

Isolement et identification de mycobactéries responsables de la tuberculose du dromadaire en Algérie

Cet article (n° 23042021-00177-FR) a été évalué par les pairs, accepté, puis soumis à une révision linguistique approuvée par les auteurs. Il n'a pas encore été mis en page pour impression. Il sera publié dans le volume 39 (3) de la *Revue scientifique et technique* en 2021.

R. Boukert ⁽¹⁾, O. Kaya Koksalan ⁽²⁾, T. Kocagoz ⁽³⁾, S. Akcelik ⁽³⁾, M. Ifticene ⁽⁴⁾, A. Berber ⁽¹⁾, C. Saegerman ^{(5)*} & N. Sahraoui ^{(1)*}

(1) Laboratoire des biotechnologies liées à la reproduction animale, Institut des sciences vétérinaires, Université Saad Dahlab de Blida, B.P. 270, Route de Soumaa, 09000 Blida, Algérie

E-mails : razika555@live.fr ; berbarali@yahoo.fr

*Auteur chargé de la correspondance : nasahraoui@gmail.com

(2) Laboratoire d'épidémiologie, Institut de la recherche expérimentale médicale, Université d'Istanbul, Route 34280 Vakif Gureba, 34104 Sehremini, Istanbul, Turquie

E-mail : okkoksalan@hotmail.com

(3) Service de microbiologie et de biotechnologie médicales, Université d'Acibadem Mehmet Ali Aydinlar, Route 32, Icerenkoy Mah. Kayisdagi, 34752 Atasehir, Istanbul, Turquie

E-mails : tanilkocagoz@gmail.com ; smyy.akclk@gmail.com

(4) Laboratoire de la tuberculose, Institut Pasteur d'Algérie, Route du petit Staouéli, Dely-Brahim, Alger, Algérie

E-mail : Ifticene.ma@yahoo.fr

(5) Unité de recherche en épidémiologie et analyse de risques appliquées aux sciences vétérinaires (UREAR-ULiège), Centre de recherches fondamentales et appliquées en santé animale (FARAH), Département des maladies infectieuses et parasitaires, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Liège, Quartier Vallée 2, Avenue de Cureghem 7A, B42, 4000 Liège, Belgique

*Auteur chargé de la correspondance : claude.saegerman@uliege.be

Résumé

À ce jour, la tuberculose a été peu étudiée chez les camélidés en Algérie. L'objectif de cette étude est de déterminer la prévalence de la tuberculose cameline dans trois abattoirs algériens à partir de prélèvements de lésions suspectes de cette maladie qui ont été détectées sur des carcasses lors de l'examen à l'inspection visuelle *post mortem*. L'étude vise aussi à isoler et à identifier les agents responsables de cette infection par un diagnostic de laboratoire. Durant la période de 2016 à 2018, 102 carcasses (3,05 % ; avec un intervalle de confiance [IC] à 95 % de 2,05 à 3,69) ont été déclarées suspectes de tuberculose sur un total de 3 342 carcasses de dromadaires inspectées. Concernant la localisation des lésions, 64 des 102 carcasses présentaient des lésions aux poumons, 37 des 102 carcasses présentaient des lésions au niveau du foie et 1 carcasse présentait une lésion dans un ganglion bronchique. Respectivement cinq et six échantillons de lésions suspectes de tuberculose cameline ont été trouvés positifs à la bacilloscopie (4,90 % ; avec un IC à 95 % de 1,61 à 11,10) et en culture (5,88 % ; avec un IC à 95 % de 2,19 à 12,36). La concordance entre la bacilloscopie et la culture était bonne (coefficient kappa de 0,71) et la probabilité de trouver une culture positive était 184 fois plus élevée lorsque la bacilloscopie était positive (valeur de $p = 0,01$). La caractérisation moléculaire par réaction de polymérisation en chaîne (PCR) des extraits d'acide désoxyribonucléique (ADN) a montré un signal positif, signifiant que les souches isolées appartenaient au genre mycobactérien. Une restriction enzymatique réalisée sur des extraits d'ADN a indiqué la présence d'ADN d'une mycobactérie appartenant au complexe *Mycobacterium tuberculosis*. Une technique de spoligotypage réalisée sur les mêmes extraits d'ADN a permis de confirmer la présence de quatre souches de *Mycobacterium bovis* avec un même spoligotype SB0941 et d'une autre souche avec un spoligotype SB2562, un profil nouvellement décrit dans cette étude et qui est phylogénétiquement proche du profil précédent. Au départ de lésions suspectes de tuberculose chez le dromadaire, une souche de mycobactérie non tuberculeuse a été identifiée comme étant un *Mycobacterium virginiense* MO-233 (séquence ID : Nr149186) par la technique de séquençage de la région 16SrDNA. La présence de la

tuberculose à *M. bovis* ayant été démontrée dans la population cameline algérienne, il est dès lors nécessaire de mettre en œuvre des mesures visant à la contrôler en vue de réduire la transmission entre l'animal et l'homme.

Mots-clés

Abattoir – Algérie – Dromadaire – *Mycobacterium bovis* – *Mycobacterium virginiense* – Spoligotypage – Tuberculose.

Introduction

Le commerce du dromadaire (*Camelus dromedarius*) est en augmentation constante en Afrique du Nord et au Moyen-Orient, où ces animaux sont utilisés pour la viande et la production de lait, et occasionnellement pour des activités de transport et sportives (1). C'est ainsi qu'en Algérie, le dromadaire occupe une place essentielle dans la vie économique et sociale des communautés sahariennes et steppiques. Il revêt une importance particulière du fait de sa capacité à évoluer dans des milieux arides où l'existence d'autres animaux d'élevage serait rendue aléatoire et onéreuse (2). Selon l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) (2018), l'Algérie comptait en 2017, une population de 381 882 têtes, soit 6,5 % de l'effectif des pays de l'Afrique du Nord, 17 % des pays maghrébins et presque 2 % de la population mondiale cameline. Cela positionne le pays au 14^e rang mondial (3). L'importance du cheptel de dromadaires en Algérie est liée aux efforts exercés par les éleveurs de camélidés et de l'attention accordée par l'État à ceux-ci depuis deux décennies (ex. prime à la naissance des dromadaires). En Algérie, il y a trois modes d'élevage des dromadaires. Les éleveurs sont des nomades, des transhumants ou des sédentaires. Les pasteurs nomades n'ont pas d'habitats fixes. Ils se déplacent en permanence avec leur bétail en quête d'un point d'eau et en utilisant les marigots, les rivières, les fleuves et les puits. Du fait de cette mobilité, les nomades pratiquent peu ou pas d'activité agricole (4). Les éleveurs transhumants déplacent leurs troupeaux de manière saisonnière, pendulaire, et selon des parcours bien précis, répétés chaque année. Deux types de transhumance sont pratiqués : la transhumance saisonnière (l'objectif réside dans la recherche de

pâturages et d'eau) et la transhumance laitière (elle répond à des objectifs commerciaux, c'est-à-dire la recherche de marchés pour l'écoulement du lait). Les éleveurs sédentaires déplacent leurs troupeaux, souvent sur de longues distances, mais ils reviennent chaque soir au village. Les éleveurs sédentaires sont d'anciens chameliers sédentarisés pour des causes diverses (scolarisation des enfants, sécheresse, pluriactivité) (5). En Algérie, les deux derniers systèmes sont de loin les plus fréquents avec toutefois une prédominance du mode d'élevage transhumant (6).

Le dromadaire est susceptible à la plupart des maladies infectieuses des ruminants (7). Cependant, peu d'études décrivent des lésions tuberculeuses chez cet animal (8). La tuberculose est une maladie endémique et zoonotique, causée par les membres du complexe *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC). Elle est considérée comme un problème de santé important chez l'homme et les animaux (9). Parmi les espèces de mycobactéries, *Mycobacterium bovis* a une large gamme d'hôtes et est l'agent causal le plus souvent rapporté de la tuberculose des camélidés (10, 11). Plusieurs cas de tuberculose des camélidés ont été déclarés depuis le XIX^e siècle dans plusieurs pays africains (ex. Mauritanie, Nigeria, Niger, Égypte et Éthiopie), en Australie et dans d'autres pays d'Asie (ex. Émirats arabes unis, Pakistan et Inde) (10, 11, 12).

En Algérie, la tuberculose des ruminants domestiques a été diagnostiquée et les agents responsables de cette affection ont été identifiés par Sahraoui et coll. (13, 14). Ainsi, la prévalence des lésions tuberculeuses à l'abattoir a été estimée à 4,14 % chez les caprins et les ovins (13), alors que la prévalence chez les bovins a été estimée à 3,58 % (14). Cependant, pour le dromadaire, aucune étude visant la tuberculose n'a été rapportée. Plusieurs facteurs peuvent interférer avec la réalisation de telles études, par exemple les difficultés à l'accès aux animaux à cause de la transhumance, les mouvements nombreux et non tracés des animaux, le mode d'élevage souvent extensif, l'insuffisance de moyens pour le déplacement des vétérinaires, et enfin l'inexistence des moyens spécifiques de dépistage et de diagnostic. Dans ce contexte, la présente étude a été conçue afin de déterminer la prévalence des

lésions suspectes de tuberculose chez le dromadaire lors de l'examen *post-mortem* des carcasses à l'abattoir dans le sud de l'Algérie, de mettre en évidence l'agent responsable de cette affection et de le caractériser.

Matériels et méthodes

Abattoirs investigués

Cette étude a été menée dans trois abattoirs de la région sud de l'Algérie. Il s'agit des abattoirs de Metlili (wilaya de Ghardaïa), d'Ain Salah et d'El-Oued (Fig. 1). Dans ces abattoirs, les animaux des espèces suivantes sont abattus : bovins, petits ruminants et dromadaires. Chaque abattoir est doté d'un personnel permanent (un gérant de l'abattoir, un inspecteur vétérinaire, un docteur en médecine vétérinaire, un égorgeur et un agent chargé du nettoyage et du transport). Le choix de ces établissements a été réalisé sur la base de l'effectif des dromadaires abattus et de l'accessibilité des abattoirs.

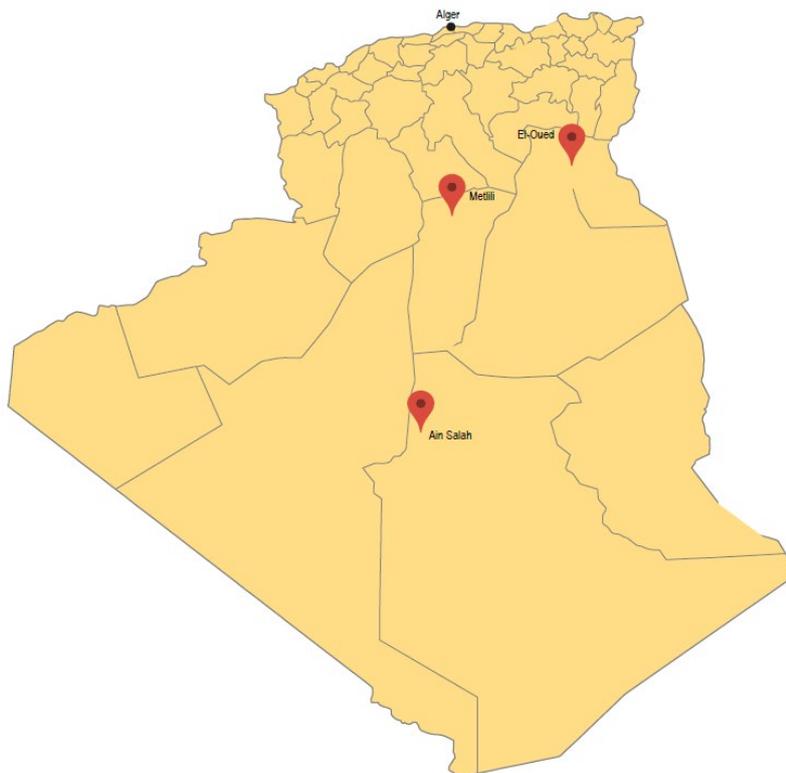


Fig. 1
Situation géographique des trois abattoirs visités en Algérie

L'étude a été réalisée de 2016 à 2018. Au total, 3 342 dromadaires abattus de tout âge, race et sexe ont été inspectés pour la recherche de lésions suspectes de tuberculose. L'examen visuel *post-mortem* a porté sur toutes les carcasses et tous les organes d'élection (poumons, foie, intestin grêle, reins, ganglions lymphatiques mandibulaires, rétro-pharyngés, bronchiques, médiastinaux, mésentériques et hépatiques). Cet examen a été réalisé en conformité avec le rectificatif au règlement (CE) n° 854/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 (15). Le type de lésions a été décrit en suivant les indications de Sieng (16). Des échantillons lésionnels ont été prélevés et déposés dans des pots stériles préalablement identifiés. Ces prélèvements ont ensuite été acheminés en respectant la chaîne du froid au laboratoire des mycobactéries de l'Institut Pasteur d'Algérie (IPA). Chaque échantillon était accompagné d'une fiche d'identification.

Diagnostic classique de laboratoire

Au niveau du laboratoire des mycobactéries de l'IPA, plusieurs examens de laboratoire ont été réalisés. Il s'agit de la bacilloscopie et de la culture bactérienne. En outre, une extraction d'acide désoxyribonucléique (ADN) a également été réalisée sur certains prélèvements. Cette extraction est présentée dans la partie du diagnostic moléculaire.

Bacilloscopie

Sur chaque échantillon, un frottis a été confectionné et coloré par la technique de Ziehl-Neelsen à chaud. Les lames ont été lues au microscope optique au grossissement $\times 100$ et les bacilles acido-résistants apparaissent alors comme des bacilles rouges sur un fond bleu (17).

Culture bactérienne

Chaque échantillon est homogénéisé à l'aide d'un mortier et un pilon stériles. Le produit de broyage ainsi obtenu est ensuite décontaminé en appliquant la méthode de Petroff, dont le but est d'éliminer les éléments bactériens qui ne sont pas des mycobactéries (18). Cette méthode

consiste à rajouter de la soude à 4 %, en doublant le volume par rapport à l'homogénéisat. La suspension ainsi obtenue est agitée à l'aide d'un agitateur de Khan pendant 10 min. Après rinçage à l'eau distillée stérile (20 ml), la suspension est centrifugée à 3 000 tours par minute pendant 15 min et enfin le surnageant est rejeté. Une deuxième centrifugation est effectuée, puis le surnageant est à nouveau éliminé. Par la suite, un ensemencement est réalisé avec 0,1 ml de suspension de chaque échantillon. La suspension est étalée sur un milieu de Löwenstein-Jensen. Le temps maximal d'incubation est de huit semaines (19).

Diagnostic moléculaire sur les isolats

Le diagnostic moléculaire consiste en l'extraction d'ADN suivie d'un spoligotypage.

Extraction d'acide désoxyribonucléique

La méthode d'extraction d'ADN par la chaleur a été utilisée. Pour cela, les colonies cultivées sur le milieu de Löwenstein-Jensen ont été prélevées. Ces colonies ont été mises en suspension dans une solution de Tris-EDTA à 10 %, dans un micro-tube de 1 500 µl. Ces derniers ont été placés 20 min sur un bloc chauffant à 80 °C afin de détruire les bactéries par la chaleur. La suspension a été ensuite centrifugée pendant 5 min à 10 000 tours par minute. L'ADN a été retiré du surnageant et conservé à -20 °C avant utilisation.

Restriction enzymatique par réaction de polymérisation en chaîne

Cette technique a été réalisée au sein du laboratoire de microbiologie et biotechnologie médicale de l'Université d'Acibadem en Turquie. Le protocole suivi est celui décrit par Telenti et coll. (20). Pour ce faire, les échantillons des extraits d'ADN ont été soumis à la restriction enzymatique du gène *hsp65* par réaction de polymérisation en chaîne (PCR) classique.

Premièrement, une amplification par PCR, basée sur IS6110 a été réalisée. Cette amplification nécessite l'usage d'amorces, à savoir, deux amorces oligonucléotidiques de mycobactéries (2 µl) : TB11 (5'-

ACCAACGATGGTGTGTCCAT-3') et TB12 (5'-CTTGTCGAACCGCATAACCCT-3') (20) et deux amorces IS6110 (1 µl) : INS1 (5'-CGTGAGGGCATCGAGGTGGC-3') et INS2 (5'-GCGTAGGCGTCGGTGACAAA-3') (21). Un témoin négatif dans lequel l'ADN est remplacé par de l'eau est utilisé afin de déceler une éventuelle contamination (la contamination partant de l'ADN précédemment amplifié représente le principal risque). Un témoin positif (*M. tuberculosis* H37Rv) permet de valider la bonne conservation des réactifs. Le mélange PCR pour cette amplification était composé d'un seul volume de la mixture : 2 µl de chaque amorce, 2,5 mM de désoxyribonucléotides-tri-phosphates, 2 µl de Taq polymérase, 15 µl d'H₂O et 3 µl d'ADN mycobactérien et enfin l'ADN à amplifier. Cette technique de PCR a été effectuée à l'aide d'un thermocycleur T100 de Applied Bio-RAD. Cette opération a duré trois heures et a nécessité 45 cycles selon deux programmes : une dénaturation à 95 °C pendant 45 secondes, une amplification à 56 °C pendant 45 s et une élongation à 72 °C pendant 1 min.

Ensuite une amplification du gène *hsp65* a été réalisée avec les deux amorces (2,5 µl) Tb11 (5'-ACCAACGATGGTGTGTCCAT) et Tb12 (5'-CTTGTCGAACCGCATAACCCT). Le mélange de la réaction est composé de 20 mM de Tris, Ph (8,4), 50 mM KCL ; 1,5 mM MgCl₂, 10 % de glycérol, 200 mM désoxyribonucléotides-tri-phosphates et 1 µl de Taq polymérase. La réaction a été soumise à une dénaturation à 95 °C pendant 10 min, suivie de 45 cycles d'amplification (94 °C pendant 1 min, 60 °C pendant 1 min et 72 °C pendant 1 min), puis d'une étape d'élongation finale à 72 °C pendant 7 min (20).

La digestion des fragments d'ADN amplifiés (amplicon *hsp65*) a été assurée par l'usage de deux enzymes de restriction (*BstE II* et *Hae III*) (20) et des deux solutions suivantes :

- Solution 1 : 1 µl pour chaque enzyme additionné à 2 µl de buffer et de la mixture ; 3 µl de la mixture sont additionnés à 17 µl de chaque produit PCR (20). Ensuite une incubation du mélange à 37 °C pendant une nuit a été réalisée.

- Solution 2 : 8,4 µl d'acrylamide, 0,5 µl de TAE (Tris-acétate-EDTA), 15,3 µl H₂O, 40 µl de TEMED (N,N,N',N'-tétraméthyléthylènediamine) et 800 µl de persulfate d'ammonium (SDS). Cette deuxième solution correspond à une partie des composants du gel de polyacrylamide.

À la suite de la digestion, environ 1 µg d'ADN digéré est séparé par électrophorèse sur gel d'agarose à 0,8 % (poids/volume), préparé dans du TBE (Tris-borate-EDTA), à 40 V pendant une nuit. Cette électrophorèse permet de séparer les différents fragments d'ADN obtenus après digestion.

Les profils de restriction ont été analysés à l'aide d'un programme d'analyse moléculaire (BioRad, Hercules, Californie, États-Unis d'Amérique). Les résultats ont été comparés à l'aide d'une table de référence intitulée « *PCR Restriction Enzyme Analysis Chart for Hsp65 of Mycobacteria* », au niveau de la ligne 152/127/69/42/22/17/12 se rapportant à *M. bovis* (U 17925) et à *M. tuberculosis* (U 17957) (20).

Spoligotypage

La méthode du spoligotypage de type Luminex a été réalisée à l'Institut de médecine expérimentale de l'Université d'Istanbul en suivant le protocole décrit par Zhang et coll. (22). Cette technique reste la plus pertinente surtout dans les pays où les flambées de tuberculose sont largement liées à *M. africanum* (en Afrique, dans le sous-continent indien et en Asie) (22).

Les extraits d'ADN de la totalité des isolats obtenus (six) ont été identifiés par spoligotypage. Pour ce faire :

1. Une amplification génique a été réalisée avec les amorces DRa et DRb avec trois contrôles positifs (témoins).
2. Une dénaturation des produits de PCR a été faite à 95 °C pendant 10 min.
3. Une hybridation à 52 °C pendant 30 min. Des microbilles (BioRAD France) avec une solution d'hypochlorite de sodium

ont été rajoutées aux produits PCR pour assurer la bonne dégradation de l'ADN. Cette étape a été effectuée dans un incubateur de type Analyseur Luminex ® 200™ (Luminex Corp., Austin, Texas, États-Unis d'Amérique) pendant 10 min à 52 °C.

Selon Zhang et coll., l'approche basée sur les microbilles en comparaison de celle utilisant des membranes permet un débit de caractérisation des mycobactéries de 4 à 8 fois plus élevée (22).

Identification d'un isolat mycobactérien par séquençage de la région 16SrDNA

Cette méthode a été réalisée au laboratoire de l'Institut de médecine expérimentale, Université d'Istanbul. Nous avons procédé au séquençage d'un isolat d'ADN qui n'appartenait pas au complexe *M. tuberculosis*. Pour cela nous avons utilisé deux techniques :

1. Une PCR et un séquençage partiel du gène d'ARNr16S : cette méthode consiste à une amplification d'un fragment de 591 pb du gène d'ARNr16S avec deux amorces 285 et 259 (23).
2. Une PCR et un séquençage partiel du gène *hsp65* : cette technique vise à amplifier un fragment de 441 pb du gène *hsp65* en suivant le protocole décrit par Telenti et coll. (20).

Les produits amplifiés ont été purifiés par des billes Agencourt Ampure XP et Agencourt Cleanseq (Beckman Coulter, Brea, Californie, États-Unis d'Amérique). Le séquençage a été effectué dans le système d'analyse de séquence CEQ8000 (Beckman Coulter, Brea, Californie, États-Unis d'Amérique). Les séquences obtenues ont été analysées en utilisant l'outil de recherche d'alignement local de base, désigné comme le BLAST (en anglais : *Basic Local Alignment Search Tool*) et qui est disponible dans la base de données en ligne du Centre américain pour les informations biotechnologiques (NCBI, *National Center for Biotechnology Information*) (BLAST, NCBI, Bethesda, Maryland, États-Unis d'Amérique).

Analyses statistiques

La prévalence des lésions avec son intervalle de confiance (IC) à 95 % a été calculée à l'aide d'une distribution binomiale exacte. Le coefficient de concordance Kappa a été utilisé pour comparer l'accord entre la bacilloscopie et la culture bactérienne (24). L'étude des variables exploratoires en lien avec les lésions suspectes de tuberculose détectées à l'abattoir et confirmées par culture bactérienne a été réalisée en utilisant une régression logistique univariée (variable par variable) puis multivariée (prise en compte de toutes les variables ensemble). Pour l'analyse multivariée, un premier modèle comprenait toutes les variables exploratoires ayant une valeur $p \leq 0,2$ dans le modèle univarié. Les variables exploratoires non significatives ($p > 0,05$) ont été supprimées par une approche pas à pas (à partir de la moins significative, c'est-à-dire avec la valeur de p la plus élevée). À chaque étape, un test du rapport de vraisemblance a permis de comparer le modèle simplifié au modèle plus complexe. Le modèle final a été sélectionné lorsque le test du rapport de vraisemblance indiquait une différence significative entre le modèle le plus complexe et le modèle simplifié ($p < 0,05$). Les calculs ont été réalisés en utilisant le logiciel Stata 14.2 SE (StatCorp, College Station, Texas, États-Unis d'Amérique).

Résultats

Lésions suspectes de tuberculose

Sur un total de 3 342 carcasses de dromadaires inspectées visuellement, 102 carcasses présentaient des lésions suspectes de tuberculose, soit une proportion apparente globale de lésions suspectes de tuberculose dans la zone d'étude de 3,05 % (IC à 95 % de 2,50 à 3,69). La proportion de dromadaires femelles présentant des lésions suspectes de tuberculose (9,37 %) était supérieure à celle des mâles (1,61 %).

Les lésions suspectes de tuberculose étaient plus fréquemment observées au niveau des poumons par rapport aux autres localisations, les femelles étaient plus touchées par ces types de lésions par rapport

aux mâles, et les animaux âgés > 10 ans étaient les plus concernés (Tableau I).

Tableau I

Résultats des 102 dromadaires présentant des lésions suspectes de tuberculose à l'inspection visuelle des carcasses. Caractéristiques démographiques des animaux et localisation des lésions

	Variable	Modalité	Nombre (% du total)
Caractéristiques démographiques	Sexe	Mâle	44 (43,14 %)
		Femelle	58 (56,86 %)
	Âge	< 5 ans	11 (10,8 %)
		5–10 ans	21 (20,6 %)
		> 10 ans	70 (68,6 %)
	Localisation des lésions	Organe	Poumon
Foie			37 (36,3 %)
Ganglion bronchique			1 (0,98 %)

Comparaison entre la bacilloscopie et la culture bactérienne

Cinq des 102 échantillons (4,90 %) testés par bacilloscopie ont révélé la présence de bacilles acido-alcool-résistants. Six des 102 mêmes échantillons (5,88 %) mis en culture sur le milieu de Löwenstein-Jensen ont été trouvés positifs pour la présence de *Mycobacterium* (Tableau II). La comparaison entre les résultats de la bacilloscopie et de la culture bactérienne peut être qualifiée de « bonne » en regard du coefficient de concordance Kappa qui est de 0,71 (IC à 95 % de 0,52 à 0,91). En considérant la culture comme la technique de référence, la sensibilité et la spécificité de la bacilloscopie ont été respectivement estimées à 66,66 % (IC à 95 % de 22,28 à 95,67) et à 98,96 % (IC à 95 % de 94,33 à 99,97).

Tableau II

Comparaison entre les résultats de la bacilloscopie et de la culture bactérienne concernant 102 échantillons présentant des lésions suspectes de tuberculose chez les dromadaires en Algérie

		Culture		
		Positive	Négative	Total
Bacilloscopie	Positive	4	1	5
	Négative	2	95	97
	Total	6	96	102

Variables exploratoires en lien avec la détection de mycobactéries par culture

Les résultats de l'analyse univariée et de l'analyse multivariée sont présentés dans les Tableaux III et IV. L'analyse univariée a montré qu'en comparaison avec le poumon comme prélèvement de référence, la prise de ganglions présentant des lésions était plus indicative d'une tuberculose confirmée par examen bactériologique (valeur de $p = 0,03$). De même, la présence d'un examen bacilloscopique était très indicatif d'une culture positive (valeur de $p < 0,001$) (Tableau III). Cependant, à la suite de l'analyse par régression logistique multivariée, seul l'examen bacilloscopique reste significativement associé à une culture positive (valeur de $p = 0,01$) (Tableau IV).

Tableau III**Analyse univariée des variables exploratoires de lésions tuberculeuses chez le dromadaire en Algérie**

Variable	Modalité	OR	(IC à 95 %)	Valeur de p
Abattoir	Ain Salah	Référence	–	–
	El-Oued	2,86	(0,13–61,69)	0,50
	Ghardaïa	16,09	(0,81–317,82)	0,07
Âge	Animal < 5 ans	Référence	–	–
	Animal 5–10 ans	0,16	(0,0061–4,35)	0,28
	Animal > 10 ans	0,59	(0,086–4,01)	0,59
Sexe	Femelle	Référence	–	–
	Mâle	0,71	(0,14–3,52)	0,68
Population	Arbi	Référence	–	–
	Chaambi	3,48	(0,36–33,56)	0,28
	Mheri	2,09	(0,17–24,99)	0,56
	Sahraoui	0,31	(0,03–3,24)	0,33
	Tergui	0,30	(0,03–3,15)	0,32
Localisation	Poumon	Référence	–	–
	Foie	0,55	(0,08–3,67)	0,53
	Ganglion	40,33	(1,43–1139)	0,03*
Bacilloscopie	Négative	Référence	–	–
	Positive	114,60	(12,27–1070)	< 0,001*

* : statistiquement significatif

IC : intervalle de confiance

OR : rapport des cotes (*odds ratio*)

Tableau IV**Analyse multivariée des variables exploratoires des lésions tuberculeuses chez le dromadaire en Algérie**

Variable	Modalité	OR	(IC à 95 %)	Valeur de p
Abattoir	Ain Salah	Référence	–	–
	El-Oued	10,99	(0,06–2187)	0,89
	Ghardaïa	6,47	(0,07–619)	0,80
Localisation	Poumon	Référence	–	–
	Foie	0,39	(0,02–9,17)	0,56
	Ganglion	0,41	(0,005–35,76)	0,69
Bacilloscopie	Négative	Référence	–	–
	Positive	184,19	(3,37–10078)	0,01*

* : statistiquement significatif

IC : intervalle de confiance

OR : rapport des cotes (*odds ratio*)**Analyse par restriction enzymatique**

Les résultats de la PCR basé sur *IS6110* montrent que sur un ensemble de six souches isolées, cinq isolats présentent des signaux positifs qui correspondent au complexe *Mycobacterium tuberculosis*. Le sixième isolat ne présente pas de signal ce qui indique que son ADN n'appartient pas à ce complexe. Il s'agit d'une mycobactérie non tuberculeuse (MNT).

L'examen par PCR des souches isolées à partir des cultures positives a permis de confirmer la présence des mycobactéries. Une restriction enzymatique appliquée sur les mêmes extraits d'ADN a permis de mettre en évidence la présence de bandes variant entre 200 paires de bases (pb) et 250 pb, entre 50 pb et 100 pb et entre 12 pb et 17 pb. Ces résultats sont compatibles avec la ligne 152/127/69/42/22/17/12 de l'algorithme repris dans la Table de référence (20), c'est-à-dire compatibles avec *M. bovis* (U 17925) et *M. tuberculosis* (U 17957), ce qui indique la présence de l'une et/ou l'autre de ces deux espèces.

Identification par méthode moléculaire d'un isolat mycobactérien

Les résultats des séquences d'un isolat mycobactérien obtenues par deux techniques différentes de séquençage et comparées à la base de données NCBI de collecte de nucléotides ont mis en évidence une souche de *M. virginiense* DSM100883^T (99,82 % de similitude avec *M. virginiense*) par la méthode du gène ARNr16S et 99,5 % de similitude avec *M. virginiense* AY550212 pour le gène *hsp65*. À la suite de ces deux observations, la souche de mycobactérie atypique mise en évidence dans cette étude a été identifiée comme étant *Mycobacterium virginiense* MO-233. C'est la première fois que cette souche a été isolée en Algérie chez une chamelle âgée de plus de 10 ans.

Spoligotypage

La technique de spoligotypage a été réalisée au laboratoire de l'Institut de médecine expérimentale de l'Université d'Istanbul sur les extraits d'ADN obtenus au départ des six isolats bactériens identifiés dans des lésions suspectes de tuberculose chez le dromadaire. Quatre souches de *M. bovis* possédant le même spoligotype SB0941 et une souche phylogénétiquement proche des souches précédentes mais portant le spoligotype SB2562 ont été identifiées (Tableau V). Le premier spoligotype a déjà été décrit chez le bovin dans une étude menée en Algérie par Sahraoui et coll. (14), tandis que le deuxième est décrit ici pour la première fois.

Tableau V

Spoligotypes identifiés chez les dromadaires en Algérie

Spoligotype	Code BIN	Code OCT	Code HEX
SB0941	1101111101111110111100011111111111111100000	676773617777600	6F-5F-5E-1F-FF-60
SB2562	1001111101111000111100011111111111111100000	476743617777600	4F-5E-1E-1F-FF-60

BIN : binaire

HEX : hexadécimal. Le système hexadécimal est un système de numération positionnel en base 16. Dans ce système, 16 symboles sont utilisés, en général des chiffres arabes pour les dix premiers chiffres et les lettres A à F pour les six suivants.

OCT : octal. Le système de numération octal est un système de numération de base 8 qui utilise les chiffres de 0 à 7.

Discussion

Historiquement, plusieurs dromadaires apparemment en bonne santé, abattus dans des abattoirs en Algérie, présentaient des lésions pulmonaires à l'examen *post-mortem* (1). Selon Kane et coll. dans une étude menée en Mauritanie, les genres bactériens associés aux lésions pulmonaires majeures chez le dromadaire étaient des streptocoques, des staphylocoques, des klebsielles et des corynébactéries (25).

La présente étude a révélé une prévalence de lésions suspectes de tuberculose de 3,05 % (102/3 342 carcasses) chez le dromadaire à la suite d'une inspection visuelle *post-mortem* réalisée dans trois abattoirs en Algérie. Ces résultats sont proches de ceux de Kasaye et coll. (26) qui ont rapporté une prévalence de 4,52 % à l'abattoir d'Akaki en Éthiopie. Ils sont toutefois supérieurs à ceux signalés par Zubair et coll. (27) qui ont rapporté une proportion de nodules tuberculeux de 2 % dans deux abattoirs de Lahore et Faisalabad au Pakistan, et inférieurs à ceux rapportés par Beyi et coll. (28) qui ont mentionné une prévalence des lésions tuberculeuses égale à 8,3 % (33/398) à l'abattoir municipal de Dire Dawa en Éthiopie. La présence des lésions tuberculeuses chez le dromadaire dans les trois abattoirs investigués dans notre étude est peut-être favorisée par la tendance à la sédentarité de certains élevages camelins algériens. En effet, ce type d'élevage induit une plus grande cohabitation avec d'autres ruminants, en particulier les bovins, qui sont plus souvent atteints de tuberculose à *M. bovis*. Ce même constat a été signalé par Mamo et coll. qui indiquaient que la tuberculose se produisait plus fréquemment chez les dromadaires qui sont gardés en contact avec des bovins et des petits ruminants (29). Cette cohabitation explique également le fait de retrouver le même spoligotype de souches de *M. bovis* dans les deux espèces (les dromadaires et les bovins). En effet, les travaux de Sahraoui et coll. ont mis en évidence le même spoligotype (SB0941) chez l'espèce bovine dans une étude menée dans deux abattoirs de la région Nord en Algérie (14). Depuis lors, un dépistage des bovins provenant de la région du Nord de l'Algérie a été rendu obligatoire avant le déplacement de ceux-ci vers le Sud de l'Algérie.

La proportion de dromadaires femelles présentant des lésions suspectes de tuberculose (9,37 %) était supérieure à celle des mâles (1,61 %). Ceci peut être expliqué par la plus longue vie reproductrice des femelles dromadaires qui ont une plus grande chance de rencontrer un animal infecté de tuberculose à *M. bovis* durant leur cycle de vie (30). Nos résultats sont comparables à ceux rapportés à l'abattoir d'Akaki en Éthiopie par Kasaye et coll. (26) qui ont signalé une prédominance des lésions tuberculeuses chez les femelles (5,91 %) par rapport aux mâles (2,41 %). En revanche, dans une étude menée au Nigeria Ahmed et coll. ont indiqué que les mâles sont les plus concernés par les lésions tuberculeuses (35,4 %) (27). Toutefois, dans cette étude, un nombre important d'échantillons provenaient de dromadaires mâles abattus (31). De plus, la tuberculose étant une maladie d'évolution chronique (32), la maladie se manifeste fréquemment chez les animaux âgés (5,63 %). Le même constat a été fait par Beyi et coll. (28). En effet, ceux-ci ont estimé ce pourcentage à 11,7 % (22/180) dans une étude menée à l'abattoir de Dire Dawa en Éthiopie. D'autres travaux ont confirmé que la prévalence des lésions tuberculeuses était plus élevée dans les carcasses de dromadaires âgés (31). Les lésions évocatrices de la tuberculose cameline sont plus fréquentes dans les poumons (64/102) et le foie (37/102) et un faible pourcentage a été constaté dans les ganglions bronchiques (1/102). Ces résultats sont comparables avec ceux de Mamo et coll. (29) obtenus dans l'abattoir de Dire Dawa en Éthiopie avec un taux élevé de lésions pulmonaires (54,2 %). Le même constat a été observé par Zubair et coll. (27) indiquant une proportion de 48,90 % de lésions pulmonaires dans une étude menée dans les abattoirs de Lahore et Faisalabad au Pakistan. La prédominance des lésions respiratoires est explicable par le mode de transmission préférentielle de la tuberculose à *M. bovis* par cette voie (33).

Seuls 4,90 % des examens par bacilloscopie étaient positifs. Nos résultats ne sont pas étonnants car la bacilloscopie n'est pas très sensible et elle n'est positive que si le prélèvement contient plus de 10 000 bacilles / ml (32). Le même constat a été signalé par Mamo et coll. (29) dans une étude réalisée à l'abattoir de Dire Dawa en Éthiopie. Cette faible positivité pourrait être due à l'absence (34) ou au faible nombre (35) de mycobactéries viables dans les lésions tuberculeuses calcifiées.

La bacilloscopie constitue toutefois une étape du diagnostic de la tuberculose adoptée par les programmes nationaux de lutte contre la tuberculose dans les pays à ressources limitées (36, 37). Selon Wernery et coll., les résultats de la coloration de Ziehl-Neelsen chez le dromadaire sont variables (12). Cela peut être dû à un phénomène particulier chez les camélidés par rapport aux autres espèces. Chez les bovins, Sahraoui et coll. ont calculé un taux de positivité à la bacilloscopie de 28,80 % (38).

Le taux de positivité à la culture bactérienne, sur milieux solides Löwenstein-Jensen était légèrement supérieur (5,88 %) à celui obtenu par la bacilloscopie. Ce taux est supérieur à celui obtenu (1,4 %) par Mamo et coll. (28). La culture bactérienne reste un test de référence pour un meilleur contrôle de la tuberculose (39).

Dans la présente étude, la concordance entre la bacilloscopie et la culture bactérienne s'est révélée être bonne (coefficient kappa de 0,71). Il s'agit d'un résultat supérieur à ceux rapportés auparavant par Beyi et coll. (28) et par Mamo et coll. (29), qui ont signalé respectivement une concordance faible (coefficient kappa de 0,37) à moyenne (coefficient kappa de 0,51) entre ces deux tests.

Selon les auteurs, il s'agit de la première étude portant à la fois sur le diagnostic bactériologique et moléculaire de la tuberculose chez le dromadaire en Algérie. Cette étude a pu confirmer la présence de *M. bovis* avec deux spoligotypes différents (SB094 et SB2562) dans les lésions tuberculeuses chez le dromadaire en Algérie. Dans la présente étude, le spoligotype isolé (SB0941) de quatre souches bactériennes est semblable à celui isolé chez un bovin dans deux abattoirs algériens lors d'une étude antérieure (14, 35). Ce constat suggère le passage possible de ce spoligotype au sein des deux espèces par cohabitation. En revanche, le spoligotype SB2562 isolé d'une autre souche est nouveau. Il n'a jamais été isolé auparavant en Algérie chez le dromadaire ou toute autre espèce d'animal de rente. Ce nouveau motif de spoligotype a été soumis dans la base de données des spoligotypes de *M. bovis* sous le numéro de code OCT476743617777600 (www.Mbovis.org) (40).

De plus, une souche de mycobactérie non tuberculeuse a été isolée et identifiée par la technique de séquençage de la région 16s DNA. Elle a été identifiée comme *M. virginiense* MO-233. Ce type de mycobactérie a été isolé chez une chamelle âgée de plus de 10 ans pour la première fois en Algérie. Cette souche atypique est une espèce appartenant au complexe *Mycobacterium terrae* (41). Un même constat a été signalé par Johnson et coll. (42), qui ont également isolé des mycobactéries atypiques telles que *M. kansasii* chez les camelins.

Conclusion

Cette étude a permis de mettre en évidence la présence de lésions compatibles avec la tuberculose chez 3,05 % de dromadaires abattus en Algérie. Cinq souches de *M. bovis* ont été isolées, correspondant, pour quatre d'entre elles à un spoligotype déjà connu auparavant chez le bovin en Algérie (SB0941) et pour la cinquième souche à un spoligotype (SB2562) inconnu à ce jour chez le dromadaire ou toute autre espèce animale.

De plus, une souche non-tuberculeuse supplémentaire a été identifiée. Il s'agit de *M. virginiense* MO-233. Compte tenu du caractère zoonotique de *M. bovis*, il est nécessaire de mettre en œuvre des mesures visant à contrôler la tuberculose à *M. bovis* dans le cheptel des dromadaires algériens en vue de réduire la transmission entre l'animal et l'homme. Enfin, des études complémentaires restent nécessaires pour mieux comprendre la situation épidémiologique du cheptel camelin en Algérie.

Remerciements

Les auteurs remercient l'ensemble du personnel des directions des Services vétérinaires algériens ainsi que les inspecteurs des abattoirs des wilayas d'El-Oued, Ain Salah et Ghardaïa.

Bibliographie

1. Jenberie S., Awol N., Ayelet G., Gelaye E., Negussie H. & Abie G. (2012). – Gross and histopathological studies on pulmonary lesions of camel (*Camelus dromedarius*) slaughtered at Addis Ababa abattoir, Ethiopia. *Trop. Anim. Hlth Prod.*, **44** (4), 849–854. <https://doi.org/10.1007/s11250-011-9977-z>.
2. Senoussi A., Brahim Z. & Beziou S. (2017). – Portée de l'élevage camelin en Algérie et perspectives de développement. *Rev. BioRessour.*, **7** (1), 29–38. <https://doi.org/10.12816/0045881>.
3. Sadoud M., Nefnouf F. & Zohra Hafaoui F. (2019). – La viande cameline dans deux régions du Sud Algérien. *Viandes Prod. Carnés*, **35** (3), VPC-2019-35-3-2. Disponible en ligne : www.viandesetproduitscarnes.fr/phocadownload/vpc_vol_35/Vol_3532_Viande-cameline.pdf (consulté le 4 février 2021).
4. Abaab A., Bedrani S., Bourbouze A. & Chiche J. (1995). – Les politiques agricoles et la dynamique des systèmes agropastoraux au Maghreb. In *Les agricultures maghrébines à l'aube de l'an 2000* (M. Allaya, édit.). Centre international de hautes études agronomiques méditerranéennes (CIHEAM), Montpellier, France, 139–165. Disponible en ligne : <https://om.ciheam.org/om/pdf/b14/CI960048.pdf> (consulté le 4 février 2021).
5. Bourbouze A. (2006). – Systèmes d'élevage et production animale dans les steppes du nord de l'Afrique : une relecture de la société pastorale du Maghreb. *Sécheresse*, **17** (1), 31–39. Disponible en ligne : www.jle.com/fr/revues/sec/e-docs/systemes_delevage_et_production_animale_dans_les_steppes_du_nord_de_lafrique_une_relecture_de_la_societe_pastorale_du_maghr_270084/article.phtml?tab=citer (consulté le 4 février 2021).

6. Ben Aissa R. (1989). – Le dromadaire en Algérie. *In* Séminaire sur la digestion, la nutrition et l'alimentation du dromadaire (J.-L. Tisserand, édit.). Centre international de hautes études agronomiques méditerranéennes (CIHEAM), Saragosse, Espagne, 19–28. Disponible en ligne : <https://om.ciheam.org/om/pdf/a02/CI000422.pdf> (consulté le 4 février 2021).

7. Isaza R. (2003). – Tuberculosis in all taxa. *In* Zoo and wild animal medicine (M.E. Fowler & R.E. Miller, édit.), 5^e éd. W.B. Saunders Co., Philadelphie, Pennsylvanie, États-Unis d'Amérique, 689–699.

8. Alvarez J., Bezos J., de Juan L., Vordermeier M., Rodriguez S., Fernandez-de-Mera I.G., Mateos A. & Domínguez L. (2012). – Diagnosis of tuberculosis in camelids: old problems, current solutions and future challenges. *Transbound. Emerg. Dis.*, **59** (1), 1–10. <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2011.01233.x>.

9. Thoen C.O., Kaplan B., Thoen T.C., Gilsdorf M.J. & Shere J.A. (2016). – Zoonotic tuberculosis. A comprehensive One Health approach. *Medicina (B. Aires)*, **76** (3), 159–165. Disponible en ligne : www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27295705 (consulté le 5 février 2021).

10. Mamo G., Bayleyegn G., Sisay Tessema T., Legesse M., Medhin G., Bjune G., Abebe F. & Ameni G. (2011). – Pathology of camel tuberculosis and molecular characterization of its causative agents in pastoral regions of Ethiopia. *PLoS ONE*, **6** (1), e15862. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015862>.

11. Boukary A.R., Thys E., Rigouts L., Matthys F., Berkvens D., Mahamadou I., Yenikoye A. & Saegerman C. (2012). – Risk factors associated with bovine tuberculosis and molecular characterization of *Mycobacterium bovis* strains in urban settings in Niger. *Transbound. Emerg. Dis.*, **59** (6), 490–502. <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2011.01302.x>.

12. Wernery U. & Kinne J. (2012). – Tuberculosis in camelids: a review. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **31** (3), 899–906. <https://doi.org/10.20506/rst.31.3.2161>.

13. Sahraoui N., Hasniou A., Chettab H., Ben Khada G., Tazerart F., Chadi H., Zinsstag J. & Guetarni D. (2012). – Diagnostic de la tuberculose ovine par examen anatomo-pathologique en Algérie. *J. Rech. Sci. Univ. Lomé (Togo)*, **14** (2), 143–147. Disponible en ligne : www.ajol.info/index.php/jrsul/article/view/138847 (consulté le 6 février 2020).

14. Sahraoui N., Müller B., Guetarni D., Boulahbal F., Yala D., Ouzrout R., Berg S., Smith N.H. & Zinsstag J. (2009). – Molecular characterization of *Mycobacterium bovis* strains isolated from cattle slaughtered at two abattoirs in Algeria. *BMC Vet. Res.*, **5**, 4. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-5-4>.

15. Commission européenne (CE) (2004). – Rectificatif au règlement (CE) n° 854/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 fixant les règles spécifiques d'organisation des contrôles officiels concernant les produits d'origine animale destinés à la consommation humaine. *J. Off. Union Eur.*, **L 226**, 83–127. Disponible en ligne : <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2004:226:0083:0127:FR:PDF> (consulté le 5 février 2021).

16. Sieng M. (2011). – La détection de la tuberculose bovine dans les abattoirs du sud-ouest de 2001 à 2010 : analyse des données d'inspection et des résultats histologiques et bactériologiques. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, École nationale vétérinaire, Toulouse, France, 64 pp. Disponible en ligne : <https://oatao.univ-toulouse.fr/5101/> (consulté le 5 février 2021).

17. Freney J., Renaud F., Leclercq R. & Riegel P. (2007). – Précis de bactériologie clinique, 2^e éd. Editions Eska, Paris, France, 1764 pp.

18. Petroff S.A. (1915). – A new and rapid method for the isolation and cultivation of tubercle bacilli directly from the sputum and feces. *J. Experim. Med.*, **21** (1), 38–42. <https://doi.org/10.1084/jem.21.1.38>.

19. Tanoue S., Mitarai S. & Shishido H. (2002). – Comparative study on the use of solid media: Löwenstein-Jensen and Ogawa in the determination of anti-tuberculosis drug susceptibility. *Tuberculosis (Edinb.)*, **82** (2–3), 63–67. <https://doi.org/10.1054/tube.2002.0323>.

20. Telenti A., Marchesi F., Balz M., Bally F., Böttger E.C. & Bodmer T. (1993). – Rapid identification of mycobacteria to the species level by polymerase chain reaction and restriction enzyme analysis. *J. Clin. Microbiol.*, **31** (2), 175–178. <https://doi.org/10.1128/JCM.31.2.175-178.1993>.

21. Van Embden J.D.A., Cave M.D., Crawford J.T., Dale J.W., Eisenach K.D., Gicquel B., Hermans P., Martin C., McAdam R., Shinnick T.M. & Small P.M. (1993). – Strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology. *J. Clin. Microbiol.*, **31** (2), 406–409. <https://doi.org/10.1128/JCM.31.2.406-409.1993>.

22. Zhang J., Abadia E., Refregier G., Tafaj S., Boschioli M.L., Guillard B., Andremont A., Ruimy R. & Sola C. (2010). – *Mycobacterium tuberculosis* complex CRISPR genotyping: improving efficiency, throughput and discriminative power of ‘spoligotyping’ with new spacers and a microbead-based hybridization assay. *J. Med. Microbiol.*, **59** (3), 285–294. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.016949-0>.

23. Kirschner P. & Bottger E.C. (1998). – Species identification of mycobacteria using rDNA sequencing. *In* Mycobacteria protocols (T. Parish & N.G. Stoker, édits). Methods in molecular biology book series, **101**, Humana Press, Totowa, New Jersey, États-Unis d’Amérique, 349–361. <https://doi.org/10.1385/0-89603-471-2:349>.

24. Thrusfield M. (2007). – Veterinary epidemiology, 3^e éd. Wiley-Blackwell, Oxford, Royaume-Uni, 624 pp. Disponible en ligne :

http://dvmbooks.weebly.com/uploads/2/2/3/6/22365786/1._veterinary_epidemiology_thrush_filled.pdf (consulté le 6 février 2020).

25. Kane Y., Kadja M.C., Bada-Alambedji R., Bezeid O.E.M., Akakpo J.A. & Kaboret Y. (2005). – Lésions et bactéries des poumons du dromadaire (*Camelus dromedarius*) à l'abattoir de Nouakchott en Mauritanie. *Rev. Élev. Méd. Vét. Pays Trop.*, **58** (3), 145–150. <https://doi.org/10.19182/remvt.9926>.

26. Kasaye S., Molla W. & Amini G. (2013). – Prevalence of camel tuberculosis at Akaki abattoir in Addis Ababa, Ethiopia. *Afr. J. Microbiol. Res.*, **7** (20), 2184–2189. <https://doi.org/10.5897/AJMR2012.2339>.

27. Zubair R., Khan A.M.Z. & Sabri M.A. (2004). – Pathology in camel lungs. *J. Camel Sci.*, **1** (1), 103–106. Disponible en ligne : <https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.137.2350&rep=rep1&type=pdf#page=110> (consulté le 5 février 2021).

28. Beyi A.F., Gezahegne K.Z., Mussa A., Ameni G. & Ali M.S. (2014). – Prevalence of bovine tuberculosis in dromedary camels and awareness of pastoralists about its zoonotic importance in Eastern Ethiopia. *J. Vet. Med. Anim. Hlth*, **6** (4), 109–115. <https://doi.org/10.5897/JVMAH2014.0284>.

29. Mamo G., Kassaye A., Sanni M. & Ameni G. (2009). – A cross sectional study of camel tuberculosis in Ethiopia. *Bull. Anim. Hlth Prod. Afr.*, **57** (1), 13–20. <https://doi.org/10.4314/bahpa.v57i1.44047>.

30. Teklu A., Asseged B., Yimer E., Gebeyehu M. & Woldesenbet Z. (2004). – Tuberculous lesions not detected by routine abattoir inspection: the experience of the Hossana municipal abattoir, southern Ethiopia. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **23** (3), 957–964. <https://doi.org/10.20506/rst.23.3.1534>.

31. Ahmad I., Kudi C.A., Babashani M., Chafe U.M., Yakubu Y. & Shittu A. (2019). – Tuberculosis in dromedary camels slaughtered in Nigeria: a documentation of lesions at *postmortem*. *Trop. Anim. Hlth Prod.*, **51** (1), 73–78. <https://doi.org/10.1007/s11250-018-1661-0>.

32. Carbonnelle B., Dailloux M., Lebrun L., Maugein J. & Pernot C. (2003). – Mycobactéries et mycobactérioses. *Cahier de formation biologie médicale*, **29**, 157 pp. Disponible en ligne : <https://sjbm.fr/images/cahiers/2003-Bioforma-29-Mycobact%C3%A9ries%20Mycobact%C3%A9rioses.pdf> (consulté le 8 février 2021).

33. O'Reilly L.M. & Daborn C.J. (1995). – The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man: a review. *Tubercle Lung Dis.*, **76** (Suppl. 1), 1–46. [https://doi.org/10.1016/0962-8479\(95\)90591-X](https://doi.org/10.1016/0962-8479(95)90591-X).

34. Quinn P.J., Carter M.E., Markey B.K. & Carter G.R. (1994). – *Mycobacterium* species. In *Clinical veterinary microbiology*. Wolfe, Londres, Édimbourg, Royaume-Uni, 156–169.

35. García-Bocanegra I., Barranco I., Rodríguez-Gómez I.M., Pérez B., Gómez-Laguna J., Rodríguez S., Ruiz-Villamayor E. & Perea A. (2010). – Tuberculosis in alpacas (*Lama pacos*) caused by *Mycobacterium bovis*. *J. Clin. Microbiol.*, **48** (5), 1960–1964. <https://doi.org/10.1128/JCM.02518-09>.

36. Union internationale contre la tuberculose et les maladies respiratoires (UICMR) (2000). – Guide technique : diagnostic de la tuberculose par examen microscopique direct des expectorations dans les pays à faibles revenus, 5^e éd. UICMR, Paris, France, 60 pp. Disponible en ligne : https://tbrieder.org/publications/books_french/microscopy_fr.pdf (consulté le 6 février 2020).

37. Ligue pulmonaire suisse (LPS) (2019). – Tuberculose en Suisse : guide à l’usage des professionnels de la santé, 4^e éd. LPS, Berne, Suisse, 61 pp. Disponible en ligne : www.infovac.ch/docs/public/mycobacterium/handbuch-tb-fr-29-03-19.pdf (consulté le 8 février 2021).

38. Sahraoui N., Muller B., Yala D., Ouzrout R., Zinsstag J., Boulahbal F. & Guetarni D. (2008). – Investigation about the bovine tuberculosis in two Algerian slaughterhouses. *Afr. J. Agric. Res.*, **3** (11), 775–778. Disponible en ligne : www.researchgate.net/publication/228744976_Investigation_about_the_bovine_tuberculosis_in_two_Algerian_slaughterhouses (consulté le 8 février 2021).

39. Annam V., Kulkarni M.H. & Puranik R.B. (2009). – Comparison of the modified fluorescent method and conventional Ziehl-Neelsen method in the detection of acid-fast bacilli in lymph node aspirates. *CytoJournal*, **6**, 13. <https://doi.org/10.4103/1742-6413.53887>.

40. Dale J.W., Brittain D. [...] & Vincent V. (2001). – Spacer oligonucleotide typing of bacteria of the *Mycobacterium tuberculosis* complex: recommendations for standardised nomenclature. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, **5** (3), 216–219. Disponible en ligne : www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11326819 (consulté le 6 février 2020).

41. Vasireddy R., Vasireddy S., Brown-Elliott B.A., Wengenack N.L., Eke U.A., Benwill J.L., Turenne C. & Wallace Jr R.J. (2016). – *Mycobacterium arupense*, *Mycobacterium heraklionense*, and a newly proposed species, ‘*Mycobacterium virginense*’ sp. nov., but not *Mycobacterium nonchromogenicum*, as species of the *Mycobacterium terrae* complex causing tenosynovitis and osteomyelitis. *J. Clin. Microbiol.*, **54** (5), 1340–1351. <https://doi.org/10.1128/JCM.00198-16>.

42. Johnson C.T., Winkler C.E., Boughton E. & Penfold J.W. (1993). – *Mycobacterium kansasii* infection in a llama. *Vet. Rec.*, **133** (10), 243–244. <https://doi.org/10.1136/vr.133.10.243>.