'homogénéisât. La suspension ainsi obtenue est agitée sur agitateur (Cf. figure 25), elle est centrifugée (Cf. figure 26) puis les surnageants ont été rejetés. Nous procédons par la suite à une recentrifugation et à un rejet des flottants après avoir lavé le culot à l'eau distillée stérile.

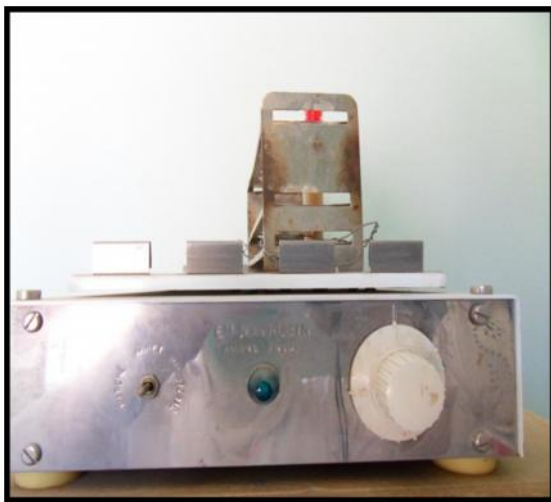


Figure 25: Agitation de tube sur agitateur de Kahn.



Figure 26 : Centrifugation de la suspension.

b. Ensemencement :

Le culot final est ensemencé sur quatre tubes de Lowenstein-Jensen en raison de 0,2 à 0,3 ml par tube (Cf. figure 27) .Ces derniers sont ensuite placés à l'étuve à 37°C pendant 12 semaines.



Figure 27: Ensemencement sur milieu de Lowenstein-Jensen.

c. Incubation :

Ces tubes ont été placés sur des portoirs spéciaux en position inclinée (Cf. figure 28) 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 28 : Tubes placés sur portoirs dans l'étuve.

d. Lecture :

A la fin de la première semaine, 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, ces dernières entraîneront une modification de teinte vers un jaunissement, un verdissement ou un marron (Cf.figure 29).Par la suite, ces milieux de culture sont écartés et refaits à partir du prélèvement initial.

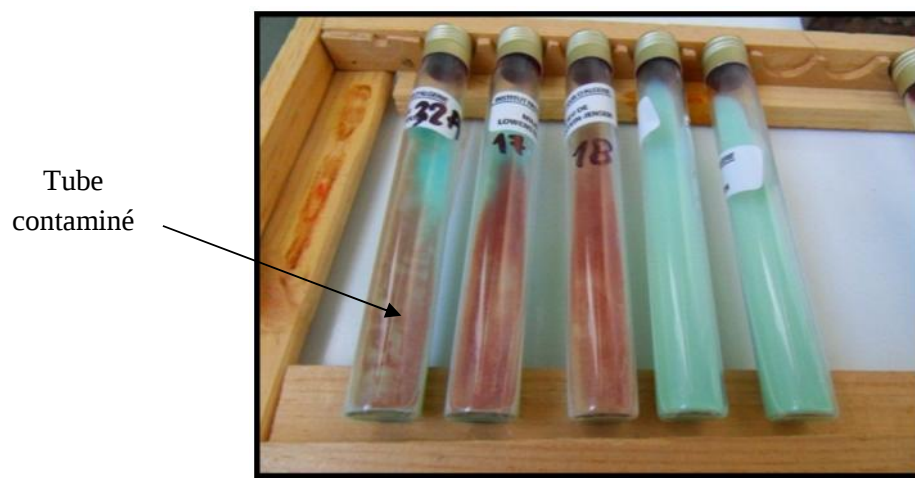


Figure 29 : Tubes contaminés.

Si des colonies apparaissent, nous préparerons des frottis à partir des colonies observées (Cf.figure 30) et nous réaliserons la coloration par la technique de Ziel-Neelsen.S'il y a présence de BAAR ,la culture sera déclarée positive (Cf.figure 31) et nous procéderons à une identification biochimique.



Figure 30 : Prélèvement d'une masse de culture.

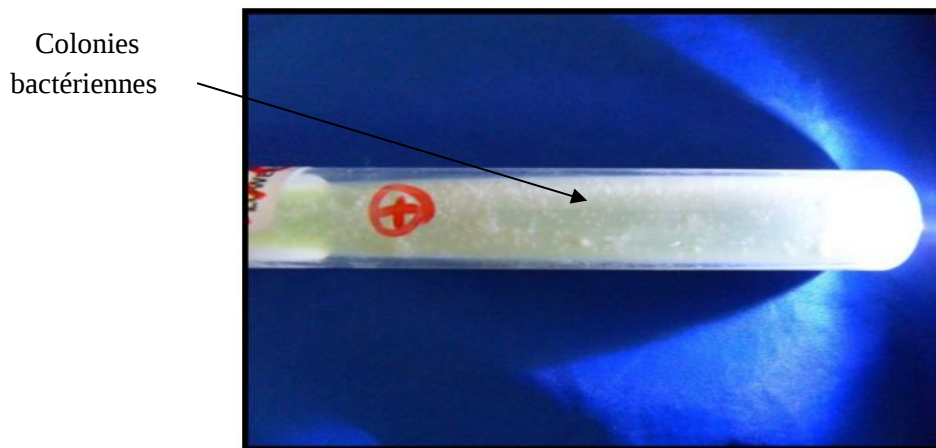


Figure 31: Culture positive.

Les tubes négatifs sont remis à l'étuve et les lectures sont faites ultérieurement une fois par semaine.

S'il n'y a pas eu de développement de colonies après 12 semaines d'incubation, la culture sera déclarée négative.

I.3.2.2.4. Identification biochimique :

Une fois la culture est déclarée positive, nous avons procédé à l'identification primaire des mycobactéries qui est basée sur des délais d'apparition des colonies et leur

aspect .L'identification proprement dite a consisté en la réalisation de tests biochimiques, à savoir :

- la réduction des nitrates ;
- l'activité catalasique à 22°C et à 68°C ;
- la croissance en présence de TCH et PNB.

I.3.2.2.4.1. La réduction des nitrates :

Les étapes sont les suivantes :

- ✓ prélever une masse de culture à analyser , à l'aide d'une anse de platine ;
- ✓ introduire la masse dans un tube à hémolyse contenant 2 gouttes d'eau distillée stérile ;
- ✓ ajouter 2 ml de la solution de nitrate de soude Na No₃ à 0 ,085% (Cf.figure 32) ;
- ✓ agiter le tube à la main et mettre à 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).

Lecture :

Le test est :

- o négatif, en absence de coloration ;
- o positif, lorsqu'il y a apparition d'une coloration rose pâle, à rouge foncé (Cf. figure 33).



Figure 32 : Réactifs de nitrate.



Figure 33: Réaction nitrate.

I.3.2.2.4.2. L'activité catalasique à 22°C :

Les étapes sont les suivantes :

- ✓ prélever une masse de culture à analyser , à l'aide d'une anse de platine ;
- ✓ déposer la masse dans un tube à hémolyse contenant 2 à 3 gouttes d'eau distillée stérile ;
- ✓ porter le tube à une température de 22°C ;
- ✓ ajouter un 1 ml du réactif préparé qu'est un mélange de volume à volume de tween80 à 10% avec l'eau oxygénée à 30% .

Lecture :

Nous notons le dégagement gazeux :

- o S'il y'a absence de mousse, le test de la catalase sera déclaré négatif.
- o Lorsqu'il y'a une hauteur de mousse de 1 à 5mm et plus, le test de la catalase est déclaré positif (Cf.figure 34).

Dégagement de
gaz: Catalase
positive (+)

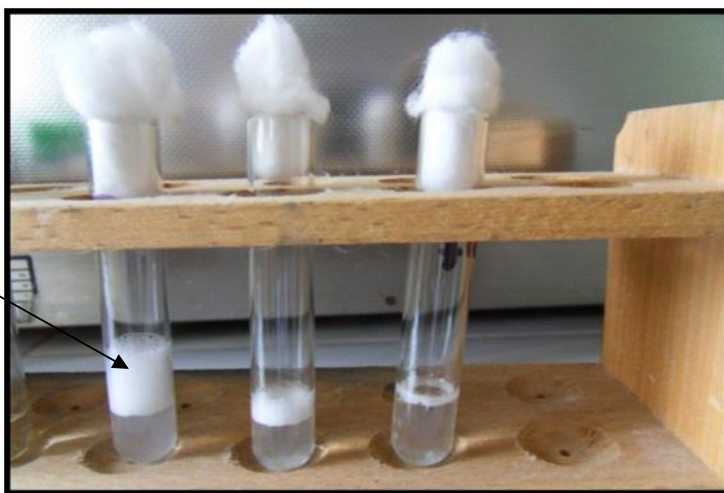


Figure 34 : Catalase positive.

I.3.2.2.4.2. L'activité catalasique à 68°C :

Les étapes de la réaction catalase sont :

- ✓ prélever une masse de culture à analyser, à l'aide d'une anse de platine ;
- ✓ déposer la masse dans un tube à hémolyse contenant 2 à 3 gouttes d'eau distillée stérile ;
- ✓ porter le tube au bain marie à une température de 68°C pendant 20 minutes ;
- ✓ sortir le tube du bain marie et laisser le refroidir ;
- ✓ introduire dans le tube 1ml du mélange tween80/eau oxygénée.

La lecture du test est comme rapportée ci-dessus .

I.1.2.2.4.4. Croissance en présence de PNB :

Les étapes sont les suivantes :

- ✓ à partir d'une suspension bacillaire, nous ensemençons deux tubes de Lowenstein Jensen, le premier sans additif (tube témoin) et le deuxième additionné d'une concentration déterminée de PNB (10mcg /ml) (Cf.figure 35) ;
- ✓ les tubes ensemencés sont placés inclinés sur des plateaux et mis à l'étuve à 37°C pendant 2 à 3 semaines.

Interprétation :

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

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

I.3.2.2.4.5. Croissance en présence de TCH :

Les étapes sont les suivantes :

- ✓ à partir d'une suspension bacillaire, nous ensemençons deux tubes de Lowenstein-Jensen, le premier sans additif (tube témoin) et le deuxième additionné d'une concentration déterminée de TCH (5mcg/ml) (Cf.figure 36) ;
- ✓ les tubes ensemencés sont placés inclinés sur des plateaux et mis à l'étuve à 37°C pendant 2 à 3 semaines.

Interprétation :

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

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

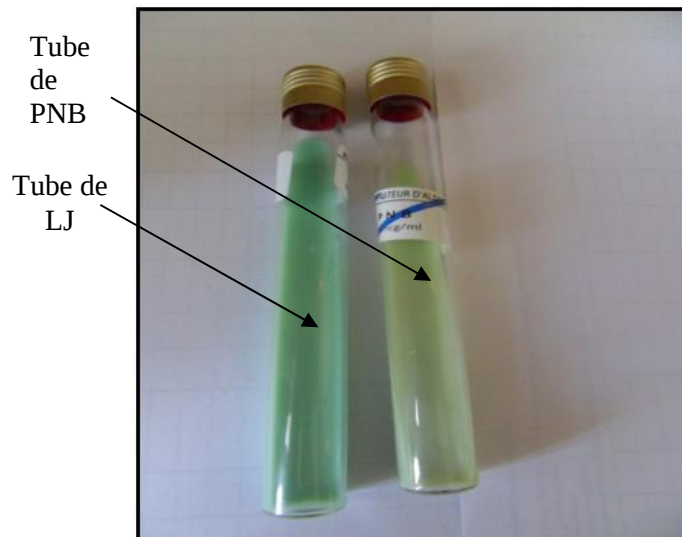


Figure 35 : Tube témoin et tube contenant du PNB.

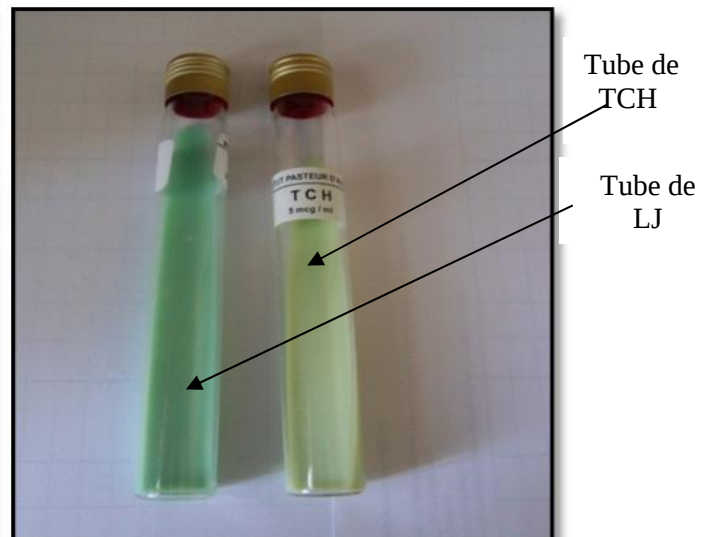


Figure 36 : Tube témoin et tube contenant du TCH.

RESULTS



II. Résultats :

II.1. Etude rétrospective :

❖ Evolution annuelle des saisies pour tuberculose bovine :

Nous présentons dans cette partie l'évolution des saisies pour motif de tuberculose bovine dans 3 abattoirs (Souk-Ahras , Sedrata et Ain Beida) de la région Est durant la période allant de l'année 2008 à 2011 .

Les résultats des abattoirs sont présentés dans le tableau III et illustrés par les figures 37 et 38.

Tableau III : Nombre de bovins abattus et de saisies pour tuberculose bovine dans les abattoirs (2008-2011).

Année	Nombre de bovins abattus		Effectif global	Saisie pour tuberculose	Pourcentage de tuberculeux (%)
	♂	♀			
2008	1516	875	2391	211	8,82
2009	1448	683	2131	118	5,54
2010	1771	497	2268	81	3,57
2011	1667	370	2037	71	3,49
Total	6402	2425	8827	481	21,42

L'analyse statistique (test du khi-deux) montre qu'il y a une différence hautement significative ($p < 0,001$) des prévalences des saisies pour tuberculose bovine entre les quatre années. Néanmoins, le taux le plus élevé a été enregistré durant l'année 2008 (8,82%).

Le taux de la prévalence chute de 8,82 % en 2008 à 5,54% en 2009 pour se stabiliser à 3,57% et 3,49% en 2010 et 2011.

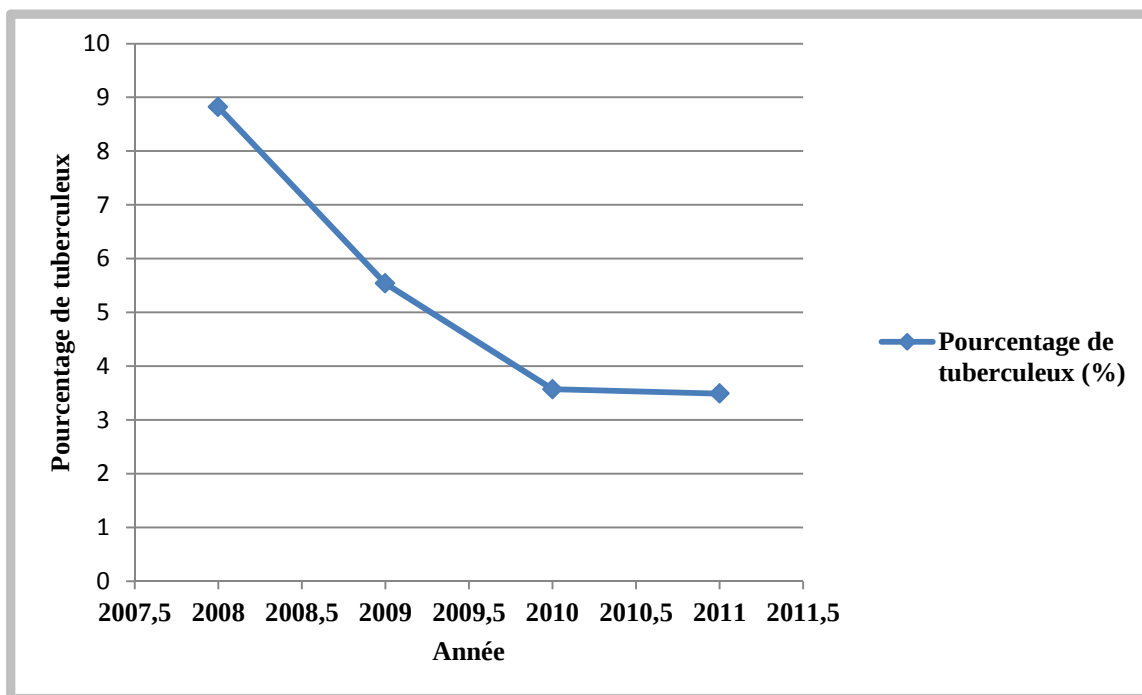


Figure 37 : Evolution des cas de saisies pour tuberculose bovine aux abattoirs (2008-2011).

La figure ci-dessous montre l'évolution des cas de saisies en fonction de l'accès des deux sexes ♂ ♀.

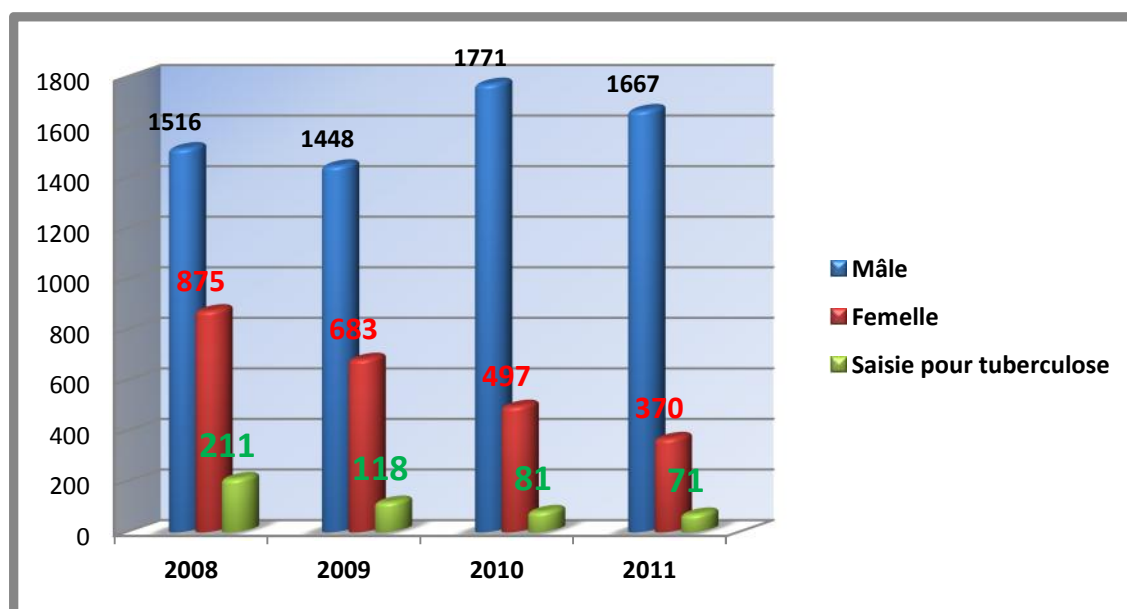


Figure 38 : Evolution des cas de saisies pour tuberculose bovine ♂ ♀.

Nous voyons ici qu'il y a une étroite relation entre l'évolution des cas de saisies et l'accès des femelles.

II.2. Etude prospective:

L'inspection de 696 carcasses bovines au niveau des trois abattoirs, durant une période allant du 01 aout au 30 novembre, a montré que 39 carcasses portaient des lésions suspectes de tuberculose bovine, soit une prévalence de 5,6 %.

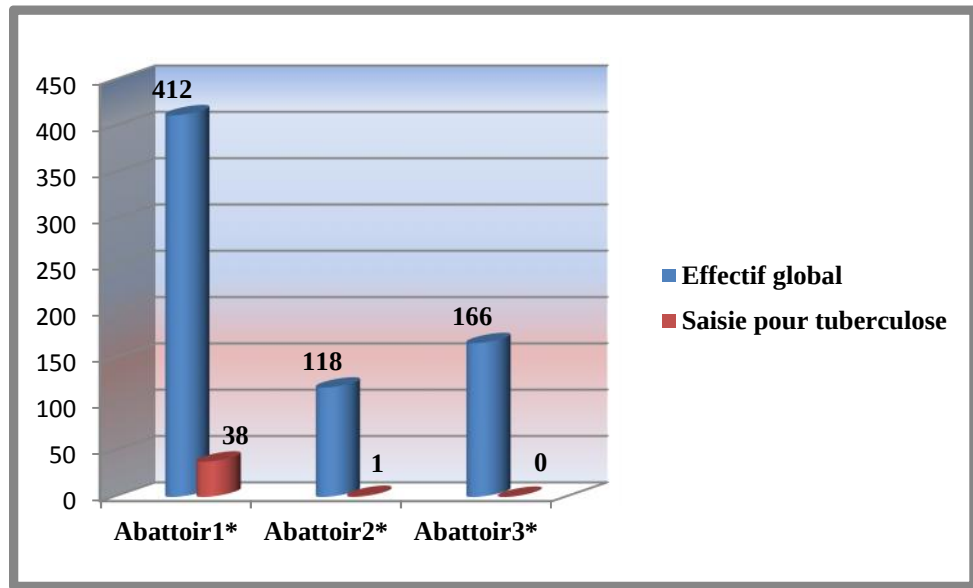
La proportion des cas suspects de tuberculose bovine de chaque abattoir est rapportée dans le tableau IV et illustrée par la figure 39.

Tableau IV : Proportion des cas suspects de lésions tuberculeuses dans les trois abattoirs.

Abattoir	bovins abattus		Effectif global	Carcasses suspectes de lésions tuberculeuses	Pourcentage (%)
	Mâle	Femelle			
1	282	130	412	38	9,22
2	110	08	118	01	0,84
3	163	03	166	00	0
Total	555	141	696	39	10,06

1 : abattoir de Souk-Ahras, 2 :abattoir de Sedrata ,3 :abattoir d'Ain Beida.

L'analyse statistique par le test du Khi-deux montre qu'il y a une différence hautement significative ($P < 0,001$) des prévalences des saisies pour tuberculose bovine entre les trois abattoirs avec un fort pourcentage à l'abattoir de Souk-Ahras (9,22%).



- Abattoir1* :Souk-Ahras, abattoir2* :Sedrata ,abattoir3* :Ain Beida.

Figure 39: Saisies pour tuberculose bovine dans les 3 abattoirs.

II.2.1.Etude des facteurs de variation :

Nous avons pris en considération les facteurs qui influencent sur la fréquence de l'affection tuberculeuse :

a) L'âge :

Les résultats relatifs à la prévalence des lésions suspectes de tuberculose bovine en fonction de l'âge sont rapportés dans le tableau V et illustré par la figure 40.

Tableau V: Proportion des lésions suspectes de tuberculose bovine en fonction de l'âge.

Age	Effectif globale	Carcasses suspectes de lésions tuberculeuses	Pourcentage (%)
Moins de 2ans	488	08	1,63
2 à 5 ans	91	05	5 ,49
Plus de 5 ans	117	26	22,22
Total	696	39	29,34

L'analyse statistique (test du Khi-deux) montre qu'il y a une différence hautement significative des prévalences des saisies pour tuberculose bovine entre les classes d'âge ($p < 0,001$) et que les animaux âgés plus de 5 ans sont les plus touchés (22,22%).

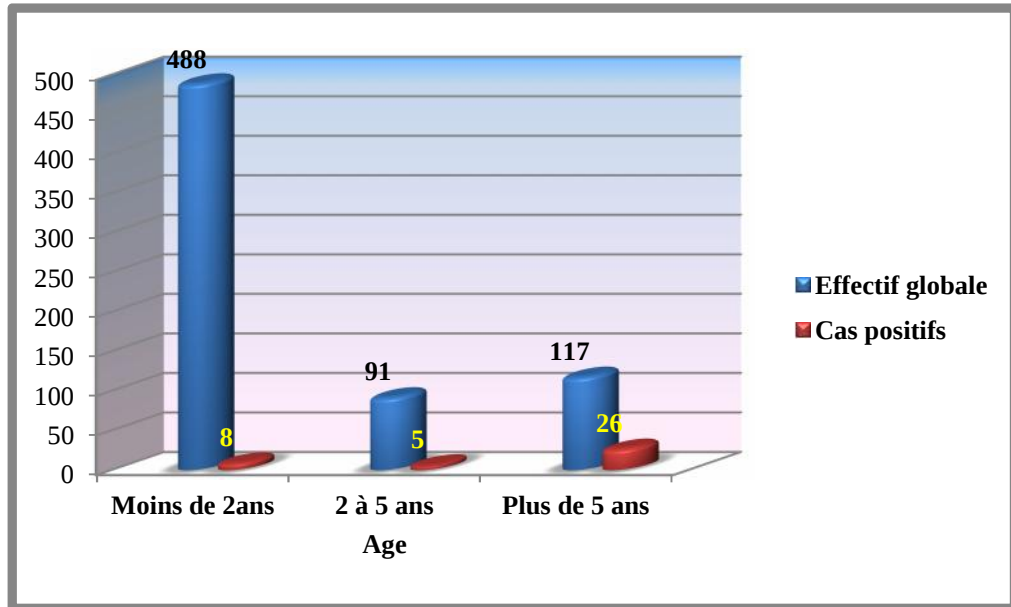


Figure 40: Répartition des lésions suspectes de tuberculose bovine en fonction de l'âge.

b) Le sexe :

Les résultats relatifs à la prévalence des lésions suspectes de tuberculose bovine en fonction du sexe sont rapportés dans le tableau VI et illustré par la figure 41.

Tableau VI: Proportion des lésions suspectes de tuberculose bovine en fonction du sexe.

Sexe	Effectif globale	Carcasses suspectes de lésions tuberculeuses	Pourcentage (%)
Femelle	141	28	19,85
Mâle	555	11	1,98
Total	696	39	21,83

L'analyse statistique (test du khi-deux avec la correction de Yates) montre qu'il y a une différence hautement significative ($p < 0,001$) des prévalences des saisies pour tuberculose bovine entre les deux sexes et que les femelles sont les plus touchées (19,85%).

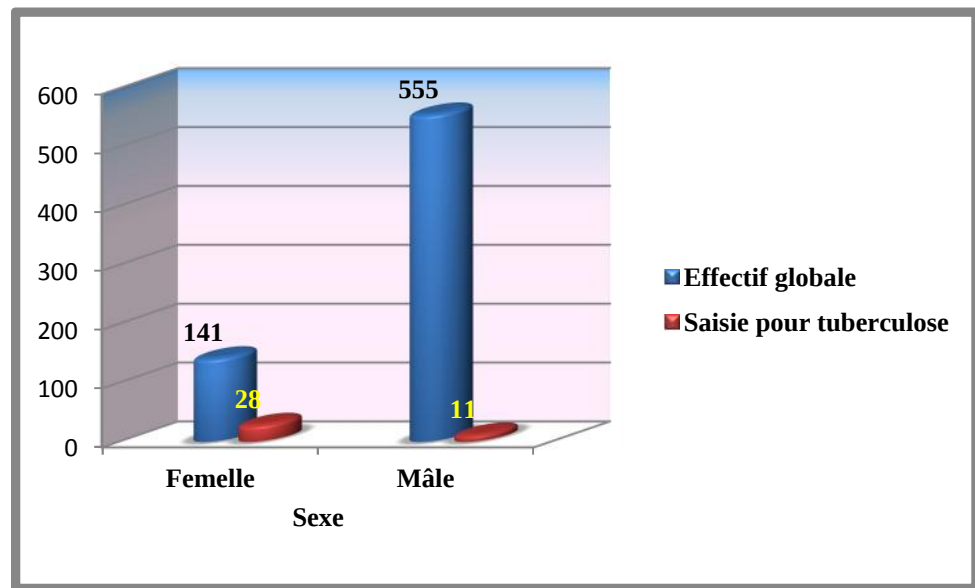


Figure 41: Répartition des lésions suspectes de tuberculose bovine en fonction du sexe.

c) La race :

Les résultats relatifs à la prévalence des lésions suspectes de tuberculose bovine en fonction de la race sont rapportés dans le tableau VII et illustré par la figure 42.

Tableau VII : Proportion des lésions suspectes de tuberculose bovine en fonction de la race.

Race	Effectif globale	Carcasses suspectes de lésions tuberculeuses	Pourcentage (%)
Locale	238	17	7,14
Croisée	392	19	4,84
Importée	66	03	4,54
Total	696	39	16,52

L'analyse statistique (test exact de Fisher) montre que la différence des prévalences des saisies pour tuberculose bovine entre les trois races est non significative ($p > 0,05$) donc elles présentent la même sensibilité à l'affection malgré que la race locale apparait plus sensible (7,14%).

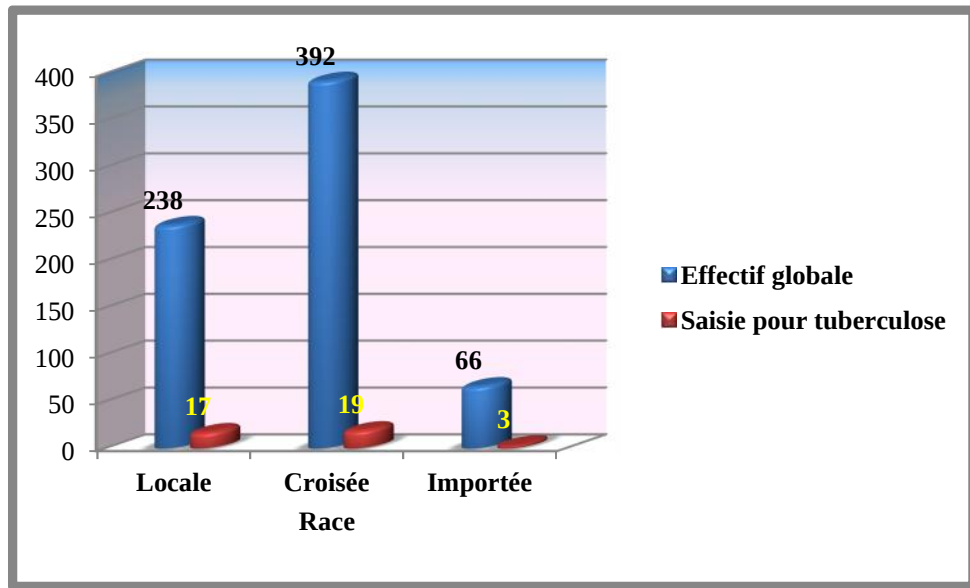


Figure 42: Répartition des lésions suspectes de tuberculose bovine en fonction de la race.

II.2.2. Répartition des saisies par type de tuberculose :

Nous montrons dans cette partie les proportions des lésions suspectes en fonction de type de tuberculose (localisé ou généralisé). Les résultats sont rapportés dans le tableau ci-dessous et illustré par la figure 43.

Tableau VIII: Proportion des cas de saisies par type de tuberculose.

Type de tuberculose	Nombre de cas (n)	(%)
Localisé	35	89,74
Généralisé	04	10,25
Total	39	100

Il en ressort que la majorité des lésions est principalement de type localisé avec une prévalence de 89,74% mais il est intéressant de noter que l'atteinte généralisée (Cf.figure44) est non négligeable avec une prévalence de 10,25%.

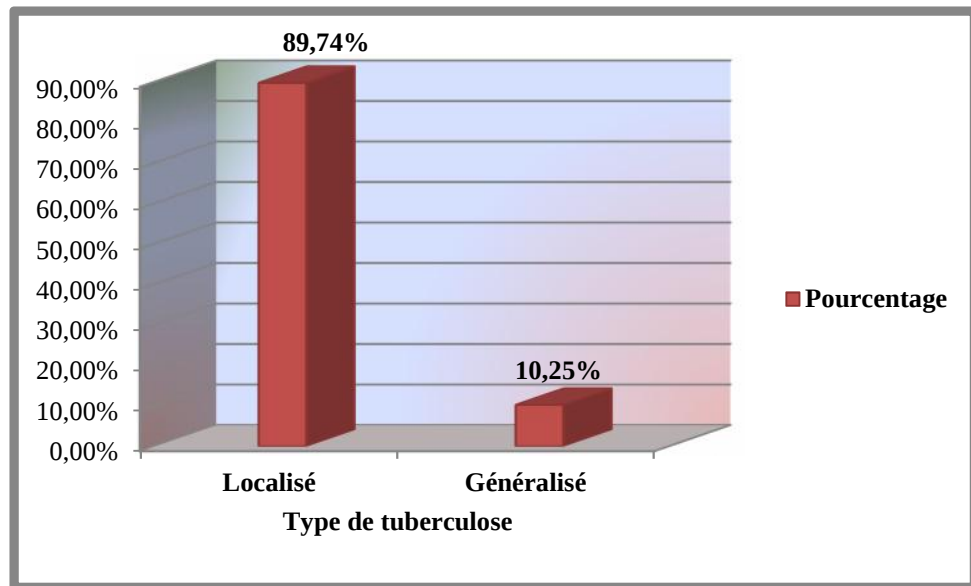


Figure 43: Type de tuberculose.

Les lésions suspectes de tuberculose généralisée rencontrées dans les trois abattoirs sont présentées dans la figure 44.

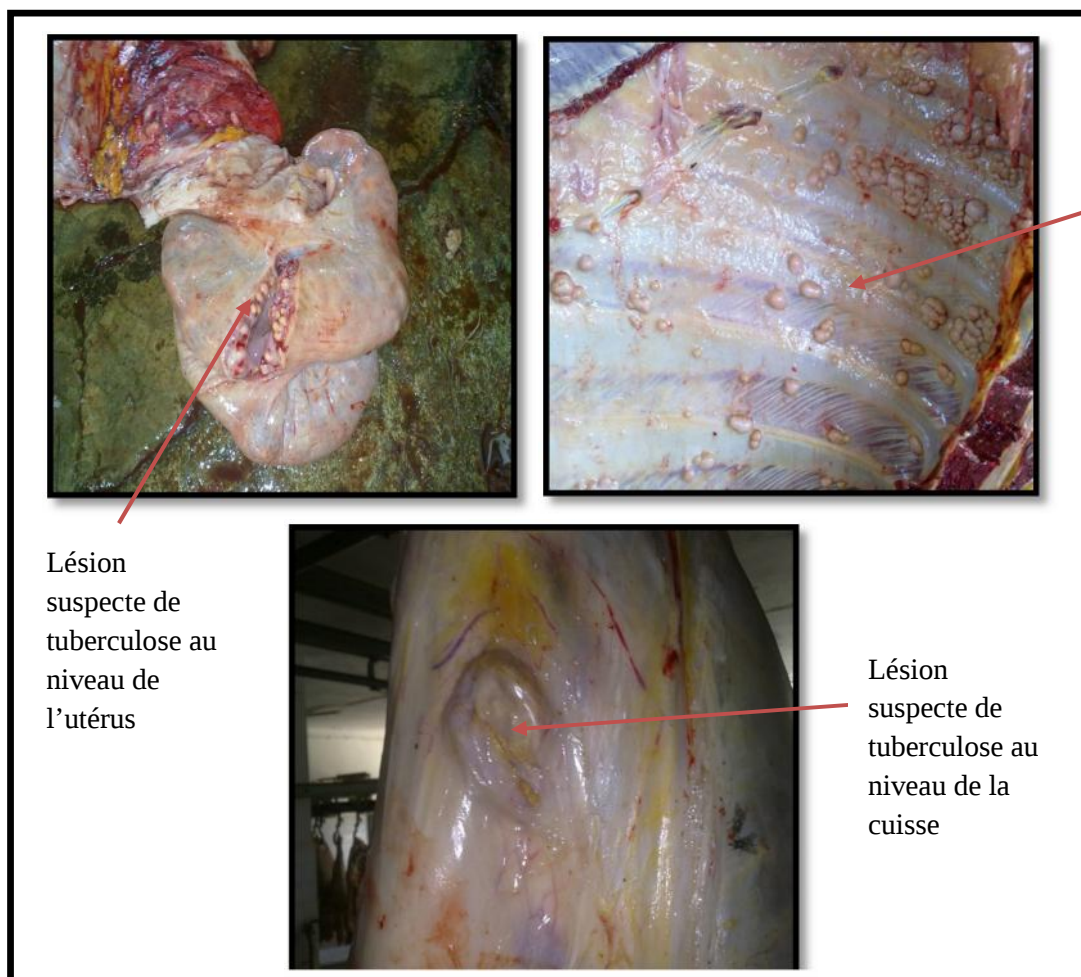


Figure 44 : Tuberculose de type généralisé.

II.2.3. Formes de tuberculose localisée :

La répartition des lésions tuberculeuses en fonction de leur localisation est rapportée dans le tableau IX et illustré par la figure 45.

Tableau IX: Proportion des lésions tuberculeuses en fonction de leur localisation.

Appareil	Partie touchée	Carcasses suspectes (n)	%
Appareil respiratoire	Poumon+ ganglions thoraciques	20	57,14
Appareil digestif	Foie	01	2,85
Autres Localisations	Tête	11	31,42
	Ganglion préscapulaire	03	8,57

Ces résultats nous ont permis de constater que les lésions sont essentiellement localisées dans l'appareil respiratoire (voir les figures 46 et 47) avec un pourcentage de 57,14% suivi de 31,42 % dans la tête .Pour les autres localisations, nous avons noté 8 ,57% dans le ganglion préscapulaire (Cf. figure 48) et 2,85% dans l'appareil digestif (Cf. figure 49).

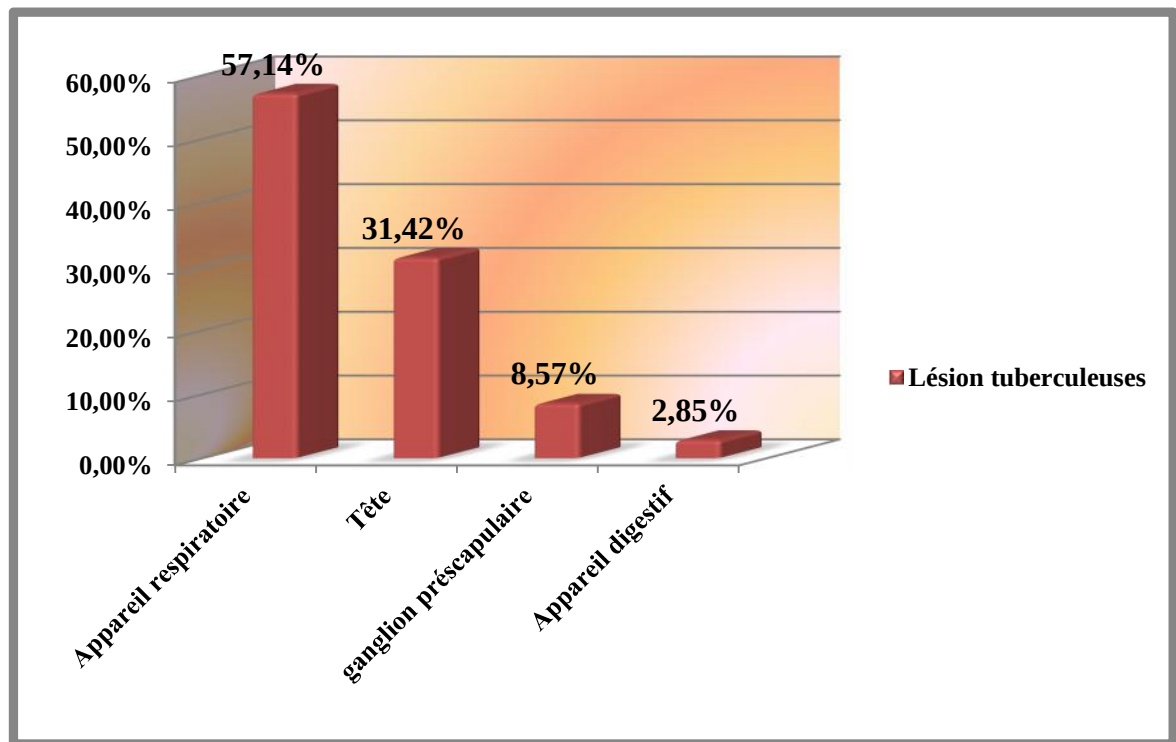
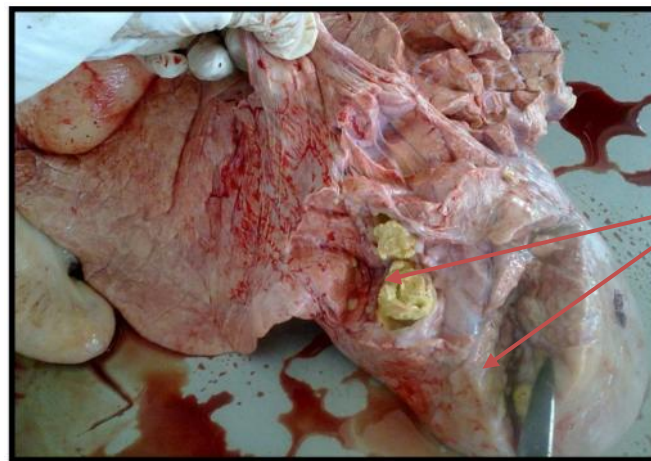


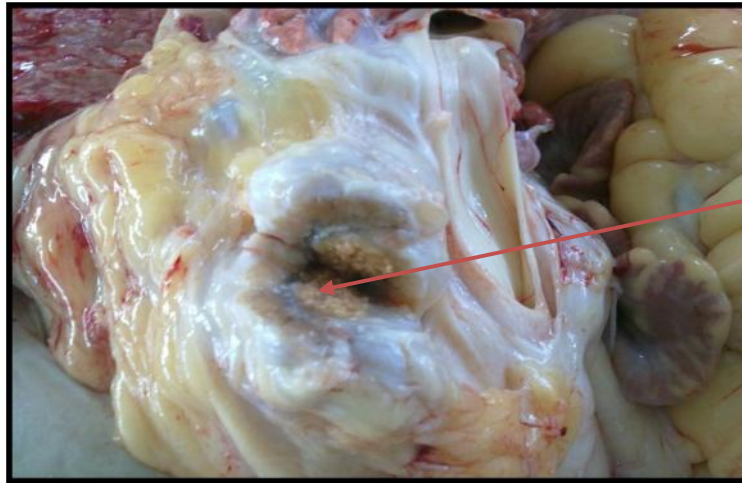
Figure 45 : Répartition des lésions suspectes de tuberculose en fonction de leurs localisations.

Quelques lésions rencontrées sur les animaux inspectés dans ces abattoirs sont présentées dans les figures suivantes :



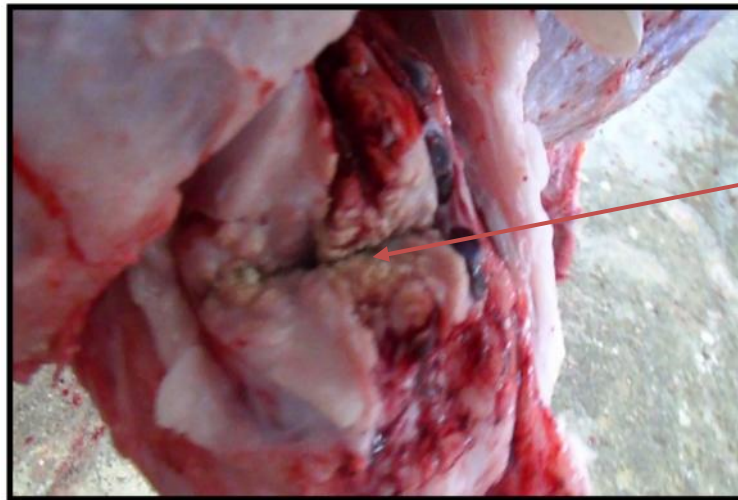
Lésion suspecte de tuberculose

Figure 46 : Lésions suspectes de tuberculose au niveau des poumons.



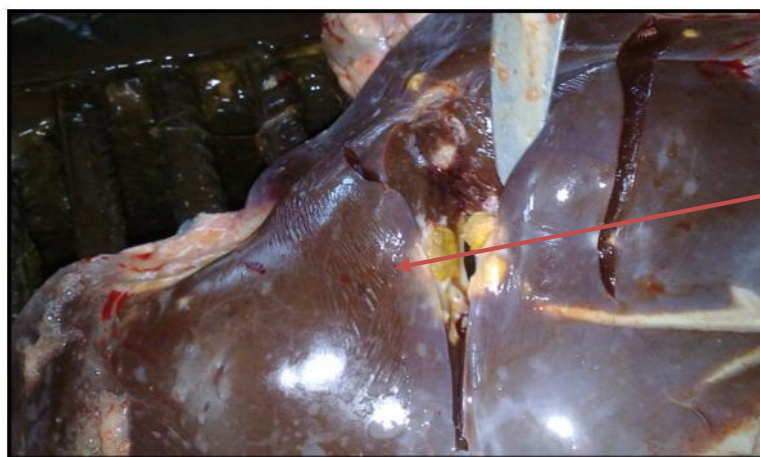
Lésion
suspecte de
tuberculose
(ganglion
trachio-
bronchique)

Figure 47 : Lésion suspectes de tuberculose ganglionnaire (ganglion thoracique).



Lésion
suspecte de
tuberculose
(ganglion
préscapulaire)

Figure 48: Lésions suspectes de tuberculose ganglionnaire (ganglion préscapulaire) .



Lésion
suspecte de
tuberculose

Figure 49 : Lésions suspectes de tuberculose au niveau du foie.

II.3. Diagnostic de laboratoire :

L'examen bactériologique a comporté trois étapes, à savoir :

- l'examen microscopique ;
- la culture bactérienne ;
- l'identification bactérienne.

II.3.1.L'examen microscopique :

Les résultats de l'examen microscopique des 39 frottis confectionnés sont rapportés dans le tableau suivant :

Tableau X : Résultats de l'examen microscopique.

Microscopie	Nombre d'échantillon	Pourcentage (%)
Positive	17	43,58
Négative	22	56,41
Total	39	100

Les résultats de la microscopie montrent la présence de bacille acido-alcool-résistants (BAAR) dans 17 frottis confectionnés sur un total de 39, soit un taux de positivité de 43,58%.

II.3.2.La culture bactérienne :

Les résultats de la culture bactérienne, après 3 mois d'incubation, sont rapportés dans le tableau ci-dessous.

Tableau XI : Résultats de la culture bactérienne.

Culture bactérienne	Nombre de culture	Pourcentage %
Positive	26	66,66
Négative	13	33,33
Total	39	100

Ces résultats montrent que 26 cultures étaient positives (66,66%) contre 13 négatives (33,33%).

Les frottis microscopiquement positifs sont révélés positifs par culture sauf un et dix frottis négatifs sont révélés positifs par culture.

II.3.3.L'identification bactérienne :

L'identification des colonies est basée sur les caractères cultureux et biochimiques.

- Les souches présentant une croissance bactérienne lente, des colonies lisses et non pigmentées et tests biochimiques négatifs (nitrate réductase, activité catalasique (68°C), avec absence de croissance en présence de TCH et PNB) ont été attribués à l'espèce *Mycobacterium bovis* (Cf.figure 50).
- Celles avec une croissance rapide, une activité catalasique (68°C) positive et une croissance en présence de PNB et TCH aux mycobactéries non tuberculeuses(MNT) (Cf.figure 51)

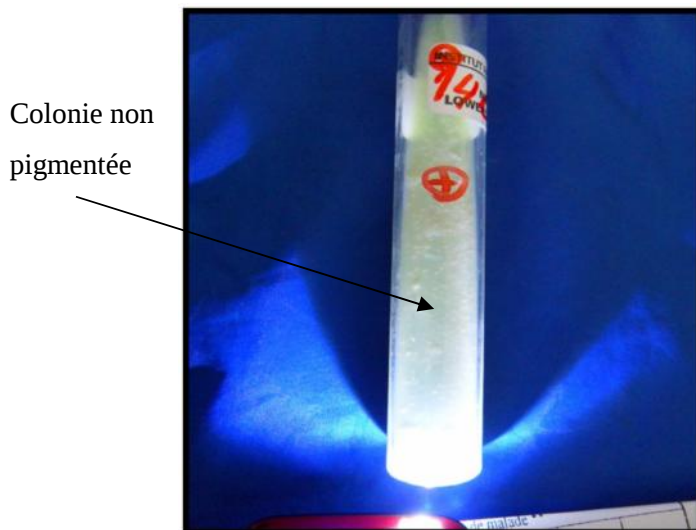


Figure 50 : Culture positive à *M. bovis*.

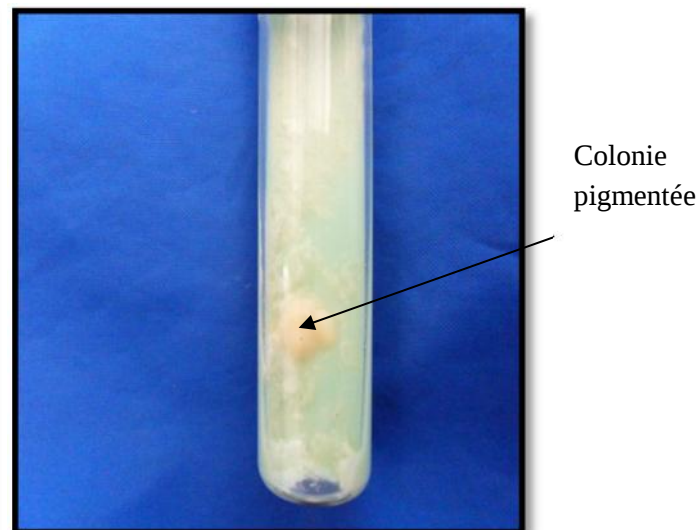


Figure 51 : Culture positive à MNT.

Les résultats d'identification des souches mycobactériennes isolées sont rapportés dans les tableaux XII .

Tableau XII: Résultats de l'identification bactérienne.

Culture bactérienne	Nombre d'échantillons	Pourcentage
<i>Mycobacterium bovis</i>	05	19,23
MNT	21	80 ,76
Total	26	100

L'identification bactérienne a montré que 19,23% des souches appartiennent à l'espèce *M.bovis* et 80,76 % des souches aux mycobactéries non tuberculeuses.

Par conséquent, sur un total de 696 bovins abattus, nous avons trouvé 05 cultures positives à *Mycobacterium bovis* .Ce qui signifie que la prévalence de l'infection tuberculeuse dans les trois abattoirs est de 0,71%.

D'après les observations précédemment cités nous avons pu développer un schéma récapitulatif sur les résultats de différentes techniques utilisées (Cf. figure 52).

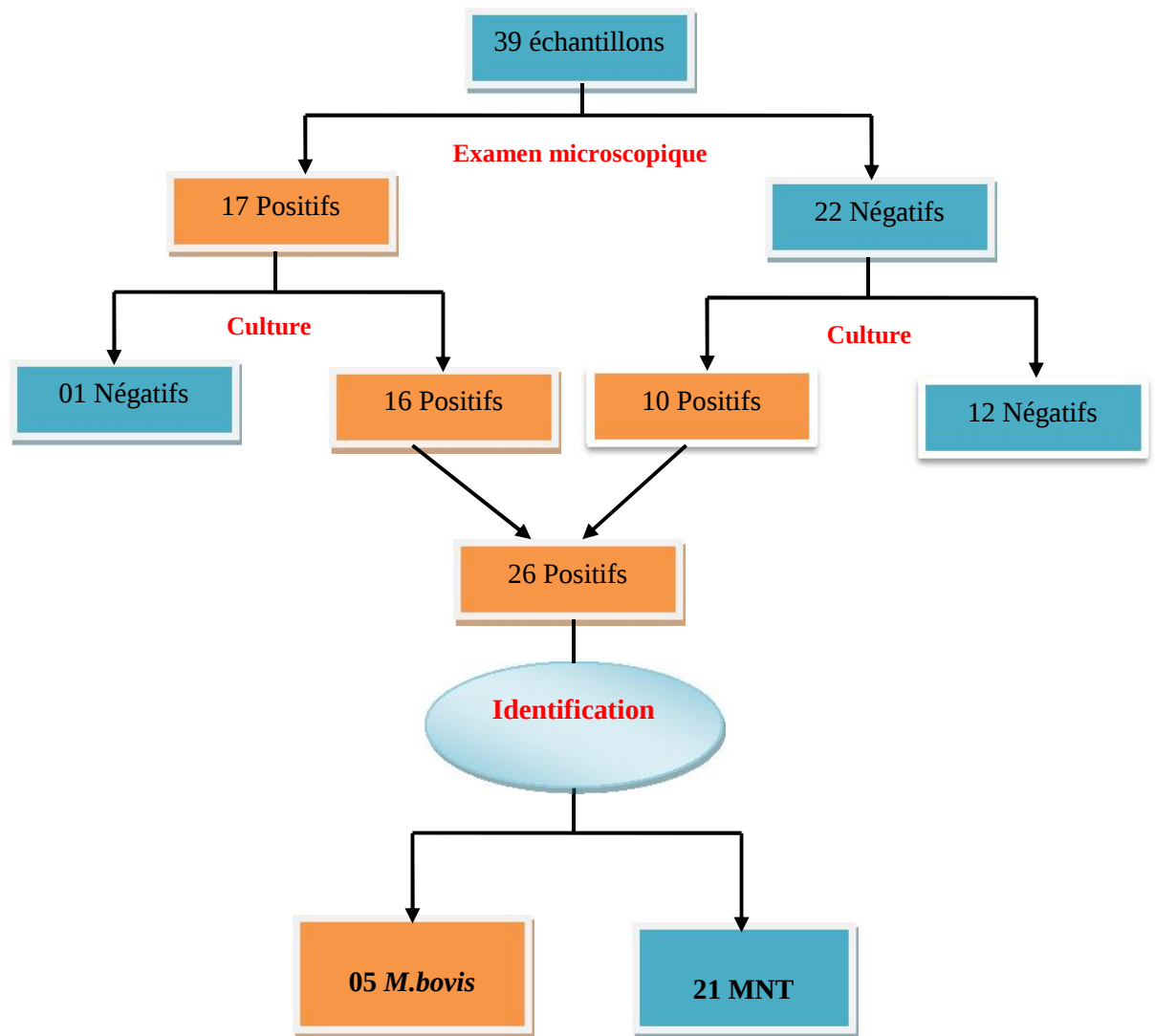


Figure 52: Présentation schématique des résultats des différentes techniques.

II.4.Comparaison entre deux méthodes de décontamination :

Les 39 prélèvements ont été décontaminés en utilisant deux techniques, à savoir :

- la méthode à l'acide sulfurique à 4% ;
- la méthode de Petroff à la soude.

Les résultats des deux méthodes sont rapportés dans le tableau suivant :

Tableau XIII : Résultats de la décontamination des deux méthodes.

Méthodes de décontamination	Nombre de cultures non contaminées	Nombre de cultures totales	Pourcentage (%)
A l'acide sulfurique à 4%	25	39	64,10
De Petroff à la soude	33	39	84,61

L'analyse statistique (test du khi-deux) montre qu'il y a une différence significative ($p < 0,05$) entre l'efficacité de ces deux méthodes et que celle de Petroff à la soude s'avère la plus efficace avec un pourcentage de 84,61% de culture non contaminée.

DISCUSSION



III.Discussion :

La tuberculose a été longtemps étudiée chez l'homme et chez les animaux mais elle demeure toujours un problème d'actualité. C'est pour cette raison, que nous avons mené cette étude dans la région Est de l'Algérie puisque aucune étude n'a été faite à ce propos.

Notre étude réalisée dans les abattoirs de cette région et les cas suspects de tuberculose bovine relevés ne présentent qu'une image de ce que se passe réellement dans nos abattoirs. Les résultats de la présente étude seront discutés par partie :

◆ Etude rétrospective :

Nous avons réalisé une enquête au niveau des services vétérinaires et aux abattoirs des deux wilayas afin de récolter les renseignements sur l'évolution annuelle des saisies pour motif de tuberculose bovine. Ces éléments fournis par ces établissements sont intéressants à considérer pour évaluer le taux des saisies pour tuberculose.

Nous tenons à vous signaler que sur les registres de saisie aucune indication relative au sexe, à la race, à l'âge et l'origine des animaux n'a été mentionnée. Donc l'étude rétrospective manque d'information mais les résultats obtenus sont satisfaisants du moment que tous les cas de saisie pour tuberculose ont été rapportés.

Pour l'évaluation de la proportion des cas répertoriés aux cours de l'étude rétrospective, les résultats montrent une proportion de 8,82% en 2008, puis une régression a été notée durant les années 2009 à 2011 de 5,54%, 3,57 % et 3,49 respectivement. Statistiquement, les prévalences des saisies diminuent de façon hautement significative ($p < 0,001$) entre 2008 et 2011.

Nous supposons que cette régression ne semble pas lier à la diminution des cas de tuberculose ni à la disparition progressive de cette maladie mais elle semble être expliquée plutôt par l'abaissement de l'abattage surtout des femelles (Cf .figure 38) (interdiction d'abattage des femelles sauf en cas d'urgence, de réforme ou d'abattage sanitaire). Nous tenons à vous informer que l'abattage clandestin semble prendre le pas qui est en évolution ces derniers temps et ceci par manque de contrôle.

◆ Etude prospective :

La prévalence des lésions suspectes de tuberculose bovine obtenue dans la présente étude est de 5,6%, ce taux est :

- comparable ($p > 0,05$) à ceux rapportés par :
 - ✓ Tecklu et *al.* (2004) avec 4,5% en Ethiopie ;
 - ✓ Aliyu et *al.* (2009) avec 4,05% dans des abattoirs situés dans les états du nord-est du Nigeria ;
 - ✓ Lackech et *al.* (2012) avec 5,83% au niveau de l'abattoir d'Akaki en Ethiopie.
- supérieure ($p < 0,05$) à ceux rapportés par :
 - ✓ Igbokwe et *al.* (2001) avec 2,8% dans quatre abattoirs situés au nord-est du Nigeria ;
 - ✓ Sahraoui et *al.* (2008) avec 3,58% au niveau des abattoirs de Blida et d'Alger ;
 - ✓ Yacob et *al.* (2008) avec 0,78% dans l'abattoir de municipalité de Bahir Dar dans le nord-ouest de l'Ethiopie ;
 - ✓ Kardjadj (2011) avec 3,03% au niveau de l'abattoir d'El-Harrach en Alger ;
 - ✓ Proano-Perez et *al.* en 2011 avec 2,37% au niveau de l'abattoir de l'Equateur.
- faible ($p < 0,05$) à ceux rapportés par :
 - ✓ Milian-Suazo et *al.* en 2000 avec 16% au niveau de l'abattoir du Mexique ;
 - ✓ Diguimbaye en 2006 avec 7,3% dans l'abattoir de Farcha (Tchad).

Les résultats de la répartition des cas suspects de tuberculose bovine entre les trois abattoirs montrent une différence hautement significative ($p < 0,001$).

Celui de Souk-Ahras a enregistré le taux le plus élevé avec une prévalence de 9,22% puis vient celui de Sedrata avec un taux de 0,84% et d'Ain Beida avec 0%.

Selon les constatations précédemment citées, nous concluons que la tuberculose est bien présente à Souk-Ahras. Cette présence peut être expliquée par :

- L'importance de l'abattage au niveau de cet abattoir par rapport aux deux autres.

En revanche, un faible taux a été enregistré à l'abattoir de Sedrata. Ceci peut être expliqué, d'une part par le faible nombre d'animaux abattu et d'autre part par la condamnation de l'inspection sanitaire vétérinaire due au comportement indiscipliné des bouchers et des commerçants de viande. Ces derniers interdisent parfois la recherche approfondie des carcasses qui peuvent conduire à la saisie des carcasses.

Quant à l'abattoir d'Ain Beida, nous n'avons enregistré aucun cas suspect de tuberculose.

Ces résultats indiquent que l'infection tuberculeuse serait plus importante dans certaines régions que dans d'autres.

Facteurs de variation :

Les principaux facteurs de variation pouvant influencer l'apparition de la tuberculose sont :

- **L'âge :**

Selon les résultats de cette étude, La prévalence de l'infection augmente avec l'âge. Elle est de 1,63% chez les animaux moins de 2 ans, de 5,49% chez ceux âgés de 2 ans à 5ans et de 22,22% chez ceux âgés plus de 5ans. Statistiquement, la différence est hautement significative entre les différentes classes d'âge ($p < 0,001$). Cela peut être expliqué par la nature de la maladie qui est d'évolution chronique et l'éventualité d'une exposition à l'infection augmente avec le temps. C'est la raison pour laquelle la maladie se manifeste fréquemment chez les animaux âgés. De plus, les bovins laitiers ont une vie économique plus longue (Traoré et al. 2004).

Nous concluons donc que la tuberculose affecte les bovins, quel que soit leur âge, avec des taux de prévalence élevés chez les âgés. Des résultats similaires ont été obtenus par Kardjadj ; (2011) dans l'abattoir d'El-Harrach ; qui indique 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.

Par ailleurs, ces résultats diffèrent à ceux présentés par Sahraoui en 2009 qui rapporte que la classe d'âge entre 2 et 5 ans est la plus touchée avec un pourcentage de 4,7%, 2,8% pour les animaux âgés plus de 5 ans et de 2,5% pour ceux âgés de moins de 2 ans.

Par contre, Teklu et *al.* (2004) et Lackech et *al.* (2012) rapportent une différence non significative entre les différentes classes d'âge.

- **Le sexe :**

Nous avons observé que les femelles (19,85%) sont plus touchées que les mâles (1,98%) avec une différence hautement significative ($p < 0,001$) (Cf. tableau VI). 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 faite par Sahraoui (2009).

Le taux élevé de 19,85 % 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 faite par Traoré et *al.* (2004).

- **La race :**

Nous avons constaté dans cette présente étude que les trois races présentent la même sensibilité à l'affection. Ce qui signifie que la différence est non significative entre ces dernières ($p > 0,05$). Nous avons enregistré 7,14% pour la race locale, 4,84% pour la race croisée et 4,54 % pour la race importée.

Nos résultats sont différents par rapport à ceux 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 qu'elle est caractérisée par la rusticité, l'adaptation aux conditions difficiles et la résistance aux maladies (Yakhlef, 1989).

Répartition des cas suspects par type de tuberculose :

a) .Tuberculose généralisée :

Nous avons constaté que la majorité des lésions est principalement de type localisé avec une prévalence de 89,74% mais il est intéressant de noter que l'atteinte généralisée est relativement non négligeable avec un pourcentage de 10,25%. Cette dernière constitue d'un côté, une grande menace pour la santé publique car elle pourrait avoir une conséquence dans l'apparition des mammites tuberculeuses et d'un autre côté, elle laisse supposer une moindre résistance de l'organisme de ces bovins ou une virulence élevée des bacilles tuberculeux vis-à-vis ces animaux. Dans les deux cas, il en résulte une extension plus rapide de l'infection dans les troupeaux d'origine (Alambedji, 1984).

Cette observation est comparable ($p > 0,05$) à celle obtenue par Schelling et *al.* (2005) au Tchad. Ils ont indiqué que la tuberculose de type localisé (84,22%) est plus importante par rapport à celle du type généralisé (15,07 %).

b) .Tuberculose localisée:

A l'inspection des carcasses, il en ressort que la distribution des lésions suspectes de tuberculose bovine de type localisé montre une atteinte de l'appareil respiratoire (poumon et les ganglions thoraciques) principalement avec un taux de 57,14%. Cette prédominance respiratoire des lésions tuberculeuses est expliquée par la transmission de la maladie par voie respiratoire qui se fait par aérosols contenant des bacilles et passant immédiatement d'un animal excréteur à un autre sain (OIE, 2005).

Nos résultats sont semblables ($p > 0,05$) à ceux rapportés par Tigre et *al.* (2012) qui indiquent que l'appareil respiratoire est le plus touché avec un taux de 63,3%.

◆ Diagnostic de laboratoire :

Dans le but de confirmer ou d'infirmer la présence de la tuberculose dans cette région de l'Algérie, nous avons traité toutes les lésions suspectes par l'examen bactériologique qui comporte les étapes suivantes :

- l'examen direct ;
- la culture bactérienne ;
- l'identification .

● L'examen direct :

L'examen direct des frottis a révélé 43,58% de lames positives. Ces résultats sont 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). De plus, il faut signaler que la bacilloscopie n'est pas spécifique car toutes les mycobactéries sont acido-alcool-résistantes.

Les résultats de la présente étude sont :

- comparables ($p > 0,05$) à ceux rapportés par :
 - ✓ Sulieman et Hamid (2002) avec 53,3% qui ont montré que sur 120 lésions collectées dans les abattoirs du soudan 64 contenaient des BAAR ;
 - ✓ Ngandolo et *al.* (2009) avec 47,7% au sud du Tchad ;
 - ✓ Kardjadj (2011) avec 52,08 % à l'abattoir d'El-Harrach en Algérie.
- supérieurs ($p < 0,05$) à ceux rapportés par :
 - ✓ Cisse et *al.* (2005) avec 22,11% à l'abattoir de Cote d'Ivoire ;
 - ✓ Sahraoui et *al.* (2008) avec 28,85% dans les abattoirs de Blida et d'Alger ;
 - ✓ Benreguia et Bouguelane (2010) avec 16,66% au niveau des abattoirs de Bejaia ;

- ✓ Proano-Perez et *al.* (2011) avec 33,33% pour des prélèvements d'abattoir à l'Equateur.

● Culture bactérienne

Nous avons obtenu pour la culture bactérienne 66,66% de cultures positives contre 33,33% négatives. Ce qui montre que le diagnostic de la tuberculose par la culture est plus sensible que la bactérioscopie.

- Nos résultats sont semblables ($p > 0,05$) à ceux rapportés par :

- ✓ Cisse et *al.* (2005), Sahraoui et *al.* (2008) et Kardjadj (2011) avec des taux de positivité de 54,80%, 51,54% et 70,83% respectivement.

- Par contre, ils sont supérieurs ($p < 0,05$) à ceux rapportés par :

- ✓ Proano-Perez et *al.* (2011) avec un pourcentage de 36,4%.

- Faibles ($p < 0,05$) 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.

Par ailleurs, un frottis positif à l'examen microscopique n'a pas donné de colonie à la culture. Cela pourrait être expliqué par :

- le fait que les mycobactéries présentes dans ces échantillons sont détruites par suite des manipulations (décontamination, centrifugation et d'agitation) (Cisse et *al.*, 2005) ;
- la présence d'autres bactéries qui ne sont pas des mycobactéries mais appartenant toujours à l'ordre des actinomycétales, tel que : *Nocardia* (Teklu et *al.*, 2004) ;
- l'absence de mycobactéries viables dans des lésions complètement calcifiées (Asseged et *al.*, 2004 ; Sahraoui et *al.*, 2008).

● Identification :

Elle a révélé un taux de 19,23% des souches appartenant au *Mycobacterium bovis* et 80,76 % aux mycobactéries non tuberculeuses.

Nos résultats sont différents ($p < 0,05$) à ceux rapportés par kardjadj (2011) qui a montré que 100% des souches isolées appartenant à *M.bovis*.

Le même constat a été fait par Sahraoui et *al.* (2008) qui ont enregistré que 86,57% des souches appartiennent à *M.bovis* et que 13,43% aux mycobactéries non tuberculeuses.

Donc, les mycobactéries isolées dans la région centre diffèrent de la région Est.

◆ Comparaison des deux techniques de décontamination :

La méthode de Petroff à la soude s'avère plus efficace par rapport à celle à l'acide sulfurique à 4%. Les deux méthodes ont révélé 84,61% et 64,10% respectivement de cultures non contaminées. Cela peut être expliqué comme suit :

La méthode à l'acide sulfurique à 4% est généralement utilisée pour la décontamination des biopsies (Carbonelle et *al.*, 2003) qui sont normalement des prélèvements mono-microbiens lorsqu'ils sont effectués dans les blocs opératoires (milieux stériles) (Freney et *al.*, 2007) par contre dans les abattoirs les conditions ne sont pas les mêmes (milieu contaminé), ce qui donne un taux faible des cultures non contaminées.

Par contre celle de Petroff à la soude est surtout pratiquée pour la décontamination des crachats et des urines (Fauchère, 1997 ; Boulahbal) qui sont des prélèvements plurimicrobiens (Freney et *al.*, 2007) , ce qui justifie son efficacité sur nos prélèvements.

CONCLUSION

CONCLUSION

La tuberculose bovine est une zoonose majeure responsable de sérieux problèmes en santé publique et constitue un obstacle principal au développement de l'élevage bovin.

La présente étude étant la première contribution à l'étude de cette affection dans l'Est algérien. Elle a pour but d'évaluer la prévalence de la tuberculose bovine dans cette région et d'identifier les espèces mycobactériennes incriminées pendant une période de quatre mois.

Les résultats de cette enquête ont permis de mettre en évidence :

- la présence de lésions suspectes de tuberculose avec un taux de 5,6% des carcasses inspectées dans les trois abattoirs de la région Est ;
- les agents responsables en utilisant l'examen bactériologique par :
 - ✓ bacilloscopie qui a révélé un faible pourcentage de BAAR comparativement à la culture qui est technique plus sensible, couplée à une identification phénotypique et biochimique ;

Donc, l'enquête a pu confirmer l'existence de la maladie dans cette région et a permis la mise en évidence du *Mycobacterium bovis* dans certaines lésions. Par ailleurs, elle a bien montré que les bovins de la région Est sont plutôt touchés par les autres mycobactérioses que par la tuberculose à *M.bovis*.

Par conséquent, l'examen bactériologique a un grand intérêt tant pour la santé humaine que animale et reste l'excellent outil de diagnostic de la tuberculose.

Enfin, cette étude a fourni pour la première fois une meilleure compréhension de la situation de la tuberculose bovine dans l'Est Algérien.

RECOMMENDATIONS

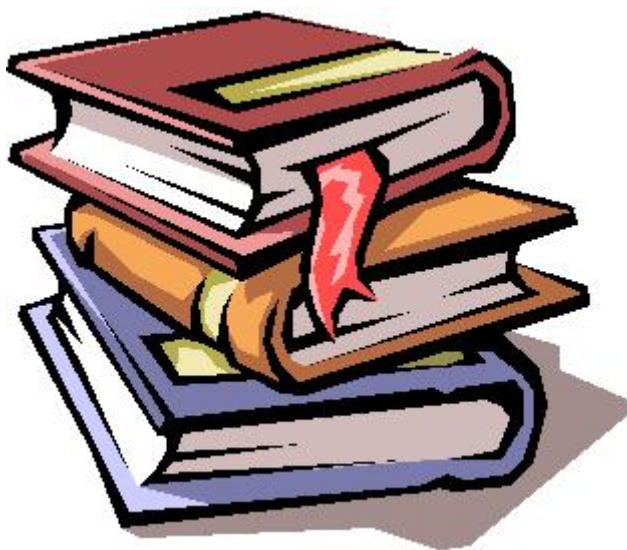
RECOMMANDATIONS

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 bovin ;
- obligation de déclarer l'existence de cas de suspicion de la tuberculose bovine par les vétérinaires praticiens ;
- obligation d'abattage sanitaire pour les cas déclarés positifs ;
- éviter l'entrée dans les étables des personnes tuberculeux et animaux 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.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES



A

- Abebe F., Holm-Hansen C., Wiker HG., Bjune G., 2007.** Progress of serodiagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection .In: *Scandinavian Journal of Immunology*, Vol.66, p.176-191.
- Acha P.N., Szyfres B., 2003.** Zoonoses et maladies transmissibles à l'homme et aux animaux, 3^{ème} éd. Paris, France, OIE.
- Alamedji A.I., 1984.** *Contribution à l'étude de la tuberculose bovine au Niger*. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. Dakar, école inter-etats des sciences et médecine vétérinaire, 94p.
- Aliyu M.M., Adamu J.Y., Bilyaminu Y.A., 2009.** Current prevalence of tuberculous lesions among slaughtered cattle in northeastern states of Nigeria. In : *Revue Elev. Méd. Vét. Pays trop.*, Vol. 62(1) , p.13-16.
- Allen A.R., Minozzi G., Glass E.J., Skuce S.W.J., Woolliams J.A., Bishop S.C., 2010.** Bovine tuberculosis :the genetic basis of host susceptibility. In: *Pro.R.Soc.B.*, Vol.277, p.2737-2745.
- Anaelom N.J., Ikechukwu O.J., Wilfred Sunday O., Umeononigwe Chunkwunonso N., 2010.** Zoonotic tuberculosis :A review of epidemiology; clinical presentation ,prevention and control. In: *Journal of public Health and Epidemiology*, Vol.2(6), p.118-124.
- Aranaz A., Cousins D., Mateos A., Dominguez L., 2003.** Elevation of *Mycobacterium tuberculosis subsp.caprae* Aranz et al.1999 to species rank as *Mycobacterium caprae* comb nov ., sp nov. In: *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* , Vol.53, p.1785-1789.
- Artois M., Loukiadis E., Garin-Bastuji B., Thorel M.F., HARS.J., 2004.** Infection des mammifères sauvages par *Mycobacterium bovis* risque de transmission aux bovins domestiques .In : *bulletin épidémiologique*, n°13.
- Asseged B., Woldesenbet Z., Yimer E., Lemma E., 2004.** Evaluation of abattoir inspection for diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle at Addis Abba abattoir. In: *Trop. Anim. Health. Prod.*, Vol.36, p.537-546.
- Avril J.L., Dabernat H., Denis F., Menteil H., 2003.** Bactériologie clinique édition ellipses. 534p.
- Awah-Ndukum J., Kudi A.C., Bradley G., Ane-Anyangwe I., Titani V.P.K., Fon-Tebug S., Tchoumboue J., 2012.** In: *Veterinari Medicina* , Vol.57(2), p.59-76 .
- Ayele W.Y. Neili D., Zinsstag J., Weiss M G., Paviik I., 2004.** Bovine tuberculosis :an old disease but a new threat to Africa. In: *Int.J.Tuberc.Lung.Dis.*, Vol.8, p.924-937.

B

- Bates J.H., Stead W.W., 1993.** The history of tuberculosis as a global epidemic. In: *Med. Clin. North Am.*, Vol.77, p.1205-17.
- Benet JJ., 2006.** La tuberculose animale, polycopié des Unités de maladies contagieuses des écoles vétérinaires Françaises, Merial(Lyon):69P.
- Benet JJ., Boschioli M.L., Dufour B., Garin-Bastuji B., 2006 .** Lutte contre la tuberculose bovine en France de 1954 à 2004 :Analyse de la pertinence épidémiologique de l'évolution de la réglementation. In : *Epidémiol. et santé anim.*, Vol.50, p.127-143.
- Benet JJ., 2008.** La tuberculose animale, Polycopié des Unités de Maladies contagieuses des Ecoles vétérinaires françaises, Merial(lyon):74p.
- Benet J.J., Praud A., 2011.** La tuberculose animale. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort. Unité Pédagogique de Maladies Contagieuses . 79p.
- Bengis R.G., 1999.** Tuberculosis in free-ranging mammals. In: *Zoo and wild animal medicine: current therapy*, Vol. 4, p. 101-114.
- Benreguia K., Bouguelane S., 2010.** *Diagnostic de la tuberculose bovine chez la race locale cas de wilaya de Bejaia*. Projet de fin d'étude. Blida, USDB, 47p.
- Berdah D., 2010.** La vaccination des bovidés contre la tuberculose en France, 1921-1963: entre modèle épistémique et alternative à l'abattage. In : *Revue d'études en Agriculture et environnement*, Vol.91(4), p.393-415.
- Biet F., Boschioli M.L., Thorel M.F., Guilloteau L A., 2005.** Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium-intracellulare* complex (MAC). In: *Vet. Res.*, Vol.36, p. 411-436.
- Boukary A.R., Thyse E., Mamadou S., Rigouts L., Mattyse F., Vias Franck S.G., Gamatie D., Yenikoye A., Saegerman C., 2011.** La tuberculose à *Mycobacterium bovis* en Afrique subsaharienne. In: *Ann. Med. Vet.*, Vol.155, p.23-37.
- Boulahbal F.** Technique de laboratoire pour diagnostic des mycobactéries. Institut Pasteur d'Algérie, service tuberculose et des mycobactéries, 86p.
- Boulahbal F., Robert J., Trystram D., De Benoist A.C., Vincent V., Jarlier V., Grosset J., 1998.** La tuberculose humaine à *Mycobacterium bovis* en France durant l'année 1995. In : *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire (BEH)*, N°48 /98, p.207-208.
- Boulahbal F., 1998.** The laboratory and its role in the epidemiological surveillance of tuberculosis in la tuberculose en médecine humaine et vétérinaire. Elsevier.
- Bourgoin A., Agius G., 1995.** Le point sur les méthodes classiques d'identification des mycobactéries. In : *revue française des laboratoires*, N°273, p.21-26.

- Brennan P., 2009.** Tuberculosis: molecular basis of pathogenesis in Schaechter ,M. Encyclopedia of microbiology. Third edition.
- 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.
- Brosch R., Gordon S.V., Marmiesse M., Brodin P., Buchrieser C., Eiglmeier K., 2002.** A new evolutionary scenario for the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *In: Proc. Natl. Acad. Sci. USA* ., Vol.99, p.3684-9.
- Brosch R., Che D., Decludt B., Durieux P., Gaudelus J., et al. 2004.** Tuberculose. Place de la vaccination dans la maîtrise de la maladie. Paris : Inserm, 273p.
- Buddle B.M., De Lisle G.W., Pfeffer A., Aldwell F.E., 1995.** Immunological responses and protection against *Mycobacterium bovis* in calves vaccinated with a low dose of BCG vaccine. *Vol.13(12)*, p.1123-1130.
- Buddle B.M., Ryan T.J., Pollock J.M., Anderson P., Lisle G.W., 2001.** Use of ESAT-6 in the interferon gamma test for diagnosis of bovine tuberculosis following skin testing. *In: Veterinary Microbiology*, Vol.80, p.37-46.
- Buddle B.M., Livingstone PG., De Lisle GW., 2009.** Advances in ante mortem diagnosis of tuberculosis in cattle . *In: New Zealand Veterinary Journal*, Vol.57(4), p.173-180.
- 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. *In: Veterinary Microbiology*, Vol.151, p.14-22.
- Buhler V.B., Pollak A., 1955.** The cultural characteristics and animal pathogenicity of an atypical acid fast organism which causes human disease. *In: Amr. Rev. Tub.*, Vol.71, p.74-87.

C

- Calmette A., 1927.** La vaccination préventive contre la tuberculose. Masson et Cie, Paris.
- Cambau E.C., Wichlaz C., Truffot-Pernod C., Jarlier V., 1999.** Evaluation of the new MB redox system for detection of growth of Mycobacteria. *In: J. Clin. Microbiol.*, Vol.37, p.2013-2015.
- Capron F., Duyckaerts C., Fouret P., Hauw J.J., Aubriot M.H., Brocheriou I., Charlotte F., Delcourt A., Handra-Luca A., Hoang C., Seilhean D., 2002.** TP d'anatomie pathologique. Université Pierre et Marie Curie, faculté de médecine, 74p.
- Carbonelle B., Dailloux M., Lebrun L., Maugein J., Pernot C. et al., 2003.** Mycobactéries et mycobactérioses-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.,Lonardoni M.V.C.,2007.** Direct detection of *Mycobacterium bovis* in bovine lymph nodes by PCR.*In :Zoonoses and public health*,Vol.56,p.465-470.
- Castets M., Boisvert H., Grumbach F., Brunel H., Rist N.,1968.** Les bacilles tuberculeux de type africain. *In :Rev. Tub. Pneum.*, Vol.32.,p. 179-184.
- Cattoir V.,2004.** Identification moléculaire des mycobactéries et détection de la résistance aux antibiotiques. *In :Ann. Biol. Clin.*,vol.62,n°4 ,p.405-413.
- Chapel H., Haeney M., Misbah S., Snowden N.,2006.**Essentials of clinical Immunology,5th Edition.Blackwell Publishing,Oxford.368p.
- 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. *In:Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop.*,Vol. 44(1), p. 43-47.
- Cherel Y.,Couillandeu P.,Lecomte O.,Spindler C.,Larcher T.,2006.**Autopsie des bovins .Edition,le point vétérinaire.
- Cisse B .,N’gussan K.,Ekaza E.,Soro E.,Aka N., Dosso M., 2005.** Isolement de *Mycobacterium bovis* des lésions tuberculeuses chez les bovins à l’Abidjan Port-Bouet(Cote d’Ivoire).*In :Revue Africaine de santé et de production animale*,Vol.6,N°3-4 ,p.199-204.
- Collet C .,Simonney S.,Honoré-Bouakline S.,Wargnier A.,Lagrange P.H.,Herrmann J .L., 2003.**Tuberculose et diagnostic rapide :avancées ou échec ?rapid diagnostic tests for tuberculosis :improvement or failure ?. *In :Immuno-analyse et Biologie Spécialisée* , Vol.18 ,P.283-288.
- Collins JD.,2006.** Tuberculosis in cattle : strategic planning for the future. *In: Vet. Micro.*, Vol.112, p.369-381.
- Converse J.P.,Jones S.L.,Astemborski J.,Valhov D.,Graham N.M.,1997.**Comparaison of tuberculin interferon gamma assay with the tuberculin skin test in high risk adults :effect of humain immunodeficiency virus infection.*In: J .Infect.Dis.*,Vol.176,p.144-150.
- Coetzer J.A.W., Tustin R.C., 2004.** Infections diseases of livestock. Chapter Mycobacteria-Introduction . Section 5 Bacterial diseases. Volume 3, p.1965-1972 ,2nd edition, Oxford editorial.
- Cosivi O., Meslen F.X., Daborne C.J.,Grange J.M.,1995.** Epidemiology of *Mycobacterium bovis* in animals and humans,with particular reference to Africa. *In: Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, Vol.14, p. 733-746.

- 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.
- Cousins DV., 2001.** *Mycobacterium bovis* infection and control in domestic livestock. *In: Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, Vol.20, p.71-85.
- Cousins D., Bastida R., Cataldi A., Quse V., Redrobe S., Dow S., Duignan P., Murray A., Dupont C., Ahmed N., Collins D.M., Butler W.R., Dawson D., et al. 2003.** Tuberculosis in seals caused by a novel member of the *Mycobacterium tuberculosis* complex, *Mycobacterium pinnipedii* sp. *In: Intern. J. Syst. Evol. Microbiol.*, Vol. 53, p.1305-1314.
- Cousins N.V., Florisson N., 2005.** A review of tests available for use diagnosis of tuberculosis in non-bovine species. *In: Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, Vol.24(3), p.1039-1059.
- Crubezy E., Ludes B., Poveda JD., Clayton J., Crouau-Roy B., Montagnon D., 1998.** Identification of *Mycobacterium* DNA in a Egyptian Pott's disease of 5400 years old. *In: CR. Acad. Sci. Paris*, Vol.312, p.941-951.

D

- Daborne C.J., Grange J.M., 1993.** HIV/AIDS and its implication for the control of animal tuberculosis. *In: Brit. Vet. J.*, Vol.149, p. 405-413.
- David H.L., Levy -Frébault V., Thorel M.F., 1989.** Méthodes de laboratoire pour mycobactériologie Clinique-Institut Pasteur-Commission des laboratoires d'Expertise et de reference.
- De Kantor I.N., Ambroggi M., Poggi S., Morcillo N., Da Silva Telles M.A., Osorio Ribciro M., Garzon Torres M. C., Lierena Polo C., Ribon W., Garcia V., Kuffo D., Asencios L., Vasquez Campos L.M., Rivas C., De waard J.H., 2008.** Humain *Mycobacterium bovis* infection in ten Latin American countries. *In : Tuberculosis*, Vol.88(4), p.358-365.
- Delafosse A., Goutard F., Thébaud E., 2002.** Epidémiologie de la tuberculose et de la brucellose des bovins en zone périurbaine d'Abéché Tchad. *In : Revue Elev. Méd. Vet. pays trop.*, Vol.55, p.5-13.
- De la Rua-Domenech R., 2006.** Humain *Mycobacterium bovis* infection in the United Kingdom: Incidence, risks, control measures and review of zoonotic aspects of bovine tuberculosis. *In: Tuberculosis*, Vol.86, p.77-109.
- De la Rua-Domenech R., Goodchild A.T., Vordermeier H.M., Hewinson R.G., Christiansen K.H., Clifton-Hadley R.S., 2006.** Ante mortem diagnosis of tuberculosis in cattle: A review of the tuberculin tests, g-interferon assay and other ancillary diagnostic techniques. *In : Res. Vet. Sci.*, Vol.81, p.190-210.

- De List G., Mackintosh C.G., Bengis R.G., 2001.** *Mycobacterium bovis* in free-living and captive wildlife, including farmed deer. In: *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, Vol. 20, p. 86-111.
- Demangel C., Brosch R., Marmiesse M., Cole S.T., 2004.** Utilisation de la génomique des mycobactéries pour la définition de nouveaux vaccins et de cibles thérapeutiques. In: *Med. Trop.*, Vol. 64, p. 221-223.
- 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.
- Diguimbaye-Djaibé C., Hilty M., Ngandolo R., Mahamat H.H., Pfyffer G., Baggi F., Tanner M., Zinsstag J., Schelling E., 2006.** *Mycobacterium bovis* isolates from tuberculosis lesion in Chadian zebu carcasses. In: *Emerg Infect Dis.*, Vol. 12(5), p. 769-71.
- Dirat C., 2013.** *Tuberculose bovine : mise à jour bibliographique et situation épidémiologique en France*. Thèse pour le doctorat vétérinaire, Creteil, école nationale vétérinaire d'Alfort, 71p.
- DSV., Direction des services vétérinaires, 2012.** Données de la tuberculose bovine de 1995-2011 en Algérie. Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural.
- Durand B., Gouyet L., Ostyn A., Thorel M.F., Haddad N., 2004.** Intérêt épidémiologique du typage moléculaire de *Mycobacterium bovis*. In: *Bulletin des GTV.*, 23 janvier/février, p. 311-314.

E

- Elawad A., 2013.** Fears grow as CDC reports « totally drug resistant » tuberculosis emerging. Step 'N' run medics, *Médical News*.
- El Idrissi A., Parker E., 2012.** La tuberculose bovine à l'interface animal-homme-écosystème. In: *Bulletin des maladies animales transfrontières*, N°40, p. 1-11.
- ENVF, 1990, Ecoles Nationales Vétérinaires Françaises.** Maladies contagieuses. La tuberculose. Septembre 1990, 152 p.
- ENVF, 2006.** Ecoles Nationales Vétérinaires Françaises. Maladies contagieuses. La tuberculose. Septembre 2006.
- ENVF, 2004, Ecole Nationale Vétérinaire Française.** Maladies contagieuses. La tuberculose animale. Septembre 2004, p. 5.

F

- Fauchère J.L., 1997.** Bactériofiches : technique en bactériologie clinique. Paris, édition Marketing S.A., 119 p.

- Fediaevsky A., Bénet J.J, Boschioli M.L, Hars J.,2010 .** La tuberculose bovine en France en 2010, surveillance et détection accrues .In :*Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation* ,n° 46/Spécial MRC ,p.1-7.
- Flynn J.L., Chan J., Triebold K., Dalton T.A., Stewart T.A., Bloom B.R., 1993.**An essential role for interferon gamma in resistance to *Mycobacterium tuberculosis* infection. In:*J. Exp. Med.*, Vol. 178,p. 2249-2254.
- Fowler M.E., 1986.** Zoo and wild animal medicine. Philadelphia: W.B. Saunders Company. p.1-1127.
- Freney J.,Renaud F.,Leclercq R.,Riegel P.,2007.**Précis de bactériologie clinique. Paris, éditions ESKA,1274p.
- Frikri A.,1999.** Santé animale : Situation de la tuberculose bovine au Maroc.Terre et vie ,N°156.
- Frothingham R., Meeker O'Connell W.A., 1998.**Genetic diversity in the *Mycobacterium tuberculosis* complex based on viable numbers of tandem DNA repeats analysis. In:*Microbiology*,Vol.144,p.1189-1196.

G

- Gallagher J.,Jenkins P.M.,1998.**Mycobacterial diseases.In"Zoonoses biology,clinical practice,and public health control"(Palmer S.R., Lord Soulsby,and Simpson D.I.H,Eds).Oxford University Press.
- Gannon B.W., Hayes C.M.,ROC J.M.,2007.**Survival rate of airborne *Mycobacterium bovis*. In:Research in Veterinary Science,Vol.82(2),p.169-172.
- Gianpaglia C.M.S, Martins M.C., Inumaru V.T.G., Butuem I.V., 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.
- Good R.C., Shinnick T.M., 1998.***Mycobacterium*. In: Balows, A.,Duerden, B.I. (Eds.), Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections, Ninth ed. *Systematic Bacteriology*, vol. 2.Arnold, London, UK, p.549– 576.
- Goodchild A.V., Clifton-Hadley R.S., 2001.** Cattle to cattle transmission of *Mycobacterium bovis*. In:*Tuberculosis*,Vol.81(1-2),P.23-41.
- Gornely E.,Doyle M.B.,Fitzsimons T.,Mcgill K.,Collins J.D.,2006.**Diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle by use of the gamma interferon(bovigam)assay .In:*Vet.Micro.*, Vol. 112, p.171-180.
- Grange J.M., 1980.** Mycobacterial diseases . In I.Phillips,ed.Currents topics in infection :N°1.Edward Arnold Publishers.Ltd.,U.K.

- Grange JM., Gandy M., Farmer P., Zumla A.,2001.** Historical declines in tuberculosis: nature, nurture and the biosocial model. *In: Int . J. Tuberc. Lung. Dis. Sep.*, Vol.5(9),p.879.
- Grosset J.,Boisvert H.,Truffot-Pernot C.,1990.** In :bactériologie médicale L. Leminor et M.Veron (ed).Flammarion , Paris.p.965-1017.
- Guiard I., 2008.** *Synthèse d'antigènes présentés par la protéine CD1b,analogues des sulfoglycolipides diacylés mycobactériens. Vers un nouveau vaccin contre la tuberculose.* Thèse de doctorat en chimie organique .Toulouse, université Paul Sabatier,191p.
- Guttierrez 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.

H

- Hadded N., Durand B., 2001.** Interet et limites des différentes techniques de caractérisation des isolats .Exemple de la tuberculose. *In :Epidemiol. et santé anim.*,Vol.39, p.43-57.
- Hadded N.,Masselot M., Durand B.,2004.**Molecular differentiation of *Mycobacterium bovis* isolates .Review of main techniques and applications .*In:Research in veterinary science*,Vol.76,p. 1-18.
- Harris NB.,2006.** Molecular technique: application in epidemiologic studies In C.O Theon ,J.H Steel,M.J Gilsdorf, *Mycobacterium bovis* infection in animals and humans second edition ,Blackwell publishing.
- Hars J., Boschioli M.L., Duvauchelle A., Garin-Bastuji B., 2006.** La tuberculose à *Mycobacterium bovis* chez le cerf et le sanglier en France ; émergence et risque pour l'élevage bovin. *In :Bull. Acad. Vét.France*, Vol. 159, p. 393-401.
- Hars J.,Richome C.,Boschioli M.L.,2011.**La tuberculose bovine dans la faune sauvage en France. *In :Bulletin épidémiologique*, N°38 /Spécial zoonoses.
- Hénault S.,Karoui C.,Boschioli ML.,2006.**A PCR-Based method for tuberculosis detection in wildlife.*In: Developments in Biologicals*,Vol.126,p. 123-132.
- Honore N., 2002.**The *Mycobacterium leprae* genome : from sequence analysis to therapeutic implications. *In: Med .Trop.*, Vol. 62 (5),p.473-479.
- Huard R., Fabre M., De Haas P., Lazzarini L., Van Soolingen D. et al.2006.**Novel genetic polymorphisms that further delineate the phylogeny of the *Mycobacterium tuberculosis* complex.*In: J. Bact.*,Vol. 12 (188),p. 4271-4287.
- Huitema H., Jaartsveld F.H. J.,1967.** *Mycobacterium microti* infection in a cat and some pigs.*In: Antonie Van Leeuwenhoek*,Vol.33, p. 209-212.

Humblet M.F., Boschioli M.L., Saegerman C., 2009. Classification of worldwilde bovine tuberculosis risk of factors in cattle :a stratified approach. *In: Veterinary research*, Vol.40, p.50-74.

I

Igbokwe I.O., Madaki I.Y., Danburam S., Ameh J.A., Aliyu M.M., Nwosu C.O., 2001. Prevalence of pulmonary tuberculous lesions in cattle slaughtered in abattoirs in Northeastern Nigeria. *In: Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, Vol.54(3-4), p.191-195.

J

Jackson R., Delisle G.W., Morris R.S., 1995. A study of the environmental survival of *Mycobacterium bovis* on a farm in New Zealand. *In: New Zeal. Vet. J.*, Vol. 43, p. 346-352.

Jager P.E.J., 2010. *Evaluation du risque de tuberculose bovine dans le département de l'YONNE.* Thèse pour le doctorat vétérinaire, Creteil, école nationale vétérinaire d'Alfort, 138p.

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

K

Kamerbeek J., Schouls L., Kolk A., Van Agterveld M., Van Soolingen D., Kuijper S., Bunschoten A., et al., 1997. Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiologie. *In: J. Clin. Microbiol.*, Vol.35, p.907-914.

Karlson A.G., Lessel E.F., 1970. *Mycobacterium bovis* nom. *In: nov. Int. J. Syst. Bacteriol.*, Vol.20, p. 273-282.

Kardjadj M., Yala D., 2010. Situation épidémiologique de la tuberculose bovine dans le cheptel identifié en Algérie (1995-2009). *In : 3^{ème} journée animale (U.S.D.B)*, 21-22 Novembre.

Kardjadj M., 2011. *Prévalence des lésions tuberculeuses chez les carcasses bovines à l'abattoir d'El-Harrach, et isolement et identification des mycobactéries de complex tuberculosis (MTC) en cause.* Mémoire de magistère en science vétérinaire, Alger, ENSV, 73p.

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

Koffi P., 1992. *Contribution à l'étude de la tuberculose bovine au Togo.* Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire (diplôme d'état), Dakar, école inter états des sciences et médecine vétérinaire, 92p.

L

- Lackech E., Achnef M., Ayalew B., 2012.** Bovine tuberculosis prevalence in slaughtered cattle at Akaki municipal abattoir, based on meat inspection methods. *In: global veterinaria*, Vol. 9(5), p.541-545.
- 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 crânes dans les réfrigérateurs. *In :Are. Med. Vet.*, Vol.29, N°2.
- Lavie P., Calavas D., 2007.** La tuberculose-Fiche Zoonoses-Afssa Lyon. *In :Bulletin des GTV*, n°38, 91-92.
- Leclercq P., 1973 .** Manuel des agents d'inspection des aliments d'origine animale. Institut d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux, Alfort, 179p.
- 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*. *In* C.O.Theon, J.H.Steel, M.J.Gilsdorf, *Mycobacterium bovis* infection in animals and humans second edition, Blackwell publishing.
- Lomme J.R., Thoen C.O., Himes E.M., Vinson J.W. et al., 1976.** *Mycobacterium tuberculosis* infection in two East African oryxes. *In:J. Am. Vet. Med. Assoc.*, Vol.169(9), p.912-914.
- Lowell A. M. 1984.** Tuberculosis: its social and economic impact and some thoughts on epidemiology, p. 1021-1056. *In* P.Kubica and L. G. Wayne (ed.), *The mycobacteria*. Part B. Marcel Dekker, New York.
- Lutze-Wallace C., Turocotte C., Glover G., Cousins D., Bell J., Surujballi G. et al, 2006.** Isolation of a *Mycobacterium microti*-like organism from a rock hyrax (*Procavia capensis*) in a Canadian zoo. *In:Can. Vet. J.*, Vol.47, p. 1011-1013.

M

- Marcotty T., Matthys F. , Godfroid J., Rigouts L., Ameni G., Gey van Pittius N., Kazwala R., Muma J., Van Helden P., et al. 2009.** Zoonotic tuberculosis and brucellosis in Africa: neglected zoonoses or minor public-health issues? The outcomes of a multi-disciplinary workshop. *In:Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, Vol.103, p.401–411.
- Menzies F D., Neill S.D., 2000.** Cattle to cattle transmission of bovine tuberculosis .*In:The Veterinary Journal*, Vol.160, p.92-106.

- Michalak K., Austin C., Diesel S., Bacon M.J., Zimmerman P., Maslow J.N., 1998.** *Mycobacterium tuberculosis* infection as zoonotic disease transmission between humans and elephants. *In: Emerg. Infect. Dis.*, Vol.4, p.283-287.
- Michel A. L., Muller B., Helden P.D.V., 2010.** *Mycobacterium bovis* at the animal-human interface: a problem, or not? . *In: veterinary microbiology*, 140, p.371-381.
- Microsoft office excel 2007** partie de Microsoft office Professional plus 2007. ID de produit : (product ID):89409-707-1528066-65641.
- Millian-Suazo F., Salman M.D., Ramire C., Payeur J.B., Rhyan J.C., Santillan M., 2000.** Identification of tuberculosis in cattle slaughtered in Mexico .*In: Am. J. Vet. Res.*, Vol.61(1), p.86-9.
- Miltgen J., Morillon M., Koeck J. L., Varnerot A., Briant J. F., Nguyen G., Verrot D., Bonnet D., Vincent V., 2002.** Two cases of pulmonary tuberculosis caused by *Mycobacterium tuberculosis subsp canetti*. *In: Emerg. Infect. Dis.*, Vol.8, p.1350-1352.

. N

- Neill SD., Bryson DG ., Pollock JM., 2001.** Pathogenesis of tuberculosis in cattle. *In: Tuberculosis*, Vol.81(1/2), p.79-86.
- Ngandolo B.N., 2012.** *Diagnostic et Épidémiologie Moléculaire de la Tuberculose Bovine au Tchad: Cas des Bovins Destinés à l'Abattage*. Thèse de doctorat , Bale, l'Université de Bâle (Suisse), 197p.
- Niemann S., Richter E., Rusch-Gerdes S., 2000.** Differentiation among members of the *Mycobacterium tuberculosis* complex by molecular and biochemical features :evidence for two pyrazinamide-susceptible subtypes of *M.bovis*. *In: J.Clin.Microbiol.*, Vol.38, p.152-157.
- Niemann, S., E. Richter, et S. Rusch-Gerdes. 2002.** Biochemical and genetic evidence for the transfer of *Mycobacterium tuberculosis subsp. caprae* Aranaz et al.1999 to the species *Mycobacterium bovis* Karlson and Lessel 1970 (approved lists 1980) as *Mycobacterium bovis subsp. caprae* comb. *In: nov. Int.J.Syst.Evol.Microbiol.*, Vol.52, p .433-436.
- Nolte F.S., Metchock B., 1995.** *Mycobacterium*. In manual of clinical microbiologie 6th ed, American society for microbiology Washington Dc., Vol.34, p.400-437.

O

- OIE, Office International des Epizooties, 2009.** Chapter 2,4 ,7 . Bovine tuberculosis .OIE Terrestrial Manual..
- OIE, Office International des Epizooties , 2005.** Chapitre 2. 3.3. Tuberculose bovine .Manuel terrestre de l'OIE.

- OIE, Office International des Epizooties , 2011.**[http :WWW.oie.int.fr](http://WWW.oie.int.fr).
- OIE, Office International des Epizooties , 2013.**[http :WWW.oie.int.fr](http://WWW.oie.int.fr).
- Olsen I.,Boysen P .,Kulberg S.,Hope J.C.,Jungerson G.,Storest A.K.,2005.**Bovine NK cells can produce gamma interferon in response to the secreted mycobacterial proteins ESAT-6 and MMP14 but not in response to MPB70.*In:Infection and immunity*,Vol.73(9),P.5628-5635.
- Olsen I.,Barletta R. G., Theon C.O.,2010.***Mycobacterium* In Gyles C.L.Prescott J. F., Songer J G.Theon C.O. Pathogenesis of bacterial infection in animals.Fourth edition.
- O'reilly L.M. , Daborn C.J., 1995.** The epidemiology of *M bovis* infection in animals and man: a review. *In:Tubercle and Lung Disease*, Vol. 76(1), p. 1-46.
- OVF, Office Fédéral Vétérinaire ,2010.** Directives techniques sur les examens de dépistage de la tuberculose bovine, confédération Suisse ,10p.
- Ozyigit M.O.,Senturk S.,Akkok A.,2007.**Suspected congenital generalized tuberculosis in a new born calf. *In:Veterinary Record* ,Vol.160, p.307-308.

P

- Palmer M.V., Waters W.R., Whipple D.L.,2002.** Aerosol delivery of virulent *Mycobacterium bovis* to cattle . *In: Tuberculosis*,Vol. 82(6),p.275-282.
- 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.
- Palmer M.V., Waters W.R., 2006.**Advances in bovine tuberculosis diagnosis and pathogenesis: what policy makers need to know.*In: Veterinary Microbiology*,Vol.115,p.181-190.
- Panteix G.,2007.***Mycobacteries tuberculeuses .Précis de bactériologie Clinique* sous la direction de Freney J.,Renaud F.,Leclercq R et Riegel P.,Edition,ESKA.Vol.72,p.1267-1277.
- Parsons S., Smith S., Martins Q., Horsnell W., .Gous T.A.,Streicher E.M,Warren R.M.,Van Helden P.D .,Gey Van Pittius N.C., 2008.** Pulmonary infection due to the *Dassie bacillus* in a free-living dassie from South Africa.*In: Tuberculosis*, Vol. 88 (1), p.80-83.
- Pfyffer G.E., Auckenthaler R.,Van Embden J.D.A.,Van Soolingen D., 1998.** *Mycobacterium canetti*, the smooth variant of *Mycobacterium tuberculosis*, isolated from a Swiss patient exposed in Africa. *In:Emerg.Infect. Dis.*, Vol.4,p. 631-634.
- Phillips C.J.C., Foster C.R.W., Morris P.A., Teverson R.,2003.**The transmission of *Mycobacterium bovis* infection to cattle.*In:Research in Veterinary Science*.Vol.74.p.1-15.
- Pilet C.,Bourdon J.L.,Toma B.,Marchal N.,Balbastre C.,1981.**Bactériologie médicale et vétérinaire : systématique bactérienne.2^{ème} édition,436 p .

- Pollock J.M., Neill D., 2002.***Mycobacterium bovis* infection and tuberculosis in cattle.*In: The Veterinary Journal* ,Vol.163,p. 115-127.
- Pollock J.M.,Rodgers J.D.,Welsh M.D.,Menair J.,2006.**Pathogenesis of bovine tuberculosis :the role experimental models of infection .*In: Vet.Micro.*,Vol.112,p.141-150.
- Proano-Perez F.,Benitez-Ortiz W.,Desmecht D.,Coral M.,Ortiz J.,Ron L.,Partaels F.,Rigouts L.,Linden A.,2011.**Post-mortem examination and laboratory-based analysis for the diagnosis of bovine tuberculosis among dairy cattle in Ecuador. *In: Preventive Veterinary Medicine* ,Vol.101, p.65-72.
- Prodinger W.M .,Brandstatter A.,Naumann L.,Pacciarini M.,Kubika T.,Boschioli M.L.,Aranaz A.,Nagy G.,Cvetnic Z.,Occpek M.,Skrpnyk A.,Erler W.,Neimann S.,Pavlik I.,Moser I.,2005.**Characterization of *Mycobacterium caprae* isolates from Europe by mycobacterial interspersed repetitive unit genotyping .*In: Journal of Clinical Microbiology*,Vol.43(10),p.4984-4992.

R

- R version 2.14.1 (2011-12-22).** Copyright (C) 2011 The R Foundation for Statistical Computing. ISBN 3-900051-07-0.
- Radostits OM.,Blood DC.,Gay C.C.,1994.**Diseases caused by bacteria IV,*Mycobacterium* ssp.,*Veterinary Medicine,a textbook of the diseases of cattle,sheep,pigs,goats and horse.*Baillière Tindall.Eighth edition.Chapter19,p.830-850.
- Rastogi N., Legrand E., Soca C.,2001.** The *Mycobacteria*: in introduction to nomenclature and pathogenesis .*In: Rev.Sci.Tech.off.Int.Epiz.*, Vol. 20 (1),p.21-46.
- Riquelme L.A.Y.,2009.** *La tuberculose chez la faune sauvage captive et test de l'interferon gamma pour son diagnostic ante-mortem .Contribution à la mise en place d'un contrôle interne du test pour quelques espèces sauvages.*Thèse pour le doctorat vétérinaire ,Creteil,ENVA, 241 p.
- Ritacco V., Lopez B., De Kantor I.N., Barrera L., Errico F., Nadar A., 1991.**Reciprocal cellular and humoral immune responses in bovine tuberculosis.*In: Research in Veterinary Science*,Vol.50(3),p.365-367.
- 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 .*In: Clin.Infect.Dis.*,Vol.33,p.305-311.
- Runyon E. H.,1959.** Anonymous mycobacteria in pulmonaray disease. *In: Med. Clin. Amer.*, Vol.43,p.273-290.

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., Zelleg S., Yousfi N., Yala D., Boulahbal F., Zinsstag J., Guetarni D., 2009.** Enquete sur la tuberculose caprine dans deux abattoirs d'Algérie. In : *recueil d'épidémiologie animale*, Vol.3, p.45-49.
- 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. In : *Epidémiol et santé anim.*, Vol.57, p.147-154.
- Schelling E., Diguimbaye C., Hilty M., Baggi F., Ngandolo R., Zinsstag J., 2005.** Epidémiologie moléculaire des premiers isoléments de mycobactéries chez l'animal au Tchad. In : *Epidemiol. et Santé anim.*, Vol.48, p.81-91.
- 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. Toulouse, école nationale vétérinaire , 64p.
- Smith N.H., Crawshaw T., Parry J., Birtles R.J., 2009.** *Mycobacterium microti* : more diverse than previously thought. In : *Journal of Clinical Microbiology*, Vol.47(8), p.2551-2559.
- Sulieman M.S., Hamid M.E., 2002.** Identification of acid fast bacteria from caseous lesions in cattle in Sudan. In : *J. Vet. Med. B.*, Vol.49, p. 415-418
- Sunder S., Lanotte P., Godreuil S., Martin C., Boschioli M.L., Besnier J.M., 2009.** Human to human transmission of tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis* in immunocompetent patients. In : *Journal of Clinical Microbiology*, Vol.47(4), p.1249-1251.
- Supply P., Lesjean S., Savine E., Kremer K., Van Soulingen D., Locht C., 2001.** Automated high-throughput genotyping for study of global epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* based on mycobacterial interspersed repetitive units. In : *J. Clin. Microbiol.*, Vol.39(10), p.3563-3571.

T

- Tanner M., Michel A.L.,1999.** Investigation of the viability of *M. bovis* under different environmental conditions in the Kruger National Park. *In: J. Vet. Res.*, Vol. 66(3), p.185-190.
- Teklu A.,Asseged B.,Yimer E.,Gebeyehu M.,Woldesenbet Z.,2004.**Tuberculous lesions not detected by routine abattoir inspection :the experience of the Hossana municipal abattoir ,southern Ethiopia.*In:Rev.sci.tech.Off.int.Epiz.*,Vol.23(3), p.957-964.
- Tigre W., Alemayehu G., Abetu T., Ameni G., 2012.**Preliminary study on the epidemiology of bovine tuberculosis in Jimma town and its surroundings, southwestern Ethiopia. *In :African Journal of Microbiology Research*,Vol.6(11) ,p.2591-2597.
- Thoen C., Lobue P., De Kantor I., 2006.**Importance of *Mycobacterium bovis* as a zoonosis.*In :vet microbiol* , vol.112 ,p.339-345.
- Thoen C.O., Himes E.M.,1981.** Tuberculosis. *In: Infectious Diseases of Wild Mammals*. 2nd ed. Ames:The Iowa State University Press.p. 263-274.
- Thoen C.O., Himes E.M.,1984.** *Mycobacterium tuberculosis* complex. 1209-1236 in: G.P. Kubica and L.G. Wayne. The Mycobacteria: a Sourcebook, part B. Dekker, New York.
- Thom M., Morgan J.H., Hope J.C., Villareal-Ramos B., et al.,2004.** The effect of repeated tuberculin skin testing of cattle on immune responses and disease following experimental infection with *M. bovis*. *In:Vet. Immunol. Immunopathol.*,Vol. 102(4), p. 399-412.
- 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 .*In: vet .Res.*,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,p. 927-949.
- Toma B., Dufour B., 2004.** La nouvelle réglementation de la tuberculose animale en France, en 2004.*In :Bulletin des GT-N°23N* janvier/Février-2004-315-319.
- Torgerson P., Torgerson D.,2009.** Benefits of stemming bovine TB need to be demonstrated. *In: Nature*,Vol.457, p.657.
- Traoré A., Tamboura H.H., Bayala B.,Rouamba D.W., Yameogo N.,Sanou .,2004.**Prévalence globale des pathologies majeures liées à la production laitière bovine en système d'élevage intraurbain à Hamdallaye(Ouagadougou).*In :Biotechnol.Agro.Soc.Environ.*,Vol.8(1) ,p.3-8.

V

- Van Rhijn I., Godfroid J., Michel A., Rutten V., 2008.** Bovine tuberculosis as a model for human tuberculosis: advantages over small animal models. *In: Microbes and Infection*, Vol.10(7), p.711-715.
- Van Soolingen D., Hoogenboezem T., de Haas P. E., Hermans P. W.M., Koedam M. A., Teppema K. S., Brennan P. J., Besra G. S., Portaels F., Top J., Schouls L.M., Van Embden J.D., 1997.** A novel pathogenic taxon of the *Mycobacterium tuberculosis* complex, Canetti: characterization of an exceptional isolate from Africa. *In: Int.J.Syst. Bacteriol*, Vol.47, p.1236-1245.
- Van Soolingen D., Van der Zanden A.G., de Haas P.E., Noordhoek G.T., Kiers A., Foudraine N.A., Portaels F., Kolk A.H., Kremer K., Van Embden J.D., 1998.** Diagnosis of *Mycobacterium microti* infections among humans by using novel genetic markers. *In: J Clin Microbiol.*, Vol.36(7), p.1840–1845.
- Vervenne R., Jones S., Van Soolingen D., Laan T., Andersen P. et al., 2004.** Tuberculosis diagnosis in non-human primates: comparison of two interferon gamma and the skin for identification of *M. tuberculosis* infection. *In: Vet. Immunol. Immunopathol.*, Vol. 100, p.61-71.
- Vincet V., 1995.** Taxonomie des Mycobacteries. *In: Revue Française des laboratoires*, Février, n°273, p.27-31.
- Vordermeier H.M., Whelan A., Ewer K., Goodchild A.T., Clifton-Hadley R.S., Williams J., Hewinson R.G., 2006.** The bovigam assay as ancillary test to the tuberculin skin test. *In: Government Veterinary Journal*, Vol.16(1), p.72-80.

W

- Walravens K., Allix C., Supply P., Rigouts L., Godfroid J., Govaerts M., Portaels F., Dufey J., Vanholme L., Fauville-Dufaux M., Saegerman C., 2006.** Dix années d'épidémiologie moléculaire de la tuberculose bovine en Belgique. *In: épidémiol et santé anim.*, Vol.49, p.103-111.
- Ward A.I., Judge J., Delahay R.J., 2010.** Farm husbandry and badger behavior: opportunities to manage badger to cattle transmission of *Mycobacterium bovis*. *In: Preventive Veterinary Medicine*, Vol.93, p.2-10.
- WatreLOT-Virieux D., Drevon-Gaillot E., Toussaint Y., Belli P., 2006.** Comparaison of three diagnostic detection methods for tuberculosis in French cattle. *In: Journal of Veterinary Medicine*, Vol.53, p.321-325.

Wilkins M.J., Meyerson J., Bartlett P.C., Spicldenner S.L., Berry D.E., Mosher L.B., Kancene J. B., Robinson-Dunn B., Stobierski M.G., Boulton M.L., 2008. Humain Mycobacterium bovis infection and bovine tuberculosis outbreak, Michigan, 1994-2007 .In : *Emerging infectious diseases*, Vol.14(4), p.657-660.

Y

Yacob H.T., Basu A.K., Guesh N., 2008. Bovine pulmonary tuberculosis at Bahir Dar municipality abattoir, Ethiopia. In: *Bulletin of animal health and production in Africa*, Vol.56, N°3.

Yakhlef H., 1989. La production extensive de lait en Algerie .In: *options mediterranéennes* , N°6, p.135-139.

Z

Zinsstag J., Kazwala R.R. , Cadmus I., Ayanwale L., 2006. Mycobacterium bovis in Africa In C.O. Theon, J.H. Steel ,M .J.Gilsdorf, *Mycobacterium bovis* in animals and humans second edition, Blackwell publishing.

ANNEXES

Les annexes

Annexe 1

Fiche de renseignements de l'animal

Date :		Abattoir :	
N° de l'animal :			
Sexe :			
Age :			
Race :			
Partie touchée :			
Marqué T ou pas :			
Type de tuberculose (généralisé ou localisé) :			
N° du pot :			

Annexe 2

Matériel du laboratoire (appareillage et verrerie) :

Le matériel non biologique est utilisé pour :

1. La coloration de Ziel Neelsen :

Le matériel suivant a été utilisé :

- pots de prélèvement ;
- boîte de pétri ;
- mortier et pilon ;

- marqueur ;
- lames ;
- stylo métallique ;
- platine chauffante ;
- un plateau métallique ;
- un bec bunsen placé à l'intérieur de la hotte ;
- anse de platine ;
- un coton monté sur une tige métallique pour le flambage ;
- un portoir spécifique des lames pour le séchage à l'air libre ;
- un microscope biloculaire à lumière blanche avec un objectif à immersion $\times 100$.

2. La culture

Le matériel nécessaire est composé de :

- pots de prélèvement ;
- mortier et pilon ;
- agitateur de Khan ;
- tube à essai en plastique avec bouchon ;
- une centrifugeuse à 3000 T/mn ;
- tube de culture LJ ;
- pipette pasteur ;
- portoir pour tube à essai ;
- une étuve bactériologique.

3. L'identification biochimique :

Réduction des nitrates

Nous avons utilisé :

- anse de platine ;
- tube à hémolyse ;
- portoir pour tube à hémolyse ;
- bain marie ;
- une étuve bactériologique ;

- pipettes graduées ;
- bec bunsen.

L'activité catalasique

Ce matériel consiste en :

- anse de platine ;
- tubes à hémolyse ;
- portoir pour tube à hémolyse ;
- bec bunsen ;
- bain marie ;
- pipettes graduées ;
- une étuve bactériologique.

Croissance en présence de PNB :

Le matériel est composé de :

- anse de platine ;
- tube à vis stérile ;
- portoir pour tube à essai ;
- tube de culture de LJ ;
- tube de culture de LJ contenant du PNB (10mcg/ml) ;
- étuve bactériologique ;
- bec bunsen.

Croissance en présence de TCH

Le matériel consiste en :

- anse de platine ;
- tube à vis stérile ;
- portoir pour tube à essai ;
- tube de culture de LJ ;
- tube de culture de LJ contenant du TCH (5mcg/ml) ;

- étuve bactériologique ;
- bec bunsen.

Tout le matériel précédemment citer nécessite une hotte de biosécurité.

Annexe 3

Milieu de culture , réactifs et solutions :

I.Milieu de culture (milieu de Löwenstein-Jensen (LJ)) :

Composition :

- Phosphate monopotassique (KH_2PO_4).....2,4g
- Sulfate de magnésium.....0,24g
- Citrate de magnésium.....0,6g
- Asparagine.....3,6g
- Glycérine.....12ml
- Féculé de pomme de terre30g
- Vert de malachite.....à 2%
- Œufs(20-22).....1l
- Eau distillée.....600ml

Le milieu est filtré ,distribué en tubes et coagulé à 85°C pendant 40 à 50 mn en position incliné.

II- Réactifs et solutions

II.1. Réactifs de la coloration de Ziehl-Neelsen:

1- Composition de la Fuschine phéniquée :

- Fuchsine basique10g
- Alcool éthylique à 95%.....100ml
- Phénol liquide55ml
- Eau distillée.....1000ml

2- Composition de l'acide sulfurique dilué au ¼ :

- Eau distillée.....750 ml
- Acide sulfurique.....250ml

3- Composition du bleu de méthylène :

- Bleu de méthylène.....5mg
- Eau distillée stérile.....100ml

Conserver à l'obscurité et au froid.

II.2.Réactifs de l'identification biochimique :**● La réduction des nitrates****✓ Solution de nitrate de soude à 0,085%**

- Eau distillée.....1000ml
- Nitrate de soude.....0,85g
- Tween 80.....5ml

✓ Réactif de Greiss-Ilosvay :**Nitrate réductase I (NRI)**

- Acide sulfanilique.....0,80g
- Acide acétique.....30ml
- Eau distillée.....100ml

Nitrate réductase II (NRII)

- Alpha -naphthylamine.....0,50g
- Acide acétique30ml
- Eau distillée.....100 ml

■ L'activité catalasique :

- Tween 80.....10ml
- H₂O₂ à 110 volumes.....30ml
- Eau distillée.....170ml

-Dissoudre à chaud le Tween 80 dans l'eau distillée.

-Ajouter l'eau oxygénée lorsque le premier mélange est refroidi.

Annexe 4

Coloration de Ziel Neelsen

Principe de lecture au microscope optique binoculaire

- Allumer la lampe du microscope.
- Vérifier que la lame colorée est bien sèche.
- Déposer une goutte d'huile à immersion sur un coin de frottis .
- Placer la lame sur le chariot du microscope et déplacer le chariot jusqu'à ce que la goutte soit sur l'axe de l'objectif.
- Faire la mise au point avec la vis macro-métrique , puis la vis micrométrique jusqu'à ce que le frottis soit vu très clairement.
- Commencer l'examen de frottis champ par champ à la recherche de batonnets rouges droits ou incurvés, isolé ou en amas.Faire toujours le décompte en rapport avec le nombre de champs examinés ,dont une surface observée représente un champ microscopique.

Lecture :

Le frottis doit être lu sur toute sa longueur, ce qui correspond à environ 100 champs microscopique, on note le nombre de bacilles (bâtonnets rouges) qui sont décelés.

Si aucun bacille n'est découvert sur 100 champs, on décale le chariot du microscope d'un cran vers l'avant ou vers l'arrière pour lire en sens inverse la ligne suivante et ainsi de suite jusqu'à parcourir 3 longueurs de lame ou 300 champs microscopiques. Les résultats de la lecture sont rapportés dans le tableau ci-dessous.

 Résultat de la microscopie

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