



# **ECOLE INTER-ETATS DES SCIENCES ET MEDECINE VETERNAIRES DE DAKAR**

BP 5077 - DAKAR (Sénégal)  
Tél. (221) 865 10 08 - Télécopie (221) 825 42 83

---

## **COMITE DE DIRECTION**

---

LE DIRECTEUR

▫ **Professeur Louis Joseph PANGUI**

LES COORDONNATEURS

▫ **Professeur Justin Ayayi AKAKPO**  
*Coordonnateur Recherche /Développement*

▫ **Professeur Germain Jérôme SAWADOGO**  
Coordonnateur des Stages et de la  
Formation Post-Universitaires

▫ **Professeur Moussa ASSANE**  
Coordonnateur des Etudes

**Année Universitaire 2008-2009**

## **PERSONNEL ENSEIGNANT**

☞ **PERSONNEL ENSEIGNANT EISMV**

☞ **PERSONNEL VACATAIRE (PREVU)**

☞ **PERSONNEL EN MISSION (PREVU)**

☞ **PERSONNEL ENSEIGNANT CPEV (PREVU)**

**A. DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET PRODUCTIONS  
ANIMALES**

**CHEF DE DEPARTEMENT : Ayao MISSOHOU, Professeur**

**SERVICES**

**1. ANATOMIE-HISTOLOGIE-EMBRYOLOGIE**

Serge N. BAKOU	Maître de conférences agrégé
Gualbert Simon NTEME ELLA	Assistant
Mlle Sabine NGA OMBEDE	Monitrice
Mr Bernard Agré KOUAKOU	Moniteur
Mlle Rose Eliane PENDA	Docteur Vétérinaire Vacataire

**2. CHIRURGIE –REPRODUCTION**

Papa El Hassane DIOP	Professeur
Alain Richi KAMGA WALADJO	Assistant
Bilkiss V.M ASSANI	Docteur Vétérinaire Vacataire
Fabrice Juliot MOUGANG	Docteur Vétérinaire Vacataire

**3. ECONOMIE RURALE ET GESTION**

Cheikh LY	Professeur
Adrien MANKOR	Assistant
Mr Gabriel TENO	Moniteur

**4. PHYSIOLOGIE-PHARMACODYNAMIE-THERAPEUTIQUE**

Moussa ASSANE	Professeur
Rock Allister LAPO	Assistant
Mr Sabra DJIGUIBET	Moniteur

**5. PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES**

Germain Jérôme SAWADOGO	Professeur
Mouiche MOULIOM	Docteur Vétérinaire Vacataire
Mr Pascal NYABINWA	Moniteur

**6. ZOOTECHNIE-ALIMENTATION**

Ayao MISSOHOU	Professeur
Simplex AYESEDEWEDE	Assistant
Kouamé Marcel N'DRI	Moniteur

**B. DEPARTEMENT DE SANTE PUBLIQUE ET ENVIRONNEMENT**

**CHEF DE DEPARTEMENT : Rianatou BADA ALAMBEDJI, Professeur**

**S E R V I C E S**

**1. HYGIENE ET INDUSTRIE DES DENREES ALIMENTAIRES D'ORIGINE ANIMALE (HIDAOA)**

Malang SEYDI	Professeur
Bellancille MUSABYEMARIYA	Assistante
Khalifa Babacar SYLLA	Assistant
Mr David RAKANSOU	Docteur Vétérinaire Vacataire
Mr Eugène NIYONZIMA	Moniteur

**2. MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-PATHOLOGIE INFECTIEUSE**

Justin Ayayi AKAKPO	Professeur
Mme Rianatou ALAMBEDJI	Professeur
Philippe KONE	Assistant
Jean Marc FEUSSOM KAMENI	Docteur Vétérinaire Vacataire
Abdel-Aziz ARADA IZZEDINE	Docteur Vétérinaire Vacataire

**3. PARASITOLOGIE-MALADIES PARASITAIRES-ZOOLOGIE APPLIQUEE**

Louis Joseph PANGUI	Professeur
Oubri Bassa GBATI	Maître-assistant
Paul Armand AZEBAZE SOBGO	Docteur Vétérinaire Vacataire

**4. PATHOLOGIE MEDICALE-ANATOMIE PATHOLOGIQUE – CLINIQUE AMBULANTE**

Yalacé Yamba KABORET	Professeur
Yaghouba KANE	Maître-assistant
Mireille KADJA WONOU	Assistante
Medoune BADIANE	Docteur Vétérinaire (SOVETA)
Omar FALL	Docteur Vétérinaire (WAYEMBAM)
Alpha SOW	Docteur Vétérinaire (PASTAGRI)
Abdoulaye SOW	Docteur Vétérinaire (FOIRAIL)
Ibrahima WADE	Docteur Vétérinaire Vacataire
Charles Benoît DIENG	Docteur Vétérinaire Vacataire
Togniko Kenneth TCHASSOU	Moniteur
Enock NIYONDAMYA	Moniteur

**5. PHARMACIE-TOXICOLOGIE**

Félix Cyprien BIAOU	Maître-Assistant ( <i>en disponibilité</i> )
Gilbert Komlan AKODA	Assistant
Assiongbon TEKOU AGBO	Assistant

Abdou Moumouni ASSOUMY

Moniteur

**C. DEPARTEMENT COMMUNICATION**

**CHEF DE DEPARTEMENT : YALACE YAMBA KABORET, Professeur**

**SERVICES**

**1. BIBLIOTHEQUE**

Mariam DIOUF

Documentaliste

**2. SERVICE AUDIO-VISUEL**

Bouré SARR

Technicien

**3. OBSERVATOIRE DES METIERS DE LELEVAGE (OME)**

**D. SCOLARITE**

El Hadji Mamadou DIENG

Vacataire

Mlle Houénafa Chimelle DAGA

Monitrice

Mlle Aminata DIAGNE

Secrétaire

## PERSONNEL VACATAIRE (Prévu)

### 1. BIOPHYSIQUE

Boucar NDONG

Assistant

**Faculté de Médecine et de Pharmacie UCAD**

### 2. BOTANIQUE

Dr Kandouioura NOBA

Dr Mame Samba MBAYE

Maître de Conférences (**Cours**)

Assistant (**TP**)

**Faculté des Sciences et Techniques UCAD**

### 3. AGRO-PEDOLOGIE

Fary DIOME

Maître-Assistant

Institut de Science et de la Terre (**IST**)

### 4. ZOOTECHNIE

Abdoulaye DIENG

Docteur Ingénieur

Enseignant à ENSA - THIES

Léonard Elie AKPO

Professeur

Faculté des Sciences et Techniques UCAD

Alpha SOW

Docteur Vétérinaire Vacataire

### 5. H I D A O A

#### . NORMALISATION ET ASSURANCE QUALITE

Mme Mame S. MBODJ NDIAYE

Chef de la division Agro-alimentaire de  
L'Institut Sénégalais de Normalisation

#### . ASSURANCE QUALITE – CONSERVE DES PRODUITS DE LA PECHE

Abdoulaye DIAWARA

Direction de l'Elevage du Sénégal

## PERSONNEL EN MISSION (Prévu)

### 1. TOXICOLOGIE CLINIQUE

Abdoulaziz EL HRAIKI

Professeur  
Institut Agronomique et Vétérinaire  
Hassan II Rabat (Maroc)

### 2. PATHOLOGIE CHIRURGICALE

Mohamed AOUINA

Professeur  
Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire de TUNISIE

### 3. REPRODUCTION

Hamidou BOLY

Professeur  
Université de BOBO-DIOULASSO (Burkina Faso)

### 4. ZOOTECHNIE-ALIMENTATION ANIMALE

Jamel RKHIS

Professeur  
Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire de TUNISIE

## PERSONNEL ENSEIGNANT CPEV (Prévu)

### 1. MATHEMATIQUES

Abdoulaye MBAYE                      Assistant  
Faculté des Sciences et Techniques                      UCAD

### 2. PHYSIQUE

Issakha YOUM                      Maître de Conférences (**Cours**)  
Faculté des Sciences et Techniques UCAD

André FICKOU                      Maître-Assistant (**TP**)  
Faculté des Sciences et Techniques UCAD

### 3. CHIMIE ORGANIQUE

Abdoulaye SAMB                      Professeur  
Faculté des Sciences et Techniques UCAD

### 4. CHIMIE PHYSIQUE

Abdoulaye DIOP                      Maître de Conférences  
Mame Diatou GAYE SEYE                      Maître de Conférences  
Faculté des Sciences et Techniques                      UCAD

Rock Allister LAPO                      Assistant (**TP**)  
EISMV – DAKAR  
Momar NDIAYE                      Assistant (**TD**)  
Faculté des Sciences et Techniques UCAD

### 5. BIOLOGIE VEGETALE

**Dr** Aboubacry KANE                      Maître-Assistant (**Cours**)  
**Dr** Ngansomana BA                      Assistant Vacataire (**TP**)  
Faculté des Sciences et Techniques UCAD

### 6. BIOLOGIE CELLULAIRE

Serge Niangoran BAKOU                      Maître de conférences agrégé  
EISMV - DAKAR

### 7. EMBRYOLOGIE ET ZOOLOGIE

Karomokho DIARRA                      Maître de conférences  
Faculté des Sciences et Techniques UCAD

### 8. PHYSIOLOGIE ANIMALE

Moussa ASSANE                      Professeur



**9. ANATOMIE COMPAREE DES VERTEBRES**

Cheikh Tidiane BA

Professeur  
Faculté des Sciences et Techniques  
UCAD

**10. BIOLOGIE ANIMALE (T.P.)**

Serge Niangoran BAKOU

Maître de conférences agrégé  
EISMV - DAKAR

Oubri Bassa GBATI

Assistant  
EISMV - DAKAR

Gualbert Simon NTEME ELLA

Assistant - DAKAR

**11. GEOLOGIE**

**. FORMATIONS SEDIMENTAIRES**

Raphaël SARR

Maître de Conférences  
Faculté des Sciences et Techniques  
UCAD

**. HYDROGEOLOGIE**

Abdoulaye FAYE

Maître de Conférences  
Faculté des Sciences et Techniques  
UCAD

**12. CPEV TP**

**Travaux Pratiques**

Houénafa Chimelle DAGA

Monitrice

Je rends grâce à ALLAH, le Tout Puissant, le Miséricordieux et dédie  
ce travail à ...

A mon père,

Ta bonté, ton goût du travail bien fait, ton intégrité sont et seront toujours pour moi une référence.

Trouve en ce travail, le faible témoignage de mon affection et de ma reconnaissance.

A ma mère,

Tu as toujours porté un vif intérêt au cheminement intellectuel de tes enfants. Trouve dans ce modeste travail, l'expression de ma profonde et tendre affection pour tes sacrifices et inquiétudes que nous avons pu te coûter. Qu'ALLAH nous laisse longtemps sur terre pour que je puisse te témoigner à maintes reprises toute ma reconnaissance.

A mon frère, Sandéné DIAGNE, à mes sœurs Mayé, Coumba et Mbenda, vous avez effectivement compris que « l'union fait la force ». En effet, vous avez chacun, pour une part importante, contribué à ma réussite. Ce travail est le vôtre.

A mon mari, Youssou DIEDHIOU, pour ton soutien sans faille et ta profonde affection. Que Dieu te garde encore longtemps à mes côtés.

A mon fils, Mohamed Samba DIEDHIOU, à mes nièces, Fatou DIAGNE et Haby Dieynaba WADE, à mon neveu Ibrahima NDIAYE, votre arrivée au sein de la famille a comblé de joie tout un chacun. Puisse Dieu vous accorder une longue vie et une santé de fer.

A mes beaux frères, Ibrahima WADE, Ouzin NDIAYE et Mamadou Lamine NDIAYE, et à ma belle soeur Ndèye Fatou DIOP DIAGNE, tout le plaisir est pour moi de vous dédier ce travail.

A ma belle mère, Mariama THIANE, la plus adorable des belles-mamans.

A mes belle- soeurs Mme Diagne Fidi DIEDHIOU, Mme Sidibé Diatou DIEDHIOU, Mme Diouf Yaye DIEDHIOU, Mme Aidara Léna AIDARA, Fanta BADIANE ainsi qu'à leurs familles, pour m'avoir accueillie si chaleureusement parmi vous.

A mes beaux frères, Ismael DIEDHIOU, Ibou DIEDHIOU et Moussa BADIANE ainsi qu'à leurs femmes, sincère gratitude.

A monsieur Moussa SENE, technicien du laboratoire de MIPI à l'EISMV, rien n'est suffisant pour vous exprimer ma profonde reconnaissance pour le soutien sincère et constant que vous m'avez toujours apporté. Puisse ce travail vous honorer.

A mes tantes Aissatou BADIANE, Mbakhé BADIANE, Ndèye Diène BADIANE, Sadio NIANE et à leurs familles respectives, j'ai l'immense joie de vous dédier ce travail.

A mon oncle, Badou BADIANE, vos prières nous ont toujours accompagnées.

A Mamadou BA, plus qu'un ami, tu es un frère. Reçois ici, le témoignage de ma grande reconnaissance pour le soutien actif que tu m'as prodigué tout au long de mes études.

A mes cousines, Ndèye Yacine CISSE, Josiane BARRY, Bassine DIOP, Ngoné DIOUF et Fatoumata DIOUF, ce travail vous est entièrement dédié.

A mes cousins, Pape CISSE, Alioune DIOUF, Djiby NIANG, Pape Samba NDIAYE, Pa Sidy BADIANE et Amadou BARRY, ce travail est le vôtre.

A la 33<sup>ième</sup> promotion, particulièrement à Patrick NJONG, Ibrahima NDAO, René Karim, Thoto, Claude, sincère reconnaissance.

A ma grande amie Prisca, à ma grande soeur Maguette NDIAYE, à Awa Guèye FALL, que Dieu fasse que notre amitié dure toute la vie.

A mes cadets du véto, Matar SEYDI, Mamadou Lamine DIALLO, Abdou SANE, Maodo NGOM, Robane FAYE, Ousmane NDIAYE, Daouda NDAO et les autres, pour votre sollicitude et votre amitié.

Pensée pieuse à :

- mes grands-parents paternels, Diam DIAGNE et Samba Tew DIOUF, que je n'ai pas eu la chance de connaître,
- mon grand père, Sidi BADIANE, qui nous a tant aimé,
- mon cousin, Feu Ababacar Mbaye NDOUR, ton sourire et ta disponibilité nous manqueront à jamais,
- mes amis Ibrahima NDIAYE, Alassane DEME et Omar SANE, je ne vous oublierai jamais,
- Tonton El Hadj THIANE, trop vite arraché à notre affection, que la terre leur soit légère.

## **A NOS MAITRES ET JUGES**

**A notre maître et Présidente de jury,**

**Madame Aïssatou GAYE DIALLO**, Professeur à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie de Dakar,

Vous nous faites le grand honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse malgré vos multiples occupations.

Hommages respectueux et sincères.

**A notre maître, Directeur et Rapporteur**

**de thèse,**

**Monsieur Justin Ayayi AKAKPO**, Professeur à l'EISMV de Dakar,

Inspirateur du présent travail, vous avez guidé avec compétence et rigueur tout au long de son élaboration.

Veillez trouver, ici, l'expression de notre profonde reconnaissance.

**A notre maître et juge,**

**Madame Rianatou BADA ALAMBEDJI**, Professeur à l'EISMV de Dakar,

Une reconnaissance pour la bienveillance que vous n'avez cessée de nous témoigner au cours de nos études et pour la sympathie dont vous nous honorez en acceptant de siéger dans notre jury de thèse.

## REMERCIEMENTS

A tout le corps enseignant de l'EISMV et tous ceux qui m'ont enseigné depuis le primaire en passant par le lycée Lamine Guèye jusqu'à l'université.

A tout le personnel de l'EISMV, particulièrement à Monsieur DIENG de la scolarité, mes pères Mohamed DIEDHIOU, Lamine DIEDHIOU, FALL et Madame DIOUF, la bibliothécaire pour leur soutien constant.

Au Docteur DATH de la SOGAS pour sa collaboration et à Monsieur GUEYE ancien directeur commercial de la SOGAS.

Aux agents techniques de l'élevage de la SOGAS : Messieurs THIAM, DIOP et NDIAYE pour votre immense aide et votre disponibilité.

Aux professionnels de la viande à la SOGAS, plus particulièrement à Bilal FALL, Mouhamadou DIENG, Bilal NDIAYE, Jihdou, Assane, Sokhrane, Bass, Sidi DICKO et Lamine KANE pour votre gentillesse et votre amabilité.

A mon oncle Monsieur MBAYE, pour votre bienveillante attention et à sa femme Madame MBAYE, pour toutes les connaissances que vous m'avez inculquées en sciences naturelles.

Au professeur MISSOHOU, pour votre soutien sans faille.

A Madame ALAMBEDJI, pour vos conseils et votre soutien constant.

A Borna MULLER, pour votre grande collaboration.

A Abdourahmane TALL, pour votre aide sur le plan informatique.

A Djiby DIA de l'ISRA, pour sa disponibilité dans l'élaboration des cartes.

Au personnel du laboratoire de bactériologie-virologie de l'Hôpital Aristide le Dantec, particulièrement à Yacine et Maxime.

Au personnel de l'ATN, avec à leur tête Monsieur SOUMARE, pour votre aide précieuse.

Au personnel de la DIREL, particulièrement à Madame NDIAYE Khady Fall, Monsieur Mamadou MANE, Monsieur MBAYE et au Docteur Mbargou LO.

A Monsieur DIATTARA de l'UCAD, pour sa franche collaboration.

A Monsieur DJIGAL du Programme National de lutte contre la Tuberculose pour son appui conséquent.

Au Docteur Abdel Aziz ARADA IZZEDINE pour son aide et son amabilité.

Au chauffeur, Alpha DIALLO, pour sa disponibilité.

A l' AEVD et à l'AEVS.

Et tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à l'aboutissement de ce travail.



« Par délibération, la Faculté et l'Ecole ont décidé que les opinions émises dans les dissertations qui leur seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner aucune approbation ni improbation. »

## LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ATP : Adénine triphosphate

BAAR : Bacilles acido-alcool-résistants

BK : Bacille de Koch

CIDT : Test de Comparaison de tuberculisation intradermique

CMTB : Complexe *Mycobacterium tuberculosis*

CTP : Cytosine triphosphate

DIREL : Direction de l'élevage

EDTA : Ethylène diamine tétra acétique

EISMV : Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires

ETR : Répétitions exactes en tandem

G : Glycériné

GOANA : Grande Offensive Agricole pour la Nourriture et l'Abondance

GTP : Guanine triphosphate

HIDAOA : Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale

HSR : Hypersensibilité retardée

IA : Insémination Artificielle

INH : Isoniazide

LNERV : Laboratoire National D'Elevage et de Recherches Vétérinaires

MgCl<sub>2</sub> : Chlorure de Magnesium

MIPI : Microbiologie-Immunologie-Pathologie Infectieuse

MIRU : Unités répétitives de diversifications bactériennes

NAD : Nicotinamide Adénine Di nucléotide

NTP : Nucléoside triphosphate

OIE : Office International de l'Épizootie

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PACE : Programme panafricain de lutte contre les épizooties

PAPEL : Projet d'Appui à l'Élevage

Pb : Paires de bases

PCR : Réaction de polymérisation en Chaîne

PNT : Programme National de Lutte contre la Tuberculose

RES : Réseaux d'épidémiosurveillance

SIDA : Syndrome de l'Immuno Déficience Acquise

SOGAS : Société de Gestion des Abattoirs du Sénégal

TBE : Tri Borate EDTA

TPM+ : Tuberculose pulmonaire à frottis positif

TTP : Thymine triphosphate

UEMOA : Union Economique Monétaire Ouest Africaine

VIH : Virus de l'Immuno Déficience Humaine

VNTR : Nombre variable de répétitions de tandem

## ILLUSTRATIONS

### ❖ TABLEAUX

<b>TABLEAU I</b> : Evolution des effectifs du cheptel entre 2000 et 2006 (nombre de têtes fois 1000) -----	6
<b>TABLEAU II</b> : Evolution de la production locale et des importations de viande et d'abats (en tonnes) -----	10
<b>TABLEAU III</b> : Importations en 2006 (en tonnes) -----	11
<b>TABLEAU IV</b> : Principales mycobactéries actuellement reconnues -----	15
<b>TABLEAU V</b> : Caractères distinctifs des bacilles tuberculeux -----	22
<b>TABLEAU VI</b> : Pouvoir pathogène des principaux bacilles tuberculeux pour les différentes espèces animales et l'homme -----	24
<b>TABLEAU VII</b> : Isolements de <i>Mycobacterium bovis</i> sur 12 carcasses de bovins en provenance de l'abattoir de Dakar -----	41
<b>TABLEAU VIII</b> : Prévalence de la tuberculose bovine dans le bassin arachidier entre 2000 et 2003 -----	42
<b>TABLEAU IX</b> : Saisies de viande bovine en 2002 aux abattoirs de Dakar -----	42
<b>TABLEAU X</b> : Saisies de viande bovine en 2003 aux abattoirs de Dakar -----	43
<b>TABLEAU XI</b> : Mycobactéries atypiques isolées à Dakar à l'occasion d'enquêtes épidémiologiques systématiques -----	46
<b>TABLEAU XII</b> : Mycobactéries atypiques reçues de divers Etats d'Afrique de l'Ouest pour identification ou isolées à Dakar -----	47
<b>TABLEAU XIII</b> : Etat de la tuberculose bovine dans 17 pays africains en développement -----	48
<b>TABLEAU XIV</b> : tableau d'interprétation de la méthode MIRU-et ETR-VNTR -----	61
<b>TABLEAU XV</b> : Résultats de la collecte de prélèvements suspects de tuberculose aux abattoirs de Dakar -----	65

<b>TABLEAU XVI</b> : Nombre des saisies -----	65
<b>TABLEAU XVII</b> : Races saisies -----	66
<b>TABLEAU XVIII</b> : Résultat final -----	67
<b>TABLEAU XIX</b> : Récapitulatif des résultats positifs au laboratoire et aux abattoirs -----	68
<b>TABLEAU XX</b> : Résultats des tests biochimiques -----	69
<b>TABLEAU XXI</b> : Comparaison des résultats des méthodes biochimique et biomoléculaire -----	73

## ❖ FIGURES

<b>Figure 1</b> : Divisions administratives du Sénégal -----	4
<b>Figure 2</b> : Systèmes d'élevage au Sénégal -----	9
<b>Figure 3</b> : Représentation schématique des principales interrelations des tuberculoses animale et humaine -----	25
<b>Figure 4</b> : Etat de la tuberculose bovine dans certains pays de l'Afrique de l'Ouest et de l'Afrique Centrale -----	51
<b>Figure 5</b> : Exemples de saisies pour une suspicion de tuberculose -----	56
<b>Figure 6</b> : Fréquence des âges -----	66
<b>Figure 7</b> : Résultats de la détection des produits PCR avec les amorces de MIRU 26 -----	70
<b>Figure 8</b> : Résultats de la détection des produits PCR avec les amorces de ETR A --	71
<b>Figure 9</b> : Résultats de la détection des produits PCR avec les amorces de ETR C --	72

# Table des Matières

<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>1</b>
<b>PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE SUR L'ELEVAGE BOVIN AU SENEGAL ET LA TUBERCULOSE BOVINE</b>	
<b>CHAPITRE I : L'ELEVAGE BOVIN AU SENEGAL</b> .....	<b>3</b>
<b>I. PRESENTATION DU SENEGAL</b> .....	<b>3</b>
1. Situation .....	3
2. Population .....	5
3. Relief .....	5
4. Climat .....	5
<b>II. ELEVAGE AU SENEGAL</b> .....	<b>6</b>
1. Cheptel .....	6
2. Principales races de bovins exploitées au Sénégal .....	7
3. Systèmes d'élevage .....	8
4. Principales filières en productions animales en rapport avec la tuberculose bovine .....	10
<b>CHAPITRE II : GENERALITES SUR LA TUBERCULOSE BOVINE</b> .....	<b>13</b>
<b>I. DEFINITION</b> .....	<b>13</b>
<b>II. AGENT ETIOLOGIQUE : les bacilles tuberculeux</b> .....	<b>13</b>
1. Classification des bacilles tuberculeux .....	14
2. Caractères morphologiques et affinité tinctoriale des bacilles Tuberculeux .....	16
3. Caractères cultureux et biochimiques des bacilles tuberculeux .....	16
3.1. Caractères cultureux .....	16
3.1.1. Milieux de cultures .....	17

a. Milieux de croissance usuels -----	17
a.1. Milieux gélosés -----	17
a.2. Milieux liquides -----	18
b. Aspects des cultures -----	.18
b.1. Mycobactéries usuelles -----	.19
b.2. Mycobactéries atypiques -----	19
3.2. Caractères biochimiques -----	.20
3.3. Résistance et sensibilité des bacilles tuberculeux -----	23
3.3.1. Résistance -----	23
3.3.2. Sensibilité -----	23
4. Pouvoir pathogène des bacilles tuberculeux -----	24
5. Pouvoir antigène -----	26
6. Pouvoir allergène et immunogène -----	27
<b>III. PATHOGENIE -----</b>	<b>29</b>
1. Etape primaire -----	30
2. Tuberculose secondaire -----	31
<b>IV. SYMPTÔMES ET LESIONS -----</b>	<b>31</b>
1. Symptômes -----	31
2. Lésions -----	32
<b>V. EPIDEMIOLOGIE DE LA TUBERCULOSE -----</b>	<b>33</b>
1. Epidémiologie analytique -----	33
1.1. Sources de contamination -----	33
1.2. Réceptivité -----	34
1.3. Modalités de contamination -----	35
2. Epidémiologie synthétique -----	35
<b>VI. DIAGNOSTIC -----</b>	<b>36</b>
1. Diagnostic sur le terrain -----	36
1.1. Eléments épidémiologiques -----	36
1.2. Eléments cliniques -----	36

1.3. Eléments nécropsiques -----	37
1.4. Méthode allergique -----	37
2. Diagnostic au laboratoire -----	37
2.1. Méthode histopathologique -----	37
2.2. Méthode bactériologique -----	37
2.3. Méthode sérologique -----	39
<b>CHAPITRE III : TUBERCULOSES BOVINE ET HUMAINE AU SÉNÉGAL -----</b>	<b>40</b>
<b>I. HISTORIQUE -----</b>	<b>40</b>
<b>II. SITUATION DES TUBERCULOSES BOVINE ET HUMAINE -----</b>	<b>40</b>
1. Tuberculose bovine au Sénégal -----	40
2. Tuberculose humaine au Sénégal -----	44
3. Mycobactérioses dues à des mycobactéries atypiques au Sénégal -----	45
<b>III. IMPORTANCE DE LA TUBERCULOSE BOVINE DANS D'AUTRES PAYS D'AFRIQUE -----</b>	<b>48</b>



**DEUXIEME PARTIE : IDENTIFICATION BIOCHIMIQUE ET BIOMOLECULAIRE  
DES BACILLES ACIDO-ALCOOLO-RESISTANTS ISOLES DES PRELEVEMENTS  
SUSPECTS DE TUBERCULOSE BOVINE AUX ABATTOIRS DE DAKAR**

**CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES ----- 52**

**I. MATERIEL ----- 52**

1. Lieu de prélèvement ----- 52

2. Matériel ----- 52

2.1. Sur le terrain ----- 52

2.2. Au laboratoire ----- 53

**II. METHODES DE TRAVAIL ----- .55**

1. Sur le terrain ----- 55

2. Au laboratoire ----- 57

2.1. Méthode classique : isolement et identification du germe ----- 57

2.2. Méthode biomoléculaire : la PCR ----- 59

**CHAPITRE II : RESULTATS ----- 63**

**I. DU TERRAIN ----- 63**

1. Prévalence des lésions tuberculeuses ----- 65

2. Fréquence des saisies des animaux abattus ----- 65

3. Age, race, sexe et origine des animaux saisis ----- 66

**II. DE LABORATOIRE ----- 67**

1. Bactérioscopie sur organe et mise en culture ----- 67

2. Caractérisation biochimique ----- 68

3. Caractérisation moléculaire ----- 69

4. Comparaison des résultats obtenus par la méthode  
classique d'identification et la méthode biomoléculaire ----- 73

**CHAPITRE III : DISCUSSION ET RECOMMANDATIONS ----- 74**

**I. DISCUSSION ----- 74**

1. Matériel et méthodes ----- 74

1.1. Sur le terrain ----- 74

1.2. Au laboratoire ----- 74

2. Résultats ----- .75

1.1. Du terrain ----- .75

1.2. De laboratoire ----- 77

**II. RECOMMANDATIONS ----- 79**

1. Aux autorités administratives ----- 79

2. Aux vétérinaires et techniciens de l'élevage ----- 79

3. Aux éleveurs ----- 81

4. Aux consommateurs ----- 81

5. Aux médecins ----- 82

**CONCLUSION ----- 83**

**BIBLIOGRAPHIE ----- 86**

**ANNEXES**

## INTRODUCTION

Dans les pays en voie de développement, l'élevage représente l'un des principaux piliers de l'économie nationale. Son importance tient à ses aspects économiques (commerce, épargne, outils de travail...), sociaux (hiérarchie, culture...) et alimentaires (consommation de lait, viande, œufs...).

La forte croissance démographique des pays pauvres, le changement socio-économique (exode rurale, urbanisation), la faible performance de l'élevage traditionnel par rapport à l'élevage intensif périurbain et l'amplification des échanges commerciaux sont à même de favoriser, à terme, le risque d'une catastrophe sanitaire (grandes épizooties, zoonoses...).

Des maladies jadis éradiquées de certaines régions d'Europe telles que la fièvre aphteuse, la rage, la tuberculose bovine, restent enzootiques dans de nombreux pays en voie de développement. La tuberculose bovine, objet de notre étude, constitue une maladie enzootique avec une signification socio-économique potentielle en santé publique puisqu'elle peut impacter sur le commerce international des animaux et des produits animaux. La tuberculose bovine, due à *Mycobacterium bovis* et ayant comme principal victime les bovins, affecte d'autres animaux aussi bien domestiques que sauvages et les hommes. La maladie est présente dans 33 (80%) des 43 pays membres de l'OIE (AYELE et coll., 2004).

Au Sénégal, l'existence de la tuberculose bovine est connue depuis très longtemps. En effet, depuis 1931, des études sur la tuberculose bovine ont toutes démontré la faiblesse de l'incidence de la maladie dans le pays. Dans le souci de connaître l'évolution de la tuberculose bovine, nous avons entrepris une étude aux abattoirs de Dakar. Les abattoirs de Dakar sont gérés par la SOGAS (Société de Gestion des Abattoirs du Sénégal) et le cheptel, qui y est abattu, est représentatif du pays. L'objectif spécifique de cette étude est l'identification des souches de *Mycobacterium bovis* isolées des prélèvements suspects de tuberculose par la méthode classique (tests biochimiques) mais surtout, l'identification par la méthode biomoléculaire à travers une de ses techniques : la PCR qui est une technique très efficace, rapide, fiable avec un avenir dans toutes les recherches scientifiques à venir.

Le travail est présenté en deux parties :

- la première partie, qui est bibliographique, porte sur l'élevage bovin au Sénégal, la tuberculose bovine en général et au Sénégal en particulier avec une attention sur la tuberculose humaine ;
- la deuxième partie, qui est expérimentale, présente le matériel et les méthodes utilisés sur le terrain et au laboratoire mais aussi la présentation des résultats de collectes des prélèvements aux abattoirs de Dakar, des identifications biochimique et biomoléculaire des mycobactéries. Ces résultats seront ensuite discutés et des recommandations faites à l'endroit de l'Etat, des vétérinaires et des professionnels de l'élevage, des éleveurs, des consommateurs et des médecins.

## **PREMIERE PARTIE :**

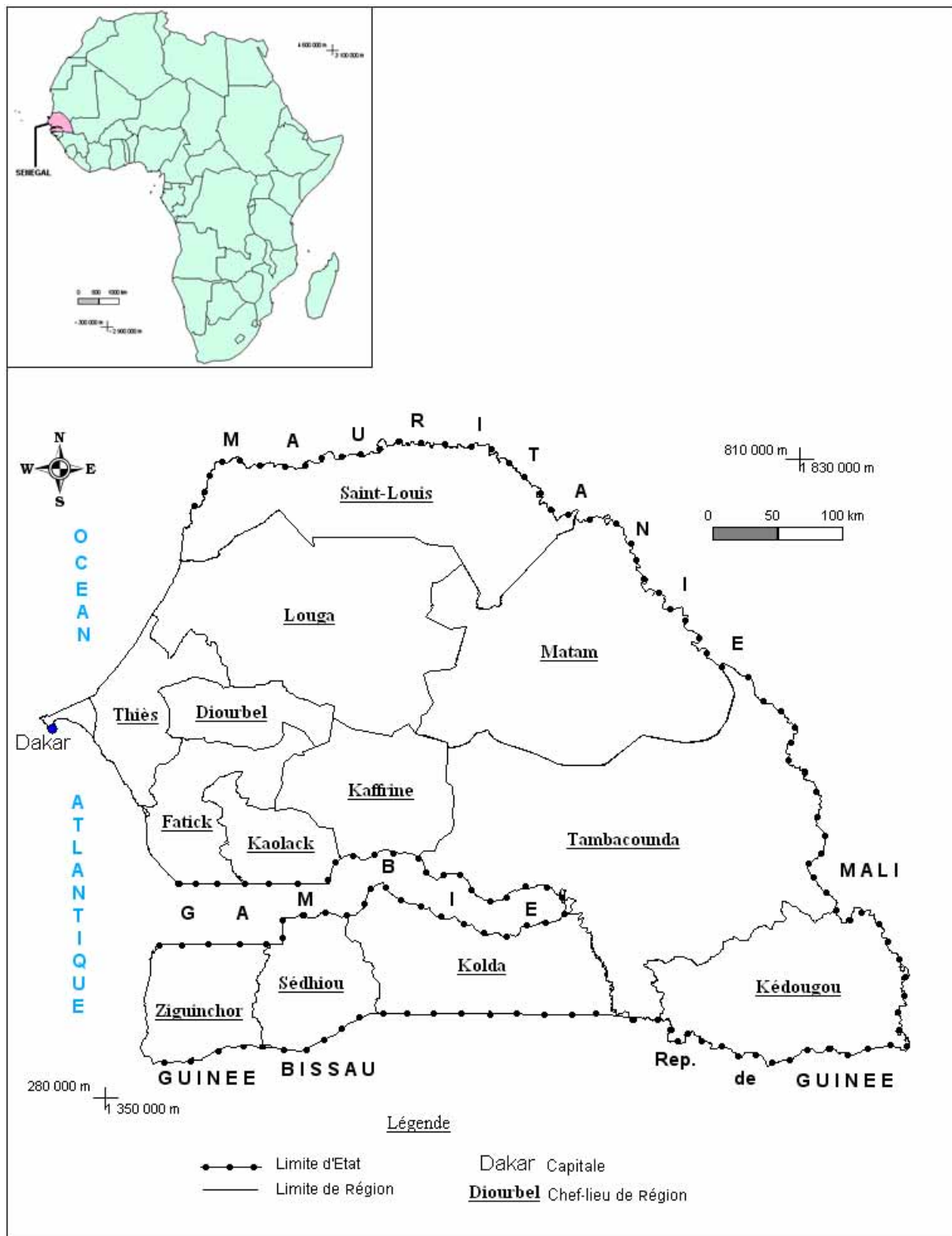
# **ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE SUR L'ELEVAGE BOVIN AU SENEGAL ET LA TUBERCULOSE BOVINE**

## **CHAPITRE I : L'ELEVAGE BOVIN AU SENEGAL**

### **I. PRESENTATION DU SENEGAL**

#### **1. Situation**

Le Sénégal est situé en Afrique de l'Ouest entre 12°8 et 16°41 de latitude nord et entre 11°21 et 17°32 de longitude ouest; il couvre une superficie de 196 192 km<sup>2</sup>. Il est limité à l'ouest par l'Océan Atlantique, au nord-est par le fleuve Sénégal, une frontière naturelle avec la Mauritanie, à l'est par l'affluent du fleuve Sénégal servant de frontière avec le Mali et au sud par les Républiques de Guinée et de Guinée Bissau. Le Sénégal compte quatorze régions administratives (figure 1), quarante-deux départements et Dakar est la capitale administrative.



**Figure 1** : Divisions administratives du Sénégal

Schéma de Djiby Dia

## **2. Population**

La population sénégalaise est estimée respectivement à 9 956 202 et 10 127 809 habitants en 2002 et 2003 selon les données démographiques provenant essentiellement du recensement de 2002 et des enquêtes périodiques (SENEGAL (a), 2004). Les données du recensement de 2002 ont été projetées pour avoir la situation en 2003 et le taux de croissance annuel censitaire de 2,7 % entre 1976 et 1988 est passé à 2,4 entre 1988 et 2002. Un fort taux d'urbanisation (41% en 2003 contre 39% en 1988) de la population sénégalaise est remarqué avec 54% de cette population concentrée à Dakar.

## **3. Relief**

Le Sénégal est un pays plat excepté les deux collines des Mamelles qui sont des roches éruptives à l'origine des îles de Gorée et des Madeleines et les collines du Fouta Djallon à la frontière guinéenne qui culminent à moins de 500 m.

Les sols sont essentiellement sablonneux surtout dans les zones sahéliennes occupant les 3/4 du pays tandis que la végétation est constituée par une grande forêt au sud, une savane arborescente au centre et une steppe épineuse au nord. Les pâturages constituent l'essentiel de l'alimentation du cheptel avec 12 millions d'hectares de terre et une productivité variant de 300 à 500 kg de matières sèches à l'hectare (SENEGAL, 1999).

## **4. Climat**

Le climat est de type sahélien du nord au centre du pays et devient sahélo-soudanien au sud. En fait, le Sénégal constitue la transition entre la zone sahélienne et la zone tropicale humide. Ainsi, le climat est frais et humide près de la côte atlantique avec l'influence des alizés maritimes et à l'intérieur du pays souffle un vent chaud et sec : l'harmattan. Les températures varient du nord au sud et se situent entre 18 et 32°C en moyenne mensuelle. Nous distinguons une saison sèche de Novembre à Mai et une saison des pluies de Juin à Octobre. Ces pluies de deux mois au nord passent à six mois au sud, ce qui fait que, la végétation est de plus en plus dense et verte dans la partie méridionale du pays. Cependant, d'une année à l'autre on peut enregistrer un

retard des pluies ou des variations de la pluviométrie pouvant passer du simple au double provoquant beaucoup d'angoisse au niveau du monde rural.

## II. ELEVAGE AU SENEGAL

### 1. Cheptel

Les dernières statistiques d'élevage, datées de 2006, établies par la Direction de l'Elevage (DIREL), révèlent une évolution croissante et régulière du cheptel entre 2000 et 2006, malgré la chute des effectifs observée en 2002 suite aux pluies hors saison et à un mauvais hivernage (Tableau I).

**TABLEAU I:** Evolution des effectifs du cheptel entre 2000 et 2006 (nombre de têtes fois 1000).

Années	Bovins	Ovins	Caprins	Porcins	Equins	Asins	Camelins	Volaille Industrielle	Volaille familiale
2000	2 986	4 542	3 879	269	471	399	4	5 595	18 900
2001	3 061	4 678	3 995	280	492	407	4	6 115	19 543
2002	2 997	4 540	3 900	291	496	400	4	5 174	20 207
2003	3 018	4 614	3 969	303	500	400	4	5 100	20 549
2004	3 039	4 739	4 025	300	504	412	4	5 285	20 960
2005	3 091	4 863	4 144	309	514	413	4,1	6 135	21 527
2006	3 137	4 996	4 263	318	518	415	4,1	7 533	22 078

*Source : SENEGAL, 2007*



## 2. Principales races de bovins exploitées au Sénégal

Il existe trois races bovines dominantes :

- Le zébu Gobra (*Bos indicus*) encore appelé zébu peulh sénégalais. Il vit à l'ouest du Sénégal (Baol, Cayor, Djoloff), au nord du Sine-Saloum et le long du fleuve Sénégal, au sud de la Mauritanie et au nord ouest du Mali (France, 1991). Le Gobra est un bovin à bosse de grande taille (1,25 m à 1,46 m) et de poids à l'âge adulte variant de 350 kg à 450 kg chez le mâle et de 250 kg à 350 kg chez la femelle (SECK, 1993). Les cornes sont en forme de lyre haute, le fanon est très développé avec parfois des plis, sa tête est large, son front bombé, le chanfrein rectiligne, le chignon saillant, les oreilles longues et dressées, la robe est généralement blanche ou légèrement froment surtout chez le mâle où elle peut présenter des bringures et des charbonnures.

L'aptitude principale de cette race est la production de viande avec un rendement carcasse à 5 ans de 50 à 53 % en première qualité et de 48 % en qualité moyenne (SECK, 1993).

- Le taurin Ndama (*Bos taurus*) se caractérise par une absence de bosse au niveau du garrot, sa petite taille, des cornes en lyre, une robe qui présente toutes les nuances du fauve mais la couleur la plus répandue est le froment. Au Sénégal, le taurin Ndama est retrouvé au sud dans les régions de Tamba et de Casamance. C'est une race trypanotolérante. C'est aussi une race à viande avec un poids à 4 ans qui peut atteindre 328,6 +/-20,0 kg chez le mâle et 286,7 +/-8,3 kg chez la femelle avec un rendement carcasse de 50% en moyenne (SOW, 1987).

- Le Djakoré est un métis naturel entre le zébu et le taurin. Il s'est développé dans la zone de contact entre les races Gobra et Ndama (nord du Sine-Saloum). Il s'agit d'une race dont les caractéristiques se rapprochent plus ou moins des races d'origine en fonction de sa situation géographique. Il présente une taille nettement supérieure à celle du taurin Ndama, une bosse peu marquée, le rein et le

dos plats et larges, la ligne dorsolombaire rectiligne, le train postérieur musclé, la culotte bien descendue, les membres courts et puissants (BOYE et coll., 2005).

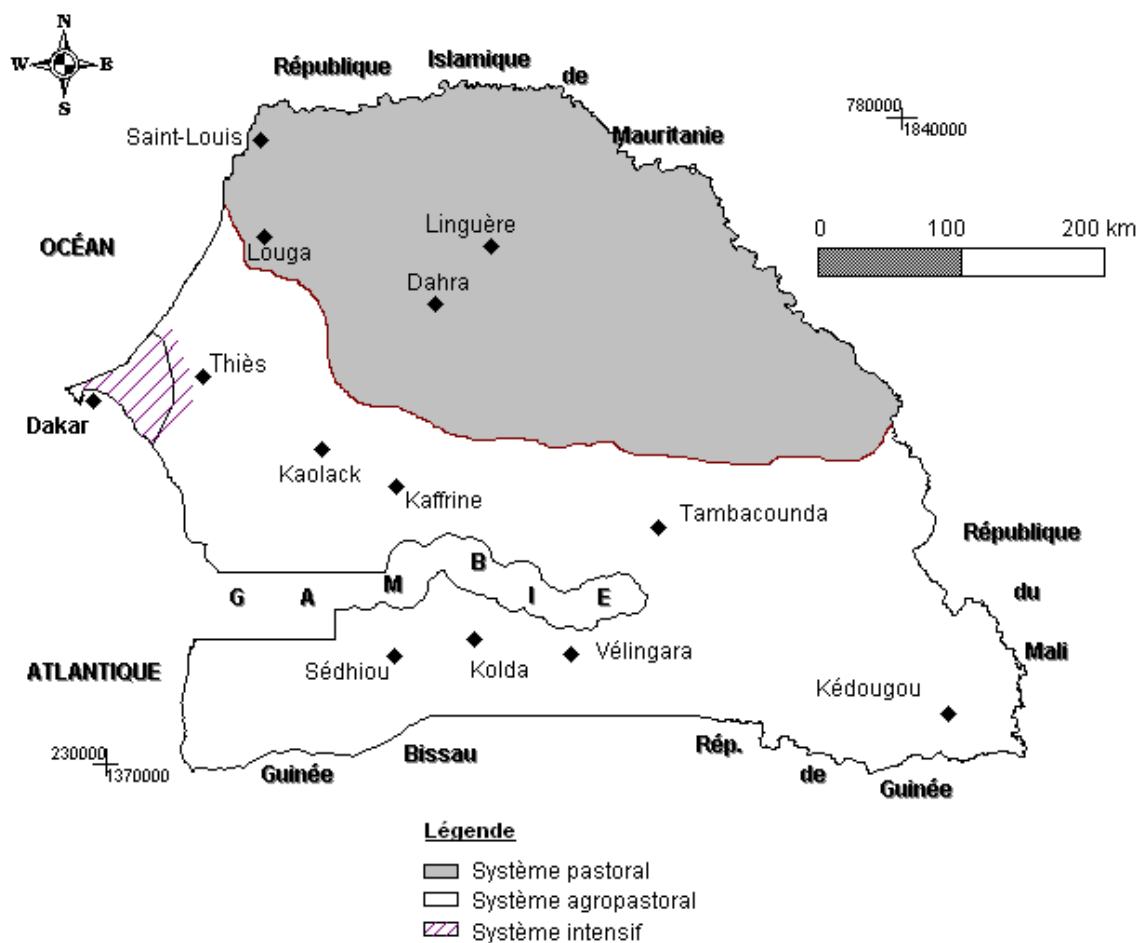
### **3. Systèmes d'élevage**

L'élevage s'intègre au niveau de trois systèmes (figure 2) à savoir :

- le système pastoral : il concerne 32% des bovins et 35% des petits ruminants et est pratiqué au niveau de la zone sylvo-pastorale appelée le Ferlo situé dans la partie septentrionale du Sénégal. Cette zone constitue la plus grande zone d'élevage du Sénégal avec son relief, son climat, ses ressources hydrauliques végétales et animales très adaptés. Le Ferlo appartient aux domaines sahélien et soudano-sahélien avec un mode d'élevage extensif transhumant suivant les disponibilités fourragères (pâturages naturels) et hydriques (existence de points d'eau temporaires ou permanents et d'un réseau de forages profonds) (MBAYE, 1999).
- le système agro-pastoral : il concerne 67% et 62% des bovins et petits ruminants respectivement et se caractérise par l'association élevage / agriculture (cultures pluviales avec le mil, l'arachide, le coton et cultures irriguées avec le riz, les tomates, les oignons). On le retrouve surtout dans le bassin arachidier, la vallée du fleuve Sénégal et la zone sud du pays. Cette association agriculture/ élevage se traduit généralement par la pratique de la culture attelée, l'utilisation de la fumure animale et l'exploitation des résidus de récolte pour alimenter le cheptel. Les modes de conduites des troupeaux y sont déterminées par la recherche de parcours saisonniers dans les limites des terroirs villageois ou à l'extérieur de la zone (TOURE, 2003).
- le système périurbain intensif : il concerne 1% de bovins et 3% des petits ruminants. Les modes d'élevage intensifs et semi intensifs y sont effectués et sont principalement présents dans la zone des Niayes. Cette zone des Niayes est aussi le siège d'un important élevage avicole qui intéresse de plus en plus les producteurs car très rentable.

De ces trois systèmes, le système pastoral est celui qui favorise le plus la prolifération de la tuberculose bovine si elle est déjà présente chez certains bovins du troupeau. En effet, le rassemblement du bétail autour des points d'eau constitue un facteur favorisant la transmission du germe, du fait de la promiscuité des bovins sains avec ceux infectés par le bacille tuberculeux. De même le surmenage physique que peut occasionner la transhumance est aussi un facteur favorisant.

Ces différents systèmes d'élevage sont à l'origine des différentes productions animales à travers les filières suivantes : bétail/viande, lait, œufs de consommation, cuirs et peaux. Dans l'étude de la tuberculose bovine, les filières bétail/viande et lait sont les principales concernées en raison de l'importance de la viande et du lait dans la transmission de la maladie.



**Figure 2** : Systèmes d'élevage au Sénégal

*Source* : MBAYE et coll., 2006

#### 4. Principales filières en productions animales en rapport avec la tuberculose bovine

##### ✓ Filière viande

Le tableau II résume l'évolution de la production locale et des importations de viande et d'abats en tonnes de 1999 à 2006 (SENEGAL, 2007).

**TABLEAU II** : Evolution de la production locale et des importations de viande et d'abats (en tonnes)

Année	Bovins	Ovins	Caprins	Porcins	Camelins	Volaille	Production locale	Importations
1999	55 893	15 666	10 742	7 378	7	21 608	<b>111 294</b>	2 159
2000	57 696	15 192	11 985	10 185	9	23 239	<b>118 307</b>	3 141
2001	60 509	18 074	10 903	10 229	10	24 437	<b>124 161</b>	5 324
2002	56 319	17 160	10 272	12 318	11	23 852	<b>119 933</b>	9 960
2003	54 131	16 995	10 910	10 918	13	25 080	<b>118 047</b>	14 924
2004	53 913	17 511	11 331	10 196	17	25 980	<b>118 948</b>	17 613
2005	58 995	19 632	12 842	10 751	13	29 042	<b>131 275</b>	19 692
2006	62 505	21 476	12 993	11 348	10	31 647	<b>139 980</b>	12 163

*Source* : SENEGAL, 2007

Cette production animale en viande est insuffisante car ne couvrant pas les besoins de la population sénégalaise d'où le recours aux importations qui portaient beaucoup plus sur la viande de volaille auparavant. Mais de nos jours, l'importation de viande bovine a pris le dessus sur celle de la volaille car, le Sénégal a cessé l'importation de la volaille depuis 2006 du fait de l'apparition de la Grippe Aviaire en Afrique. Le tableau III ci-dessous nous donne la situation des importations effectuées en 2006.

**TABLEAU III** : Importations en 2006 (en tonnes)

Viande bovine	Viande Ov/cap	Abats	Volailles	Charcuterie	Conserves	Total
8750	335	2862	0	205	11	<b>12163</b>

Source : SENEGAL, 2007

Cette viande bovine, lorsqu'elle est mal cuite, représente une des principales sources d'infection de la tuberculose pour les hommes; ce qui fait de la tuberculose bovine une maladie zoonotique avec une signification socio-économique potentielle en santé animale puisqu'elle peut avoir une répercussion sur le commerce international des animaux et de leurs produits. Selon AYELE et *coll.* (2004), dans les pays en voie de développement, il y a peu d'informations disponibles pour une corrélation directe entre la tuberculose bovine à *Mycobacterium bovis* chez le bétail et la tuberculose à *Mycobacterium bovis* chez les hommes. L'ingestion de viande mal cuite infectée par le bacille tuberculeux bovin est à l'origine de la tuberculose extra-pulmonaire chez l'homme particulièrement les citadins. Par conséquent, une carcasse suspecte de tuberculose fait l'objet d'une saisie totale aux abattoirs.

A côté de cette filière bétail / viande, non moins importante dans la transmission de la tuberculose bovine, il y a aussi la filière lait qui joue un rôle primordial dans la propagation de cette zoonose.

#### ✓ **Filière lait**

Au Sénégal, la production locale de lait est estimée à 120,2 millions de litres en 2006 selon le rapport de la DIREL (SENEGAL, 2007), elle provient essentiellement des systèmes d'élevage traditionnel des bovins qui en assurent 100,7 millions de litres soit 83,78% et des petits ruminants pour 19,4 millions de litres soit 16,14%.

Cette production locale est fortement tributaire des conditions climatiques ; en effet l'hivernage (juillet/octobre) est le moment propice pour une assez bonne production laitière mais très faible par rapport à celle des races exotiques car elle n'est que de 2 litres par vache locale (THIAM, 2005). La consommation de lait et des produits laitiers est difficile à apprécier car les sources disponibles pour analyser le marché et la

consommation nationale sont peu nombreuses et parfois sujettes à caution. Cependant, la couverture de la demande locale est loin d'être satisfaite d'où la nécessité des importations pour essayer de combler le déficit de l'insuffisance de l'offre locale (THIAM, 2005). De ce fait, 47 489 tonnes de produits laitiers ont été importées, soit l'équivalent de 331 052 millions de litres pour une valeur de 48,453 milliards de francs CFA (SENEGAL, 2007).

Pour combler ce déficit de production laitière et diminuer les importations, un programme d'insémination artificielle (IA), financé par la BAD (Banque Africaine de Développement) et le gouvernement du Sénégal, a été mis en œuvre en 1994 par le PAPEL (Projet d'Appui à l'Élevage) dans le bassin arachidier. Ce programme d'IA s'inscrit dans la dynamique de modernisation et d'intensification de systèmes de productions animales et sa zone d'emprise couvre presque tout le Sénégal. Et depuis 1994, ce programme d'IA suit son cours et après des tests concluants dans les années 1999-2000, des campagnes d'IA bovine se sont succédées de façon ininterrompue, depuis 2003, comme une activité phare dans le calendrier agricole. De nos jours, dans le cadre de la GOANA (Grande Offensive Agricole pour la Nourriture et l'Abondance), au niveau de son volet élevage, un programme spécial d'IA qui vise à terme l'insémination de 500 000 vaches d'ici 2012 et l'obtention de 135 000 métis, constitue une amorce pour la création d'un cheptel laitier bovin principalement constitué de métisses F1, produits de croisement entre les races locales et les races exotiques comme la Montbéliarde, la Holstein, la Normande et les brésiliennes (SENEGAL (c), 2008).

Cependant, améliorer la production locale de lait est une bonne chose mais, il faut aussi penser à sensibiliser les éleveurs sur la consommation du lait à l'état brut. En effet, le lait cru non pasteurisé est une source d'infection de la tuberculose bovine si ce lait, par malchance, renfermait le bacille tuberculeux bovin. Et l'on sait qu'en Afrique, la population rurale et une partie de la population urbaine continuent toujours de consommer du lait non pasteurisé potentiellement infecté par *Mycobacterium bovis* (AYELE et coll., 2004). Par exemple, toujours selon AYELE et coll., au Burkina Faso, des mycobactéries ont été isolées de 26% de 60 prélèvements de lait vendus au détail.

## CHAPITRE II : GENERALITES SUR LA TUBERCULOSE

### I. DEFINITION

La tuberculose est une maladie infectieuse, contagieuse, de répartition mondiale, commune à l'homme et à de nombreuses espèces animales. Elle est due à l'action pathogène de certaines espèces bactériennes du genre *Mycobacterium*. Elle se caractérise au plan clinique par une évolution chronique, un grand polymorphisme symptomatique et au plan anatomopathologique par des lésions inflammatoires nodulaires : les follicules tuberculeux.

La tuberculose a été longtemps étudiée chez l'homme et chez les animaux car, dans le passé elle a été sans doute la maladie la plus redoutable et la plus redoutée. Pour cette raison, elle constitue une préoccupation en santé publique. Par conséquent, nous allons faire connaissance avec la maladie à travers l'étude de ses agents pathogènes, son épidémiologie, sa pathogénie, ses symptômes et lésions, ses techniques de diagnostic.

### II. AGENT ETIOLOGIQUE : les bacilles tuberculeux

Dans l'historique de la tuberculose, Koch avait considéré comme unique l'agent de la tuberculose à savoir le bacille tuberculeux qu'il avait découvert et mis en évidence en 1882 pour la première fois (PEWE, 1992). Cependant après de multiples recherches, trois nouvelles espèces furent identifiées il s'agit de *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium avium*. De nos jours, les bacilles tuberculeux regroupent cinq espèces différentes retrouvées chez l'homme et/ou chez les animaux :

- *Mycobacterium tuberculosis* : bacille tuberculeux humain,
- *Mycobacterium bovis* : bacille tuberculeux bovin,
- *Mycobacterium avium* : bacille tuberculeux aviaire,
- *Mycobacterium africanum* : bacille tuberculeux humain trouvé en Afrique Occidentale et Centrale,
- *Mycobacterium microti* : bacille tuberculeux du Campagnol.

Toutefois, le genre *Mycobacterium* regroupe aussi d'autres espèces de mycobactéries.

## 1. Classification des bacilles tuberculeux

Les bacilles tuberculeux sont classés dans l'ordre des Actinomycetales, famille des *Mycobacteriaceae*, genre *Mycobacterium*. Nous y retrouvons trois groupes illustrés dans le tableau IV avec leurs différentes espèces et leur signification pathologique.

Ainsi nous distinguons :

- les mycobactéries pathogènes,
- les mycobactéries saprophytes,
- les mycobactéries opportunistes.

Ces deux derniers groupes, découverts en 1953, sont qualifiés d'atypiques et dénommés bacilles « para tuberculeux ». Ces mycobactéries très répandues sont rencontrées dans le sol (fumier), les eaux usées, certains aliments (lait, végétaux). De nos jours ces bacilles sont à l'origine des affections à mycobactéries tant chez l'homme que chez les animaux, ce qui fait qu'ils intéressent de plus en plus les épidémiologistes. Quelques années plus tard, certains auteurs tels que BOURDON et *coll.* (1975) classent le bacille tuberculeux aviaire *Mycobacterium avium*, dans ce groupe de mycobactéries atypiques.



**Tableau IV** : Principales mycobactéries actuellement reconnues

Groupe	Noms d'espèce	Signification pathologique
<b>Mycobactéries Pathogènes</b>	<i>M.tuberculosis</i>	++++ (Tuberculose humaine)
	<i>M.bovis</i>	++++ (Tuberculose bovine)
	<i>M.avium</i>	++++Oiseau (Tuberculose aviaire) + Mammifères
	<i>M.microti</i>	+ (Tuberculose du campagnol)
	<i>M.paratuberculosis</i>	++++ (Maladie de Johne)
	<i>M.leprae</i>	++++ (lèpre humaine)
	<i>M.lepremurium</i>	+ lèpre murine
	<i>M.farcinogenes</i>	+ farcin du bœuf en Afrique
<b>Mycobactéries Opportunistes</b>	<i>M.chelonei</i>	±
	<i>M.fortuitum</i>	+
	<i>M.gordonae(ou aquae)</i>	±
	<i>M.intracellulare</i>	+
	<i>M.kansasii</i>	+
	<i>M.marinum</i>	+
	<i>M.ulcerans</i>	+
	<i>M.xenopi</i>	+
<b>Mycobactéries Saprophytes</b>	<i>M.flavescens</i>	-
	<i>M.gastri</i>	-
	<i>M.phlei</i>	-
	<i>M.smegmatis</i>	-
	<i>M.tamnopheos</i>	-
	<i>M.terrae</i>	-
	<i>M.vaccae</i>	-

+ : peu pathogène

++++ : Très pathogène

- : pas pathogène

± : peu ou pas pathogène

Source : HADDAD et coll., 2008.

La différenciation de ces différentes mycobactéries se fait à travers l'aspect de leur culture, leurs propriétés biochimiques ou enzymatiques et leur pouvoir pathogène.

## **2. Caractères morphologiques et affinité tinctoriale des bacilles tuberculeux**

Les bacilles tuberculeux sont des bactéries immobiles, non capsulées, non sporulées. Ils sont difficilement colorables par le Gram tout en étant des Grams positifs et apparaissent, fins rectilignes ou légèrement incurvés et leur taille variable entre 2 et 5 microns de long sur 0,2 à 0,5 microns de large.

Dans la structure de leur paroi, en plus du peptidoglycane, (structure de base de toute bactérie), des glycolipides (cire D, cord factor, mycosines) et les protéines supports de l'activité tuberculinique, il y a une présence abondante de lipides spéciaux les acides mycoliques. Ces derniers représentent 20% du poids sec des bacilles et leur confèrent un caractère tinctorial particulier : l'acido-alcool-résistance qui est la résistance des bacilles à la décoloration par les acides forts et par l'alcool. Par conséquent, cette acido-alcool-résistance est utilisée dans la recherche des bacilles tuberculeux à travers la coloration de Ziehl-Neelsen à chaud : les bacilles y apparaissent rouge vifs sur fond bleu et colorés de façon homogène.

Les bacilles tuberculeux possèdent, en outre, des caractères cultureux et biochimiques qui leur sont propres.

## **3. Caractères cultureux et biochimiques des bacilles tuberculeux**

### **3.1. Caractères cultureux**

Les bacilles tuberculeux sont des germes très exigeants tout comme beaucoup d'autres mycobactéries. De ce fait ils sont incapables d'assurer leur croissance sur les milieux bactériologiques usuels et nécessitent donc l'emploi de milieux spéciaux. Malgré cette exigence, les cultures se développent lentement (10 jours à 3 mois) selon le type de bacille tuberculeux comparé à certaines mycobactéries dites à croissance rapide car formant des colonies bien visibles en moins de 7 jours en primo culture. La croissance se fait généralement en aérobiose, le pH optimal est de 6,7 à 6,8 et les températures varient entre 30 et 41 °C selon le germe avec un optimum de 35- 37°C (BOURDON et coll., 1975).

Les bacilles tuberculeux se développent lentement. Il faut, avant toute mise en culture, procéder à la décontamination des prélèvements d'organe ou de tissu suspects de tuberculose afin de les débarrasser de toutes autres bactéries contaminantes. Ainsi, les prélèvements sont traités au préalable avec des agents chimiques (soude, détergents...) auxquels les bactéries habituelles sont plus sensibles que les bacilles tuberculeux (Annexe I).

Plusieurs milieux de culture ont été proposés pour la recherche des mycobactéries (DAO, 2005).

### 3.1.1. Milieux de culture

#### a. Milieux de croissance usuels :

##### a.1 Milieux gélosés

###### ✓ A l'œuf

Les milieux de croissance usuels à l'œuf, obtenus par coagulation à +85° pendant 45 minutes et très utilisés pour l'isolement des mycobactéries, sont opaques et contiennent du vert de malachite à 0,025% pour inhiber la croissance des germes contaminants.

- **LÖWENSTEIN-JENSEN** : Le milieu de Lowenstein Jensen est un milieu solide, synthétique de base composé de sels minéraux, d'œufs frais, d'asparagine et de glycérine. Il est très utilisé et généralement en primo-culture (Annexe II). L'adjonction du pyruvate dans ce milieu, permet d'identifier le complexe tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium avium*).
- **Milieu de COLETOS** : Le milieu de Coletos est un milieu solide qui en plus des œufs, contient du glycérol, du pyruvate et dans certains cas de l'osséine exsudée. Ce milieu favorise l'isolement de *Mycobacterium bovis* et ses colonies sont d'apparitions précoces, plus abondantes et plus développées.

Les milieux à l'œuf présentent les avantages suivants : sensibilité, spécificité, prix de revient bas. Mais ils ont aussi des inconvénients qui sont : une qualité variable, une conservation de courte durée (1 à 3 mois au frais), et une opacité.

✓ Semi-synthétiques

- **MIDDLEBROOK et COHN**

Les milieux gélosés de Middlebrook et Cohn, semi synthétiques, solides et de degré d'enrichissement différent, sont constitués de sels minéraux, de glucose, d'albumine bovine, d'acides aminés, de pyruvate et de catalase.

## **a.2 Milieux liquides**

- **Milieu de SAUTON**

Le milieu synthétique de Sauton est constitué de sels minéraux, d'asparagine et de glycérine.

- **Milieu de YOUMANS**

En plus des constituants du milieu de SAUTON, le milieu de Youmans renferme 10% de sérum de bœuf d'où son appellation de milieu de YOUMANS au sérum de bœuf.

- **Milieu de DUBOS au TWEEN**

Le milieu de Dubos au Tween est le plus complexe des milieux et est utilisé pour l'obtention de suspension homogène de mycobactéries pour la fabrication de la tuberculine de KOCH.

## **b. Aspects des cultures**

L'aspect des cultures et leur délai d'apparition orientent dans l'identification des bacilles tuberculeux.

## **b.1. Mycobactéries usuelles**

### ✓ Sur milieu solide

L'aspect des colonies est sensiblement différent selon le type de bacille. De ce fait, leur différenciation peut être faite suivant leur forme, leur taille et leur pigmentation sur milieu de Löwenstein-Jensen.

#### • Suivant la forme

Les colonies peuvent avoir une forme :

- « R » (Rough ou rugueux) à relief tourmenté en chou fleur .C'est le cas *Mycobacterium tuberculosis*.
- « S » (Smooth ou lisse) :c'est le cas de *Mycobacterium bovis* et *Mycobacterium avium*.

#### • Suivant la taille

Les colonies peuvent être :

- eugoniques : grandes colonies à apparition rapide (*Mycobacterium avium* ; *Mycobacterium tuberculosis*),
- dysgoniques : petites colonies à apparition lente (*Mycobacterium bovis*).

#### • Suivant la pigmentation

Les colonies sont non pigmentées pour *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium tuberculosis* et *Mycobacterium avium*.

### ✓ Sur milieu liquide

Les bacilles tuberculeux forment généralement un voile en surface.

## **b.2. Mycobactéries atypiques**

Les mycobactéries atypiques présentent des caractéristiques très variables mais retenons qu'elles ont une croissance rapide (moins de 7j), des colonies lisses, pigmentées se développant mieux sur milieu de Löwenstein –Jensen et cultivent pour la plupart à 22° C. Quatre groupes de mycobactéries atypiques ont pu être distingués à partir de leurs conditions et l'aspect de leurs cultures (CASTETS et coll., 1972) :

- Groupe I : mycobactéries photochromogènes, à croissance lente et dont les colonies non pigmentées à l'obscurité se pigmentent après une courte exposition à la lumière. Les mycobactéries de ce groupe ne sont jamais commensales chez l'homme donc, leur présence dans un produit pathologique d'origine humaine est donc anormale. C'est le cas de *Mycobacterium Kansasii* qui présente des colonies S ou R en 8 à 10 jours (BOURDON et coll., 1975).
- Groupe II : mycobactéries scotochromogènes, à croissance lente et dont les colonies se pigmentent spontanément à l'obscurité. Ce groupe renferme un certain nombre de variétés réellement pathogènes pour l'homme et l'animal. C'est l'exemple de *Mycobacterium aquae* qui donne des colonies de types S à 30° avec une pigmentation rouge ou jaune. (BOURDON et coll., 1975).
- Groupe III : mycobactéries non photochromogènes dont les colonies, à croissance lente, ne se pigmentent habituellement ni à la lumière ni à l'obscurité. On y retrouve *Mycobacterium avium* qui est leur chef de file avec des colonies S eugoniques, souvent pigmentées en 8 à 12 jours à une température de 40° le plus souvent (BOURDON et coll., 1975).
- Groupe IV : mycobactéries à croissance rapide, les colonies se développent en 3 à 4 jours. *Mycobacterium fortuitum* en fait partie avec des colonies apigmentées qui se développent en quelques jours à température ordinaire et ont une teinte verdâtre (BOURDON et coll., 1975).

Malheureusement, cette classification simple reposant sur les caractères de pigmentation est très relative car une même espèce de mycobactéries peut présenter des souches ou variétés pigmentées ou non.

### **3.2. Caractères biochimiques**

Des caractères biochimiques peuvent permettre de différencier les bacilles tuberculeux des autres mycobactéries mais aussi de faire la distinction entre elles. Ainsi, *Mycobacterium bovis* et *Mycobacterium tuberculosis* possèdent normalement une

peroxydase et une catalase ; cependant, s'ils deviennent résistants à l'isoniazide (I.N.H.) ils perdent ces deux enzymes. *Mycobacterium tuberculosis* possède aussi une nicotinamidase qui n'est pas retrouvée chez *Mycobacterium bovis*.

Seul *Mycobacterium tuberculosis* produit de l'acide nicotinique d'où l'utilisation du test à la niacine pour son identification. De même *Mycobacterium tuberculosis* possède une nitrate réductase qui réduit les nitrates en nitrites. Précisons que la glycérine à 2%, dans un milieu de culture, inhibe la croissance de *Mycobacterium bovis* alors que le pyruvate à des concentrations de 0,3 à 0,5 % stimule cette croissance. Quant aux mycobactéries atypiques, elles ont en commun des caractères biochimiques tels que la présence d'une catalase résistante à 75°C pendant 15mn, l'absence de peroxydase, la fréquence de la nitrate-réductase et le test à la niacine négatif entre autres caractères (BOURDON et *coll.*, 1975).

Le tableau V résume les caractères distinctifs des principaux bacilles tuberculeux.

**TABLEAU V : Caractères distinctifs des bacilles tuberculeux**

Caractères	<i>M. tuberculosis</i>		<i>M. bovis</i>		<i>M. avium</i>
	I.N.H. Sensible	I.N.H. Résistant	I.N.H. Sensible	I.N.H. Résistant	Résistant aux anti-tuberculeux
Morphologie	Grêle et granuleux		Trapu et homogène		Grêle et homogène
Caractères culturaux <ul style="list-style-type: none"> <li>• Température</li> <li>• Glycérine 15%</li> <li>• Bile de bœuf</li> </ul>	37,5° C favorable inhibitrice		38,5° C Défavorable non inhibitrice		40° C favorable non inhibitrice
Sur LöwensteinJensen <ul style="list-style-type: none"> <li>• Délai de culture</li> <li>• Aspects des colonies</li> <li>• Pigmentation</li> </ul>	2 à 4 semaines R. Eugoniques Non pigmentée		1 à 2 mois S. dysgoniques non pigmentée		10 à 15 jours S-Eugoniques non pigmentée
En présence de T.C.H. (Hydrazine de l'acide Thiopène-2-carboxylique)	+	+	-	+	+
Caractères biochimiques <ul style="list-style-type: none"> <li>• Synthèse niacine</li> <li>• Réduction nitrates</li> <li>• Nicotinamidase</li> </ul>	+		-		- + (Nitrites+)
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Catalase</li> <li>• Peroxydase (Benzidase)</li> </ul>	+	-	+	-	+
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Peroxydase (Benzidase)</li> </ul>	+	-	+	-	+
Pathogénicité <ul style="list-style-type: none"> <li>• Poule</li> <li>• Cobaye</li> <li>• Lapin</li> </ul>	-	-	-	-	++
	+++	±	+++	±	-
	±	-	++	±	++

*Source : HADDAD et coll., 2008*

\* : Sensible ou présent



### 3.3. Résistance et sensibilité des bacilles tuberculeux

#### 3.3.1. Résistance

Les bacilles tuberculeux sont les plus résistants des bacilles non sporulés. Ils résistent à des agents physiques et chimiques.

- Les agents physiques : les bacilles tuberculeux résistent au froid (conservation possible à  $-70^{\circ}$  pendant plusieurs années) et à la dessiccation.
- Les agents chimiques : les bacilles tuberculeux résistent aux antiseptiques et désinfectants chimiques (acide sulfurique, détergent...), aux acides et bases en solution, aux antibiotiques tels la pénicilline, les tétracyclines, le chloramphénicol.

#### 3.3.2. Sensibilité

Les bacilles tuberculeux sont sensibles aux :

✓ **agents physiques** comme :

- La chaleur qui les détruit à  $65^{\circ}$  en 30mn, à  $80^{\circ}$  en 10mn, à  $100^{\circ}$  en 2mn. Ceci montre l'importance de la pasteurisation ou de la stérilisation du lait avant sa consommation et du traitement thermique des viandes tuberculeuses,
- Les rayons ultraviolets,
- La lumière.

✓ **agents chimiques** comme :

l'iode, l'alcool à  $90^{\circ}$ , les dérivés phénoliques entre 3 et 5%, les hypochlorites alcalins, le formol à 3%, le crésyl à 3%, les médicaments tels que l'Isoniazide, l'Ethionamide, l'Ethambutol, la Streptomycine, la Rifampicine, le Prothionamide, des antibiotiques majeurs et la Viomycine, le Thiocculide, la Pyrazinamide, des antibiotiques mineurs.

L'étude de la sensibilité des bacilles tuberculeux passe par l'antibiogramme qui permet de mesurer les effets des antibiotiques majeurs sur eux. L'antibiogramme peut être effectué en milieu solide ou en milieu liquide.

#### 4. POUVOIR PATHOGENE DES BACILLES TUBERCULEUX

Le pouvoir pathogène des bacilles tuberculeux est variable selon les espèces animales et s'exprime par l'apparition d'une maladie à évolution chronique accompagnée de lésions tuberculeuses : les follicules tuberculeux. Ce pouvoir pathogène serait lié à la virulence de la bactérie. Les facteurs toxiques tels que le cire D et le cord factor n'interviennent qu'après la lyse du bacille. Les études ont montré que le pouvoir pathogène de certains bacilles tuberculeux peut être modifié dans le but de diminuer leur virulence ou même de la leur faire perdre. C'est ainsi que de 1908 à 1920, *Mycobacterium bovis* a été atténué après 230 repiquages effectués par Calmette et Guérin. Ceci fut à l'origine du vaccin contre la tuberculose : le B.C.G. (bacille de Calmette et Guérin) utilisé pour la première fois chez l'homme en 1921 et toujours efficace de nos jours.

Le tableau VI ci-dessous nous montre la variabilité du pouvoir pathogène des principaux bacilles tuberculeux chez différentes espèces animales et chez l'homme.

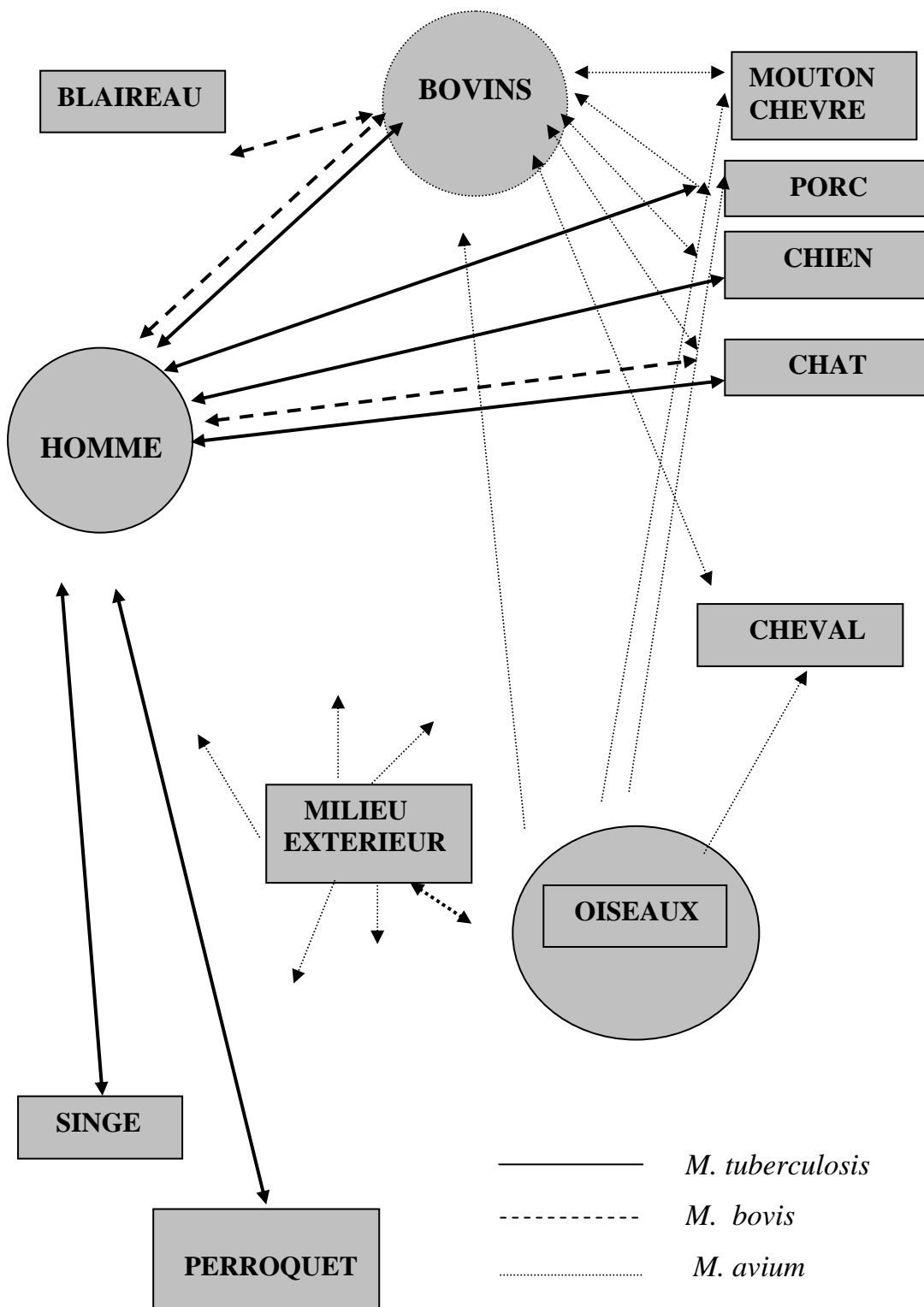
**TABLEAU VI** : Pouvoir pathogène des principaux bacilles tuberculeux pour les différentes espèces animales et l'homme

	<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. bovis</i>	<i>M. avium</i>
Homme	P	P	R
Chien	P	P	R
Chat	P	P	R
Bovins	R	P	R
Ovins, caprins	R	P	P
Porc	P	P	P
Oiseaux en général	R	R	P
Psittacidés	P	R	R
Singes	P	P	R

Légende : Pouvoir pathogène : P = élevé ; R = rare ou exceptionnel

Source : HADDAD et coll., 2008

Ainsi les bacilles tuberculeux sont retrouvés chez toutes les espèces animales et chez l'homme et il existe donc une interdépendance totale entre les tuberculoses animale et humaine (figure 1).



**Figure 3** : Représentation schématique des principales interrelations des tuberculoses animales et humaine

**Source** : HADDAD et coll., 2008

L'interprétation de cette figure montre :

- qu'en dehors de l'homme, sont plus spécialement sensibles au bacille humain par ordre décroissant de réceptivité : le singe, le chien, le perroquet, le chat, le porc, le bovin ;
- le bacille de type bovin est retrouvé chez l'homme dont la résistance initialement admise par Koch ne peut plus être soutenue maintenant ; il est pathogène chez le chat, le porc, la chèvre, le cheval et le chien aussi ;
- le bacille aviaire se retrouve surtout chez les oiseaux ensuite chez le porc, le cheval, le bovin et chez l'homme exceptionnellement.

En dehors des caractères distinctifs de ces bacilles tuberculeux entre eux, il existe des pouvoirs antigène, allergène et immunogène qui leur sont communs.

## 5. POUVOIR ANTIGÈNE

Le pouvoir antigène s'exprime in vivo par la formation d'anticorps précipitants, agglutinants, fixant le complément. Dans la constitution antigénique de *Mycobacterium tuberculosis* et de *Mycobacterium bovis* on distingue :

- Les antigènes lipidiques ; les constituants les plus utilisés de nos jours sont les phosphatides d'Anderson, des sels d'acides inosito-glycerophosphoriques liés à des acides gras. Ils peuvent être utilisés lors de réactions sérologiques par exemple dans le test de Takahashy (une épreuve d'agglutination passive avec un antigène phosphatidique tuberculeux méthylé avec comme support inerte une suspension de kaolin). Ces phosphatides d'Anderson ont été utilisés jadis dans un but diagnostique pour pratiquer des réactions de déviation du complément (BOURDON et *coll.*, 1975). En dehors des phosphatides d'Anderson, les acides mycoliques constituent un antigène lipidique très important car responsables de l'acido-alcool-résistance des bacilles tuberculeux.

- Les antigènes polysaccharidiques : ce sont des haptènes de spécificité large, mis en évidence par des réactions de précipitation. Ils servent à la recherche d'anticorps tuberculeux.
- Les antigènes protéiques : les tuberculines représentent les protéines des bacilles tuberculeux. Elles sont peu antigéniques mais utilisées pour la mise en évidence de l'allergie tuberculeuse. La tuberculine se définit comme étant une substance extraite d'une culture de bacille tuberculeux capable de révéler l'état d'hypersensibilité retardée (H.S.R.) d'un organisme infecté et ce, à des doses inopérables sur des sujets sains et incapables de les sensibiliser (ce sont des allergeo-haptènes).

Il existe une communauté antigénique entre les différents bacilles tuberculeux pathogènes et les autres mycobactéries. En effet, *Mycobacterium avium* possède 80% d'antigènes en commun avec *Mycobacterium bovis* et *Mycobacterium tuberculosis* ; les autres mycobactéries sont plus proches de *Mycobacterium avium* mais peuvent avoir jusqu'à 40% d'antigènes en commun avec *Mycobacterium bovis* ou *Mycobacterium tuberculosis*. Cette communauté antigénique est donc à l'origine des réactions croisées qui peuvent survenir durant le dépistage et par conséquent, fausser les résultats.

## **6. POUVOIRS ALLERGENE ET IMMUNOGENE**

La pénétration et la multiplication du bacille tuberculeux dans un organisme provoquent un état d'immunité particulier et un état d'hypersensibilité retardée qui est à l'origine d'une allergie tuberculeuse.

Cette hypersensibilité et cette immunité sont étroitement liées de par leur support cellulaire commun. Elles sont toutes deux expliquées dans le phénomène.

### ✓ **Le phénomène de Koch**

L'inoculation du bacille tuberculeux à un cobaye sain provoque l'apparition au quatorzième jour d'un nodule ulcéreux au point d'inoculation. Ce nodule persiste jusqu'à la mort de l'animal.

Par contre, l'inoculation d'une nouvelle dose de bacille tuberculeux à un cobaye déjà infecté depuis plusieurs semaines, provoque seulement une inflammation et une induration diffuse au point d'injection en 24-48 heures (incubation courte) avec une réactivation des foyers préexistants. Cette réaction est suivie plus tard d'une guérison spontanée et définitive.

En conclusion, le cobaye tuberculeux réagit différemment par rapport au cobaye sain en présentant des réactions focales localisées mais parfois des réactions généralisées avec un raccourcissement de la période d'incubation (24-48 heures au lieu de 14 jours). Ce phénomène traduit l'état d'hypersensibilité appelé allergie tuberculeuse vis-à-vis du bacille tuberculeux tandis que la guérison spontanée et rapide signe l'état de résistance de l'organisme déjà infecté par le bacille : c'est l'immunité anti-tuberculeuse ou immunité de surinfection.

### ✓ **L'allergie tuberculeuse**

L'allergie tuberculeuse s'installe rapidement et avec une forte intensité lorsque les bacilles inoculés sont très virulents et en nombre élevé. Cette hypersensibilité retardée (H.R.S.), d'apparition variable chez les bovins, a permis d'identifier trois périodes allergiques à savoir :

- la période ante allergique qui correspond à la période séparant la pénétration du bacille dans l'organisme et le moment d'apparition de l'H.S.R. Elle peut varier de 15 jours à 6 mois mais elle peut atteindre aussi deux ans ;
- la période allergique, de courte durée (2 à 4 semaines), peut être mise en évidence durant cette période car son intensité est assez suffisante ;

- la période d'anergie post-tuberculeuse où il n'est plus possible de détecter l'infection par une méthode allergique.

A côté de cette allergie tuberculeuse, nous avons l'immunité anti-tuberculeuse.

### ✓ **L'immunité anti-tuberculeuse**

Chez le cobaye et le lapin, l'infection par les bacilles vivants induit l'apparition d'une immunité de type cellulaire responsable des phénomènes de résistance. Dans certains cas, il apparaît une réponse humorale très marquée dans le cas d'une injection de bacilles tués ou adjuvés (PEWE, 1992).

L'immunité anti-tuberculeuse est donc exclusivement cellulaire et consiste en une activation de macrophages par les lymphocytes T. C'est une immunité de co-infection car nécessite la présence de bacilles vivants dans l'organisme tout en limitant leur dissémination et en résistant aux infections exogènes. Mais l'atteinte générale et/ou les réinfections massives ou répétées entraînent le dépassement de cette capacité immunitaire favorisant ainsi l'expression de la maladie.

L'infection d'un organisme par un bacille tuberculeux est signalée par l'état d'H.S.R. puis par l'apparition d'anticorps détectés par sérologie. L'expression finale de cette infection est, après un processus pathogénique propre aux bacilles tuberculeux, l'installation d'un état morbide se traduisant par des signes cliniques et lésionnels.

### **III. PATHOGENIE**

Les conditions de l'infection dépendent de la virulence du bacille, de la réceptivité de l'hôte et des modalités de contamination (dose infectante, répétition des doses). L'infection se déroule par étapes ou elle peut régresser, se stabiliser ou évoluer, toutes les combinaisons étant possibles suivant le bacille, l'espèce animale atteinte et les conditions de l'infection.

Lorsque toutes les conditions sont réunies, l'infection peut progresser et alors il est possible de distinguer deux étapes dans la tuberculose : étape primaire (primo-infection) et étape secondaire.

### **1. Etape primaire**

L'étape primaire peut évoluer vers une stabilisation, une guérison ou une généralisation précoce.

#### ✓ Stabilisation

Dans le cas d'une stabilisation, les lésions riches en bacilles tuberculeux se rétractent, se calcifient ou s'enkystent du fait de leur nécrose de caséification suite à l'hypersensibilité. Elles peuvent demeurer ainsi pendant toute la vie de l'animal mais hébergent toujours des bacilles tuberculeux. Cet état caractérise la tuberculose infection très fréquente chez les bovins et l'homme et accompagnée d'une immunité antituberculeuse semblable à celle conférée par le B.C.G. Par contre, elle est rare chez les carnivores où le plus souvent la tuberculose est d'emblée évolutive. Cependant, cette stabilisation n'est pas définitive et un réveil infectieux peut se produire et mener à une tuberculose secondaire.

#### ✓ Guérison

Elle est marquée par la destruction du bacille tuberculeux suivie de la cicatrisation des lésions et en quelques mois de la disparition de l'allergie tuberculeuse et de l'immunité antituberculeuse. Cette guérison est fréquente chez les bovins infectés par *Mycobacterium avium* ou *Mycobacterium tuberculosis*.

#### ✓ Généralisation précoce

L'évolution du complexe primaire vers la généralisation intervient lorsque la résistance de l'organisme défaille. Cette généralisation détermine la tuberculose maladie qui peut être :



- soit aiguë, précoce caractérisant la tuberculose miliaire ; les germes ayant disséminé par voie lymphatique et /ou hémotogène. Les lésions sont au même stade évolutif. Dans le cas de la tuberculose bovine, les carcasses à ce stade sont passibles de saisie totale et exclues donc de la consommation ;
- soit précoce ralentie : ici la maladie évolue par vagues successives et les lésions sont à différents stades évolutifs. Cette généralisation précoce ralentie se réalise lorsque la résistance de l'organisme est partielle. C'est la forme généralement rencontrée chez les autres espèces en plus des bovins où elle peut évoluer ultérieurement vers la tuberculose secondaire.

## **2. Tuberculose secondaire**

Elle est marquée par l'évolution de proche en proche des formes stabilisées du fait de la prolifération sur place des bacilles tuberculeux. Certaines lésions du fait de leur ramollissement peuvent s'ouvrir dans une voie de drainage naturel donnant ainsi des cavernes ou des ulcères. Ceci caractérise la tuberculose chronique d'organe qui peut conduire à une généralisation aiguë tardive lors de l'effondrement des résistances de l'organisme et la dissémination lympho-hématogène des bacilles.

La distinction de ces étapes primaire et secondaire permet de comprendre les différents aspects cliniques et lésionnels de la tuberculose.

## **IV. SYMPTÔMES ET LÉSIONS**

### **1. Symptômes**

Les symptômes restent longtemps inaperçus et l'espèce affectée conserve toute l'apparence d'une parfaite santé. Cela signifie que la tuberculose reste à l'état d'infection inapparente pendant des mois voire des années ; ce qui fait dire aux scientifiques que dans la tuberculose, l'infection est de règle et la maladie l'exception. Par conséquent, une suspicion de la maladie à partir des symptômes ne peut être faite qu'après une grave et longue atteinte d'un organe et/ou d'un tissu. Ainsi les symptômes généraux se caractérisent par :

- une altération de l'état général,
- un appétit capricieux,
- une baisse de la sécrétion lactée chez les vaches laitières,
- des poils ternes,
- des oscillations thermiques irrégulières.

Tous ces signes progressent pour entraîner chez l'adulte une chute de poids, de la faiblesse, une anémie et de la cachexie.

A côté de ces symptômes généraux, il y a des symptômes locaux suivant la localisation du bacille tuberculeux. Nous identifions donc différents types de tuberculose pouvant évoluer seuls ou associés. Les tuberculoses pulmonaire, intestinale et mammaire sont les plus fréquentes et les plus graves, ouvertes et contagieuses. D'autres localisations sont possibles : hépatique, splénique, génitale, oculaire, nerveuse et aussi dans les séreuses. Nous ne détaillerons pas ces symptômes en raison de l'absence effective d'intérêt pour la détection de la tuberculose car la fréquence des manifestations cliniques est faible. Par conséquent, la détection repose sur une approche expérimentale (tuberculation) et épidémiologique. Par contre, les lésions observées sur ces organes lors d'une atteinte tuberculeuse sont assez spécifiques.

## **2. Lésions**

Ce sont des granulomes inflammatoires à aspects anatomiques et histologiques particuliers.

### **✓ Aspects macroscopiques**

Les lésions tuberculeuses se présentent sous différentes formes selon la taille et la nature du contenu. Au fur et à mesure que la taille augmente, nous observons successivement des granulomes de la taille d'une épingle, des tubercules de taille variable (miliaire, taille d'un pois, d'une noisette) qui peuvent évoluer en nodules.

Selon la nature du contenu, nous avons des tubercules gris ou translucides (aspect en « goutte de rosée »), caséux (teinte jaunâtre et consistance de mastic), caséo-calcaires (blanc jaunâtre crissant à la coupe), fibreux (blanc nacré sans caséum) et fibro-caséo-calcaire.

La caséification est très précoce chez les bovins et la calcification est assez fréquente sur les anciennes lésions. En plus de ces tubercules, nous pouvons être en présence d'un ramollissement ou d'une suppuration des lésions couramment nommés infiltrations si la localisation est dans un organe (plus souvent le poumon) et d'épanchements tuberculeux si la localisation est dans les séreuses (plèvre, péritoine, péricarde). Ces deux phénomènes sont liés à un exsudat inflammatoire.

#### ✓ Aspects microscopiques

La lésion de base la plus représentative, considérée comme spécifique est le follicule tuberculeux. Celui-ci est formé par un centre nécrotique homogène appelé caséum, d'une première couronne de cellules épithélioïdes associées ou non à des cellules géantes multinuclées, les cellules de Langhans et d'une seconde couronne purement lymphocytaire (MAEDER, 2008).

L'évolution de cette lésion peut se faire dans le sens d'une calcification du caséum avec fibrose périphérique.

La connaissance des symptômes et lésions de la tuberculose sera complétée par l'étude de son épidémiologie.

## V. EPIDEMIOLOGIE DE LA TUBERCULOSE

L'épidémiologie analytique et l'épidémiologie synthétique constituent les deux branches de l'épidémiologie de la tuberculose.

### 1. Epidémiologie analytique

L'épidémiologie analytique renseigne sur les sources de bacilles tuberculeux, la réceptivité des animaux et les différents modes de contamination.

#### 1.1. Sources de contamination

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

### ✓ Animaux infectés

Les bovins infectés sont les principales sources du fait de leur excrétion bacillaire qui est précoce, durable, importante mais irrégulière d'où l'importance du dépistage et l'élimination des bovins infectés. Les autres animaux domestiques (les petits ruminants, la volaille et le porc) et l'homme constituent des sources non moins importantes.

Les animaux sauvages, particulièrement les ruminants sauvages (buffle, blaireau, élan, gnou...) sont des réservoirs dangereux car échappant à tout contrôle et constituent donc de véritables sources de contagion.

### ✓ Matières virulentes

Les muscles, à proximité d'un foyer tuberculeux et la virulence du sang en phase aigüe de la maladie, peuvent être très dangereux. Cependant, du fait de la rareté de la forme septicémique, l'isolement des bacilles tuberculeux dans le sang et les muscles lésés est peu fréquent (ALAMBEDJI, 1984). De même, les organes et les ganglions, sièges de foyers tuberculeux, sont très virulents.

Le lait cru et les produits laitiers constituent d'importantes sources de contagion dans la tuberculose de même que la viande mal cuite. L'urine et le sperme des espèces atteintes constituent aussi des sources non négligeables.

Les excréments, comme la salive, le jetage, les fèces ne sont dangereuses, du point de vue de la contamination, que lors de tuberculoses digestive et pulmonaire.

## 1.2. Réceptivité

### ✓ Facteurs intrinsèques

Toutes les espèces animales sont toutes sensibles à la tuberculose mais, la réceptivité varie selon la virulence du bacille tuberculeux et de l'hôte. Il existe une prédisposition génétique à la tuberculose chez l'homme et le lapin (PEWE, 1992).

Les jeunes sont plus affectés que les adultes tandis que le sexe n'a aucune importance car les mâles autant que les femelles sont atteints par la maladie.

### ✓ **Facteurs extrinsèques**

L'expression de la maladie est facilitée par les carences nutritionnelles, le surmenage physique, la vie en promiscuité dans les élevages concentrationnaires et la lactation.

## **1.3. Modalités de contamination**

### ✓ **Modes de transmission**

Les bovins, fortement infectés par l'agent de la tuberculose, projettent dans l'air des micro-gouttelettes contenant l'agent pathogène lorsqu'ils toussent. Les bovins adultes sont infectés lorsqu'ils inhalent des particules de poussière dans l'air auxquelles l'agent pathogène s'attache. Les bovins peuvent aussi s'infecter par consommation d'eau d'abreuvement et d'aliments contaminés. Les jeunes veaux peuvent s'infecter en buvant du lait non pasteurisé qui contient l'agent pathogène.

Certaines situations, tels que le déplacement d'animaux infectés et les contacts prolongés en milieu confiné, peuvent créer un risque de transmission de la tuberculose d'un troupeau à un autre.

### ✓ **Voies de pénétration**

La voie respiratoire est la plus fréquente. L'infection se fait par inhalation du bacille tuberculeux. Cette voie respiratoire est suivie par la voie digestive.

La voie vénérienne, liée à la tuberculose génitale, est accessoire de même que les voies cutanée, muqueuse et mammaire.

## **2. Epidémiologie synthétique**

L'épidémiologie synthétique concerne l'apparition, la contagiosité, la forme et l'évolution de la tuberculose.

En l'absence d'une surveillance adéquate et de bonnes conditions d'hygiène dans un cheptel, l'entretien et la propagation de la tuberculose peuvent être maintenus. Cette propagation est lente, insidieuse et permanente ; ce qui fait que la tuberculose apparaît comme une véritable enzootie atteignant différentes espèces animales et l'homme. La maladie de faible contagiosité est favorisée par la promiscuité et une ambiance insalubre, obscure et humide.

L'étude épidémiologique donne des éléments indispensables au diagnostic.

## **VI. DIAGNOSTIC**

Le diagnostic de la tuberculose se fait sur le terrain et au laboratoire.

### **1. Diagnostic sur le terrain**

Le diagnostic sur le terrain fait appel à des éléments cliniques, épidémiologiques, nécropsiques et à la méthode allergologique.

#### **1.1. Eléments épidémiologiques**

La tuberculose peut être suspectée lorsque l'on est en présence d'une enzootie caractérisée par une faible morbidité, une cachexie chronique qui sévit dans un cheptel dense, en stabulation permanente et dans une ambiance insalubre

#### **1.2. Eléments cliniques**

Les éléments cliniques sont insuffisants du fait de l'évolution chronique de la maladie, de la présence de symptômes variés et du nombre important d'organes susceptibles d'être atteints. Il est nécessaire d'associer à l'examen clinique le diagnostic au laboratoire. Cependant, une suspicion peut être faite lorsque l'on est en présence d'une affection cachectisante à évolution chronique avec des difficultés respiratoires se traduisant par de la toux et de l'essoufflement tout en tenant compte des commémoratifs. Ceci pour pouvoir différencier la tuberculose avec d'autres maladies à symptômes similaires telles la leucose bovine, la péripneumonie contagieuse bovine, l'entérite para tuberculeuse.

#### **1.3. Eléments nécropsiques**

Les éléments nécropsiques sont les plus importants en matière de diagnostic sur le terrain. En effet de la plupart des cas de tuberculose, une suspicion peut être faite en tenant compte du stade évolutif des lésions sur l'ensemble des organes et tissus atteints et l'atteinte des ganglions correspondants. Ces lésions se caractérisent par la présence de pus de couleur variable (jaune, verdâtre ou blanc nacré d'aspect crémeux) au niveau des nodules tuberculeux. Des lésions miliaires de couleur jaune peuvent aussi

apparaître sur l'organe affecté. Mais il faut différencier les lésions tuberculeuses des affections tels que la morve, les mycoses, le farcin du bœuf...

#### **1.4. Méthode allergologique**

La méthode allergologique est basée sur la recherche de l'allergie tuberculeuse suite à l'hypersensibilité retardée développée par l'animal infecté par le bacille tuberculeux. La technique de base sur le terrain est la tuberculation avec l'utilisation de divers types de tuberculines.

L'intradermotuberculation est la méthode de choix pour le dépistage d'une infection tuberculeuse chez le bovin. Elle a une fiabilité satisfaisante, un coût supportable et utilisable à grande échelle.

### **2. Diagnostic au laboratoire**

Le diagnostic de laboratoire est nécessaire pour la confirmation d'une suspicion de tuberculose et passe par trois méthodes : l'histopathologie, la bactériologie, la sérologie.

#### **2.1. Méthode histopathologique**

La méthode histopathologique repose sur la recherche de la lésion microscopique fondamentale de la tuberculose à savoir les tubercules après ponction biopsique d'un ganglion ou du foie afin de réaliser un frottis. Cependant, cette technique ne permet pas de différencier la tuberculose des autres mycobactérioses d'où l'utilisation préférentielle de la bactériologie.

#### **2.2. Méthode bactériologique**

La méthode bactériologique se fait à partir de prélèvements effectués sur des organes ou tissus suspects et conservés dans une glacière et transportés sous froid jusqu'au laboratoire.

Les prélèvements : sur l'animal vivant, les prélèvements peuvent être le lait, le liquide pleural, le jetage, les sécrétions utérines et le sang. Tandis que sur les carcasses, les fragments d'organes lésés, les poumons de préférence ou les ganglions tuberculeux sont prélevés.

Les prélèvements obtenus seront décontaminés au laboratoire avant de procéder à la bactérioscopie et à la mise en culture sur milieu de Löwenstein-Jensen.

### ✓ **Bactérioscopie**

Les frottis obtenus à partir des prélèvements précités sont colorés selon la technique de ZIEHL. La lame sera examinée avec soin et longuement avant de conclure à l'absence de germes acido-alcool-résistants.

Cependant, cet examen direct rapide ne permet pas de préciser le type de mycobactérie ; de même, l'absence de bacilles acido-alcool-résistants ne signifie pas l'absence de tuberculose d'où l'importance de l'isolement en culture.

L'immunofluorescence peut venir en appoint à la bactérioscopie.

### ✓ **Isolement en culture**

Un prélèvement provenant d'une lésion fermée (en l'absence d'autres bactéries) peut être ensemencé directement sur milieux solides. Mais, le plus souvent, celui-ci est souillé par une flore d'accompagnement complexe, formée de bactéries à croissance rapide qui masqueront la culture lente des bacilles tuberculeux. Aussi est-il indispensable de réaliser systématiquement une décontamination des prélèvements en vue de détruire toutes les bactéries autres que les mycobactéries. On met alors à profit la sensibilité des bactéries banales et la résistance des mycobactéries à la soude (ou d'autres substances tel le laurylsulfate de soude...).

Le prélèvement est soumis à l'action de la soude à 4% et le mélange placé à 37°C à l'étuve pendant un temps en fonction du niveau de pollution (ne pas dépasser une heure pour ne pas porter atteinte à la vitalité des mycobactéries). Le mélange est ensuite neutralisé à l'aide de l'acide sulfurique à 6%. Différents milieux solides de Löwenstein-Jensen et Coletsos sont alors ensemencés abondamment et placés à l'étuve. Pour le milieu de culture Löwenstein-Jensen, il est conseillé d'ensemencer deux tubes par prélèvement l'un contenant de la glycérine et l'autre pas ; car *Mycobacterium bovis* ne pousse pas en présence de glycérine.

La méthode présente l'avantage de permettre l'isolement du bacille et par la suite son identification accompagnée éventuellement de la détermination de sa sensibilité aux antituberculeux. Cependant, elle offre l'inconvénient d'être une méthode très lente.



### **2.3. Méthode sérologique**

La méthode sérologique consiste en la recherche d'anticorps tuberculeux dans les sérums d'animaux suspects par les réactions de précipitation, d'agglutination, d'hémagglutination et de fixation du complément. Les méthodes sérologiques sont très délicates et controversées du fait des erreurs par défaut ou par excès pouvant survenir dans sa réalisation d'où l'irrégularité des résultats. C'est une méthode très peu usitée.

Le dépistage de la tuberculose passe par ces différentes méthodes surtout la bactériologie et la tuberculination en plus de la recherche des lésions.

Après cette revue bibliographique sur la tuberculose en général, nous traiterons de la tuberculose bovine au Sénégal de même que la tuberculose humaine et la situation de cette maladie dans d'autres pays d'Afrique.

## **CHAPITRE III : TUBERCULOSES BOVINE ET HUMAINE AU SENEGAL**

### **I. HISTORIQUE**

L'existence de la tuberculose bovine au Sénégal demeure un fait connu depuis de longue date. En effet, Mornet a publié en 1952 un travail présentant un tableau avec des relevés d'abattoir sur la tuberculose bovine remontant à 1931 (DOUTRE, 1976). Ensuite, ORUE et CHAMBRON (1968) rapportent qu'entre 1961 et 1968, quatorze (14) souches de bacilles tuberculeux et 18 souches de *Mycobacterium farcinogenes* ont été isolées au laboratoire. Depuis, des recherches se sont multipliées concernant les tuberculoses animales et humaine dues aussi bien à des mycobactéries typiques (*M. bovis* et *M. tuberculosis*) qu'à des mycobactéries atypiques (*M. avium*,...).

### **II. SITUATION DES TUBERCULOSES BOVINE ET HUMAINE AU SENEGAL**

#### **1. Tuberculose bovine au Sénégal**

En 1976, DOUTRE isole *Mycobacterium bovis* sur 12 carcasses de bovins saisies à l'abattoir de Dakar pour une suspicion de tuberculose. L'examen de l'aspect des cultures révèle des colonies dysgoniques de *M. bovis*. Les résultats sont consignés dans le tableau ci-dessous.

**TABLEAU VII:** Isolements de *Mycobactérium bovis* sur 12 carcasses de bovins en provenance de l'abattoir de Dakar

Année	Prélèvements	Origine supposée de l'animal	Isolement de <i>Mycobacterium bovis</i>
1969	1	Mali ?	1 souche
1970	1	Mali ?	1 souche
1971	2	Mali ?	2 souches
1972	1	Mali ?	1 souche
1973	1	Sénégal (zébu pakistanais)	1 souche
1974	1	Sénégal (Rufisque)	1 souche
1975	2	Mali ?	2 souches
1976	3	2 Mali ? 1 Sénégal (Lagbar)	3 souches

Source : DOUTRE, 1976

Ce tableau montre que la plupart des bovins atteints proviennent des autres pays de l'Afrique de l'Ouest et le Mali semble être la provenance la plus distinguée. Cependant, selon DOUTRE l'origine véritable des animaux n'est pas toujours bien connue et il est aussi difficile de savoir si tous les prélèvements tuberculeux arrivent au laboratoire. Quoiqu'il en soit, deux isolements de *M. bovis* ont été obtenus sur des zébus sénégalais.

Par la suite, GUEYE et SEYDI (1982) révèlent, dans le cadre de l'étude sur l'évolution des saisies de viande dans les abattoirs de la région du Cap-Vert, que là où les cachexies occupaient 60% des carcasses saisies, les putréfactions 16% et les cysticercozes 5,5%, la tuberculose n'occupe que 1,76% des saisies totales de carcasses soit 30 carcasses sur 1696 carcasses saisies en 9ans entre 1971 et 1980.

En 2000, KONTE et UNGER, ont entrepris un travail sur la prévalence de la tuberculose bovine et la brucellose bovine dans le bassin arachidier sur une période de trois ans (2000-2003). L'objectif de leur travail était d'évaluer l'importance de ces zoonoses et le risque associé pour la santé publique. Les résultats résumés dans le tableau VIII indiquent que *M. bovis* n'est pas fréquent dans cette région.

**TABLEAU VIII** : Prévalence de la tuberculose bovine dans le bassin arachidier entre 2000 et 2003

<i>M. bovis</i>	<b>Kaolack /Fatick</b>
Nombre de troupeaux dans l'échantillonnage	31
Nombre de bovins dans l'échantillonnage	479
Cas suspects dans le test de comparaison de tuberculisation intradermique (CIDT)	5
Troupeaux avec cas suspects dans CIDT	3
<b>Cas confirmés de <i>M. bovis</i></b>	<b>0</b>
<b>Réactions provoquées par <i>M. avium</i> (%)</b>	<b>52</b>

Source : KONTE et UNGER, 2003

Les discussions de ces résultats ont révélés qu'il s'agit surtout de la tuberculose extra-pulmonaire (intestinale, osseuse,...) qui est observée, en raison du mode de transmission per os, le responsable étant *M. tuberculosis* var *bovis* ou *M. bovis* et / ou *M. avium* (KONTE et UNGER, 2003). Il ressort de cette discussion que *M. avium* est plus présent au Sénégal par rapport à *M. bovis* qui y est pratiquement absent.

Aux abattoirs de Dakar, l'étude des registres de saisies de viande bovine de 2002 et 2003 fait état de la rareté de la tuberculose (tableaux IX et X).

**TABLEAU IX** : Saisies de viande bovine en 2002 aux abattoirs de Dakar

<b>SAISIES TOTALES</b>				
<b>Espèce</b>	<b>Nombre</b>	<b>Poids en kg</b>	<b>Valeurs (FCFA)</b>	<b>Motifs de saisie</b>
BOVINS	1	90	90 000	Mammite tuberculeuse
	3	405	526 000	Tuberculose évolutive
<b>TOTAL</b>	<b>4</b>	<b>495</b>	<b>616 000</b>	

Source : SENEGAL,, 2003.

**TABLEAU X** : Saisies de viande bovine en 2003 aux abattoirs de Dakar

<b>SAISIES TOTALES</b>				
<b>Espèce</b>	<b>Nombre</b>	<b>Poids en kg</b>	<b>Valeurs (FCFA)</b>	<b>Motifs de saisies</b>
BOVINS	<b>7</b>	<b>1150</b>	<b>1 690 200</b>	<b>Tuberculose</b>
<b>SAISIES PARTIELLES</b>				
<b>Organes</b>				
Foie	<b>2</b>	<b>7</b>	<b>13 400</b>	<b>Tuberculose</b>
Langue	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>3 800</b>	<b>Tuberculose</b>
Queues	<b>1</b>	<b>14</b>	<b>6 000</b>	<b>Tuberculose</b>
<b>TOTAL</b>		<b>23</b>	<b>23 200</b>	

*Source* : SENEGAL (b), 2004

De l'analyse des rapports annuels sur les saisies totales et partielles des viandes bovines à l'abattoir de Dakar, il ressort que le cheptel sénégalais est surtout frappé par les maladies parasitaires (distomatose, schistosomose, abcès et kystes parasitaires) et que les lésions spécifiques dues aux grandes maladies légalement contagieuses (charbon, tuberculose...) sont pratiquement inexistantes.

Tous ces cas de tuberculose déclarés ne sont que pure suspicion car des analyses de laboratoire n'ont jamais été faites pour confirmation sauf en Octobre 2004 où des ganglions suspects d'un bovin Ndama furent envoyés au Laboratoire Nationale de l'Elevage et des Recherches Vétérinaires (LNERV). Malheureusement, suite à une rupture en milieu spécifique de culture (Löwenstein-Jensen), seule la bactérioscopie fut faite permettant ainsi l'identification d'un fin bacille acido-alcool résist

évoquant *Mycobacterium bovis*. La confirmation aurait du être faite un mois après culture sur milieu de Löwenstein–Jensen ; dans tous les cas la suspicion de tuberculose à *M. bovis* fut maintenue. En outre en Janvier 2005, des prélèvements de ganglions réactionnels sur un bovin Djakoré sont encore envoyés au LNERV. Après la bactérioscopie et l'isolement sur milieu de Löwenstein-Jensen, des filaments longs, ramifiés, en touffes, acido-alcool-résistants ont été mis en évidence avec des colonies irrégulières, non pigmentées, uréase(-). L'identification a révélé la présence de *Mycobacterium farcinogenes* (agent du farcin du bœuf) et une absence de *M. bovis* et *M. tuberculosis* agents de la tuberculose. Ce résultat donne raison à ORUE et CHAMBRON (1968) qui insistaient sur l'importance du diagnostic différentiel tuberculose/farcin du bœuf en Afrique.

Actuellement, la recrudescence de la tuberculose chez les humains atteints de VIH / SIDA fait qu'on ne peut aborder la tuberculose bovine sans pour autant parler de la tuberculose humaine due à *Mycobacterium bovis*. En effet, cette forme de tuberculose humaine reste la moins connue des éleveurs, de la plupart des consommateurs et du personnel de la santé publique par rapport à sa transmissibilité à l'homme (DIGUIMBAYE et coll., 2004).

## **2. La tuberculose humaine au Sénégal**

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), en 2006, 5 à 10 % des sujets infectés par le bacille de koch (BK) et non infectés par le VIH/SIDA développent la maladie ou deviennent contagieux au cours de leur existence tandis que les personnes infectées par le VIH et le BK sont beaucoup plus susceptibles de développer la maladie. C'est le cas en Afrique où le VIH a fait rapidement progresser la tuberculose et accroît le risque de mourir de cette maladie. Et si l'on ne fait rien contre la tuberculose au cours des vingt prochaines années, un million de personnes seront infectées, deux cent millions la contracteront et trente cinq millions en mourront (GUYONNET, 2006). Au Sénégal, la notification des cas de tuberculose en 2007 a enregistré 7108 nouveaux cas de tuberculose pulmonaire à frottis positif pour un total de 10680 cas de tuberculose toutes formes confondues (SENEGAL (d), 2008). L'objectif du dépistage des formes contagieuses étant basé sur une incidence attendue

de 110cas/100000 habitants estimée par l'OMS (2006), le niveau de détection atteint est de 60%. Au Sénégal, selon le Programme National de lutte contre la Tuberculose (PNT), l'analyse des données issues de la surveillance en 2007 révèle que la maladie touche principalement la population active avec 5257 cas de tuberculose pulmonaire à frottis positif (TPM+) soit 76% cas de TPM+ qui ont entre 15 et 44 ans. La proportion des TPM+ de la tranche d'âge 25- 34 ans plafonne sur deux ans à 23% et les hommes sont les plus atteints par la maladie avec 70% des TPM+ par rapport aux femmes. En outre, le dépistage des patients tuberculeux co-infectés par le VIH a enregistré un taux de 22% d'acceptation et 13% des cas testés sont positifs au VIH (SENEGAL (d), 2008).

De tous ces cas de tuberculose, seul *M. tuberculosis* a été isolé au laboratoire, aucune souche de *M. bovis* n'a été retrouvée ce qui corrobore une remarque de DOUTRE (1976) qui rapporte qu'aucun cas de tuberculose humaine à bacille bovin n'a été décelé au Sénégal depuis qu'il s'intéresse à l'étude de cette maladie. Par conséquent, il n'est pas encore signalé de tuberculose zoonose au Sénégal. Cependant, le doute peut persister car des souches de *M. bovis* ont été retrouvées chez l'homme au Nigeria et en Ethiopie (DIGUIMBAYE et coll., 2004).

A côté de cette infection tuberculeuse due à des mycobactéries typiques (*M. bovis* et *M. tuberculosis*), il existe une infection communément appelée « mycobactérioses » causée par des mycobactéries différentes de ces deux types bacillaires et qui constituent les mycobactéries atypiques

### **3. Etude des mycobactérioses dues à des mycobactéries atypiques au Sénégal**

Les mycobactéries atypiques, dont le chef de file est *M. avium*, sont des mycobactéries de plus en plus retrouvées chez les animaux ou dans les aliments d'origine animale et constituent donc un danger potentiel d'infection pour l'homme. Auparavant, en 1966, des études plus approfondies entreprises dans différents laboratoires de l'Afrique de l'Ouest amènent à reconnaître, à côté de l'infection tuberculeuse à *M. tuberculosis*, la présence chez l'homme de mycobactéries atypiques dont la pathogénie a pu être établie avec certitude (CASTETS et coll., 1972). En 1972, Castets et ses

collaborateurs, suite à des enquêtes systématiques dans l'environnement et chez plusieurs espèces animales ont isolé 10 souches de mycobactéries atypiques (la plupart étant des saprophytes) à Dakar à partir de 213 prélèvements chez diverses espèces animales et dans le lait (TABLEAU XI ) et 6 souches d'origine animale isolées à Dakar à l'occasion de diagnostics courants ou adressées par d'autres territoires de l'Afrique de l'Ouest (Haute-Volta, Mali, Niger) pour une identification complète (TABLEAU XII).

**TABLEAU XI :** Mycobactéries atypiques isolées à Dakar à l'occasion d'enquêtes épidémiologiques systématiques.

Espèces animales	Nombre de prélèvements étudiés	Mycobactéries atypiques isolées			Total
		Groupe II (mycobactéries scotochromogènes)	Groupe III (mycobactéries non photochromogènes)	Groupe IV (mycobactéries à croissance rapide)	
Milans et vautours	50	2			2
Tourterelles	45				0
Porcs	83	3			3
Lait	35		1	4	5
Total	213	5	1	4	10

*Source* : CASTETS et coll., 1972



**TABLEAU XII** : Mycobactéries atypiques reçues de divers Etats d’Afrique de l’Ouest pour identification ou isolées à Dakar

	Groupe I (mycobactéries photochromogènes)	Groupe II	Groupe III	Groupe IV	Total
Bovins	1	2	1		4
Porcins				1	1
Oiseaux			1		1
Total	1	2	2	1	6

*Source* : CASTETS et coll., 1972

Ces auteurs concluent que ces résultats sont décevants car le nombre de souches isolées est très réduit et que le pourcentage de mycobactéries atypiques d’origine ouest africaine identifiées à Dakar entre 1966 et 1970 est de 6,4% par rapport aux bacilles tuberculeux humain et bovin. Entre 1965 et 1968, 13 mycobactéries atypiques ont été isolées à partir de carcasses de bovins saisies pour tuberculose soit 5,2 % du total des cultures positives obtenues suite à un examen de 639 prélèvements (CASTETS et coll., 1972). Cependant, ces données sont très insuffisantes pour juger de l’incidence des mycobactérioses animales en pathologie vétérinaire, mais, la présence de tels germes chez l’animal amène à considérer la possibilité d’une contamination humaine éventuelle. En effet, les mycobactéries du groupe I et III ont un caractère pathogène pour l’homme et pour l’animal, le plus souvent reconnu, vérifié et même démontré chez l’homme en pays tempéré (CASTETS et coll., 1972). Ainsi, au Sénégal, on a découvert l’existence chez le jeune enfant d’un syndrome pulmonaire à forme de primo-infection dont la responsabilité a pu être attribuée à des mycobactéries du groupe aviaire (groupe III). Des enquêtes tuberculiques effectuées notamment en zone rurale sénégalaise ont d’ailleurs confirmé la réalité de ce fait en révélant un pourcentage relativement important de sujets réagissant aux sensitines spécifiques de ce groupe. En effet, CHAMBRON et SARRAT (1969) trouvent au cours d’une enquête tuberculique faite à Mbour au Sénégal, les résultats négatifs sur 220 volailles et 91 bovins ; chez 278 enfants de Mbour, des réactions allergiques significatives aux sensitines Scrofulaceum et Battey ont été mises en évidence. Ceci

pourrait expliquer les sensibilités non spécifiques observées avec la tuberculine humaine ; l'origine de ces sensibilisations par des mycobactéries atypiques devrait être déterminée par la recherche d'un réservoir animal.

### III. IMPORTANCE DE LA TUBERCULOSE BOVINE DANS D'AUTRES PAYS D'AFRIQUE

La tuberculose bovine est une maladie très répandue en Afrique surtout dans les pays africains en voie de développement car ces pays africains manquent de ressources financières et humaines pour contrôler cette maladie. La tuberculose bovine occupe une place plus ou moins importante suivant ces pays. C'est ainsi que les épidémiologistes du Réseau d'Epidémiosurveillance (RES) de 17 pays africains en voie de développement ont essayé d'hierarchiser 25 maladies de l'ancienne liste A et quelques-unes de la liste B dont la tuberculose. Les critères de classification étaient l'incidence ou la prévalence de la tuberculose, ses répercussions économiques, le contexte local de l'élevage et les objectifs de surveillance respectifs... Ces épidémiologistes ont conclu que la tuberculose bovine fait partie des six maladies considérées comme majeures et prioritaires (BENDALI, 2006). Le tableau ci-dessous résume la conclusion de ce travail.

**TABLEAU XIII:** Etat de la tuberculose bovine dans 17 pays africains en développement

	Bénin	Burkina Faso	Cameroun	Congo	Côte d'Ivoire	Gabon	Guinée	Guinée Bissau	G. Equatoriale	Mali	Mauritanie	Niger	RCA	RDC	Sénégal	Tchad	Togo	Priorité générale
Tuberculose bovine	1	1	2	2	1	3	3	3	3	2	3	2	3	3	3	1	1	1

*Source* : BENDALI, 2006

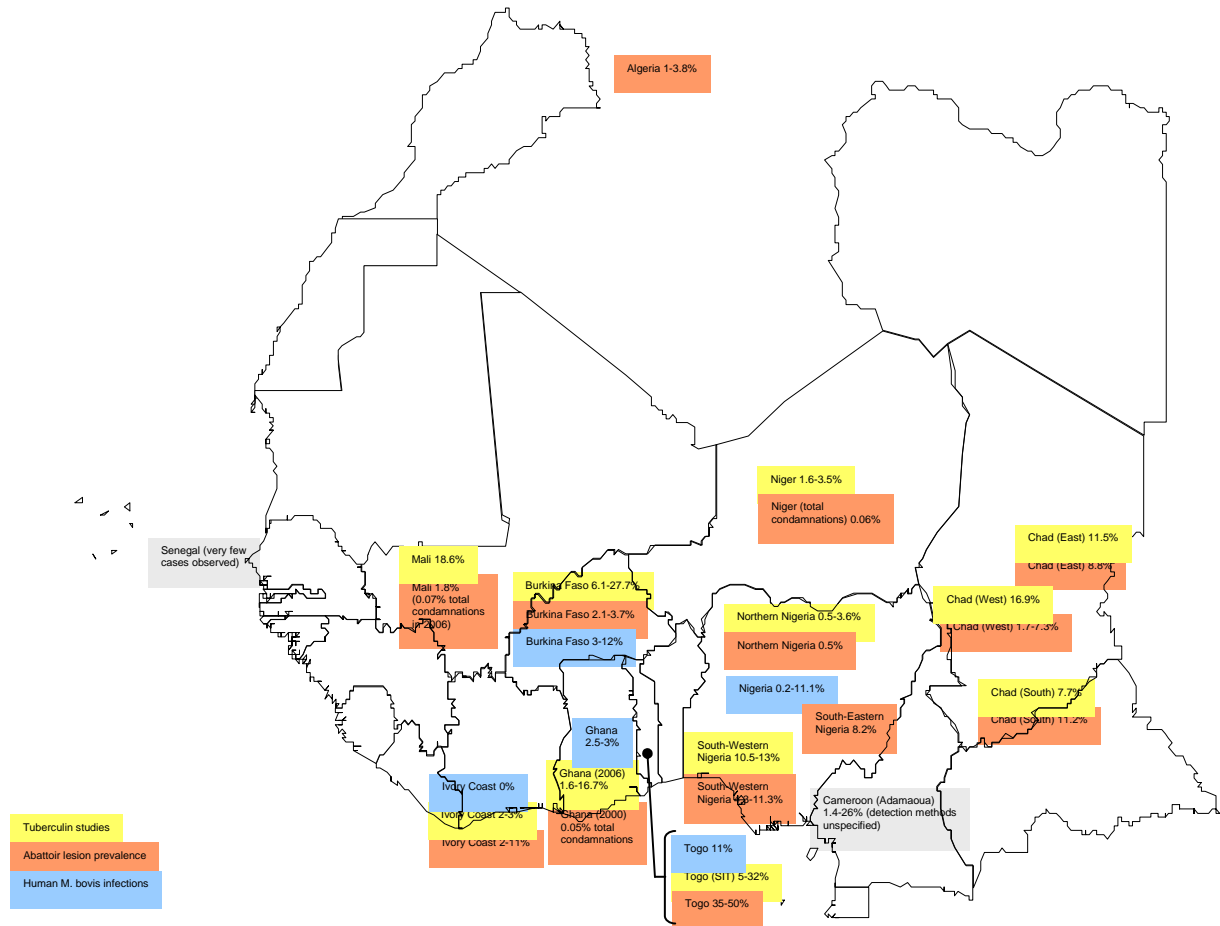
*Légende* : 1 : haute priorité 2 : priorité moyenne 3 : faible priorité

Ces conclusions sont attestées par plusieurs études faites dans certains pays en voie de développement. En effet, AYELE et coll. (2004) nous révèlent la caractérisation de *M. tuberculosis* et de *M. bovis* chez les hommes en Guinée Bissau de même que la présence de *M. bovis* chez 4% des patients avec des symptômes insignifiants du système respiratoire. Au Burundi, *M bovis* a été isolé à une température de 38° chez les bovins suspectés cliniquement. A Madagascar, une proportion de *M. bovis* (1,25%) a été observée chez des patients dont le crachat est positif et parmi des patients atteints de la tuberculose extrapulmonaire (1,30%). En Ouganda, la tuberculose bovine est endémique. Au Tchad, pour la première fois, une étude de DIGUIMBAYE et coll. (2004) sur la tuberculose bovine a permis de mettre en évidence *M. tuberculosis* et *M. bovis* par culture et caractérisation moléculaire. Au cours de cette étude, dix souches de *M. bovis* ont été isolées de 33 carcasses saisies pour cause de tuberculose à l'abattoir frigorifique de Farcha. Ces souches sont catalase négative, nitrate réductase négatif, niacine négatif et les espaceurs 40-43 du spoligotype (spoligotype : technique de génotypage basée sur la présence ou l'absence dans le génome mycobactérien de séquences oligonucléotidiques entre des séquences répétitives conservées) sont absents ce qui prouve pour la première fois, la présence de *M. bovis* sur le territoire tchadien.

Au Mali, DAO (2005) a obtenu 37 cultures positives de bactéries acido-alcool-résistantes de 110 prélèvements suspects de tuberculose bovine. L'aspect morphologique des colonies et les tests biochimiques (catalase, niacine et nitrate réductase) ont permis d'identifier 10 souches de *M. bovis* et 27 atypiques. en 2008, une autre étude au Mali faite par BONFOH et coll. sur 3330 bovins à l'abattoir de Bamako a permis d'isoler *M. bovis* chez 20 animaux et 7 différents spoligotypes ont été observés parmi ces 20 cas. Et grâce à la biologie moléculaire, ces chercheurs ont détectés deux catégories de *M. bovis* dans le bétail abattu à l'abattoir de Bamako. Le signe de spoligotype du premier groupe avoisine les signes précédemment observés au Tchad, au Cameroun et au Nigeria (13 cas) tandis que les signes de spoligotype de 6 cas démontrent qu'ils pourraient avoir des origines européennes. Cette conclusion montre l'utilité de la méthode moléculaire dans l'épidémiologie de la tuberculose bovine car, cette méthode aboutit à la catégorisation des souches de *M. bovis* et permet

ainsi de connaître l'origine, la source même des souches impliquées dans l'infection. La connaissance de l'origine de ces souches participe grandement à l'élaboration d'un plan de lutte efficace contre la maladie.

La figure 4 fait état de la situation de la tuberculose bovine dans quelques pays de l'Afrique de l'Ouest et de l'Afrique du Centre (BONFOH et *coll.*, 2008). Cette figure révèle les pourcentages des cas de tuberculose étudiés, la prévalence des lésions aux abattoirs et les cas humains d'infection à *M. bovis*. D'après cette figure, les cas de tuberculose étudiés sont plus élevés au Mali pour l'Afrique de l'Ouest et au Tchad pour l'Afrique du Centre. L'étude des prévalences des lésions tuberculeuses montre que cette prévalence augmente considérablement vers l'est du continent avec 1,8% au Mali par exemple contre 8,8% à l'est du Tchad. La présence de la tuberculose humaine à bacille bovin a été déclarée dans 4 pays africains (Burkina Faso, Ghana, Nigeria, Togo) ; ces résultats confirment les résultats de DIGUIMBAYE et *coll.* (2004) qui avaient réussi à isoler des souches de *M. bovis* en Ethiopie et au Nigeria.



**Légende :** En jaune: études tuberculiques  
 En rouge: prévalence des lésions à l'abattoir  
 En bleu : infections humaines à *M. bovis*

**Figure 4 :** Etat de la tuberculose bovine dans certains pays de l'Afrique de l'Ouest et de l'Afrique Centrale

**Source :** BONFOH et coll., 2008

Ces recherches prouvent que la tuberculose bovine reste une maladie toujours actuelle en Afrique. Au Sénégal, afin de clarifier la situation de la tuberculose bovine, ce travail a été initié aux abattoirs de Dakar.

# **DEUXIEME PARTIE : IDENTIFICATION BIOCHIMIQUE ET BIOMOLECULAIRE DES BACILLES ACIDO-ALCOOLO RESISTANTS ISOLEES DES PRELEVEMENTS SUSPECTS DE TUBERCULOSE BOVINE AUX ABATTOIRS DE DAKAR**

## **CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES**

### **I. MATERIEL**

#### **1. Lieu de prélèvement : les abattoirs de Dakar**

Les abattoirs de Dakar constituent un service d'inspection et de salubrité des animaux et de leur viande. Ils sont de type industriel car est destiné à l'alimentation des grands marchés de consommation et des marchés d'exportation. Avec une centaine d'agents à leur effectif, leur capacité de production dépasse trois milles tonnes de viande par année et sont sous le contrôle de la SOGAS (Société de Gestion des abattoirs du Sénégal) depuis leur privatisation.

Les abattoirs de Dakar sont situés au kilomètre 9,5 sur la route de Rufisque dans la région de Dakar au niveau du département de Pikine dans la commune d'arrondissement de Dalifort. Ils sont implantés dans un lieu hors agglomérations, très accessibles du fait de la présence de l'autoroute et du chemin de fer, approvisionnables en eau et proche de la mer permettant ainsi l'évacuation des eaux usées.

#### **2. Matériel de prélèvement**

##### **2.1. Sur le terrain**

Le matériel est composé d'un couteau, de gants, de sachets en plastique et de pots pour le recueil des prélèvements, d'une glacière pour le transport des prélèvements.

Les fiches d'informations sont fournies qu'après une saisie totale (Annexes III et IV) pour les besoins d'un éventuel contrôle dans les laboratoires vétérinaires en vue d'un diagnostic fiable afin de confirmer ou d'infirmer la maladie suspectée. Ainsi, sur cette fiche, tous les commémoratifs y sont inscrits à savoir : l'espèce saisie, l'âge, le sexe, le

poids éventuellement, le numéro d'ordre de l'animal, le numéro d'identification du chevillard, le nom de l'agent ayant effectué la saisie, la nature du prélèvement (organe ou ganglions), la maladie suspectée avec ses symptômes et lésions, les dates de saisies et d'envoi du prélèvement au laboratoire en plus de la situation géographique des abattoirs de Dakar.

S'agissant des saisies partielles, il faut avoir recours au questionnement du chevillard, ce qui pose souvent des problèmes car les informations ne sont pas fournies de façon nette et précise.

## **2.2. Au laboratoire**

- **Isolement et identification du germe**

Le matériel est constitué du matériel usuel d'un laboratoire de bactériologie mais plus particulièrement de mortiers et de pilons, d'un autoclave, de tubes de culture bactériologiques à vis, d'une centrifugeuse avec ses tubes, de ciseaux, de lames pour les frottis, d'un microscope, d'une hotte à flux laminaire, de pinces, d'une étuve, d'une anse de platine, de bec bunsen, de ballons, de bécher, d'un vortex, de gants, de masque bucco-nasal, de pipettes, de bain-marie.

Parmi les réactifs chimiques citons l'éthanol, la soude à 4%, l'acide sulfurique, le bleu de bromothymol, le bleu de méthylène, la glycérine, la fushine de Ziehl.

- **Méthode moléculaire**

- ✓ **Pour la PCR standard**

1. Les appareils

- le thermocycleur est un bloc chauffant programmable qui passe de température en température le nombre de cycles voulus en plus d'une possibilité de passer à 4 degrés pour conserver les échantillons.
- la centrifugeuse de microtubes
- vortex

- bain-marie
- les micropipettes

## 2. Les réactifs

- L'enzyme : la Taq polymérase extraite de *Thermophilus aquaticus* qui est une bactérie extrémophile (source chaude) permettant l'élongation à 72 degrés et le passage à 94 degrés sans dégradation de l'enzyme.
- L'ADN matrice est extrait des colonies de mycobactéries.
- Les amorces spécifiques: sont toujours au nombre de deux.
- dNTP : est un mélange de quatre désoxyribonucléotides à savoir le dATP, le dCTP, le dTTP, le dGTP à égales concentrations.
- Les tampons : le BD et le  $MgCl_2$  : le magnésium est nécessaire à la stabilisation des nucléotides et à l'activité de la polymérase.
- Eau distillée.

## 3. Les consommables : tubes PCR, embouts, gants, masque bucco-nasal

### ✓ Pour le gel d'électrophorèse

#### 1. Les appareils

- Transformateurs et fils électriques
- Balance Sartorius
- Four à micro-ondes
- Chambre de migration
- Peigne
- Table Ultraviolet



- Appareil photographique
- Support de gel
- Générateur

## 2. Les réactifs

- TBE 0,5x (Tris-borate EDTA pour gel électrophorèse)
- Loading buffer (bleu de charge)
- Agarose
- Bromide d'Ethidium
- Marqueur de poids
- Produits PCR (extrait d'ADN)

## 3. Les consommables

- Parafilm
- Gants
- Masque bucco-nasal
- Embouts de 20 $\mu$ l /200 $\mu$ l

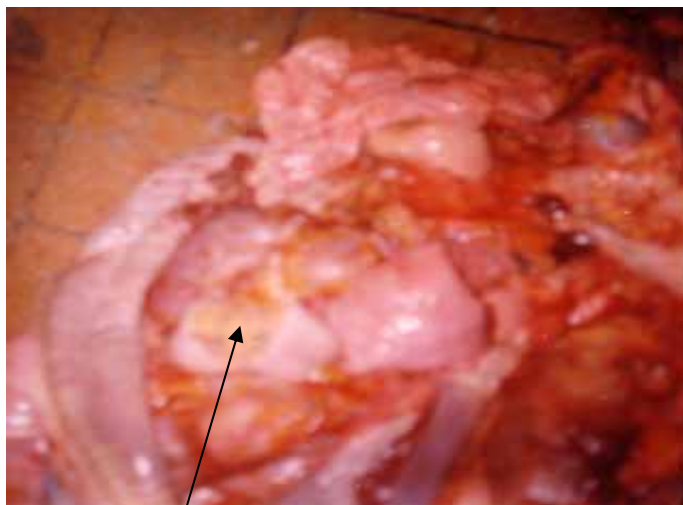
## II. METHODES DE TRAVAIL

### 1. Sur le terrain

Aux abattoirs de Dakar, les prélèvements sont effectués sur les carcasses au moment de l'inspection de salubrité. Les viscères les plus incriminés sont les poumons suivis du foie. Ainsi, la présence de nodules est recherchée au niveau du poumon par palpation sur toute sa surface et sur la face dorsale de chaque lobe diaphragmatique du poumon, une incision perpendiculaire au grand axe de ce poumon entre le 1/3 postérieur et le 1/3 moyen du lobe est effectuée suivie d'autres incisions ganglionnaires à la recherche de lésions tuberculeuses. Si c'est le cas, la saisie



Carcasse suspecte de tuberculose bovine



Poumons avec des lésions miliaries



Foie avec des lésions nodulaires

**Figure 5** : Exemples de saisies pour une suspicion de tuberculose bovine

Photo : DIAGNE, 2006

partielle est effectuée et une partie affectée de ce poumon est découpée et conservée, soit dans un sachet en plastique soit dans un pot prédisposé aux prélèvements et le tout est mis dans une glacière en vue d'un transport au laboratoire. Les commémoratifs sont ensuite recueillis auprès des propriétaires et personnel des abattoirs. Pour le foie aussi, les palpations sont de rigueur mais, contrairement au poumon, les lésions tuberculeuses, si elles existent, sont plus visibles sur le foie. En effet, les lésions tuberculeuses telles que les lésions miliaires ou les lésions caséuses au niveau du foie sont très nettes à vue d'œil.

Une saisie totale est effectuée lorsque la carcasse elle-même est atteinte de lésions tuberculeuses. On procède ainsi au prélèvement d'une partie du muscle, des ganglions atteints et des poumons et le même protocole est suivi comme pour la saisie partielle mais ici, une fiche de commémoratifs est fournie.

Les prélèvements obtenus sont acheminés au laboratoire de l'EISMV (Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires).

## **2. Au laboratoire**

### **2.1. Méthode classique : isolement et identification biochimique**

#### **✓ Isolement du germe**

Le poumon est l'organe de choix pour la recherche de bacilles tuberculeux. La première partie de ce traitement manuel consiste en la décontamination des prélèvements en vue d'éliminer le maximum de bactéries contaminantes. Une partie du culot obtenu après centrifugation estensemencée dans du milieu de culture Lowenstein-Jensen en double à savoir : un tube glyciné et un autre tube non glyciné. Ces tubes sont incubés à 37 degrés Celsius afin de permettre la croissance des mycobactéries.

L'autre partie du culot est utilisée pour faire la bactérioscopie après coloration de Ziehl afin de déceler la présence de bacilles acido-alcool-résistants (BAAR). Rappelons que l'absence de BAAR sur un frottis ne signifie pas que le prélèvement ne contient pas de mycobactéries et par conséquent, la confirmation ou l'infirmité de la suspicion ne se fera qu'après la mise en culture et la lecture des résultats quatre

semaines après l'ensemencement. Cependant, étant donné que la croissance des mycobactéries est très lente, ces quatre semaines constituent la première étape du temps de croissance des mycobactéries qui peut atteindre trois mois.

### ✓ **Identification biochimique des cultures positives**

Le traitement biochimique se fait à travers les tests biochimiques utilisés afin de différencier *Mycobacterium bovis* de *Mycobacterium tuberculosis* et des mycobactéries atypiques. Ainsi trois tests principaux sont utilisés à savoir : le test à la catalase, le test à la niacine et le test à la nitrate-réductase.

#### **a. Test à la catalase**

- Principe

La catalase est une enzyme qui détruit les peroxydes formés au cours des réactions d'oxydation. Sa mise en évidence se fait par dégagement d'oxygène gazeux en présence d'eau oxygénée.

- Interprétation

Le caractère positif se traduit par la présence de bulles.

Une réaction négative après chauffage à 68 degrés signe une catalase thermolabile ; c'est le cas de *Mycobacterium bovis*.

Une réaction positive après chauffage à 68 degrés signe une catalase thermorésistante ; c'est le cas des mycobactéries atypiques.

#### **b. Test à la niacine**

- Principe

*Mycobacterium tuberculosis* accumule de l'acide nicotinique extracellulaire pendant sa croissance in vitro. La présence d'acide nicotinique, précurseur formé au cours de la biosynthèse du NAD (Nicotinamide Adénine Dinucléotide), peut être révélée par voie chimique sous forme de base de Schiff colorée.

A cet effet, l'hétérocycle est d'abord rompu au moyen du bromure de cyanogène. L'aldéhyde produit couplé à une amine aromatique (aniline), fournit une base colorée.

- Interprétation

Une réaction positive se traduit par une coloration jaune au bas de la bandelette et indique la présence de *Mycobacterium tuberculosis*.

### **c. Test à la nitrate-réductase**

- Principe :

Les mycobactéries possédant un nitrate vont réduire les nitrates de sodium en nitrites après deux heures d'incubation. C'est le cas de *M. tuberculosis* et des atypiques.

- Interprétation :

Une réaction positive se traduit par une coloration rouge framboise vif.

Les détails techniques de ces trois tests sont consignés en annexe V.

## **2.2. Méthode biomoléculaire : la PCR**

### **✓ Définition**

La PCR ou Polymerase Chain Reaction ou encore réaction de polymérisation en chaîne est l'amplification d'une portion d'ADN située entre deux zones de séquences connues appelées zones flanquantes.

### **✓ Principe**

La PCR, consiste en l'amplification d'une portion spécifique d'un gène dont on connaît la séquence. Cette amplification a été rendue possible grâce à la découverte d'une ADN polymérase, capable de résister aux températures de dénaturation et dénommée la Taq polymérase. Cette enzyme est capable, à partir d'amorces spécifiques d'ajouter des nucléotides de façon complémentaire et anti-parallèle, à la

portion de gène que l'on désire amplifier. Cette dernière est obtenue à l'issue de plusieurs cycles successifs. Chaque cycle comprend trois étapes à savoir :

- La dénaturation de l'ADN cible à 94 degrés
- L'hybridation des amorces entre 50 et 65 degrés
- L'élongation de l'ADN à 72 degrés

L'astuce de la technique consiste à utiliser une paire d'amorces spécifiques et différentes flanquant la séquence à amplifier. Les amorces sont généralement des oligonucléotides qu'il est possible d'obtenir par synthèse chimique.

Le rendement théorique de la réaction est très intéressant puisqu'il permet une amplification théorique de  $2^n$  (n en puissance), n étant le nombre de cycles. Remarquons que l'efficacité de la réaction diminue avec le nombre de cycles effectués.

A la suite de la réalisation technique de la PCR, l'interprétation des résultats obtenus nécessite la connaissance de la technique PCR utilisée à savoir la technique MIRU-VNTR et ETR-VNTR et les détails techniques de réalisation de la PCR sont en annexe VI.

#### ✓ **Nombre variable de répétitions de tandem (VNTR)**

Différents éléments VNTR ont été identifiés dans le génome des souches du Complexe *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB). Ceux-ci ont été découverts dans plusieurs études et des noms différents ont été donnés tels que MIRU (Mycobacterial Interspersed Repetitive Units) (GICQUEL et coll., 2000) et ETR (Exact Tandem Repeats) (FROTHINGHAM et MEEKER-O'CONNELL ; 1998). Dans notre cas, les amorces MIRU utilisées sont : MIRU : 20 ; 26 et 27 et pour Les amorces ETR nous avons ETR A, ETR B et ETR C.

Les nombres des répétitions VNTR peuvent varier considérablement entre des différentes souches. Le typage VNTR permet donc la distinction de différentes souches de la même espèce bactérienne (ex : la méthode permet de distinguer différentes souches de *Mycobacterium bovis*). En principe, seules les souches du complexe *Mycobacterium tuberculosis* contiennent les éléments MIRU –ou ETR-

VNTR (les autres espèces bactériennes contiennent d'autres éléments VNTR différents de ceux de MIRU et ETR). Par conséquent, la présence d'un signal, après amplification d'une région MIRU- ou ETR-VNTR, indique que la souche correspondante est une souche du CMTB.

- **Typage VNTR**

Le typage VNTR est constitué de deux étapes :

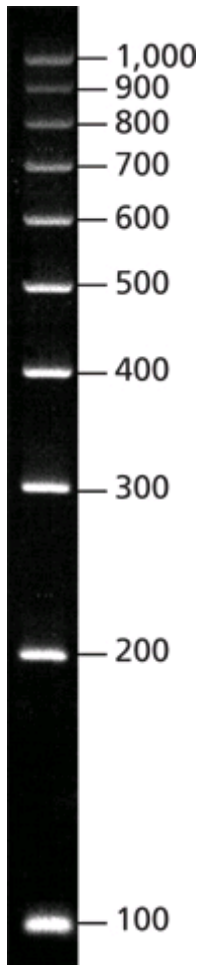
- l'amplification d'une région VNTR avec deux amorces hybridant avec des séquences complémentaires aux bords de la région VNTR,
- le gel électrophorèse du produit PCR pour estimer la taille du fragment.

En connaissant la taille du fragment PCR, le nombre de répétitions peut être déterminé en utilisant le « tableau d'interprétation » ci-dessous :

**TABLEAU XIV:** tableau d'interprétation de la méthode MIRU-et ETR-VNTR

Nombre de répétitions	Taille des produits PCR												
	MI 2	MI 4	MI 4a	MI 10	MI 16	MI 20	MI 23	MI 24	MI 26	MI 27	ETR A	ETR B	ETR C
0	527	114	61	220	369	221	77	395	246	277	195	121	44
1	580	191	138	273	422	298	130	447	297	330	270	178	102
2	633	268	215	326	475	375	183	499	348	383	345	235	160
3	686	345	292	379	528	452	236	551	399	436	420	292	218
4	739	422	369	432	581	529	289	603	450	489	495	349	276
5	792	499	446	485	634	606	342	655	501	542	570	406	334
6	845	576	523	538	687	683	395	707	552	595	645	463	392
7	898	653	600	591	740	760	448	759	603	648	720	520	450
8	951	730	677	644	793	837	501	811	654	701	795	577	508
9	1004	807	754	697	846	914	554	863	705	754	870	634	566
10	1057	884	831	750	899	991	607	915	756	807	945	691	624
11	1110	961	908	803	952	1068	660	967	807	860	1020	748	682
12	1163	1038	985	856	1005	1145	713	1019	858	913	1095	805	740
13	1216	1115	1062	909	1058	1222	766	1071	909	966	1170	862	798
14	1269	1192	1139	962	1111	1299	819	1123	960	1019	1245	919	856
15	1322	1269	1216	1015	1164	1376	872	1175	1011	1072	1320	976	914

- **Interprétation**



Le marqueur de poids moléculaire de 100 paires de bases (pb) des laboratoires Sigma- Aldrich contient des fragments d'ADN d'une taille de 100 à 1000pb comme le montre l'image suivante ci-contre.

La procédure d'interprétation se résume en trois étapes :

1. En comparant l'emplacement des fragments du marqueur et du produit PCR, la taille du produit PCR doit être estimée,
2. Dans le tableau d'interprétation, au niveau de la colonne correspondant aux amorces utilisées, chercher la taille qui correspond le plus à la taille estimée (ex : si les amorces pour ETR-A ont été utilisés et que la taille du produit PCR est d'environ 350 pb, dans la colonne correspondante du tableau d'interprétation, la taille qui correspond le plus à la taille estimée est 345pb),
3. Le nombre de répétitions correspondantes est indiqué dans la première colonne à gauche (dans l'exemple précédent, cela serait le 2 ; la souche contiendrait donc 2 répétitions de l'élément VNTR au locus ETR-A).



## CHAPITRE II : RESULTATS

### I. DU TERRAIN

Les prélèvements d'organes, principalement des poumons, aux abattoirs de Dakar se sont étalés sur une période de trois ans (Août 2005 à Mai 2008). Au total, trente sept prélèvements suspects ont été récoltés comme le montre le tableau XV ci-après.

**TABLEAU XV** : Résultats de la collecte de prélèvements suspects de tuberculose aux abattoirs de Dakar

Date	Effectif des bovins abattus	Nombre de bovins avec des lésions suspectes	Race	Agés (ans)	Sexe	Modes de saisies	Origine de l'animal
Janvier 2005	3928	0					
Février 2005	4282	0					
Mars 2005	4710	0					
Avril 2005	4923	0					
Mai 2005	4400	0					
Juin 2005	4571	0					
Juillet 2005	4723	0					
Août 2005	4910	8	Gobra	8	Mâle	Saisie Totale (ST)	Zone Sylvopastorale (ZSP)
			Gobra	9	Mâle	Saisie Partielle (SP)	Mali
			Ndama	9	Mâle	ST	Mali
			Peulh	8	Mâle	SP	Mali
			Gobra	7	Mâle	SP	Mali
			Ndama	7	Mâle	SP	Mali
			Peulh	8	Mâle	SP	Mali
			Gobra	8	Mâle	SP	Mali
Septembre 2005	5238	0					
Octobre 2005	5162	0					
Novembre 2005	4860	0					

<b>Date</b>	<b>Effectif des bovins abattus</b>	<b>Nombre de bovins avec des lésions suspectes</b>	<b>Race</b>	<b>Agés (ans)</b>	<b>Sexe</b>	<b>Modes de saisies</b>	<b>Origine de l'animal</b>
Décembre 2005	5650	9	Gobra	7	Mâle	ST	Mali
			Gobra	6	Mâle	ST	Mali
			Gobra	6	Mâle	SP	Mali
			Gobra	9	Mâle	ST	Mali
			Gobra	7	Mâle	ST	Mali
			Gobra	7	Mâle	SP	Mali
			Gobra	7	Mâle	SP	Mali
			Gobra	5	Mâle	SP	Mali
			Ndama	7	Mâle	SP	Mali
Janvier 2006	2933	2	Gobra	6	Mâle	SP	Mali
			Gobra	6	Mâle	ST	Mali
Février 2006	4153	0					
Mars 2006	4803	4	Gobra	6	Mâle	SP	Mali
			Gobra	7	Mâle	ST	Mali
			Gobra	6	Mâle	SP	Dakar
			Gobra	6	Mâle	SP	Mali
Avril 2006	4559	3	Maure	6	Mâle	SP	Mauritanie
			Gobra	6	Mâle	SP	Mali
			Gobra	7	Mâle	SP	Mali
Mai 2006	4361	0					
Juin 2006	4270	2	Gobra	4	Mâle	SP	Dakar
			Gobra	10	Mâle	SP	Mali
Juillet 2006	4974	1	Gobra	4	Mâle	ST	ZSP
Août 2006	5327	0					
Septembre 2006	5472	1	Gobra	8	Mâle	ST	Mali
Octobre 2006	5538	0					
Novembre 2006	5433	2	Gobra	5	Mâle	ST	Mali
			Djakoré	6	Mâle	ST	Mali
Décembre 2006	5194	1	Gobra	6	Mâle	ST	Mali
Janvier 2007	3963	0					
Février 2007	4695	0					
Mars 2007	5234	0					
Avril 2007	4474	0					

Date	Effectif des bovins abattus	Nombre de bovins avec des lésions suspectes	Race	Agés (ans)	Sexe	Modes de saisies	Origine de l'animal
Mai 2007	4702	0					
Juin 2007	4580	0					
Juillet 2007	4237	0					
Août 2007	5093	1	Gobra	7	Mâle	ST	Mali
Septembre 2007	5223	0					
Octobre 2007	6016	1	Gobra	9	Mâle	ST	ZSP
Novembre 2007	6046	1	Gobra	7	Mâle	ST	Mali
Décembre 2007	4209	0					
Janvier 2008	5166	0					
Février 2008	5094	1	Gobra	5	Femelle	ST	Dahra (Sénégal)
Mars 2008	5707	0					
Avril 2008	5755	0					
Mai 2008	5533	0					
<b>TOTAL</b>	<b>200 101</b>	<b>37</b>					

### 1. Prévalence des lésions tuberculeuses

La prévalence des lésions tuberculeuses est de 37 sur 200 101 soit 0,0185%.

### 2. Nombre des saisies sur les animaux abattus

Le nombre des saisies partielles est de 20 soit 0,010% et celui des saisies totales s'élève à 17 soit 0,0085%.

**TABLEAU XVI:** Nombre des saisies

	Nombre	Pourcentages
Saisies Partielles	20	0,010
Saisies Totales	17	0,0085
<b>TOTAL</b>	<b>37</b>	<b>0,0185</b>

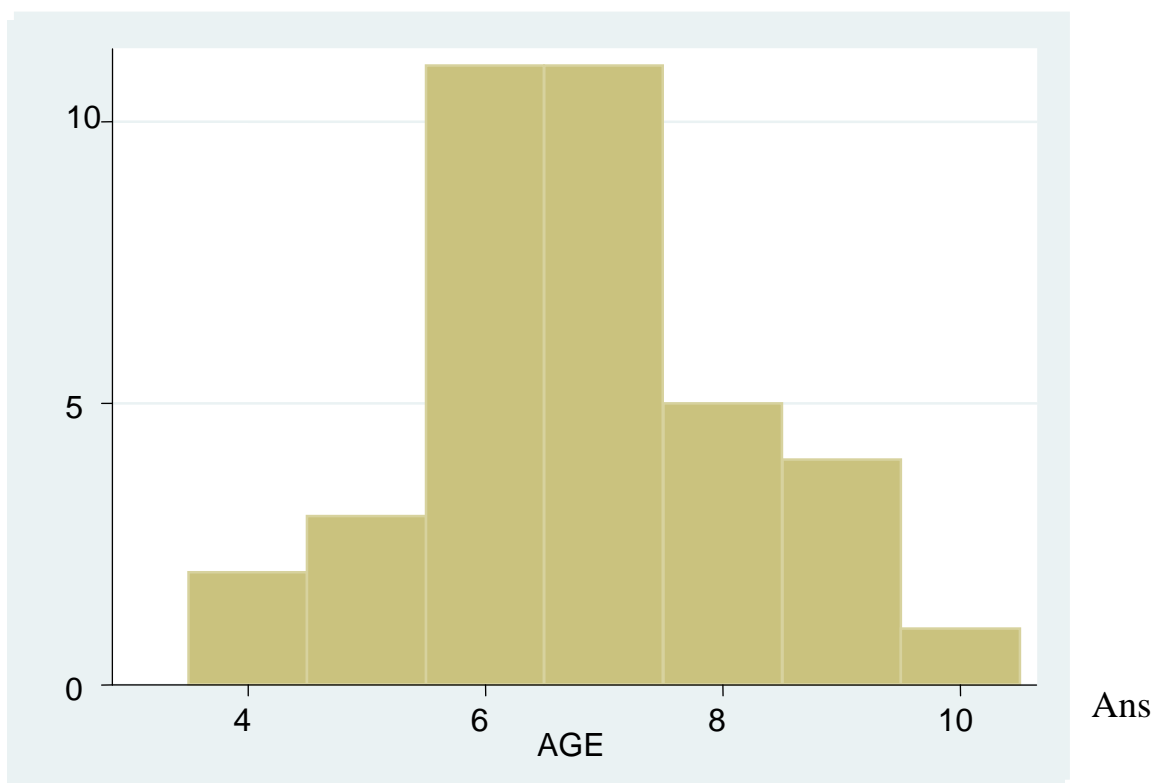
### 3. Age, race, sexe et origine des animaux saisis

#### ✓ Age

L'âge moyen des animaux avec des lésions suspectes est 6,8 ans.

L'histogramme présente la fréquence des âges.

Fréquences



**Figure 6** : Fréquence des âges

#### ✓ Race

La principale race concernée est le Gobra.

**TABLEAU XVII**: Races saisies

Gobra	Ndama	Peulh	Maure	Djakoré	<b>TOTAL</b>
30	3	2	1	1	<b>37</b>

✓ **Sexe**

Les animaux sont en majorité de sexe mâle (36/37 bovins).

✓ **Origine**

La principale provenance des bovins saisis semble être le Mali (30 bovins). Au Sénégal c'est la Zone Sylvo-Pastorale (3 bovins).

## **I. DE LABORATOIRE**

### **1. Bactérioscopie sur organe et mise en culture**

Le poumon est l'organe utilisé pour la recherche des mycobactéries et l'ensemencement de chaque prélèvement se fait en double dans deux tubes : un tube glycérimé et un autre non glycérimé (exemple pour le prélèvement 6 nous avons le 6 et le 6G, G pour glycérimé).

Le tableau ci-après résume le résultat final obtenu après traitement de tous les échantillons positifs.

**TABLEAU XVIII : Résultat final**

<b>Numéro des prélèvements positifs</b>	<b>Bactérioscopie sur organe</b>	<b>Date de mise en culture sur milieu de Lowenstein-Jensen</b>	<b>Date d'apparition des colonies à bacilles acido-alcoolo-résistants dans les cultures</b>
3	Négative	19/06/07	02/10/07
6	Positive	19/06/07	02/10/07
6G	Positive	19/06/07	02/10/07
9	Négative	19/06/07	02/10/07
9G	Négative	19/06/07	02/10/07
10	Négative	19/06/07	02/10/07
14G	Négative	19/06/07	02/10/07
29G	Positive	19/06/07	02/10/07
33	Négative	19/06/07	02/10/07
35	Négative	17/12/07	11/04/08
37	Négative	11/04/08	18/04/08

L'étude du tableau a montré que 2 prélèvements sur 37 ont donné une bactérioscopie positive. Rappelons que l'absence de bacilles acido-alcoolo-résistants dans les frottis

ne signifie pas absence de mycobactéries dans les prélèvements car le résultat des cultures peut être tout autre.

Le résultat des cultures résumé dans le tableau XVIII montre que 9 échantillons sur 37 ont donné des colonies de bacilles acido-alcoolo-résistants soit un pourcentage de 24,32%.

- **Relation entre bactérioscopie et cultures**

Deux prélèvements seulement se sont révélés positifs aussi bien pour la bactérioscopie que pour les cultures. Il s'agit des échantillons 6 et 29 et les sept autres prélèvements positifs après culture n'ont pas permis de visualiser des bacilles acido-alcoolo-résistants après coloration de Ziehl.

**TABLEAU XIX** : Récapitulatif des résultats positifs à partir des lésions suspectes

Date de prélèvement	Prélèvements à bacilles acido-alcoolo-résistants	Sexe	Age (ans)	Type de saisies	Origine
Décembre 2005	9 et 9G	Mâle	6	Saisie totale	Mali
	14G	Mâle	9	Saisie totale	Mali
Janvier 2006	3	Mâle	6	Saisie partielle	Mali
Mars 2006	6 et 6G	Mâle	6	Saisie partielle	Mali
	10	Mâle	7	Saisie totale	Mali
Juillet 2006	29G	Mâle	4	Saisie totale	Zone Sylvopastorale
	33	Mâle	6	Saisie totale	Mali
Octobre 2007	35	Mâle	9	Saisie totale	Zone sylvo pastorale
Février 2008	37	Femelle	5	Saisie totale	Dahra

## 2. Caractérisation biochimique

La caractérisation biochimique comporte trois tests à savoir le test à la catalase, le test à la niacine et le test à la nitrate réductase. Les résultats de ces tests sont consignés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau XX:** Résultats des tests biochimiques

		3	6	6G	9	9G	10	14G	29G	33	35	37
	H2O2 normale	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Catalase (présence de bulles)	H2O2 chauffée	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+
Test à la niacine (coloration jaune)		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrate-réductase (coloration rouge framboise)		-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+

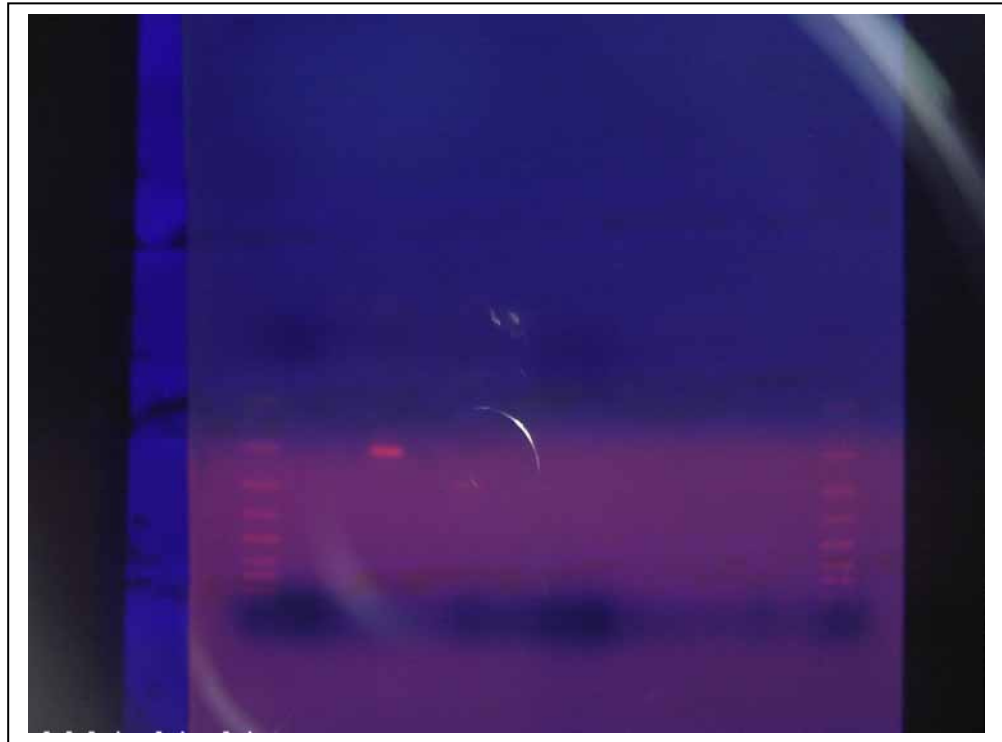
Le tableau XX montre, par rapport au test à la niacine, qu'aucune souche isolée ne correspond à *Mycobacterium tuberculosis* ; que la plupart des souches seraient des mycobactéries atypiques à l'exception des souches numéros 3, 9 et 33 selon le test à la nitrate réductase. Enfin, selon le test à la catalase, les souches numéros 6, 9 et 33 seraient *Mycobacterium bovis* et les autres (3, 10, 14G, 29G, 35 et 37) des atypiques.

### 3. Caractérisation moléculaire (méthode PCR)

La méthode PCR a fait appel à six paires d'amorces à savoir MIRU 20, MIRU 26, MIRU 27, ETR A, ETR B, et ETR C.

Les résultats obtenus avec chaque paire d'amorces sont matérialisés par des images après gel électrophorèse. Sur les figures 6, 7 et 8, les échantillons sont disposés comme suit : marqueur de poids moléculaire, témoin positif, témoin négatif, 3, 6, 6G, 9, 9G, 10, 14G, 29G, 33, 35, 37, puis à nouveau le marqueur de poids moléculaire :

- de la gauche vers la droite pour MIRU 26
- de la droite vers la gauche pour ETR A et ETR C
  - Pour MIRU 20 : aucun signal n'a été détecté avec cette paire d'amorces.
  - Pour MIRU 26 : un signal est détecté avec l'échantillon 3. La taille est estimée à environ de 250 paires de bases (pb) et suivant le tableau XIV d'interprétation à la page 61, cette taille est proche de 246 donc il n'y a pas de répétition de l'élément VNTR au locus 26 (figure 7).

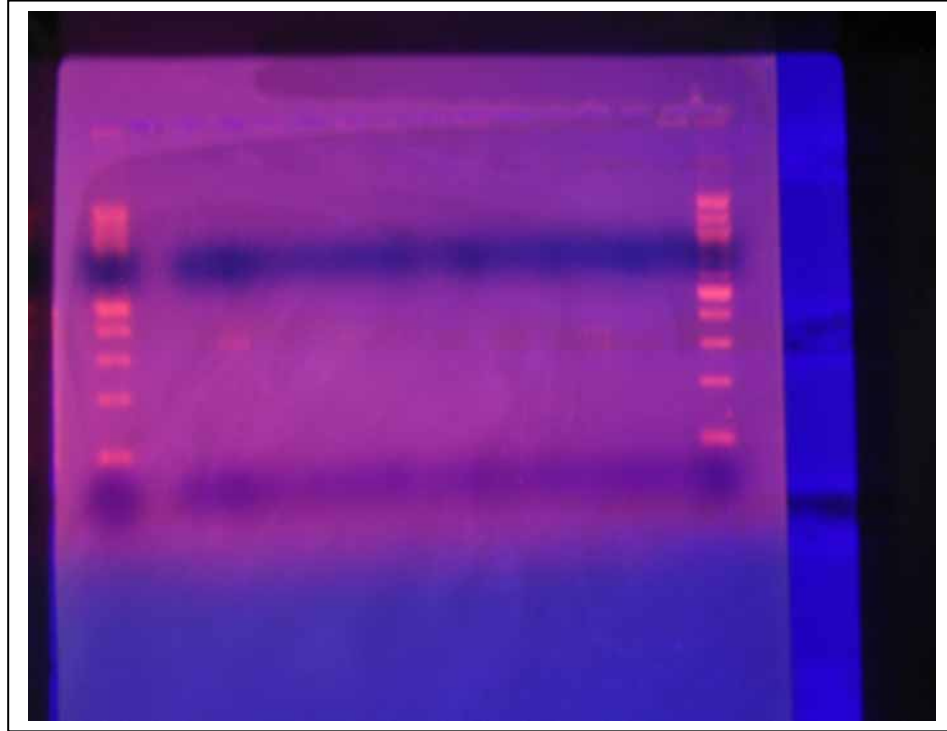


**Figure 7** : Résultats de la détection des produits PCR avec les amorces de MIRU 26

- Pour MIRU 27 : aucun signal n'est détecté
- Pour ETR A : un signal est détecté avec :
  - l'échantillon 6 : la taille est estimée à environ de 550pb proche de 570 avec 5 répétitions de l'élément VNTR au locus ETR A,
  - l'échantillon 35 : la taille est estimée à environ de 700pb proche de 720 avec 7 répétitions de l'élément VNTR au locus ETR A (figure 8).







**Figure 9** : Résultats de la détection des produits PCR avec les amorces de ETR C

Ces résultats montrent que les prélèvements 3 (pour le programme MIRU); 6 et 35 (pour le programme ETR) contiennent des souches de *Mycobacterium bovis* et appartiennent ainsi au complexe *Mycobacterium tuberculosis* étant donné que les amorces MIRU et ETR sont spécifiques aux souches de mycobactéries du complexe *tuberculosis*.

#### 4. Comparaison des résultats obtenus par la méthode classique d'identification et la méthode moléculaire

Cette comparaison est présentée sous forme de tableau.

**TABLEAU XXI:** Comparaison des résultats des méthodes biochimique et biomoléculaire.

Numéro des prélèvements et souches isolées	Méthode classique						Méthode moléculaire	
	Bactérioscopie sur organe	Isolement en culture	Biochimie				MIRU 26	ETR-A et -C
			Catalase	Nitrate-réductase	Niacine	Conclusion		
3	-	+	+	-	-	Mycobactérie atypique	<i>M. bovis</i>	Atypique
6	+	+	-	+	-	Mycobactérie atypique	Atypique	<i>M. bovis</i>
6G	+	+	-	+	-	Mycobactérie atypique	Atypique	Atypique
9	-	+	-	-	-	<i>Mycobacterium bovis</i>	Atypique	Atypique
9G	-	+	-	+	-	Mycobactérie atypique	Atypique	Atypique
10	-	+	+	+	-	Mycobactérie atypique	Atypique	Atypique
14G	-	+	+	+	-	Mycobactérie atypique	Atypique	Atypique
29G	+	+	+	+	-	Mycobactérie atypique	Atypique	Atypique
33	-	+	-	-	-	<i>Mycobacterium bovis</i>	Atypique	Atypique
35	-	+	+	+	-	Mycobactérie atypique	Atypique	<i>M. bovis</i>
37	-	+	+	+	-	Mycobactérie atypique	Atypique	Atypique

Selon ce tableau, la plupart des souches isolées sont des mycobactéries atypiques. Il n'y a aucune concordance entre les différentes méthodes pour l'identification des mycobactéries du complexe *tuberculosis*.

## **CHAPITRE III : DISCUSSION ET RECOMMANDATIONS**

### **I. DISCUSSION**

#### **1. Matériel et méthodes**

##### **1.1. Sur le terrain**

Le matériel utilisé est adapté pour les prélèvements (sachets en plastiques et pots) et le transport de ces prélèvements (glacière).

Les méthodes de travail constituées par les différentes incisions sont aussi bien respectées par le personnel et périodiquement, des inspections sont effectuées par le service d'Hygiène et d'Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale (HIDAOA) de l'École Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires (EISMV) afin de corriger et améliorer le travail.

Le principal problème rencontré aux abattoirs est la réticence des chevillards à fournir des informations sur l'animal après la saisie des organes.

##### **1.2. Au laboratoire**

Le matériel a été disponible aussi bien pour le traitement manuel des prélèvements que pour la biochimie et la biologie moléculaire. Cependant, les réactifs ont beaucoup fait défaut pour la réalisation des tests biochimiques et de la biologie moléculaire ce qui a été l'une des causes de retard dans l'obtention des résultats.

Le traitement manuel des prélèvements est à reconsidérer car même après décontamination il reste toujours des contaminants dans l'échantillon qui peuvent fausser les résultats. Il est vrai qu'il est impossible d'éliminer toutes les bactéries autres que les mycobactéries dans un prélèvement. La coloration de Ziehl a été bien menée ce qui a abouti à l'observation au microscope de fins bacilles acido-alcoolorésistants rectilignes ou légèrement incurvés regroupés en amas ou parfois isolés, de coloration rose sur fond bleu. Le milieu de culture Lowenstein-Jensen que nous avons utilisé a donné de bons résultats bien que la croissance des mycobactéries soit très lente.

Le manque de réactifs pour l'identification biochimique des mycobactéries isolées après culture a constitué le problème majeur durant le travail. Par conséquent, à un moment donné, nous avons sollicité le service de Bactériologie, de Virologie et d'Immunologie de l'hôpital Aristide le Dantec qui nous a fourni les réactifs nécessaires pour les tests biochimiques. Ainsi l'identification a pu être effectuée au sein du laboratoire de MIPI (Microbiologie Immunologie Pathologie Infectieuse) à l'EISMV de Dakar.

La réalisation de la biologie moléculaire a aussi eu comme difficulté, le manque de réactifs.

## **2. Résultats**

### **2.1. Sur le terrain**

Le nombre de prélèvements obtenus aux abattoirs à savoir, 37 échantillons sur un total de 200101 carcasses de bovins contrôlés, est très faible au bout de trois ans de collecte. L'étude du tableau XV révèle l'absence totale de lésions suspectes de tuberculose bovine durant certains mois et le nombre de saisies (saisies totales et partielles incluses) par mois n'est guère élevé sauf peut être en Août 2005 (8 prélèvements) et en Décembre 2005 (9 prélèvements).

Cependant ces saisies, surtout les saisies totales (0,0085 %), constituent quand même une grosse perte pour l'éleveur sur le plan économique étant donné que cet éleveur ne bénéficie d'aucun remboursement suite à la saisie de la carcasse sur le plan sanitaire. Par conséquent, certains éleveurs réagissent très mal après les décisions de saisies.

Le tableau XV montre aussi que le nombre de bovins abattus par mois connaît une certaine fluctuation. En effet, durant les périodes de tabaski, le nombre de bovins abattus baisse au profit des abattages des ovins ; cela a été le cas en Janvier 2006 (2933 bovins) et Décembre 2007 (4209 bovins) par rapport aux mois qui les précédaient.

Ces résultats de collecte confirment les conclusions des travaux de certains auteurs comme GUEYE et SEYDI (1982) et KONTE et UNGER (2003) qui ont montré la rareté de la tuberculose bovine au Sénégal et par conséquent, la faiblesse de sa prévalence (0,0185%).

Cette prévalence est très faible, comparée à celle des autres pays de l'Afrique de l'Ouest comme le Mali (1,8%) d'où sont importés la plupart des bovins (BONFOH et coll., 2008). Cependant, cette origine malienne des bovins suspects à Dakar est à reconsidérer comme le suggérait DOUTRE (1976) dans ses recherches sur la tuberculose bovine aux abattoirs de Dakar. En effet il se demandait si l'origine exacte des animaux abattus était réellement connue. Cette question mérite une réflexion sachant qu'en Afrique, il n'existe pas de frontières véritables entre les différents pays surtout ceux de la sous région; par conséquent, il est difficile de contrôler le mouvement du bétail. La deuxième origine la plus citée est la zone sylvo-pastorale au Sénégal or, cette zone regroupe plusieurs régions comme celles de Louga et Matam ; donc cela reste toujours très vague. Le problème de traçabilité du bétail demeure entier dans la sous région et constitue donc un véritable obstacle à surmonter pour la lutte contre la tuberculose bovine. Le flux incessant et incontrôlé de bétail contribue beaucoup à la propagation de la tuberculose bovine car, les regroupements des animaux autour des points d'eau par exemple, augmentent les risques d'infection sans aucune distinction de race ou de sexe.

Dans notre étude, la race Gobra est la plus atteinte par la maladie; cela n'est qu'un pur hasard. Il en est de même pour le sexe des animaux suspects car, dans le cadre d'un élevage de rente, ce sont mâles qui sont surtout envoyés pour l'abattage et la commercialisation et les femelles sont destinées à la reproduction. Ceci permet de comprendre que tous les bovins saisis soient des mâles sauf une femelle qui ne provient pas des abattoirs de Dakar mais de la ferme de Nialcourab.

Il existe une corrélation entre l'âge des animaux atteints et la tuberculose bovine, ainsi que pourrait le laisser présager une maladie chronique. En effet, il existe une corrélation entre l'âge et le degré d'infection dans une population infectée, car les individus les plus âgés sont exposés plus longtemps aux facteurs de risque. Et dans notre cas, la population la plus atteinte est relativement jeune (6-7 ans) suivant le graphique de la fréquence des âges à la page 66.

## 2.2. Au laboratoire

Les résultats de la bactérioscopie directe sur culot d'organe ont donné deux prélèvements positifs confirmés par les cultures (le 6 et le 29) et un seul confirmé par la biologie moléculaire (le 6). Il est à noter que les prélèvements soumis à la coloration de Ziehl sont souvent contaminés car, d'autres bactéries acido-alcoolo-résistantes (*Corynebacterium* spp., *Nocardia* spp., etc.) peuvent se retrouver dans un même prélèvement et faussent les résultats. D'où le manque de spécificité de la bactérioscopie.

L'identification biochimique des échantillons qui repose principalement sur les recherches de catalase, nitrate réductase et niacine ont donné des résultats satisfaisants pour le test à la niacine (absence de *Mycobacterium tuberculosis*) mais très contradictoires pour les tests à la catalase et à la nitrate réductase. En effet, certaines souches considérées comme *Mycobacterium bovis* suite à la réaction à la catalase se sont révélées atypiques suite au test à la nitrate réductase (voir tableau XX à la page 69). Cette apparente contradiction pourrait être trouvée en discutant sur les conclusions du test à la catalase (perte ou non de l'activité catalytique après chauffage à 68°C) car certains chercheurs affirment que ces conclusions ne sont pas assez fiables. Cependant, l'isolement d'une bactérie atypique ne permet pas d'exclure une infection par *M. bovis*. Il faut être certain que la bactérie ne provient pas soit, d'une contamination lors du prélèvement soit, d'un transit passager chez le bovin prélevé. De plus rien ne permet d'exclure une infection mixte

L'insuffisance des méthodes traditionnelles d'identification des mycobactéries fait que de plus en plus, les techniques de diagnostics moléculaires sont utilisées dans la plupart des laboratoires vétérinaires d'Afrique.

Ces techniques d'identification moléculaire permettent de découvrir et de différencier les souches de *Mycobacterium bovis* dans le but de faire évoluer les enquêtes épidémiologiques systématiques et de régler tant soit peu le problème de traçabilité des animaux. Par conséquent la PCR est la méthode la plus fiable en matière d'identification de *M. bovis* et faisable sur des tubes après deux semaines de cultures même en l'absence de toutes colonies visibles ou directement sur l'organe prélevé.

Cependant, ces techniques de biologie moléculaire présentent l'inconvénient d'être très sensibles car un seul écart de température, une mauvaise extraction d'ADN ou la longue durée des réactifs, surtout la Taq polymérase, peut fausser les résultats attendus.

Par conséquent, les discordances existant entre les méthodes biochimique et biomoléculaire sont à rechercher suivant les différents inconvénients de chaque méthode. De plus, pour la PCR, toutes les amorces disponibles pour la recherche des mycobactéries du CMTB n'ont pas été toutes utilisées, seules ces six paires d'amorces ont été à notre disposition. De ce fait, les recherches doivent continuer dans ce sens afin de trouver les sources de discordance et essayer de les corriger pour améliorer les résultats.

Les résultats de la PCR (3 souches identifiées), bien que insuffisants ne sont pas en contradiction avec ceux trouvés au Mali par BONFOH et *coll.*, (2008) dans le cadre de leurs recherches moléculaires sur les souches de *Mycobacterium bovis* du Mali. Ils ont obtenus 7 et 5 répétitions pour ETR A et 5 répétitions pour ETR C donc, il se pourrait que les souches isolées à Dakar correspondent à celles isolées au Mali mais, cela reste quand même à prouver en poussant beaucoup plus les investigations dans le but d'améliorer les résultats.

Selon AYELE et *coll.* (2004), les techniques moléculaires sont actuellement rarement utilisées dans les pays en voie de développement où elles sont disponibles, la priorité étant souvent donnée à la médecine humaine. Ils citent par exemple, le cas de la Guinée Bissau où des chercheurs ont pu différencier avec succès des souches de *Mycobacterium bovis* et de *Mycobacterium tuberculosis* des autres mycobactéries en combinant des tests biochimiques avec le RFLP (Polymorphisme de la longueur des Fragments de Restriction) et le spoligotype. Ou encore, en Ethiopie, une étude a montré l'importance des techniques moléculaires dans la différenciation des souches de *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium tuberculosis* et *Mycobacterium africanum* chez des patients tuberculeux.

Les Etats africains gagneraient plus à investir dans l'utilisation des techniques de biologie moléculaire afin d'identifier les différentes souches de *Mycobacterium bovis*. Une meilleure connaissance des différents types de bacilles bovins pourrait contribuer



à une meilleure connaissance de la tuberculose zoonose et permettre une lutte plus efficace contre la tuberculose humaine. Et pour une meilleure gestion de la tuberculose bovine, certaines recommandations peuvent être faites

à l'endroit de tous les acteurs qui sont en relation avec cette maladie insidieuse.

## **II. RECOMMANDATIONS**

### **1. Aux autorités administratives**

L'Etat doit fournir aux professionnels de l'élevage des moyens financiers et matériels pour recenser et identifier tout le cheptel sénégalais dans le but d'une meilleure traçabilité et de mieux contrôler la tuberculose bovine ainsi que toutes les autres maladies animales. En effet, une bonne épidémiosurveillance des maladies passe par l'identification du cheptel national mais aussi de celui de la sous région car, il existe un véritable échange de bétail entre le Sénégal, le Mali et la Mauritanie. Grâce à cette identification, l'origine exacte de l'animal peut être connue et par conséquent, la source de la propagation de l'infection pourra être neutralisée à temps.

L'aide internationale, à travers le Programme Panafricain de lutte contre les Epizooties (PACE) a permis à la plupart des pays africains de mettre en place des réseaux d'épidémiosurveillance. Avec la clôture du PACE, nous recommandons aux Etats de prendre le relais pour continuer à faire fonctionner les réseaux d'épidémiosurveillance. En effet, ces réseaux sont des outils précieux pour la sauvegarde et le maintien de la santé animale.

En outre, l'Etat doit appuyer financièrement le laboratoire de MIPI de l'EISMV et le LNERV de l'ISRA qui ont à leur disposition le matériel de PCR afin qu'ils puissent développer au mieux cette technique d'identification très efficace en santé publique.

### **2. Aux vétérinaires et agents de l'élevage**

#### **✓ Aux frontières**

Nous recommandons que :

- Les vétérinaires veillent à un meilleur contrôle des animaux au niveau des frontières. Le contrôle frontalier est trop sommaire dans la sous région. Seul un laissez-passer est exigé et c'est certain que les informations qui y sont mentionnées ne renseignent pas totalement sur l'état de santé des animaux. L'exemple des pays développés doit nous inspirer car, pour toute importation d'animal, l'éleveur propriétaire est tenu de constituer un dossier de demande d'importation d'animaux, de semences ou de viande contenant un certificat zoosanitaire international délivré par les services vétérinaires du pays exportateur qui atteste que les animaux ou les produits sont indemnes de toutes maladies contagieuses.
- Les vétérinaires procèdent au dépistage par la tuberculination de la tuberculose bovine dans les centres de quarantaine frontaliers qui commencent à voir le jour au Sénégal précisément, au niveau des frontières de Kidira et Rosso Sénégal. Et comme il faut toujours essayer d'harmoniser les politiques sanitaires au sein de l'UEMOA (Union Economique Monétaire Ouest Africaine), la construction de ces centres de quarantaine est nécessaire dans tous les pays membres afin de mieux développer le commerce sous-régional.

#### ✓ **Aux abattoirs**

Que les agents techniques de l'élevage veillent:

- à une bonne désinfection quotidienne du matériel et des surfaces avec des désinfectants efficaces comme l'eau de javel qui est très disponible et peu onéreux.
- Au respect des doses prescrites pour son usage. Que la concentration de la solution désinfectante soit de 200mg/l de chlore actif ou 2g dans une bassine de 10litres (BROUTIN et *coll.*, 2005), couplé au respect du temps de contact de 15 à 30 minutes avec le matériel ou la surface à désinfecter pour l'élimination des bactéries et des virus respectivement. Et pour finir, rincer le tout à l'eau chaude afin d'évacuer le désinfectant.
- Au port du matériel de protection (bottes, gants, masque bucco-nasal) par le personnel et un contrôle médical périodique de ces professionnels de l'élevage.

Un bon respect des règles d'hygiène doit se faire au niveau des abattoirs car, des études ont montré que les postes liés à l'exposition d'infection à la tuberculose bovine sont par ordre d'importance (AYELE et *coll.*, 2004) :

- les ouvriers d'abattoirs, les vétérinaires et les techniciens de laboratoire,
- les concierges d'animaux dans les zoos,
- les ouvriers des réserves et parcs d'animaux.

#### ✓ **Au laboratoire**

Les vétérinaires doivent former un personnel spécialement qualifié dans le domaine de la recherche biomoléculaire car de nos jours, la biologie moléculaire est de plus en plus utilisée du fait de son efficacité.

### **3. Aux éleveurs**

Nous recommandons de n'importer que des animaux venant d'élevage ou de pays d'état sanitaire connu.

Pour les éleveurs spécialisés dans la production laitière, veiller à la pasteurisation du lait au bain-marie en respectant le couple température- temps qui doit être de 85°C pendant 20 minutes ou 90°C pendant 10 minutes (BROUTIN et *coll.*, 2005).

### **4. Aux consommateurs**

Nous recommandons:

- De ne consommer que du lait pasteurisé et de la viande bien cuite. En effet, les populations urbaines ne s'infectent que par la voie gastro-intestinale et développent ainsi une tuberculose extra pulmonaire ;
- D'éviter si possible les mauvaises conditions d'hygiène, le surpeuplement dans les habitations. Ces éléments entre autres jouent un rôle important dans l'épidémiologie de la tuberculose dans les pays en voie de développement.

## 5. Aux médecins

Nous recommandons :

- De tenir compte de la possibilité de l'infection des humains par *Mycobacterium bovis* car c'est déjà le cas dans certains pays (Ethiopie par exemple), infection exacerbée par le VIH/SIDA.
- D'informer, de sensibiliser les populations sur la conduite à tenir afin de se prémunir contre cette maladie. Car, dans les pays en voie de développement, les populations disposent de peu d'informations sur la tuberculose zoonose à *Mycobacterium bovis*.

La tuberculose bovine est une maladie que l'Etat, les professionnels de l'élevage et les consommateurs doivent davantage prendre en considération car, cette maladie est dangereuse puisqu' évoluant très lentement de façon insidieuse et provoquant ainsi des pertes économiques importantes dans un pays.

## CONCLUSION

La tuberculose bovine est une maladie contagieuse, débilitante de l'homme et de l'animal. Elle est causée par *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*) appartenant au complexe *tuberculosis*, qui comprend aussi *Mycobacterium tuberculosis* et *Mycobacterium avium*. Les ganglions lymphatiques sont le siège initial de l'infection, mais d'autres organes comme les poumons sont également atteints lorsque la maladie est à un stade avancé. Les signes cliniques de la maladie sont la faiblesse, la perte d'appétit, l'amaigrissement et la fièvre. La tuberculose bovine est une maladie chronique et il peut se passer plusieurs années avant que l'animal infecté en manifeste les signes cliniques. L'animal peut être infecté inapparent jusqu'à son départ pour l'abattoir.

*Mycobacterium bovis* a pour hôtes habituels les bovins, mais elle peut se transmettre à l'homme de même qu'à d'autres animaux (porcs, chevaux...). Les personnes qui risquent le plus de contracter le bacille bovin sont celles qui sont en contact direct et prolongé avec des animaux infectés, par exemple: les éleveurs, les travailleurs agricoles et les vétérinaires. La façon la plus commune de contracter la maladie est l'inhalation d'aérosols rejetés dans la respiration et les produits de la toux d'un animal malade. D'autres modes de contamination sont l'ingestion de lait non pasteurisé d'une vache infectée et le partage des mêmes sources d'eau et d'aliments.

Comme la maladie peut ne pas s'extérioriser chez les bovins, même dans les stades avancés, le diagnostic est souvent effectué après l'abattage, à l'occasion de l'examen post-mortem de la carcasse. Les lésions siègent le plus souvent dans les poumons et les ganglions lymphatiques associés de la tête, à l'appareil respiratoire et au tractus gastro-intestinal.

La tuberculose bovine est une maladie très présente dans les pays en voie de développement mais elle est le plus souvent inconnue des éleveurs et des populations. C'est pour une meilleure connaissance de l'agent étiologique, que ce travail a été initié au Sénégal au niveau des abattoirs de Dakar. Le travail a couvert une période de trois ans (2005-2008).

Durant cette période, 37 prélèvements suspects de tuberculose bovine ont été recueillis sur un total de 200 101 bovins. De ces 37 prélèvements, 9 ont donné des bacilles acido-alcoolo-résistants après l'isolement en culture sur milieu de Lowenstein-Jensen alors que la bactérioscopie directe sur organe a révélé la présence de bacilles acido-alcoolo-résistants que sur deux prélèvements.

Les 9 bovins infectés ont une moyenne d'âge de 6,8 ans. Ce sont presque tous des mâles et sont originaires pour la plupart du Mali (5 bovins). Cependant, la connaissance de l'origine exacte des bovins est une préoccupation pour les pays de la sous région car, ils n'ont pas encore réussi jusqu'à nos jours à régler le problème de la traçabilité malgré les nombreuses tentatives d'identification du bétail.

Au laboratoire, après l'isolement en culture, des tests biochimiques (catalase, nitrate-réductase et niacine) ont été effectués sur les 9 prélèvements. Le résultat est que 2 prélèvements sont catalase négative, nitrate réductase négative et niacine négative donc contiennent des souches de *Mycobacterium bovis* ; le reste étant des atypiques. A la suite des tests biochimiques, une identification par la biologie moléculaire (PCR) grâce aux programmes MIRU-VNTR et ETR-VNTR a révélé la présence de *Mycobacterium bovis* dans 3 prélèvements.

Les résultats fournis par ces deux méthodes d'identification sont souvent contradictoires. Cependant la méthode moléculaire est beaucoup plus fiable par rapport à l'identification biochimique. De plus, la PCR permet de déterminer la filiation des souches pathogènes et révèle des indices sur l'origine des épidémies ce qui contribue à identifier les causes de foyers et de réestimations des risques zoonositaires.

Par conséquent, les Etats africains en voie de développement doivent mobiliser des moyens financiers, logistiques et humains afin de développer ces techniques biomoléculaires pour une lutte efficace contre la tuberculose bovine. Les vétérinaires et professionnels de l'élevage doivent s'impliquer un peu plus dans le dépistage de la tuberculose bovine et informer les éleveurs et les populations sur les risques qu'il y a à consommer du lait non pasteurisé et de la viande mal cuite. Il faut associer à cela la relation étroite qui existe entre tuberculose et VIH/SIDA. La construction de centres de quarantaine et de futurs laboratoires au niveau des frontières de Kidira et de Rosso-Sénégal est une bonne initiative de la part des autorités du Sénégal pour un meilleur

contrôle de la maladie. Car, bien que l'épidémiologie de la tuberculose soit bien comprise, le contrôle et les stratégies d'élimination connus depuis longtemps, la maladie est encore largement répandue dans les pays en voie de développement. Il faut donc imaginer des stratégies de contrôle et de diagnostic précoces de la maladie et avoir comme perspectives, la continuation de la recherche dans le domaine de la biologie moléculaire et l'étude approfondie des différentes sources de discordances entre les méthodes biochimique et biomoléculaire, de plus l'étude des mycobactéries atypiques s'impose car leur présence est de plus en plus démontrée dans plusieurs recherches.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**1. Alambedji A. I., 1984**

Contribution à l'étude de la tuberculose bovine au Niger

Thèse : Méd. Vét. : Dakar ; 13

**2. Ayele W. Y.; Neill S. D.; Pavlik I.; Zinsstag J. et Weiss M. G., 2004**

Bovine tuberculosis: an old disease but a new threat to Africa

*International journal of tuberculosis and lung disease* **8** (8): 924-937

**3. Bendali F., 2006**

La conception et la mise en œuvre de programmes d'épidémiologie efficaces dans les pays d'Afrique subsaharienne

*Rev. sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 2006, **25** (1): 199-209

**4. Bonfoh B., Fané A., Muller B., Smith N. H., Steiner B. et Zinsstag J., 2008**

Molecular characterisation of *Mycobacterium bovis* isolated from cattle slaughtered at the Bamako abattoir in Mali

BiomedCentral Veterinary Research.-Research article. - 6p.

**5. Bourdon J. L. ; Marchal N. ; Pilet Ch. et Toma B., 1975**

Bactériologie Médicale et Vétérinaire : Systématique bactérienne : Les Bacilles Acido-alcool-résistants

Paris : Doin Editeurs. - 489p.

**6. Boye C. M. ; Guèye E. H. F. ; Missohou A. et Sow R. S., 2005**

Bilan de la recherche agroalimentaire au Sénégal 1964-2003: La production et la transformation des produits : la viande.-Dakar : ISRA-ITA-CIRAD.- 522p.

**7. Broutin C. ; Diedhiou Y. et Dieng M., 2005**

Maîtrise de la qualité dans la transformation laitière : Guide de bonnes pratiques d'hygiène.- Dakar : GRET.-103p.

**8. Castets M. ; Chambron J. et Sarrat H., 1972**

Les mycobactéries atypiques d'origine animale étudiées à Dakar de 1966 à 1970

*Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop.* ,**25** (1) : 15-19



**9. Chambron J. et Orue J., 1968**

Rapport sur la tuberculose animale dans divers états de l'Afrique d'expression française et leur incidence sur la santé publique.- Dakar : OMS.- 27p.

**10. Chambron J. et Sarrat H., 1969**

Résultat d'une enquête tuberculique humaine et animale effectuée en zone rurale au Sénégal

*Bull. soc. Path. Exot.*, **62** (6) : 992-1000

**11. Dao M., 2005**

Contribution à l'étude de la tuberculose bovine au Mali

Thèse : Méd. Vét. : Dakar ; 2

**12. Diguimbaye C. ; Schelling E. ; Pfyffer G.E. ; Baggi F. ; Ngandolo R. ; Ndoutamia G. ; Tanner M. et Zinsstag J., 2004**

Premiers isolements de mycobactéries tuberculeuses chez l'homme et l'animal au Tchad

*Rév. Méd. Tropical*, **64** (5) : 482-485

**13. Doutre M. P. ,1976**

Note concernant les récents cas de tuberculose bovine (*Mycobacterium bovis*) observés à l'abattoir de Dakar

*Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop*, **29** (4) : 309-311

**14. France. Ministère de la Coopération et du Développement, 1991**

Mémento de l'Agronome. 4<sup>ième</sup> éd.- Paris : Ministère de la Coopération et du Développement.- 1635 p.- (Collection Techniques Rurales en Afrique)

**15. Frothingham R. et Meeker-O'Connell WA., 1998**

Genetic diversity in the *Mycobacterium tuberculosis* complex based on the variable numbers of tandem DNA repeats.

*Microbiology-Uk* 1998 May; 144: 1189-1196

**16. Gicquel B., Lesjean S., Locht C., Mazars E., Supply P., et Vincent V., 2000**

Variable human minisatellite-like regions in the *Mycobacterium tuberculosis* genome.

*Molecular microbiology* 2000 May; 36: 762-771

**17. Guèye Kh. et Seydi M., 1982**

Evolution des saisies de viandes dans les abattoirs de la région du Cap-Vert (Sénégal) de 1971 à 1980 : intérêt sanitaire et incidence économiques et sociales  
*Méd. Afr. Noire*, **29** (12) :803-815

**18. Guyonnet R., 2006**

Halte à la tuberculose  
Jeune Afrique / l'intelligent (2352) du 5 au 11 février 2006

**19. Haddad N., Toma B. et coll., 2008**

Les zoonoses infectieuses. Polycopié des unités des maladies contagieuses des Ecoles Vétérinaires Françaises  
Lyon :Mérial.-182p.

**20. Konté M. et Unger F., 2003**

Résultats d'une étude sur les zoonoses et risques associés pour la santé publique réalisée au Sénégal entre 2000 et 2003  
Rapport d'étude ; Dakar : ITC-LNERV.- 15p.

**21. Maeder S., 2008**

Etude de la tuberculose chez le Sanglier (*Sus scrofa*), réservoir de la tuberculose bovine ? Enquête épidémiologique 2006-2007 en forêt de Brotonne-Mauny (France)  
Thèse : Méd. Vét. : Alfort

**22. Mbaye A., Otte J., et Roland-Holst D., 2006**

Agriculture, Elevage et Pauvreté : le rôle de l'élevage dans la lutte contre la pauvreté, l'exemple des filières laitières locales au Sénégal  
Dakar : CREA/UNIVERSITE de Berkeley.- 207p

**23. Organisation Mondiale de la Santé, 2006**

Global Tuberculosis Control: Report 2005 [en ligne] Accès Internet:  
[http://www.who.int/gtb/country\\_info/index.htm](http://www.who.int/gtb/country_info/index.htm) (page consultée le 15/06/2006)

**24. Pewe K., 1992**

Contribution à l'étude de la tuberculose bovine au Togo  
Thèse : Méd. Vét. : Dakar ; 24

**25. Seck M.T., 1993**

Contribution à l'étude des besoins énergétiques pour la croissance et l'engraissement des zébus Gobra  
Thèse Méd. Vét. : Dakar ; 9

**26. Sénégal. Ministère de l'Élevage, 1999**

Atelier sur le plan national de développement laitier.- Dakar : Ministère de l'élevage.- 15p.

**27. Sénégal. Ministère de l'Élevage, 2003**

Registre de saisies de la salle des bovins en 2002.- Dakar : SOGAS.

**28. Sénégal (a). Ministère de l'Économie et des Finances, 2004**

Situation économique et sociale du Sénégal Edition 2002/2003-Dakar : DPS

**29. Sénégal (b). Ministère de l'Élevage, 2004**

Registre de saisies de la salle des bovins en 2003.- Dakar : SOGAS.

**30. Sénégal. Ministère de la Santé, 2006**

Plan stratégique de lutte contre la tuberculose 2007-2011.-Dakar ; PNT.- 83 p.

**31. Sénégal. Ministère de l'Élevage, 2007**

Rapport annuel 2006.- Dakar : DIREL.- 135p.

**32. Sénégal (c). Ministère de l'Élevage, 2008**

Campagne agricole 2008-2009 : Grande Offensive Agricole pour la Nourriture et l'Abondance : GOANA-ELEVAGE : Programme spéciale d'insémination artificielle.- Dakar : DIREL.- 10p.

**33. Sénégal (d). Ministère de la Santé, 2008**

Rapport annuel 2007.- Dakar : PNT.- 44p.

**34. Sow D., 1987**

Impact des projets de développement de l'élevage sur les paramètres de la reproduction des bovins : exemples de la S.O.D.E.S.P. et du P.D.S.E.O. au Sénégal  
Thèse : Méd. Vét.: Dakar ; 11

**35. Thiam S., 2005**

L'Economie du lait en zone sylvo-pastorale

Thèse : Méd. Vét. : Dakar ; 4

**36. Touré A., 2003**

Analyse économétrique des déterminants de la demande d'importation de lait et de produits laitiers au Sénégal

Mémoire : D.E.A. : Nairobi : I.A.D.E.P.

**37. Traoré E., 1990.**

Endocrinologie et efficacité de deux types de prostaglandines : le fenprostalène et le dinoprost chez la femelle zébu Gobra au Sénégal

Thèse : Méd. Vét. : Dakar ; 35

## ANNEXES

### **Annexe I : Décontamination des prélèvements destinés à la recherche des bacilles tuberculeux (Technique de Petroff)**

(Source : DAO, 2005)

#### a. Réactifs

- Solution stérile de soude à 4 pour 100.
- Solution d'acide sulfurique à 6 pour 100.
- Solution stérile de Bleu de Bromothymol à 0,2 pour 100.

#### b. Matériel

- Mortiers et pilons en porcelaine.
- Tubes à centrifuger à vis.
- Centrifugeuse avec accessoire de protection contre la nébulisation.
- Pipettes et pro pipettes.
- Ciseaux, gants et masque bucco-nasal.
- Hotte à flux laminaires.
- Sonificateur

#### c. Technique

- Nettoyage et stérilisation par flambage des mortiers et pilons.
- Broyage de quelques grammes du prélèvement dans un mortier en présence d'un volume convenable de solution de soude à 4%. Transvaser le tout dans un tube à centrifuger stérile et ajouter 4 à 5 gouttes de solution de Bleu de Bromothymol à 0,2% stérile.
- Porter à l'étuve pendant 1 heure à 37°C puis neutraliser le mélange avec de la solution d'acide sulfurique à 6% goutte à goutte jusqu'à ce que le mélange vire au jaune persistant.
- Centrifugation du mélange à 3000 tours/minute pendant 20 mn.
- Eliminer le surnageant avec une pipette munie d'une pro pipette.
- A partir du culot de centrifugation, réaliser un frottis pour la bactérioscopie et ensemercer les milieux de culture.

## **Annexe II : Préparation du milieu de Lowenstein-Jensen**

*(Source : DAO, 2005)*

### d. Formule en grammes par litre du milieu sec de Lowenstein-Jensen

- Phosphate monopotassique : 2,5 g
- Sulfate de magnésium : 0,24 g
- Citrate de magnésium : 0,60 g
- Asparagine : 3,60 g
- Féculé de pomme de terre : 30 g
- Vert Malachite : 0,4 g

### e. Préparation du milieu de Lowenstein-Jensen

- Mélanger 9,325 g de milieu sec à 150 ml d'eau distillée
- Chauffer le mélange tout en l'agitant jusqu'à l'ébullition. Le mélange devient ainsi vert foncé
- Séparer à volume égal le liquide dans deux flacons
- Verser 1,5 ml de glycérine dans un des flacons
- Stériliser le tout à 120 degrés pendant 30 minutes

Le reste du travail s'effectue sous une hotte.

- Casser les œufs préalablement nettoyés et désinfectés avec de la soude à 4% puis séchés à l'étuve pour l'obtention d'un volume de 250 ml
- Homogénéiser ces 250 ml d'œufs et les répartir dans les deux flacons en raison de 125 ml chacun
- Homogénéiser chaque flacon puis remplir des tubes stériles (on se retrouve ainsi avec deux catégories de tubes à savoir une glycinée et une autre non glycinée)
- Mettre tous les tubes en position inclinée dans un four pasteur pour la coagulation à 85 degrés pendant 45 minutes.

Le milieu ainsi prêt à l'emploi a une couleur verte claire.



FICHE DE COMMÉMORATIFS ACCOMPAGNANT LES PRÉLEVEMENTS

N° 000024

IDENTIFICATION

Région : DAKAR  
 Département : DAKAR - Rikni  
 Arrondissement : Rikni Dalifort  
 Communauté rurale : \_\_\_\_\_  
 Village : \_\_\_\_\_  
 Coordonnées géographiques : Km 9,5 Bd Comm. Dakar

Poste vétérinaire : Abattoir de Dakar  
 Agent : Alou Thiaw / Samba Diop  
 Date de prélèvement : 30-10-07 / Octobre / 2007  
 Date d'envoi : 30 / 10 / 2007  
 Eleveur : Cherkaoui AZ. Alpha Diallo  
 Espèce : Bovine

MALADIE SUSPECTÉE : Tuberculose bovine

N° d'ordre	Nom usuel	Espèce	Age	Sexe	Symptômes / Lésions	Nature des prélèvements
01	Zebu Gobra Poids : 208 kg Anné d'acquisition : de la Z.S.P. Zone d'Élevage Pastoral de la	Bovine	Jeune	♂	Rescher ganglionnaire généralisée Réaction au virus de l'Anthrax - lésion sur les ganglions pulmonaires - Anse - ganglions foie : tumeur ganglionnaire	Organe Foie Poumon - Anse



FICHE DE COMMÉMORATIFS ACCOMPAGNANT LES PRÉLEVEMENTS

N° 1000012

IDENTIFICATION

Région : Jakar  
 Département : Pikine  
 Arrondissement : /  
 Communauté rurale : /  
 Village : /  
 Coordonnées géographiques : Quartier de Jakar

Poste vétérinaire : Service de l'inspection sanitaire  
 Agent : Aloune Khiam  
 Date de prélèvement : 14 / 03 / 06  
 Date d'envoi : 14 / 03 / 06  
 Eleveur : Chenard N° 523  
 Espèce : Bovine

MALADIE SUSPECTÉE : Suppuration ou Tuberculose.

N° d'ordre	Nom usuel	Espèce	Age	Sexe	Symptômes / Lésions	Nature des prélèvements
1	Gobra origine de Mali	bov	7ans	♂	Localisations pulmonaires et ganglionnaires	ganglions morceaux de fœie ganglions pulmonaires



## **Annexe V : Réalisation des tests biochimiques**

*(Source : DAO, 2005)*

### **☞ Réalisation du test à la catalase**

- Réactifs :

Mélanger dans un flacon de 250 ml :

- de l'eau oxygénée pour catalase : H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 20 volumes 27ml
- de l'eau distillée 173 ml
- du Tween 80 préchauffée 45 ml

- Technique :

- Prendre deux tubes à vis stériles et mettre 0,1ml d'eau distillée stérile par tube ;
- Faire une suspension épaisse d'une culture jeune de mycobactéries dans les deux tubes ;
- Faire chauffer 15minutes au bain marie à 68 degrés l'un des deux tubes et le laisser refroidir ;
- Mettre dans chacun des deux tubes 1ml de la solution préalablement préparée et après dix minutes de contact, observer et comparer les hauteurs de mousse entre les tubes chauffés et les tubes non chauffés correspondant à un dégagement d'oxygène gazeux.

## ☞ Réalisation du test à la niacine

- Réactifs :

Bromure de cyanogène

Aniline

- Technique par extraction :

- Recouvrir de 1ml d'eau distillée stérile une culture pure de mycobactéries sur Lowenstein-Jensen âgée de deux à trois semaines. Bien mouiller toute la surface de la culture ;
- Laisser reposer 30 minutes à la température ambiante le tube en position horizontale de façon à ce que l'eau recouvre toute la culture ;
- Laisser décanter en position verticale dix minutes pour permettre aux particules du milieu de se reposer ;
- transférer 0,5 ml de l'extrait ainsi obtenu dans un tube à vis ;
- disposer les bandelettes imprégnées de réactifs à l'intérieur de chaque tube.
- Lire les résultats après dix minutes de contact.

## ☞ Réalisation du test à la nitrate réductase

- Réactifs :

Solution de nitrates :  $\text{NaNO}_3$  à 0,850 g

Tween à 80.50 ml

Eau distillée q.s.p. 1000ml

Réactifs de Griess : Nitrite I : Acide sulfanilique 0,8 g

Acide acétique 5N 100ml

Nitrite II : Acide acétique 5N 100ml

Alpha naphthylamine 0,5 g

- Technique :

- Recouvrir 2ml de solution de nitrate une culture pure de mycobactéries sur Lowenstein- Jensen âgée de deux semaines ou plus puis mettre à l'étuve pendant deux heures à 37 degrés ;
- Ajouter 0,3 ml de nitrite I puis 0,3 ml de nitrite II.

## Annexe VI

(Source : *FROTHINGHAM et MEEKER-O'CONNELL, 1998*)

### Méthode de PCR standard

#### 1. Inactivation de la culture solide de mycobactéries

L'inactivation d'un échantillon de la culture primaire provoque la libération de l'ADN bactérien. Ce dernier est utilisable pour l'amplification avec la PCR.

- Etiqueter des microtubes,
- mettre 1ml d'eau distillée stérile par microtubes,
- transférer quelques colonies d'une culture dans le microtube correspondant,
- vortexer,
- inactiver l'échantillon à 95 degrés durant 15 minutes dans le bain-marie,
- laisser refroidir à la température ambiante.

Cet échantillon sera mélangé au « Master Mixe » et le mélange suivra le processus d'amplification.

#### 2. Préparation du « Master-Mixe »

Pour une réaction PCR, les réactifs suivants et leurs quantités sont indiqués dans le tableau ci-dessous

**TABLEAU I : PCR mixe pour une réaction de PCR**

dH2O	10. BD (Tampon PCR)	dNTP (chaque type 2mM)	MgCl2 (25mM)	Amorce1 (10µM)	Amorce2 (10µM)	Taq polymérase (5U/µl)
11,7µl	2µl	2µl	1.2µl	1µl	1µl	0.1µl

Pour faciliter le pipetage, il est conseillé de produire un « Master Mixe » avec les mêmes amorces pour tous les échantillons à tester. En outre, il faut produire une plus grande quantité que théoriquement nécessaire afin de prendre en considération les pertes pendant le pipetage. Par conséquent, pour les 13 réactions de PCR que nous

devons effectuer, calculons 14 fois les quantités indiquées dans le tableau 1 ; ce qui nous donne le tableau suivant.

**TABLEAU II : PCR « Master Mixe » pour 14 réactions**

dH2O	10. BD	dNTP	MgCL2	Amorce1	Amorce2	Taq polymérase
163,8µl	28µl	28µl	16,8µl	14µl	14µl	1.4µl

### 3. Préparation du mélange à amplifier

Il faut d'abord étiqueter les tubes PCR et effectuer toutes les manipulations suivantes sur glace. Ensuite, ajouter 19µl « Master Mixe » dans tous les tubes PCR puis 1µl d'extrait d'ADN.

### 4. Amplification

- Mettre la machine de thermocyclage en marche et choisir le programme à effectuer ; dans notre étude, c'est le programme MIRU- et ETR-VNTR qui est utilisé,
- Mettre les tubes PCR dans la machine de thermocyclage tel que les tubes ne se gênent pas,
- Démarrer le programme,
- Enlever les tubes PCR de l'appareil quand la PCR est finie et les mettre en migration ou les garder à + 4degrés jusqu'au lendemain,
- Eteindre l'appareil.

Le tableau ci-dessous indique les différentes réactions PCR pour le programme MIRU-VNTR et ETR-VNTR.

**TABLEAU III : Réaction PCR**

PCR	Début	Dénaturation	Hybridation	Elongation	Cycles	Fin
MIRU et ETR	94°C 1mn	94°C 30sec	65°C 30sec	72°C 1mn	40fois	72°C 10mn

## 5. Méthode de préparation du gel électrophorèse pour la détection des produits PCR

### a. Préparation du gel à 2 pour 100

- Peser 3g d'agarose,
- Ajouter 150ml de TBE 0,5x
- Dissoudre l'agarose en chauffant jusqu'à ce que tout le matériel soit dissout,
- Laisser refroidir jusqu'à 55 degrés,
- Ajouter 15µl de Bromide d'Ethidium et mélanger,
- Mettre le peigne,
- Couler le gel et laisser polymériser (environ une heure de temps),
- Ajouter la solution de TBE 0,5x à au moins 1cm au dessus du fil électrique et enlever le peigne.

### b. Charger la gélose

- Mettre une goutte du bleu de charge pour chaque échantillon à tester sur un morceau de parafilm,
- Ajouter 10µl de produits PCR (extrait d'ADN) ou du marqueur et mélanger avec le bleu de charge,
- Transférer 10µl dans le puits correspondant en intégrant un témoin positif et un témoin négatif.

### c. Electrophorèse

Laisser migrer à 120volts les produits PCR pendant une heure de temps. Rappelons que l'ADN étant légèrement chargé négatif, dans les conditions du tampon utilisé, migre du pôle négatif vers le pôle positif.

### d. Détection

Pour la détection du signal, transférer, d'abord, le gel en dehors de sa forme directement sur la table UV ensuite, vérifier le signal dans le sombre avec la lampe UV et enfin effectuer la photographie.



## SERMENT DES VETERINAIRES DIPLOMES DE DAKAR



« Fidèlement attaché aux directives de Claude BOURGELAT, fondateur de l'enseignement vétérinaire dans le monde, je promets et je jure devant mes maîtres et mes aînés :

- D'avoir en tous moments et en tous lieux le souci de la dignité et l'honneur de la profession vétérinaire,
- D'observer en toutes circonstances, les principes de correction et de droiture fixés par le code de déontologie de mon pays,
- De prouver par ma conduite, ma conviction, que la fortune consiste moins dans le bien que l'on a, que dans celui que l'on peut faire,
- De ne point mettre à trop haut prix le savoir que je dois à la générosité de ma patrie et à la sollicitude de tous ceux qui m'ont permis de réaliser ma vocation,

Que toute confiance me soit retirée, s'il advient que je me parjure ».

Contribution à l'étude de la tuberculose bovine aux abattoirs de Dakar (Sénégal) ;  
identification biochimique et biomoléculaire de 9 souches de mycobactéries sur 200101  
carcasses inspectées de 2005 à 2008

### RESUME

La tuberculose bovine est une maladie infectieuse, contagieuse, due au bacille du genre *Mycobacterium bovis*. Elle affecte principalement les bovins mais d'autres animaux aussi bien domestiques que sauvages ainsi que l'homme peuvent être atteints par la maladie.

La tuberculose bovine est présente dans la plupart des pays en voie de développement et engendre des conséquences socio-économiques importantes. Au Sénégal, la tuberculose bovine existe depuis très longtemps. Des enquêtes ont été menées aux abattoirs de Dakar afin de connaître la situation actuelle de la tuberculose bovine dans le pays.

A l'issue de cette enquête aux abattoirs, **37 prélèvements suspects** de tuberculose bovine ont été récoltés sur un total de **200101 carcasses de bovins** soit une prévalence de 0,0185%. L'étude des lésions tuberculeuses porte principalement sur les poumons. Au laboratoire, **9 cultures positives de bacilles acido- alcoolo- résistantes sur 37** ont été identifiées en bactérioscopie.

Après isolement en culture, **l'identification biochimique**, à travers les tests à la catalase, à la niacine et à la nitrate réductase, a révélé que la plupart des souches sont des **mycobactéries atypiques**.

L'identification biomoléculaire, par la **PCR**, a révélé l'existence de **trois souches de Mycobacterium bovis**.

Ces résultats confirment la présence de la tuberculose bovine au Sénégal et que l'Etat ainsi que les différents acteurs de l'élevage doivent prendre plus en considération cette maladie pour une meilleure protection des populations humaine et animales.

**Mots clés :** Tuberculose bovine - *Mycobacterium bovis* - prélèvements suspects - poumons - Mycobactéries - Souches – Bovins - Mycobactéries atypiques – Sénégal - Abattoirs de Dakar

**Auteur :** Samba Tew **DIAGNE**

**Adresse :** HLM Maristes 17H (Dakar, Sénégal)

**Tel :** (00221) 775717052

**e-mail :** mamytew@yahoo.fr