

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Université Ferhat Abbas Sétif 1
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة فرحات عباس، سطيف 1
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALE

N°/SNV/2021

THÈSE

Présentée par

Zehaira Romeissa DJAFAR

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT 3^{ÈME} CYCLE

Filière: SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité: ECOLOGIE ANIMALE

THÈME

**Nouvelles Approches D'investigation Eco-épidémiologique de la tuberculose
bovine dans l'Est Algérien, Basées sur le développement de nouveaux outils
de diagnostic.**

Soutenue publiquement le 10/06/2021

DEVANT LE JURY

Président	BOUNECHADA Mustapha	Pr. UFA Sétif 1
Directeur	BENIA Farida	Pr. UFA Sétif 1
Examineurs	KAUCHE Soumeya	Dr. Univ Boumerdès
	KHENCHOUCHE Abdelhalim	Dr. UFA Sétif 1
	AYADI Ouarda	Dr. UFA Sétif 1
Invité	BENAZI Nabil	Dr. Institut Pasteur d'Algérie

Laboratoire d'Amélioration et de Développement de la Production Végétale et Animale (LADPVA)

DÉDICACES

A ma très chère maman, à la meilleure de toutes,

Ma source inépuisable de tendresse, d'amour et de patience. Ta prière et ta bénédiction m'ont été les plus précieux tout au long de ma vie. Je ne peux guère exprimer mon affection, mon amour et ma profonde reconnaissance.

Ce travail est ton œuvre, toi qui m'a donné tant de choses et tu continues à le faire.

Puisse Dieu le tout puissant t'accorder santé et longue vie.

A Mon très cher papa,

Tu as été et tu seras toujours un exemple pour moi par tout petit détail en toi.

Aucune dédicace ne saurez exprimer mon respect, ma reconnaissance et mon profond amour.

Je te dédie ce travail, qui n'est autre que le fruit de tous les sacrifices et les efforts que tu as déployé pour moi. Que le bon dieu t'accorde une longue vie et une santé en Fer.

A Mes frères,

Je ne saurais traduire sur papier la profondeur des sentiments fraternels et d'amour.

Je vous dédie ce travail, en témoignage de ma profonde affection, de ma gratitude pour tout votre soutien et en l'honneur de tous nos souvenirs indélébiles. Que dieu vous protège et vous préserve santé et bonheur.

A Doxy, Ma sœur de cœur

A ma meilleure Amie Selma

A Mes grands-parents.

A Mes tantes et mes oncles

A toute ma famille Et à tous ceux qui me sont chers

REMERCIEMENTS

Une thèse est le fruit de plusieurs années d'étude, de persévérance et de patience

Ce travail n'aura pas pu naître sans le soutien, la générosité et l'intérêt manifesté à l'égard de ma recherche d'un grand nombre de personnes

En premier lieu, je tiens à remercier chaleureusement ma directrice de thèse, Professeur Farida Benia pour la confiance qu'elle m'a accordée en acceptant d'encadrer ce travail doctoral, pour sa gentillesse et disponibilité permanente, et surtout pour ses conseils judicieux.

A Docteur Nabil BENAZI, j'aimerais lui dire à quel point j'ai apprécié sa grande disponibilité et son respect sans faille des délais serrés de relecture des documents que je lui ai adressés, et pour ses précieux conseils. J'ai été extrêmement sensible à ses qualités humaines d'écoute et de compréhension tout au long de ce travail doctoral.

Je remercie bien sûr Professeur Mustapha BOUNECHADA, pour sa grande gentillesse et tous ses conseils toujours très pertinents, d'avoir également accepté de présider le jury de cette thèse.

Mes remerciements vont également à Docteur Abdelhalim Khenchouche pour ses encouragements et son accueil chaleureux à chaque fois que j'ai sollicité son aide. Je le remercie aussi de m'avoir fait l'honneur en acceptant de porter un jugement à ce travail.

Je tiens également à exprimer ma reconnaissance spéciale à Docteur Maher SAYHI, qui m'a beaucoup appris avec soutien inestimable. C'est à ses côtés que j'ai compris ce que rigueur et précision voulaient dire.

Je souhaiterais exprimer mes profonds remerciements aux Docteurs, Madame Soumeya KAUCHE et Madame Ouarda AYADI, de m'avoir fait l'honneur en s'engageant à évaluer ce travail.

Mes plus respectueux remerciements s'adressent à Docteur Abdelkakim ZELLAGUI et mon professeur Monsieur El Hacene BERERHI, pour leur disponibilité, leurs remarques éclairantes et leurs encouragements.

Aux directeurs des unités qui ont accueillis cette thèse et tous leurs membres, et aux membres de l'unité Pasteur Algérie.

Je tiens à témoigner toute ma reconnaissance à Messieurs Zoubir HARRAT et Abdelkrim Boudrissa pour leur accueil enthousiaste et au fait de me mettre à l'aise dans la réalisation de mon travail.

Mes remerciements sont incomplets si je ne m'adresse pas à l'Institut Pasteur de Tunis (IPT), ma deuxième maison et ma deuxième famille, avec un grand merci à tous ses chercheurs et professeurs. Principalement aux membres de l'unité d'épidémiologie et de microbiologie vétérinaire, Pasteur Tunis,

J'exprime un Grand merci à Monsieur Mohammed Fethi Diouani, pour tout l'intérêt qu'il a manifesté envers ma recherche, son accueil ainsi que tous les moyens qu'il a mis en œuvre à l'égard de mon travail.

A tous les membres de cette unité pour leur présence et l'atmosphère aimable qui s'y ajoutait

Enfin, à tous les gens qui passent, qui restent et qui repartent rencontrés au cours de ma thèse.

RESUMES

الملخص:

مقاربات جديدة للتحقيق البيئي الوبائي لمرض السل البقري في شرق الجزائر، بناءً على تطوير أدوات تشخيص جديدة.

على الرغم من الصعوبات وغياب المعلومات العلمية الموثوقة عن مرض السل البقري في الجزائر، فقد تم اعتبار دراستنا المقطعية والاستنتاجية الأولى في بلدنا. أجريت دراستنا في ثلاث مناطق كبيرة شبه مكثفة في شرق الجزائر، من خلال تحليل 21 مزرعة جمعت 516 رأساً من الماشية في التربية المكثفة وشبه المكثفة على مدى 12 شهراً. من أجل تقدير نسبة الكشف عن المؤشرات المصلية وعوامل الخطر التي تؤثر على ظهور المرض في هذه المناطق. تم تحسين الاختبار المصلي (PPD-ELISA) وتم إجراؤه على جميع الأمصال التي تم جمعها، بعد أخذ العينات الطبقيّة على مستويين. تم وضع نموذج مختلط خطي معمم لتحديد عوامل الخطر المرتبطة بوجود الاجسام المضادة عند الحيوان. يتبعه تحليل وصفي متعدد المتغيرات لتحديد مجموعات المزارع الأكثر تعرضاً لمرض السل البقري. تم تخصيص جزء آخر من دراستنا للتقدير الرجعي لمرض السل البقري في المناطق التي تمت دراستها خلال السنوات العشر الماضية. النتائج التي تم الحصول عليها بمعدل انتشار مصلي 3.49% (مجال الموثوقية 95%: 1.91، 5.07) صنفت الجزائر من الناحية الوبائية في حالة وسيطة مقابل السل البقري، بين البلدان الصناعية. حيث يكون معدل الانتشار المصلي منخفضاً جداً في الغالب أقل من 0.1% والبلدان النامية ذات الانتشار المصلي المرتفع جداً مثل البلدان الأفريقية الآسيوية. مع الحصول على عامل خطر "الحيوانات المشتريات في بلد مدرج على أنه رسمياً خالياً من السل"، بسبب شراء الماشية الموجهة من قبل الدولة التي لا تشمل البلدان المعتمدة خالية رسمياً من السل من قبل المنظمة العالمية للصحة، كعامل وقائي للغاية، مما ساهم في انخفاض هذا الانتشار المصلي.

الكلمات المفتاحية: السل البقري، PPD-ELISA، الانتشار المصلي، GLMM، ACM، دول OTF، شرق الجزائر.

Résumé

Nouvelles Approches D'investigation Eco-Epidémiologique de la tuberculose bovine dans l'Est Algérien, Basées sur le développement de nouveaux outils de diagnostic.

Malgré les difficultés et l'absence d'informations scientifiques crédibles sur la tuberculose bovine en Algérie, notre étude transversale et inférentielle a pu être menée et estimée comme première dans notre pays. Notre étude a été effectuée dans trois grandes régions semi-intensives de l'Est de l'Algérie, en analysant 21 exploitations regroupant 516 bovins en élevage intensif et semi-intensif sur une période de 12 mois. Afin d'estimer la séroprévalence et les facteurs de risque qui influencent l'émergence de la maladie dans ces régions. Un test sérologique (PPD-ELISA) a été optimisé et réalisé sur tous les sérums collectés, après un échantillonnage stratifié à deux niveaux. Un modèle mixte linéaire généralisé a été mis en place pour identifier les facteurs de risque associés à la séropositivité au niveau des animaux. Suivi d'une analyse descriptive multi variée pour identifier les grappes de fermes associées à la séroprévalence de la tuberculose bovine. Une autre partie de notre étude a été consacrée à l'estimation rétrospective de la tuberculose bovine dans les régions étudiées pendant les dix dernières années. Les résultats ont montré un taux de séroprévalence de 3,49% (IC 95%: 1,91, 507) et ont permis de classer l'Algérie sur le plan épidémiologique en situation intermédiaire vis-à-vis de la tuberculose bovine, entre les pays industrialisés où la séroprévalence est pour la plupart très faible en dessous de 0,1% et les pays en développement à très forte séroprévalence comme les pays afro-asiatiques. Avec l'obtention d'un facteur de risque «Animaux achetés dans un pays répertorié comme officiellement indemne de tuberculose», dus à un achat des bovins canalisé par l'Etat qui est exclusif des pays certifiés officiellement indemne par l'organisation mondiale de la santé, comme facteur hautement protecteur, qui a contribué à la diminution de cette séroprévalence.

Mots clés : Tuberculose Bovine, PPD-ELISA, Séroprévalence, GLMM, ACM, Pays OTF, Est Algérien.

Abstract

New Eco-Epidemiological investigations of bovine tuberculosis in Eastern Algeria, based on the development of new diagnostic tools.

Despite the difficulties and the lack of credible scientific information on bovine tuberculosis in Algeria, our cross-sectional and inferential study was conducted and estimated as the first in our country. Our study was carried out in three large semi-intensive regions of eastern Algeria, analyzing 21 farms with 516 cattle in intensive and semi-intensive breeding over a 12-month period. In order to estimate the seroprevalence and the risk factors influencing the emergence of the disease in these regions. A serological test (PPD-ELISA) was optimized and performed on all collected sera, after a two-level stratified sampling. A generalized linear mixed model was implemented to identify risk factors associated with seropositivity at the animal level. Followed by a multivariate descriptive analysis to identify farm clusters associated with bovine tuberculosis seroprevalence. Another part of our study was devoted to the retrospective estimation of bovine tuberculosis in the study areas during the last 10 years. The results showed a seroprevalence rate of 3.49% (95% CI: 1.91, 507) and allowed us to classify Algeria epidemiologically in an intermediate situation with respect to bovine tuberculosis, between industrialized countries where seroprevalence is mostly very low, below 0.1%, and developing countries with very high seroprevalence such as Afro-Asian countries. With the achievement of a risk factor "Animals purchased in a country listed as officially free of tuberculosis", due to a purchase of cattle channeled by the state that is exclusive of countries certified officially free by the World Health Organization, as a highly protective factor, which has contributed to the decrease of this seroprevalence.

Keywords: Bovine tuberculosis, PPD-ELISA, Seroprevalence, GLMM, ACM, OTF countries, East Algeria.

Table de matières

Dédicaces	I
Remerciements	II
RESUMES	IV
Liste Des Figures.....	XVI
Liste Des Tableaux.....	XIX
Liste des Abréviations	XX
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	6
I. GENERALITE SUR LES MYCOBACTERIES	7
1. Définition	7
2. Taxonomie.....	8
2.1. Genre Mycobacterium	8
2.1.1. Mycobacterium tuberculosis	8
2.1.2. Mycobacterium bovis	9
2.1.3. Mycobacterium bovis-Bacille de Calmette et Guérin (BCG)	9
2.1.4. <i>Mycobacterium africanum</i>	9
2.1.5. <i>Mycobacterium microti</i>	9
2.1.6. <i>Mycobacterium pinnipedii</i>	9
2.1.7. <i>Mycobacterium canettii</i>	9
2.1.8. <i>Mycobacterium caprae</i>	10
2.1.9. <i>Mycobacterium mungii</i>	10
2.2. Etude Morphologique	10
II. LA TUBERCULOSE BOVINE	10
1. Définition	10
2. Historique	11
3. Agent Causal : <i>Mycobacterium bovis</i>	12

4.	Données épidémiologiques	13
4.1.	Distribution géographique	13
4.1.1.	La tuberculose bovine dans le monde	13
4.1.2.	La tuberculose bovine en Algérie.....	14
4.2.	Epidémiologie analytique : Facteurs de risques statistiquement associés à la pathogénicité de la Tuberculose Bovine	15
4.2.1.	Facteurs influençant la sensibilité de l'hôte	15
4.2.1.1.	Facteurs propres à la bactérie	15
4.2.1.2.	Facteurs propres à l'animal.....	15
4.2.1.3.	Facteurs liés à la ferme	16
4.3.	Epidémiologie descriptive	19
4.3.1.	Réponse immunitaire associée à <i>M. bovis</i>	19
4.3.2.	Porte d'entrée et lésions engendrées par la tuberculose bovine	20
4.3.3.	Expression clinique de la maladie	21
4.3.4.	Dissémination et transmission de la maladie	21
5.	Eco-épidémiologie de la tuberculose bovine	22
5.1.	Ecologie des Mycobactéries - <i>Mycobacterium bovis</i>	22
5.2.	Excrétion de <i>Mycobacterium bovis</i> dans l'environnement.....	22
5.3.	Survie de <i>Mycobacterium bovis</i> dans l'environnement.....	23
5.4.	La tuberculose Bovine chez la faune sauvage	23
III.	DIAGNOSTIC DE LA TUBERCULOSE BOVINE	24
1.	Déclaration éthique	24
2.	Diagnostic	24
2.1.	Diagnostic de terrain.....	24
2.1.1.	Diagnostic clinique.....	24
2.1.2.	Intradermo tuberculation (IDR)	25
2.1.3.	Examen post-mortem (Abattoir)	25

2.2.	Diagnostic de laboratoire	26
2.2.1.	Diagnostic histopathologique	26
2.2.2.	La culture bactérienne	26
2.2.3.	Les milieux de culture	27
2.3.	Diagnostic moléculaire :	28
2.3.1.	La Polymerase Chain Reaction (PCR)	28
2.3.2.	Typage (spoligotypage)	28
2.4.	Diagnostic sérologique	29
2.4.1.	Dosage de l'interféron gamma	29
2.4.2.	Enzymo Linked Assay (ELISA)	30
IV.	Les techniques d'enquête – l'échantillonnage	32
1.	Echantillonnage (sondage)	32
1.1.	Les échantillons probabilistes	32
1.1.1.	Echantillonnage aléatoire simple	32
1.1.2.	Echantillonnage aléatoire systématique	32
1.1.3.	Echantillonnage stratifié	32
1.1.4.	Echantillonnage en grappe et à plusieurs degrés	33
	CHAPITRE II : ETUDE PRATIQUE	34
	Partie A : Optimisation d'un test PPD-ELISA pour le diagnostic de la tuberculose bovine ...	35
1.	Introduction	35
2.	Matériel	35
2.1.	Réactifs	35
2.2.	Appareillage	36
3.	Méthodes	36
3.1.	Echantillonnage d'optimisation du test	36
3.1.1.	Zone d'étude	36
3.1.2.	Population étudiée	37

3.1.2.1.	Groupe des bovins positifs	37
3.1.2.2.	Groupe des bovins négatifs.....	37
3.2.	Prélèvement sanguin.....	37
3.2.1.	Prélèvement de sang.....	37
3.2.2.	Centrifugation et collecte des sérums.....	37
3.3.	Intra-Dermo-Tuberculation (IDR).....	38
3.4.	Inspection à l'abattoir	38
3.5.	Développement du Test ELISA (Protocole).....	38
3.5.1.	Préparation de tampons	38
3.5.2.	Préparation et optimisation des solutions de travail.....	39
3.5.2.1.	Choix de l'antigène.....	39
3.5.2.2.	Optimisation de la solution et du nombre de lavage	40
3.5.2.3.	Optimisation de solution de blocage	40
3.5.2.4.	Optimisation de la dilution des sérums.....	40
3.5.2.5.	Préparation de la solution de conjugué.....	40
3.5.2.6.	Préparation de solution de substrat (solution de révélation).....	40
3.5.2.7.	<i>Préparation de solution STOP</i>	41
3.5.3.	Préparation des plaques	41
3.5.3.1.	Préparation de la plaque de dilution	41
3.5.3.2.	Préparation de la plaque de travail (plaque sensibilisée par l'Antigène)	41
3.5.4.	Mode opératoire – réalisation du test ELISA.....	41
3.5.5.	Calcul du seuil de positivité	43
Partie B : Etude Epidémiologique : Séroprévalence et Facteurs de risques.....		44
1.	Introduction.....	44
2.	Enquête	45
2.1.	Echantillonnage	45
2.1.1.	Présentation des zones d'étude.....	45

2.1.1.1.	La wilaya de Sétif	45
2.1.1.2.	La wilaya de M'sila	46
2.1.1.3.	La wilaya de Constantine	47
2.1.2.	Formule de calcul de la taille d'échantillon	47
2.2.	Analyse statistiques des datas	48
2.2.1.	Logiciel R (Version 3.6.1).....	48
2.2.2.	SIG (un système d'information géographique)	48
2.2.3.	WinEpiscope (calcul prévalence).....	48
2.2.4.	SurveyMonkey (Logiciel de calcul de l'échantillon).....	48
3.	Méthodes d'étude.....	48
3.1.	Echantillonnage de terrain	48
3.1.1.	Choix des fermes (la zone de pâturage où se trouvent les exploitations)	48
3.1.2.	Echantillonnage des bovins au niveau des exploitations	49
3.2.	Test Tuberculinique et diagnostic sérologique	50
3.2.1.	Prélèvement de sang et intradermoréaction	50
3.2.2.	Diagnostic Sérologique (la PPD – ELISA)	50
3.2.3.	Calcul de la séroprévalence.....	50
3.3.	Les facteurs de risques.....	51
3.3.1.	Enquête et collecte des données	51
3.3.1.1.	Facteurs propres à l'animal.....	51
3.3.1.2.	Facteurs propre à la ferme	52
3.3.1.3.	Facteurs propres aux points de partage (au pâturage)	52
3.3.2.	Prédictions et analyse préliminaire de l'influence des principaux facteurs de risques	53
3.3.2.1.	Variabilités liées à la géographie.....	53
3.3.2.2.	Variabilités liées à la taille des troupeaux et la pratique d'élevage.....	54
3.3.2.2.1.	Influence de la taille du troupeau	54

3.3.2.2.2.	Influence de la pratique d'élevage.....	57
3.3.3.	Analyse statistiques et stratégie d'analyse (modélisation statistique).....	57
3.3.3.1.	Distribution géographique (spatiale) de la séroprévalence.....	57
3.3.3.2.	Le Test-t de student	58
3.3.3.3.	Variance des effets aléatoires – Sélection des variables associées à la séroprévalence – bivarié χ^2 test	58
3.3.3.4.	GLMM (modèle mixte linéaire généralisé)	60
3.3.3.5.	Le Test HL = le test de Hosmer-Lemeshow.....	60
3.3.3.6.	Le modèle maximal	60
3.3.3.7.	ACM (Analyse Multidimensionnelle)	63
3.3.3.7.1.	Principe de l'ACM.....	63
3.3.3.7.2.	La méthode (Réalisation de l'ACM dans notre étude).....	64
Partie C : Etude rétrospective sur la tuberculose bovine dans l'Est Algérien.....		65
1.	Introduction.....	65
2.	Méthodes.....	65
2.1.	Collecte des données	65
2.2.	Analyse des données.....	66
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION		67
Partie A : optimisation d'un test PPD-ELISA pour le diagnostic de la tuberculose bovine		68
1.	Inspection ante-mortem des bovins	68
2.	Intradermo tuberculination des bovins.....	69
3.	Inspection post-mortem des bovins	70
4.	Développement et optimisation du test ELISA	71
4.1.	Optimisation de l'antigène.....	71
4.2.	Optimisation de la solution et du nombre de lavage	74
4.2.1.	Optimisation de la solution de lavage (PBS-T / PBS)	74
4.2.2.	Optimisation du nombre de lavage.....	74

4.3.	Optimisation de la solution de blocage.....	75
4.3.1.	Optimisation de la solution de blocage en fonction de la concentration et de la température d'incubation	75
4.3.2.	Optimisation de la solution de blocage en fonction du temps d'incubation	76
4.4.	Optimisation de la dilution des sérums.....	77
5.	Le rendu du test PPD-ELISA et calcul du seuil de positivité.....	78
6.	Sensibilité et spécificité du test Sérologique	79
Partie B : Etude Epidémiologique : Séroprévalence et facteurs de risques		81
1.	Séroprévalence de la tuberculose bovine	81
1.1.	Echantillonnage	81
1.2.	Test tuberculinique et Diagnostic sérologique	81
1.2.1.	IDR, PPD-ELISA et calcul de la séroprévalence	81
2.	Facteurs de risque	87
2.1.	Les facteurs prédictifs dans le modèle	88
2.2.	Modèle Maximal.....	90
2.2.1.	Variations des effets aléatoires entre modèle saturé et modèle final	90
2.2.2.	Ajustement du modèle.....	90
2.2.3.	Comparaisons des modèles possibles pour les effets fixes	90
2.2.4.	Choix des effets fixes inclus dans les modèles sélectionnés par l'AIC	91
2.2.5.	Estimation des Odds ratio dans la zone d'étude.....	92
2.3.	L'ACM (L'Analyse des Correspondances Multiple).....	95
2.3.1.	Les pourcentages d'inertie des différentes dimensions	95
2.3.2.	Corrélation entre les variables et les principaux axes	95
2.3.3.	Corrélation entre les individus (les fermes) et les axes principaux.....	97
2.3.4.	Le biplot asymétrique de l'ACM de notre modèle final	99
Partie C : Etude rétrospective sur la tuberculose bovine dans l'Est Algérien.....		104
1.	Etude rétrospective sur la tuberculose bovine (2007-2018)	104

1.1. M'sila.....	104
1.2. Sétif.....	106
1.3. Constantine	108
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	116
Conclusion générale	117
Perspectives	118
RÉFÉRENCES.....	119
ANNEXE	133

Liste Des Figures

Figure 1 : Classification des mycobactéries	7
Figure 2 : Distribution de la tuberculose bovine dans le monde en fonction des espèces atteintes.	14
Figure 3 : Classification histopathologique d'un granulome trouvés dans les tissus pulmonaires des veaux. H&E (A.- C 200x, D- E 40x F.- 1000x). (A) phase 1, (B) phase 2, (C) phase 3,4..	20
Figure 4 : (A Droite) Injction intradermique de la PPD, (A gauche) Mesure de li de peau 72h après injection.	25
Figure 5 : Aspect de colonies de M. Bovis sur milieu Löweinstein-Jensen.....	27
Figure 6 : (A gauche) Prélèvement de sang, (A droite) récupération du sérum.....	37
Figure 7 : (A gauche) Réalisation de la technique ELISA, (A droite) Lecture des plaques préparées dans un lecteur ELISA	42
Figure 8 : les étapes de la PPD-ELISA	43
Figure 9 : Ferme visitée, wilaya de Sétif.....	46
Figure 10 : différente exploitations visitées wilaya M'sila	46
Figure 11 : différente exploitations visitées wilaya de Constantine.....	47
Figure 12 : des exploitations visitées durant la période d'étude	50
Figure 13 : la distribution des proportions d'animaux séropositifs dans l'ensemble des fermes des trois régions de l'Est Algérien.	56
Figure 14 : « A » Poumon Sain, « B » Lésions de tuberculose bovine dans les poumons des bovins, « C » gains de millet (nodules tuberculeux) au niveau de la plèvre	70
Figure 15 : Optimisation de l'Antigène.....	72
Figure 16 : Optimisation du nombre et de la solution de lavage.....	75

Figure 17 : Optimisation en fonction de la concentration et de la température d'incubation de la solution de blocage « BSA »	76
Figure 18 : Optimisation de la solution de blocage en fonction du temps d'incubation.	76
Figure 19 : Optimisation de la dilution des sérums.....	78
Figure 20 : Diagramme de la distribution des bovins testés par la PPD-ELISA en fonction de leurs valeurs DO 450 nm.....	80
Figure 21 : plaque ELISA	82
Figure 22 : diagramme de la distribution des bovins testés en fonction de leurs valeurs OD450 nm obtenues par PPD-ELISA	83
Figure 23 : Répartition spatiale de la séroprévalence de la tuberculose bovine dans les trois régions de l'est de l'Algérie : Msila, Sétif et Constantine.....	83
Figure 24 : La prévalence de la tuberculose selon la PPD-ELISA Dans trois régions de l'Est Algérien.....	84
Figure 25 : Distribution des Odds ratio selon le modèle GLMM dans notre enquête.	93
Figure 26 : Prévalence des variances expliquées en fonction des dimensions.....	95
Figure 27 : Corrélation entre les variables et les principaux Axes.....	97
Figure 28 : Corrélation entre les fermes et les principaux Axes	98
Figure 29 : ACM-Biplot asymétrique des exploitations en fonction des facteurs de risque pertinents	99
Figure 30 : Prévalence des animaux dépistés par test tuberculinique (2009-2017), M'sila..	104
Figure 31 : Organes Saisis (2008 – 2018), M'sila.....	106
Figure 32 : prévalence de la tuberculose bovine et celle des organes saisis dans l'Abattoir de Sétif (2007 – 2018).....	107
Figure 33 : Nombre / Prévalence des animaux dépistés tuberculeux par tuberculination et inspection en post-mortem à Sétif (2015 – 2017)	108

Figure 34 : Prévalence de la tuberculose bovine et des organes saisis à l'abattoir de Constantine (2009 – 2018)	109
Figure 35 : Pourcentage des organes saisis au niveau de l'abattoir de Constantine (2009 – 2018)	109
Figure 36 : Nombre des animaux dépistés tuberculeux par tuberculination et inspection en post-mortem à Constantine (2013 – 2018).....	110
Figure 37 : Prévalence des exploitations atteintes, wilaya de Constantine (2013-2018)	110

Liste Des Tableaux

Tableau 1 : les facteurs de risques retenus pour l'analyse statistique maximale	59
Tableau 2 : Le total des animaux dépistés par intradermo tuberculination et inspection post-mortem pour l'optimisation de l'Enzymo-Linked-Assay.	68
Tableau 3 : nombre d'échantillons prélevés pour l'estimation de la séroprévalence dans les trois régions (M'sila, Sétif, Constantine).	81
Tableau 4 : Variations de la séroprévalence de bTB entre les trois régions de l'Est algérien	83
Tableau 5 : Effet des facteurs prédictifs dans le modèle saturé	89
Tableau 6 : Estimations des écarts types (racine carrée de la variance) des effets aléatoires entre le modèle saturé et le modèle final ($\sigma = \rho$: Coefficient de Spearman).....	90
Tableau 7 : Test d'ajustement du modèle maximal	90
Tableau 8 : Sélection de modèle pour les effets fixes par comparaison des AIC	91
Tableau 9 : P- value des effets inclus dans les modèles de plus faible AIC, déterminés par bootstrap paramétrique (7800 itérations pour chaque p-value). En plus des effets fixes, les modèles pour l'Est algérien incluent l'effet aléatoire ferme.	92
Tableau 10 : Odd-ratios (OR) établi pour chaque facteur de risque indépendamment à partir des estimations des modèles mixtes.....	94
Tableau 11 : pourcentage d'inertie des différentes dimensions	95
Tableau 12 : corrélation entre les variables et l'axe 1.....	96
Tableau 13 : corrélation entre les variables et l'axe 2.....	96
Tableau 14 : corrélation entre les individus et les principaux axes.....	98
Tableau 15 : Animaux dépistés, M'sila (2009-2018).....	105

Liste des Abréviations

AIC : critère d'information d'Akaike

A.N.I.R.E.F : Agence Nationale d'Intermédiaire et de Régulation Foncière

BAAR : Bacilles acido-alcool-résistants

BCG : Bacille de Calmette et Guérin

bTB : Bovine Tuberculosis

CCT : le test cervical comparatif

CFT : le test du pli caudal

CIT : test intradermique cervical

D.P.S.B : Direction de la Programmation et du Suivi Budgétaire

DSA : Direction des services agricoles

ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay

ESAT-6: Early Secretory Antigenic Target 6

IDR : Intra Dermo Tuberculation

IDT : Intradermal Test

IFN_γ : Interféron Gamma

IGRA : Test de libération d'interféron gamma

MAC: Mycobacterium Avium Complex

MLVA: Multiple Loci VNTR Analysis

MTC: Complexe Mycobacterium Tuberculosis

OTF: Officially Tuberculosis Free

PCR : Polymerase Chain Reaction

PPD : Protein Purified Derivatives

TST : Tuberculin skin test

SNGTV : société nationale des groupements techniques vétérinaires

INTRODUCTION GÉNÉRALE

La mondialisation et l'industrialisation induisent des changements importants dans les écosystèmes, tant dans le règne animale qu'humain, ainsi qu'une désagrégation de la biodiversité. Ce qui augmente le risque de pandémies et l'extension ainsi que la diffusion de l'agent infectieux.

L'écologie a un rôle important dans la compréhension de la dispersion et la persistance des maladies infectieuses transmissibles dans l'environnement, c'est une science des interactions qui selon Krebs (1994) déterminent la distribution et l'abondance des organismes, elle permet de mieux focaliser la relation existante entre être vivant, microorganismes et le milieu organique et inorganique dans lequel ils vivent.

L'épidémiologie aussi n'est autre que l'écologie d'un point de vue médicale et mathématique. Elle consiste à étudier des maladies animales et humaines et de leurs facteurs déterminants dans une population, ainsi qu'un recensement sur l'état de santé et de la productivité.

Les maladies animales transmissibles de leur côté sont considérées comme une menace majeure de santé publique, ils constituent un fléau socio-économique dévastateur surtout en terme de production animale, ce qui a attiré l'attention de la communauté internationale du fait de l'augmentation des troupeaux infectés et la baisse de la production (Barbier et *al.*, 2016).

Parmi ces maladies, la tuberculose bovine se compte parmi les maladies à déclaration obligatoire les plus importantes, en terme de danger pour la santé animale et humaine (Pérez-Lago et *al.*, 2013). Étant donné qu'elle est considérée (classée) par l'OMS comme une zoonose majeure (Boukary et *al.*, 2012), elle est jugée négligée dans pas mal de pays Africains où la surveillance et les mesures de contrôle font défaut ou se font de manière insuffisante pour arriver à éradiquer la maladie.

C'est une maladie importante dans l'élevage et chez une large gamme d'espèce animales sauvages à travers le monde. Mal Vu sur trois plans socio-économiques, à savoir : sa contagiosité faunique, son impact négatif sur la production animale, et surtout l'expression de la maladie chez l'Homme (Machado et *al.*, 2018).

Elle est causée principalement par *Mycobacterium Bovis* appartenant au complexe *Mycobacterium Tuberculosis* (ou à la famille des Mycobactéries), c'est une maladie à évolution lente, touchant principalement le bétail qui constitue son hôte naturel. L'existence d'un système multi-hôte favorise l'entretien et la persistance de la maladie, sa dissémination et sa propagation entre bovin et animaux sauvages. Ces derniers ont été déclarés réservoir et porteur transmetteur

d'infection entre bovins (Corner, 2006 ; Payne, 2014). La contamination indirecte dépend fortement de l'environnement qui peut constituer une source de contamination de par les aérosols inhalés, l'ingestion d'aliments contaminés par les excréments des animaux atteints. Ou même par l'eau qui a été déjà validé par Palmer et *al* en 2004. Comme une source indirecte d'infection. D'autres variables ou facteurs de risques peuvent également jouer un rôle minutieux dans ce grand problème de santé publique, dont la connaissance joue aussi un rôle dans l'éradication de l'agent causal, à savoir les facteurs propres aux pratiques d'élevage, le voisinage, les antécédents, le mouvement des animaux, ou encore le contact entre troupeaux (Marsot et *al.*, 2016).

Dans les pays en développement, principalement en Afrique, et selon l'OMS, *M. Bovis* a causé plus de 70 000 cas de tuberculose en 2015 (WHO, 2016). Cette maladie fait des ravages et l'infection persiste parce qu'elle n'est envisageable à déclaration obligatoire que dans peu de pays. Ce qui explique l'inefficacité des systèmes de contrôle. Contrairement aux pays développés où son incidence a fortement baissé, voire disparu dans d'autres, suite à la mise en place de plusieurs programmes d'éradication.

La maladie continue d'exister, de se propager, et de provoquer des pertes économiques importantes, ainsi qu'une mortalité et une morbidité animale et humaine. Elle constitue une menace pour la santé publique et la productivité (Lopes et al ; 2020). La situation de la tuberculose bovine reste insuffisamment connue en Algérie. Les programmes nationaux de lutte contre la maladie n'ont pas fait surface, et le contrôle de la maladie est très limité, avec un diagnostic minime et très peu considérable. La maîtrise de la situation de la maladie reste un moyen clé pour son éradication, d'où la nécessité d'explorer le terrain, et mettre en avant les différents moyens et techniques de détection et de diagnostic de l'agent infectieux et à ses principaux précurseurs.

L'Algérie se compte parmi les pays africain où la tuberculose bovine a été indiquée ou désignée comme enzootique (Charles et *al.*, 2006). La maladie (la Btb) est devenue en 1995, comme une maladie à déclaration obligatoire dans ce pays, avec la mise en place d'un programme pluriannuel d'assainissement des bovins (décret exécutif n°95_66 du 22/02/1995). Ce programme de dépistage ne touche malheureusement qu'une fraction du cheptel bovin, et la tuberculose bovine reste négligée et sur laquelle peu d'études ont été effectuées malgré l'importance des élevages dans notre pays. Seuls, les cas positifs de dépistage sont rapportés dans les statistiques du ministère de l'Agriculture (Sahraoui et *al.*, 2008). C'est souvent à

l'abattoir qu'elle est détectée à partir des lésions granulomateuses trouvées au niveau des ganglions lymphatiques et sur d'autres organes.

Le diagnostic précoce et efficace de la tuberculose bovine reste tout de même primordial pour le contrôle de cette pathologie. La tuberculation reste un Test classique peu fiable seul, à cause des faux positifs y afférents, son association à des méthodes de détection précoce de la maladie, comme le diagnostic sérologique peut apporter beaucoup au diagnostic de la maladie.

Les tests sérologiques se considèrent comme une alternative très intéressante pour le diagnostic de la tuberculose bovine dans le but d'accomplir les lacunes rencontrées dans le test cutané (Roos et *al.*, 2016). Ils étaient utilisés avec succès pour détecter l'infection chez plusieurs espèces, en permettant de fournir des résultats rapides, il reste évident aussi qu'un test sérologique doit compléter le test cellulaire, avec des antigènes spécifiques et immunodominants (Fifis et *al.*, 1992).

Une bonne et minutieuse traçabilité de contrôle, une enquête éco-épidémiologique ainsi qu'un bon diagnostic sérologique de la maladie n'ont jamais été fait auparavant. Afin de sensibiliser l'ensemble des responsables, commençant par les éleveurs qui sont les principaux influenceurs sur l'ensemble des conditions d'élevage et de l'élevage proprement dit.

Plusieurs facteurs peuvent contribuer à la transmission de la maladie, tout en influençant son émergence et sa dissémination entre les principaux réservoirs de *M. Bovis* et ceux considérés comme sensibles à la bactérie.

Identifier les facteurs qui concourent au maintien de cette maladie suscite toutefois des questions méthodologiques particulières, en mettant l'accent sur des paramètres importants constituant une source précieuse pour comprendre la dynamique des maladies infectieuses et de comprendre les mécanismes de transmission de l'agent pathogène.

Dans notre présente étude, nous nous sommes focalisés en premier lieu sur l'agent bactérien causal de la tuberculose bovine, qui est *Mycobacterium Bovis*, et en seconde position, les différents et nombreux facteurs de risque liés à cette maladie et impliqués dans son apparition, tout en maintenant son caractère chronique et infectieux.

L'objectif majeur de ce travail, est de développer un moyen de diagnostic de la tuberculose bovine, sensible, spécifique, peu coûteux et surtout efficace. Afin d'atteindre cette objectif, plusieurs étapes ou sous-objectifs sont à accomplir :

- La réalisation d'une enquête Eco-épidémiologique sur la tuberculose bovine dans les trois régions de l'Est Algérien (M'sila, Sétif et Constantine), pour déterminer la situation épidémiologique de la maladie, ainsi que la mise en place des facteurs de risque impliqués dans sa dissémination et sa persistance.
- Développement d'un test sérologique PPD-ELISA sur les sérums de bovins collectés, comme un moyen plus sensible, rapide et très simple pour le diagnostic de la maladie. En détectant de manière très simple les IgG liées à *M. Bovis*. Ainsi qu'une détermination de la séroprévalence de la maladie, retenue comme une information très importante faisant défaut dans ce domaine de recherche.
- Une enquête rétrospective sur les cas de tuberculose bovine enregistrés durant les dix dernières années au niveau des abattoirs (M'sila, Constantine et Sétif).

Notre travail de thèse a été réalisé dans ce contexte, et a été donc scindé en trois chapitres :

Chapitre 1 – Bibliographie : un aperçu bibliographique sur la tuberculose bovine, son écologie, épidémiologie et diagnostic, ainsi que les différents facteurs pouvant être impliqués dans la persistance et propagation de la maladie.

Chapitre 2 – Matériel et Méthodes : cette partie donnera un aperçu détaillé sur les différentes méthodes et différents matériaux entrepris dans notre étude.

Chapitre 3 – résultats et discussion : cette partie consiste à discuter tous les résultats obtenus avec des comparaisons avec d'autres études précédemment réalisées.

CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I – ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. GENERALITE SUR LES MYCOBACTERIES

1. Définition

Les mycobactéries occupent une place importante dans la microflore de l’environnement, elles se retrouvent sous toutes les latitudes et s’isolent principalement du sol, elles sont aussi présentes en eau douce et l’eau de mer (Portaeles et *al.*, 1987). Un nombre considérable d’espèce ne peut survivre qu’à l’état pathogène pour l’homme et l’animal. Ce sont des bactéries intra amibiennes (Adékambi et *al.*, 2004). Ils sont responsables de la synthèse d’un grand nombre de lipides complexes, utilisés comme marqueur épidémiologiques et chimio taxonomique pour certaines espèces (Vincent et *al.*, 1995).

Les mycobactéries appartiennent à la famille des *Mycobacteriaceae*, et l’ordre des *Actinomycetales* (Figure 1), avec un seul et unique genre « *Mycobacterium* » comprenant à ce jour à peu près 150 espèces (Ahombo et *al.*, 2014), groupées en plusieurs complexes.

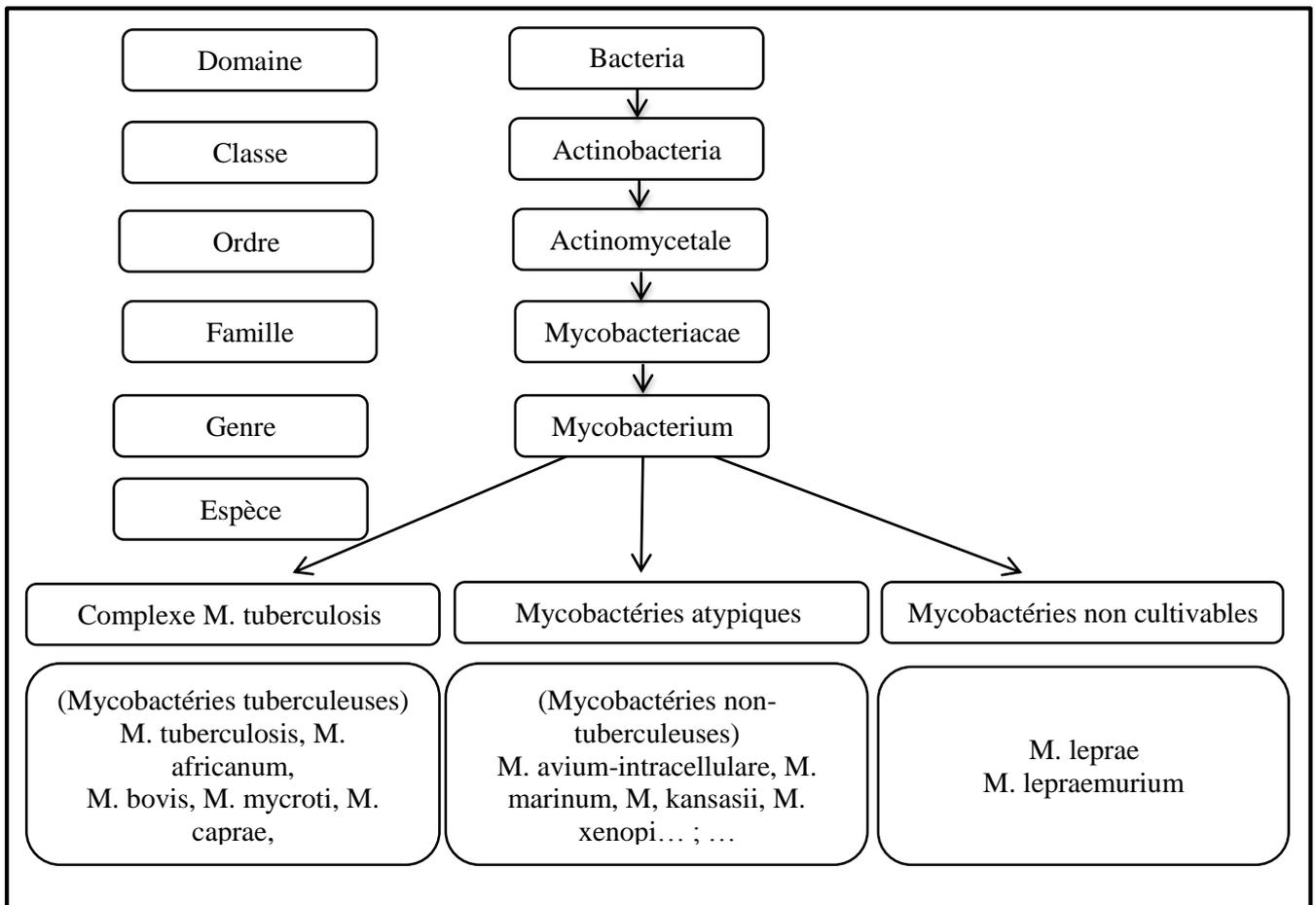


Figure 1. Classification des mycobactéries (Ndishimye, 2016).

2. Taxonomie

Selon la classification de Bergey, 2003, les mycobactéries appartiennent au :

- phylum des *Actinobacteria*.
- classe III : *Actinobacteria*.
- sous-classe V : *Actinobacteridae*.
- Ordre I : *Actinomycetales*.
- sous ordre VI : *Corynebacterineae*.
- famille IV des *Mycobacteriaceae*.
- Genre : *Mycobacterium* :

2.1. Genre *Mycobacterium*

Les principaux critères du genre *Mycobacterium* repose essentiellement sur un pourcentage de 61-71 % de nucléotides des paires CG dans l'ADN et l'acido alcaloo résistance (BAAR), (Ngandolo et al., 2009), ainsi que la synthèse d'acide mycolique particuliers de 60 à 90 carbones, libérant des esters de pyrolyse de 22 à 26 carbones (Vincent et al ; 1995).

Le genre peut être divisé en deux sous-genre ; l'un contenant les espèces cultivant lentement, et l'autre les espèces cultivant rapidement ou dites, à croissance rapide (Stanford et grange, 1974).

Les trois premiers groupes du genre *Mycobacterium* sont appelés Mycobactéries atypiques (Portaels, 1987). Et comprennent les espèces saprophytiques non-pathogènes ou occasionnellement pathogènes, les espèces saprophytiques ou opportunistes, qui peuvent devenir pathogène que lors de présence de certaines conditions.

Le dernier principal groupe comprend les mycobactéries strictement pathogènes pour l'homme et l'animal Respectivement. C'est le groupe appelé « Complexe *Mycobacterium tuberculosis* : CMT » qui comprend neuf espèces qui sont les suivantes :

2.1.1. *Mycobacterium tuberculosis*

Cause principale de la tuberculose humaine, c'est un pathogène humain, et est la principale cause de décès par un seul agent infectieux, il passe la majorité de son cycle enveloppé dans un phagocyte dans l'hôte humain, la survie de *M. tuberculosis* dans sa cellule est alimentée principalement par le cholestérol et les acides gras. Ils ont la capacité de dégrader les stérols ;

qui est une caractéristique métabolique spécifique et inhabituelle. Sa croissance et sa survie dépendent du type de phagocytes et de leur localisation, ainsi que le métabolisme des cellules hôtes (Les macrophages alvéolaires résidant dans les tissus, qui sont biaisés vers un phénotype de type M2) (Lu huang et *al.*, 2019).

2.1.2. *Mycobacterium bovis*

Cause principale de la tuberculose bovine, mais peut toucher d'autres animaux domestique et sauvage, ainsi que l'homme, cause entre 1% à 2% des cas de tuberculose humaine dans les pays développés (Hlavsa et *al.*, 2008).

2.1.3. *Mycobacterium bovis*-Bacille de Calmette et Guérin (BCG)

C'est une souche atténuée, utilisée comme vaccin contre la tuberculose (Alame-Emane et *al.*, 2015). Appliqué à l'homme pour la première fois en 1921 (Benet, 2001).

2.1.4. *Mycobacterium africanum*

Fréquente dans les pays africains (l'Afrique de l'Ouest), infecte différentes espèces animales (Supply et Brosch, 2017).

2.1.5. *Mycobacterium microti*

Une souche principalement découverte chez le campagnol et peut être chez le chat (Supply et Brosch, 2017).

2.1.6. *Mycobacterium pinnipedii*

Il ressemble beaucoup à *M. microti*, mais touche les lions de mer et les phoques (Supply et Brosch, 2017).

Les espèces nouvellement identifiées :

2.1.7. *Mycobacterium canettii*

C'est une souche très rare, qui a été isolé chez les humains atteints de tuberculose dans les pays de la corne de l'Afrique (Supply et Brosch, 2017)

2.1.8. *Mycobacterium caprae*

C'est une espèce parente de *M. bovis*, provoquant la tuberculose chez les cerfs et les chèvres. Membre du complexe *Mycobacterium tuberculosis*, elle provoque la tuberculose chez l'homme et les animaux, représente une charge plus faible de tuberculose zoonotique et n'est pas mondialement distribué, mais principalement limité aux pays européens. *M. caprae* n'est présent que dans une faible proportion de cas de tuberculose humaine. Désignée en 2003 comme une espèce appartenant au MTC. Associés aux chèvres et dans une certaine mesure aux moutons, mais pas aux bovins. Elle s'est récemment répandue hors l'Europe pour la première fois, indiquant sa présence au maghreb touchant humains et animaux (Tunisie, Algérie, Maroc) et des épidémies ont été également observés dans la faune animale domestique et sauvage (Prodinger et *al.*, 2014).

2.1.9. *Mycobacterium mungii*

Identifié chez les chimpanzés sauvages d'Afrique de l'Ouest (Alame-Emane et *al.*, 2015).

2.2. Etude Morphologique

Les mycobactéries sont des organismes complexes, unicellulaire, immobile, à Gram positif, d'une forme bacillaires, droits ou légèrement incurvés, de 0,2-0,6 µm de large et de 1 – 10 µm de long. Ils sont aérobies strictes, avec des espèces à croissance lente et d'autres rapides (selon qu'elles produisent des colonies isolées en plus ou moins d'une semaine), ils sont incapables de former des spores et sont acapsulés (Ahombo et *al.*, 2014). Les mycobactéries sont mésophiles, résistantes aux enzymes lysosomiales présentes dans les phagocytes, ce qui leur confère la capacité de survivre dans les macrophages (Sen et Garode, 2016). Ils possèdent également une barrière hydrophobe d'acides mycoliques tout autour de la cellule, et c'est un critère taxonomique de choix pour différencier les différents genres Mycobactériens (Vincent, 1995).

II. LA TUBERCULOSE BOVINE

1. Définition

La Tuberculose Bovine (Btb) est une infection bactérienne contagieuse, latente et chronique (Thoen et *al.*, 2006). C'est une maladie respiratoire, se transmettant principalement par les aérosols (par des noyaux de gouttelettes infectieuses contenant le bacille infectieux) (Okafor et

al., 2011). Connue pour son caractère zoonotique, elle se transmet chez l'homme par le biais de produits animaux, comme le lait cru et les viandes mal cuites provenant d'un animal malade, qui selon Kleeberg en 1984, 40% des cas de méningite tuberculose ou de tuberculose extra pulmonaire sont dû à une souche bovine (Esteban et Muñoz-Egea, 2016). Etter et *al.*, 2006, estime aussi que la forme extra pulmonaire (EPTB) été de l'ordre de 9,4%. La transmission directe par contre se fait lors d'un contact étroit avec les animaux infectés ou même dans les industries de viande ou abattoirs dans les pays où l'infection est très répandue (Thoen et *al.*, 2006), qui selon les estimations de l'OIE, jusqu'à 10% des cas de tuberculose humaine sont d'origine bovine (OIE, 2018). C'est également une épizootie chez les mammifères domestiques et sauvages (Thoen et *al.*, 2006, Esteban et Muñoz-Egea, 2016). C'est l'une des maladies bovines classées dans la liste B par l'Office International Des Epizooties (OIE, 2001) (la liste B comprend toutes les maladies transmissibles, ayant un impact important sur le plan socio-économique et sur la santé publique).

Elle entraîne une multitude de lésions chez l'animal atteint, à savoir, pulmonaires, ganglionnaires et aussi mammaires, ce qui explique la contamination du lait par le bacille, et de là la zoonose, Mais il a été démontré parallèlement que la transmission de la tuberculose bovine entre humains est très rare (Thoen et *al.*, 2006, Cross et *al.*, 2018). Le nom de tuberculose revient à la formation de tubercule contenant du caséum au niveau des ganglions lymphatiques des individus atteints.

2. Historique

C'est une maladie infectieuse et contagieuse, Trouvées autrefois dans des reliques d'inde, de chine et d'Égypte ancienne (Good et *al.*, 2018). Entre 1478 – 1557 Jeralamon et Fracastero ont démontré que la tuberculose est une maladie contagieuse et fait suite à un phénomène interhumain (Huchon, 1997).

La tuberculose a provoqué des ravages dans le domaine de santé humaine et animale. Les épidémies de cette maladie chez l'homme ont atteint une prévalence de 900 décès pour 100000 habitants entre le dix-huitième et dix-neuvième siècle (Good et *al.*, 2018). Confirmé en 1865 par Villemin, que c'est une maladie infectieuse (Lignereux et Peters, 1999). Elle se compte parmi les 10 principales causes de décès dans le monde (WHO, 2018).

Le bacille tuberculeux a été isolé et identifié par Robert Koch en 1882, où il l'a déclaré identique au bacille bovin, ce n'est qu'en 1901 qu'elle a été différenciée de *M. tuberculosis* par

Theobald Smith (Palmer et Waters, 2011, Okafor et *al.*, 2011). Robert Koch a aussi développé en 1890 la tuberculisation pour détecter les animaux infectés, en 1891, Guttman a développé le test allergique à la tuberculine (Mylrea, 2010). C'est qu'en 1902 qu'un milieu de culture à base d'œuf a été mis au point par le principal auteur Lownestrein.

Mycobacterium bovis, nommé ainsi par Karlson A.G. et Lessel E.F. en 1970, elle a évolué à partir de l'agriculture et de la domestication précoce des animaux entre 10 000 et 15 000 ans (Thorel M.F., 2003, Good et *al.*, 2018), avec l'urbanisation et les conditions d'élevage mal entretenues (ventilation médiocre et confinement étroit) l'augmentation de l'incidence et la prévalence de la maladie ont augmenté (Good et *al.*, 2018). Elle est considérée actuellement comme le principal agent pathogène humain étroitement lié aux maladies animales et responsable de tuberculose zoonotique dans le monde (Esteban et *al.*, 2016). Sa transmission se fait généralement par la consommation de lait cru dont le risque zoonotique était déjà connu en 1895 (Good et *al.*, 2018).

James Law a également affirmé en 1877 que les humains pourront s'infecter en consommant du lait cru ou de la viande mal cuite d'un bovin tuberculeux (Palmer et Waters, 2011). Ajoutant à cela le contact direct, permanent et prolongé avec l'animal provoquant dans la plupart des cas une tuberculose extra pulmonaire (Thorel M.F., 2003).

À la fin du XIXe siècle et au début du XXe siècle il a été validé que la maladie pouvait être transmise par les aliments, en particulier le lait par voie orale aux lapins, veaux surtout et cobayes...etc (Good et *al.*, 2018) ces derniers ont été déclarés par Emanuel Klein et Heneage Gibbs comme étant sensibles au bacille bovin et Humain, contrairement au lapin qui n'était sensible qu'au bacille tuberculeux bovin.

C'est qu'en 1927, que des informations sur la tuberculose, y compris bovine et aviaire ont été rapportées par l'office international des épizooties (OIE). En 1950, l'OMS a reconnu dans son rapport du Comité d'experts sur la tuberculose que c'est une maladie contagieuse zoonotique. Où son taux a atteint le sommet au XXe siècle chez les bovins, et bien plus avant chez l'homme (Kleeberg, 1984).

3. Agent Causal : *Mycobacterium bovis*

C'est une mycobactérie membre du complexe *Mycobacterium tuberculosis* (MTC) (Roos et *al.*, 2018). Multi résistante ou extrêmement résistante aux Antibiotiques, citant par exemple

pyrazinamide (Esteban et al., 2016) (résistante naturellement à la pyrazinamide) qui est l'un des médicaments prescrit contre la tuberculose (Olea-Popelka et al., 2017).

L'analyse génomique suggère que la souche *M. bovis* a évolué à partir de la souche humaine *M. tuberculosis* (Palmet et Waters, 2011). Chez les humains, elle cause une tuberculose extra pulmonaire touchant la peau, le système nerveux central (les formes neuro-méningées), les articulations (2 à 11% des atteintes ostéo-articulaires tuberculeuses sont dues à *M. bovis*), les ganglions lymphatique, ainsi que des atteintes gastro-intestinales (Delaune et al., 2012, Schubel et al., 2006). Contrairement à *M. tuberculosis*, *M. bovis* n'est pas transmissible entre humains ou très rarement (Esteban et al., 2016). La dose infectieuse de *M. bovis* ingérée pour l'induction de la tuberculose bovine est estimée à 5×10^3 UFC (Grooms, 2019). Elle touche ou se propage entre une très grande large gamme d'hôtes d'animaux domestiques ou sauvages (Rowe et Donaghy, 2008).

Les différentes souches vaccinales de BCG, présentent une ou deux copies de la séquence IS6110 à localisation identique (Vincent, 1995). Il est à noter aussi qu'une inoculation de la souche bactérienne sur le lapin, provoque leur mort après 30 à 60 jours. Avec des lésions caséuses et miliaries étendues au niveau du foie, la rate, et les poumons (Thoen et al., 2006).

4. Données épidémiologiques

4.1. Distribution géographique

4.1.1. La tuberculose bovine dans le monde

La tuberculose bovine est classée en deuxième position par rapport aux maladies infectieuses les plus graves ou les plus importantes menaçant la santé humaine et animale, elle infecte près d'un tiers de la population mondiale (Sen et Garode, 2016). Dans plusieurs pays dans le monde, des cas de tuberculose zoonotique dus à *M. bovis* et *M. caprae* ont été signalés (Pereira et al., 2020).

En Afrique, la maladie menace jusqu'au jour d'aujourd'hui l'économie et l'industrie des pays africains, y compris son caractère zoonotique menaçant de plus en plus la santé publique. Au Cameroun par exemple, la prévalence de la maladie a été estimée à 0,81%-1,3% dans différentes régions du pays (Sen et Garode, 2016) et jusqu'à 10,8% en Afrique de l'Est (OIE, 2013).

En Europe et plus précisément la Suède, la maladie a été importée par des bovins reproducteurs lors du XIXe siècle, et déclarée pour la première fois en 1991, puis disséminée à travers les voies de reproduction dans tout le pays (Charles et *al.*, 2006). En grande Bretagne, la maladie a fait face dans les années 1930 avec une prévalence de 40% du bétail (Charles et *al.*, 2006).

En Asie, Le Pakistan par exemple est l'un des pays les plus touchés par la maladie, faisant partie des cinq pays responsables de la zoonose tuberculique dans le monde (Sen et Garode, 2016). En Inde également, la maladie est classée en tête de liste des maladies sévissant dans le pays (Sen et Garode, 2016). Entre 1986 et 2015, le nombre de pays déclarants la tuberculose bovine a diminué, passant de 84% à 50%, ce qui signifie une amélioration de la situation au cours des trente dernières années (Awada et al ; 2018).

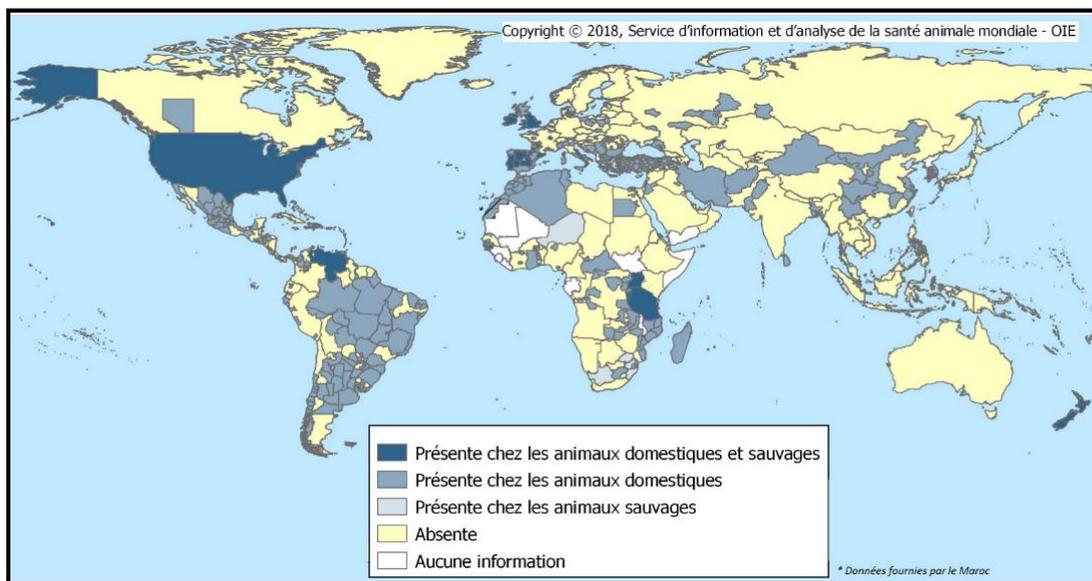


Figure 2: Distribution de la tuberculose bovine dans le monde en fonction des espèces atteintes (OIE, 2018).

4.1.2. La tuberculose bovine en Algérie

En Algérie, la tuberculose bovine n'en a pas fait l'unanimité, la maladie sévisse toujours et ne cesse de se propager (Sahraoui et *al.*, 2008). Les programmes de surveillance et d'éradication ne sont pas généralisés, et ne comprennent qu'une portion minime de l'ensemble du cheptel bovin dans l'ensemble du pays, y compris la non traçabilité du contrôle à partir des abattoirs. Ce qui laisse la situation réelle de la maladie méconnue (Bougherara et Asmani, 2017, Ayad et *al.*, 2020).

4.2. Epidémiologie analytique : Facteurs de risques statistiquement associés à la pathogénicité de la Tuberculose Bovine

4.2.1. Facteurs influençant la sensibilité de l'hôte

La sensibilité de l'hôte ou de l'animal peut dépendre de plusieurs facteurs, des facteurs propres à l'animal ou à la bactérie en elle-même :

4.2.1.1. Facteurs propres à la bactérie

L'espèce et le pouvoir pathogène propre au bacille, sa variabilité génétique, sa virulence, ainsi que sa préférence pour l'hôte se considèrent comme étant les facteurs propres à l'agent infectieux les plus influençant le développement de la Btb (Pereira et *al.*, 2020).

4.2.1.2. Facteurs propres à l'animal

Le sexe, l'âge, et la race sont considérés comme des facteurs de risques propres à la Tuberculose Bovine, ainsi que les caractéristiques génétiques, qui s'expliquent par le fait qu'une hétérozygotie génétique de l'hôte augmente sa résistance et sa capacité à contrôler la progression de la maladie par rapport aux individus homozygotes. D'autres facteurs comme la localisation anatomique de la Btb, ainsi que le statut immunitaire par la capacité de l'hôte à développer une réponse primaire jusqu'à la réponse immunitaire à médiation humorale (Wangoo et *al.*, 2005) :

❖ Age

Les jeunes animaux sont susceptibles d'attraper la maladie et d'avoir un résultat positif en IDT (Griffin et *al.*, 1993). Les adultes par contre sont plus touchés parce qu'ils ont eu plus de risque d'être exposés et donc contaminés par la bactérie au cours de leur vie. Que selon dufour et Bénét, 2013, 20% des animaux trouvés infectés ont 10 ans ou plus. L'infection peut rester asymptomatique des années et se déclenche pendant la vieillesse.

Les bovins adultes (plus de 10ans) pourront avoir plus de temps pour développer une réponse immunitaire humorale chronique (Koni et *al.*, 2015).

❖ Sexe

Le risque relatif de l'infection des males est supérieur à celui des femelles (OR (Odds Ratio) = 0,76 [0,58 – 0,97]) (Clegg et *al.*, 2011). Selon Palisson, 2017, Les femelles sont plus touchées parce qu'elles ont une plus longue espérance de vie que les males (Palisson, 2017). Donc plus statistiquement à risque.

❖ Race

La différence de persistance de la souche bactérienne chez différentes race a été estimée dans les années 1920 et 1930 (Broughan et *al.*, 2016).

❖ Antécédents

Les faux négatifs ou les animaux douteux en IDT ont plus de risque de développer la maladie après 5 ans de dépistage (Clegg et *al.*, 2011)

Les zones ayant des antécédents de cas de tuberculose bovine ont été déclarées plus susceptibles d'héberger la maladie au futur que d'autres foyers ou exploitations. L'infection peut persister dans les élevages bovins, ce qui peut provoquer la réapparition de la maladie même après le dépeuplement et le repeuplement d'une exploitation.

Il a été estimé qu'environ 24-50% de la résurgence répétée de la maladie, influe de manière certaine sur la persistance de l'infection dans le troupeau et ceci en fonction de la période de latence également (Broughan et *al.*, 2016).

4.2.1.3. Facteurs liés à la ferme

❖ La taille du troupeau

Le risque que le cheptel soit susceptible d'être atteint ou positif est étroitement lié avec une augmentation de sa taille. (OR = 5,8 [1,9 – 17,1] pour les cheptels de 36 à 80 bovins ; OR = 9,3 [3,2 – 27,6] pour les cheptels de plus de 80 bovins) (Munroe et *al.*, 1999). L'incidence est multiplié fois deux entre un troupeau de 20 bovins et un autre dépassant les 300 (Charles et *al.*, 2006). Même la fréquence des faux-positifs augmente (Monaghan et *al.*, 1994). La taille du troupeau est considérée comme facteur ayant un impact sur l'apparition et la dissémination de la maladie, l'augmentation du nombre de bovin augmente la fréquence de contact entre eux et la transmission intra et inter-élevage. Tout en s'associant avec d'autres facteurs moteurs, tel

que les troupeaux voisins, nombre de locaux ainsi que la superficie de la ferme... etc. (Broughan et *al.*, 2016).

❖ Type d'élevage

Les exploitations à type d'élevage mixte (laitier et allaitant) sont plus susceptibles de manifester la maladie que celles avec un type unique (Marangon et *al.*, 1998). De nombreux auteurs ont également précisés que la tuberculose bovine est plus concentrée dans les élevages laitiers que ceux allaitants. Et que l'infection peut atteindre 15 % de ces troupeaux avec au moins un animal infecté (Ramos et *al.*, 2015). Ce qui peut être expliqué par la différence dans les pratiques d'élevages dans les deux types d'exploitation.

Les vaches allaitantes et laitières sont plus touchées par *M. Bovis* parce qu'ils ont tendance à vivre plus longtemps que les bovins à viande et donc une grande probabilité de s'exposer à la bactérie (Broughan et *al.*, 2016).

❖ Type de production (Intensif / Extensif)

Avant de donner une définition au type de production (extensif ou intensif), il est à signaler que c'est tout un système d'élevage qui comprends plusieurs facteur qui le détermine, et dont la production n'en est qu'un. La production seule ne peut définir le type du système d'élevage. Parmi les facteurs qui lui sont associés, on a les facteurs du milieu, les facteurs de conduite du troupeau, le matériel animal (Eddebarh, 1989). En plus de ces facteurs, l'élevage extensif est déterminé par les déplacements des animaux (sur parcours pastoraux et agro-pastoraux ou autours des exploitations).

La production intensive est une production qui augmente le risque de transmission ou de dissémination de la tuberculose bovine dans le cheptel, en raison du contact permanent qui peut y'avoir entre bovin, sachant que ce type de production se caractérise par un nombre élevé d'animaux. La transmission peut être donc directe ou indirect à travers l'atmosphère et l'environnement de façon générale. Par exemple, une mauvaise ventilation dans un locale à production intensif peut favoriser amplement la transmission de la maladie (Costello et *al.*, 1998).

Une prévalence plus élevée de la Btb dans les systèmes d'élevage intensifs a été observée, associée bel et bien à d'autres conditions d'élevage, tel qu'un taux supérieur d'humidité (Yahyaoui Azami et *al.*, 2018).

❖ **Distribution de l'alimentation**

Ce facteur et surtout dans notre pays est peu pris en considération. La distribution des aliments dans le sol ou en silos libre-service constitue un des facteurs de risque de tuberculose bovine. Les deux facteurs « Etaler le foin au lieu de le laisser en balle » ou même « le mettre directement sur le sol et non dans les mangeoires » font partie des risques accrus de l'apparition de la maladie (Kaneene *et al.*, 2002). En raison de l'accès facile à la faune sauvage à ces aliments, ces derniers peuvent être aussi contaminés par les excréments des bovins malades et d'autres animaux domestiques infectés se trouvant dans la même locale.

❖ **Voisinage entre troupeaux**

Il a été démontré que le contact entre bovin de ferme différente ainsi qu'une distance étroite entre deux exploitations peuvent augmenter le risque de transmission de la Btb (Broughan *et al.*, 2016). Ce facteur est parmi les facteurs majeurs de risque d'infection entre élevages. La présence d'un cheptel au voisinage d'un élevage détecté positif dans les six derniers mois le rend plus souvent susceptible d'être contaminé (Griffin *et al.*, 1996). Et surtout en partageant une source d'eau avec un voyer voisin qui a été déjà dépisté positif (Marsot *et al.*, 2016).

Le risque augmente aussi lors de l'occupation (détention) de grandes pâtures comparées aux petites pâtures (Guta *et al.*, 2014) parce que ça permet aux élevages voisins de rentrer en contact direct entre eux ou indirecte par le biais de l'environnement.

❖ **Faune sauvage ou autres espèces domestiques**

La tuberculose bovine est une maladie principalement contagieuse avec un système multi-hôte, donc la présence d'un animal infecté à part son porteur naturel qui est le bovin peut constituer un facteur favorisant la persistance de l'infection et surtout quand cet animal est négligé. En mettant en contact les ovins et caprins et d'autres animaux constituant un relais secondaire avec les bovins peut augmenter la possibilité de la circulation de la bactérie dans les élevages (Palisson, 2017). En France (Camargue), même les chevaux ont été considérés comme source d'infection pour les bovins quand les deux espèces sont en contact proche (Humblet *et al.*, 2009).

4.3. Epidémiologie descriptive

4.3.1. Réponse immunitaire associée à *M. bovis*

Elle se définit comme étant les mécanismes qu'entreprend l'hôte pour le contrôle de la croissance mycobactérienne. La réponse immunitaire associée à *Mycobacterium bovis* est une réponse utilisée dans le diagnostic de la maladie. Elle débute par une réponse immunitaire à médiation cellulaire (CMI), associée à la présence des cellules de Th1, suivi par les Th2 au cours de la progression de la maladie, initiée par les cytokines (Welsh et *al.*, 2005). Où une interaction cellulaire est produite sous l'influence de ces dernières secrétées par les lymphocytes T4 et des macrophages activés (Lagrange, 1991).

La bactérie se déplace via le système immunitaire vers les ganglions lymphatiques régionaux, et les réactions d'hypersensibilités ne sont perceptibles qu'après 30 à 50 jours de l'infection (Koni et *al.*, 2015).

Les premières barrières que rencontrent les mycobactéries sont les cellules phagocytaires, sachant que seules les mycobactéries pathogènes peuvent résister à leur milieu hostile et ne sont pas éliminées par la suite (Lagrange, 1991). Les bactéries non-éliminées par les macrophages vont se multiplier (dure quelques semaines), suivi du développement du granulome, décrit lors d'une infection expérimentale d'un bovin comme suit :

- ✓ **Phase 1 (phase initial) :** formation d'amas irréguliers non encapsulés de macrophages épithéloïdes et de lymphocytes de type B et T, formant un granulome.
- ✓ **Phase 2 :** les granulomes vont évoluer en grappes, en présence d'une capsule mince et des zones nécrotiques.
- ✓ **Phase 3 :** les granulomes sont par la suite encapsulés, avec la présence d'une nécrose centrale et une zone minéralisée.
- ✓ **Phase 4 :** évolution des granulomes en granulomes multicentrique à encapsulation épaisse, une nécrose caséuse et de vastes îlots de minéralisation. Les lésions ont tendance à fusionner dans cette phase, NB : aussi, possibilité d'absence de la capsule fibreuse. (pereiro et *al.*, 2020).

Lors d'une infection naturelle par *M. bovis*, le développement du granulome est légèrement atypique, expliqué par le fait que la réponse immunitaire à médiation cellulaire (CIM) et qui diffère d'un animal à un autre, a un impact sur l'évolution du granulome, pour soit l'arrêt ou la dissémination de la maladie dans l'ensemble de l'organisme. Où lors de la phase 1 il peut y

avoir des neutrophiles, pendant la phase 2, des débris cellulaires et des cellules géantes occasionnels peuvent être présentes et dans certains cas il y'a macrophage ou cellules géantes à la périphérie et absence de capsule fibreuse ou de lymphocytes périphériques adjacents pendant la phase 3, et enfin la possibilité aussi de présence de nombreux macrophages à la périphérie et peu de lymphocytes pendant la phase 4 (Carrisoza-Urbina *et al.*, 2019).

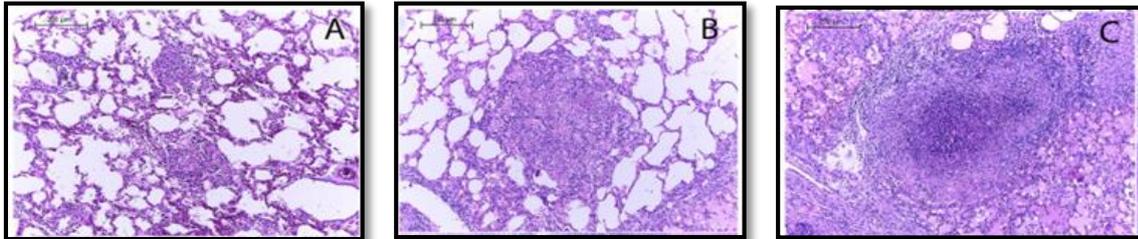


Figure 3: Classification histopathologique d'un granulome trouvés dans les tissus pulmonaires des veaux. H&E (A.- C 200x, D- E 40x F.- 1000x). (A) phase 1, (B) phase 2, (C) phase 3,4. (Carrisoza-urbina *et al.*, 2019).

4.3.2. Porte d'entrée et lésions engendrées par la tuberculose bovine

Les lésions de la Btb diffèrent selon la porte d'entrée de l'agent pathogène. La voie aérogène se compte comme principale voie d'infection ou la plus courante de la tuberculose bovine et dont ses lésions se localisent ou touche surtout les voies respiratoires inférieures, y compris les poumons. Il y a aussi la voie orale par l'ingestion de produits contaminés, la voie génitale, transplacentaire, intra mammaire, et aussi la voie iatrogène de vache en vache (ces dernières sont considérées actuellement des plus rares), et la voie oropharyngée (Domingo *et al.*, 2014).

Les lésions de tuberculose bovine se localisent généralement au niveau des tissus suivants : les poumons, les ganglions lymphatiques rétro pharyngés médiaux, les parotides, les trachéobronchiques, médiastinaux, cervicaux profonds caudaux et subiliaes ainsi que les amygdales palatines (McGeary, 2008).

Les stades d'infection de la maladie passent par la phase initiale, et qui reste généralement inapparente, se développant comme une infection latente, elle se caractérise par l'activation des phagocytes (système immunitaire ou inflammatoire), les mycobactéries sont ainsi transportées par les phagocytes vers les ganglions lymphatiques (nouveau foyer d'infection) formant ainsi un complexe primaire. La maladie se propage ensuite dans l'ensemble de l'organisme via les canaux alvéolaires et les voies respiratoires, induisant le développement des lésions granulomateuse et tissulaires, avec formation de nécrose caséuse, des lésions ulcéreuses,

ganglions lymphatique chroniquement affectés et élargis...etc. L'infection primaire peut se généraliser suite à une dissémination sanguine ou lymphatique des mycobactéries, cette étape de généralisation chronique de la maladie est caractérisée par la formation de nodules miliaires (un grand nombre de petits foyers caséux gris à blanc jaunâtre ressemblant à des graines de mil), les lésions peuvent varier en taille. Il est à noter également que lors de cette phase de généralisation, les animaux malheureusement peuvent rester anergique aux tests immunologiques (Domingo et *al.*, 2014, Fell et *al.*, 2016).

4.3.3. Expression clinique de la maladie

La localisation des lésions peut varier selon l'espèce hôte et la voie d'infection primaire (Pereira et *al.*, 2020). Chez les bovins 90-95% des mycobactéries pénètrent par voie respiratoire.

M. bovis développe une tuberculose active, avec des symptômes semblables à ceux causés par *M. tuberculosis*. Citant comme exemple :

- ✓ Fièvre, faiblesse, sueur nocturne et perte de poids.
- ✓ Tuberculose gastro-intestinale : douleurs abdominales, diarrhée ou une constipation intermittente pouvant aller jusqu'à la mort (Ramos et *al.*, 2015).
- ✓ Une lymphadénite cervicale à *M. bovis*, qui a récemment déclenché ou provoqué le syndrome de Guillain-Barré (premier cas déclaré en 2015) (Vergnon-Miszczycha et *al.*, 2015).
- ✓ Toux chronique intermittente et pneumonie associée.
- ✓ Emaciation et des adénites (McGeary, 2008).
- ✓ Réduction de la production laitière de 10 à 20% ainsi que la fertilité.
- ✓ Renflement des ganglions lymphatiques pouvant obstruer les vaisseaux sanguins, le tube digestif ou même les voies respiratoires (Good et *al.*, 2018).
- ✓ 1 % des vaches atteintes de tuberculose étaient touchées par la tuberculose du pis, signalé par Francis en 1947, le cas été représenté par environ 0.5% des vaches en grande Bretagne (Good et *al.*, 2018).

4.3.4. Dissémination et transmission de la maladie

Il existe plusieurs voies de contamination potentielles entre bovin, elle se produit généralement par contact direct, à travers les aérosols, dans lesquels la dissémination de l'agent infectieux est efficace (Esteban et *al.*, 2016). Ils sont présents dans l'environnement sous forme de gouttelettes

humides contenant le bacille, pouvant être excrétées non seulement par les bovins malades ou infectés, mais aussi par ceux présents au cours des premiers stades de la maladie et durant la période initiale d'infection (Moda et *al.*, 1996).

La transmission de *M. bovis* à l'Homme peut se faire, soit par une transmission aérienne, gastro-intestinale ou directe. Cette dernière se fait généralement ou elle est attribuée au contact direct avec le bétail. Comme il a été reporté au royaume uni que 59% des malades (patients) vivaient ou travaillaient dans une ferme ou même les ouvriers d'abattoirs.

La tuberculose humaine causée par *M. bovis* varie considérablement selon plusieurs facteurs sur le plan régionale, à savoir, la situation socio-économique, l'hygiène alimentaire, la présence et la dissémination de la maladie dans le cheptel, ainsi que la mise en place ou non des mesures préventives (Moda et *al.*, 1996).

5. Eco-épidémiologie de la tuberculose bovine

5.1. Ecologie des Mycobactéries - *Mycobacterium bovis*

Les mycobactéries sont des microorganismes ubiquistes, autrement dit, ils peuvent survivre dans un large spectre de variation de certains paramètres environnementaux, à savoir, le Ph, le type du sol et sa température, l'humidité, ou encore le sel. Selon Moeller, ces bactéries sont en lien étroit avec l'environnement. Elles persistent dans un état viables dans les matrices environnementales, comme les fèces, denrées alimentaires telles que le maïs, foin, pommes, eau et sol (Barbier et *al.*, 2016).

M. bovis a été trouvée également dans des fourrages bien ensilés au Nord Est du Michigan (ensilage composé principalement d'herbe, mais l'échantillon dans cette étude était la luzerne composés d'ensilage d'herbe et de maïs) (Grooms et *al.* 2019).

5.2. Excrétion de *Mycobacterium bovis* dans l'environnement

M. bovis peut être excrétée et peut se disséminer dans l'environnement par différentes voies, à part la contamination par les aérosols, dégagés dans l'air par les bovins, que selon des études faites, le bacille peut y survivre des périodes prolongées (barbier et *al.*, 2016). Les animaux infectés ou malades excrètent la bactérie dans leur fèces, il est estimé aussi que la bactérie peut survivre jusqu'à 6 mois dans le lisier (utilisé dans certain cas comme engrais). Egalement les excréments nasales (les cavités nasales forment un endroit propice pour la multiplication des

bactéries), *M. bovis* est aussi excrétée dans le lait. Ce dernier considéré comme source d'infection pour les veaux, les humains, et d'autres animaux (Ex : Chat) (Robinson, 2018). Il a été prouvé également que les amibes peuvent favoriser la propagation de *M. bovis* dans l'environnement à travers les fèces infectées (barbier et *al.*, 2016).

5.3. Survie de *Mycobacterium bovis* dans l'environnement

La tuberculose bovine évolue dans un système multi-hôtes impliquant les bovins, plusieurs espèces d'animaux sauvages et leurs environnements (Payne et al ; 2014). L'environnement donc peut constituer une source importante d'infection, car *M. bovis* peut survivre et y résister pendant plusieurs mois. Même dans des conditions environnementales extrêmes (Esteban et *al.*, 2016). Mais leur survie est vraisemblablement favorisée par la présence de certains facteurs environnementaux abiotiques, tels que la température de l'air (la température ambiante), l'humidité, les différents paramètres physico-chimiques qui conditionne le sol, la microflore endogène, ainsi des concentrations des espèces de microorganismes présentes, le taux d'évaporation. L'exposition au soleil ainsi que l'humidité, permettent une présence de *M. bovis* en concentration élevée (Robinson, 2018 ; Pereira et *al.*, 2020). Un autre facteur et non pas le dernier, c'est la capacité des bactéries à s'adapter au nouvel environnement externe (Wiker et *al.*, 1998).

Les premières recherches concernant la survie de *M. bovis* dans l'environnement extérieur menées en Angleterre, 1930 ont montrées que le temps de sa survie dans le pâturage était de sept semaines en été, contrairement à l'hiver où le temps peut aller jusqu'à trente-cinq semaines, et de quatorze semaines en présence de matière fécales (Matrat, 2014). Des études antérieures ont fournies la possibilité de survie de *M. bovis* dans l'environnement pendant au moins 15 mois après son élimination dans les excréments des animaux (Sweeney et *al.*, 2007). Une contamination du lait par *M. bovis* par l'environnement peut survenir (Moda et *al.*, 1996). La faune sauvage aussi se compte parmi les facteurs principaux à la circulation et dissémination de *M. bovis* dans l'environnement.

5.4. La tuberculose Bovine chez la faune sauvage

La tuberculose bovine est une zoonose infectieuse pouvant se propager chez les mammifères domestiques, sauvage et rarement l'homme (Cross et *al.*, 2018). La découverte d'un réservoir sauvage pose un problème très important et induit un risque majeur de contamination et re-contamination des animaux domestiques. Ce qui entrave beaucoup le contrôle et l'éradication

complète de la maladie, et qui provoque sa réémergence. La contamination ou la transmission de la maladie se fait le plus souvent de façon indirecte, de par l'environnement, l'eau et les aliments par les déjections d'animaux sauvages (FAO, 2012). En Afrique, il a été démontré qu'il existe des réservoirs fauniques sauvages, tel que le buffles et le phacochère en Ouganda et les babouins sauvages au Kenya (Yahyaoui Azami *et al.*, 2018), mais aucune étude jusqu'à présent en Algérie. En Afrique subsaharienne, la tuberculose bovine se répand très rapidement en affectant de nombreuses espèces animales de la faune sauvage (Boukary *et al.*, 2011). La lutte contre les maladies contagieuses dans la faune sauvage est une affaire complexe car elle repose sur la participation d'acteurs bénévoles (chasseurs, naturalistes), elle est insuffisamment encadrée sur le plan réglementaire, elle est coûteuse et ne bénéficie pas de moyens réellement efficaces d'assainissement d'une population d'animaux sauvages.

III. DIAGNOSTIC DE LA TUBERCULOSE BOVINE

1. Déclaration éthique

La tuberculose bovine est une maladie à déclaration obligatoire, déclarée lors des enquêtes de dépistage programmées par la DSA. Les méthodes principales de diagnostic de cette maladie sont le test classique de tuberculisation (IDR) et l'histopathologie à l'abattoir.

2. Diagnostic

La maladie est généralement asymptomatique, et met des mois pour se développer (ou s'extérioriser), voir même des années, donc c'est une maladie difficile à diagnostiquer en se basant uniquement sur les signes cliniques.

La tuberculination reste un moyen classique, standard et le seul utilisé en premier lieux dans la majorité des pays et particulièrement africain, mais reconnais des défaillances dues à des fait (phénomènes) d'anergie (Blancou, 1972).

2.1. Diagnostic de terrain

2.1.1. Diagnostic clinique

Le diagnostic basé sur les symptômes qu'expriment le bovin lors d'une tuberculose bovine est un peu difficile, surtout lors du premier stade de l'infection où dans la majorité des cas les symptômes sont inapparents. Et l'infection peut même prendre des années pour se développer et ne se réactive que lors d'un stress ou chez les animaux âgés (Ramos *et al.*, 2015).

Généralement il y'a diminution de la production, amaigrissement, bien qu'il reste très difficile de distinguer entre l'amaigrissement physiologique et pathologique lors de la tuberculose bovine (Blancou et *al.*, 1971).

2.1.2. Intradermo tuberculation (IDR)

C'est un test mesurant l'hypersensibilité retardée chez les bovins dus à une réponse immunitaire à médiation cellulaire, il est prescrit par l'OIE, Il constitue le test primaire de dépistage, utilisé depuis des décennies pour le programme de surveillance de la Btb (Schiller et *al.*, 2011). Ce test est Basé sur l'injection d'un dérivé protéique purifié « PPD obtenue à partir de la souche *M. bovis* AN5» au niveau de l'encolure (au niveau du pli caudale ou du cou, cette dernière est considérée plus sensible que la peau du pli caudale), suivi d'une lecture après 72h de l'injection.

Il est à noter qu'on a trois variantes de tests intradermique, qui diffèrent selon la dose de la tuberculine, le site d'injection, et enfin les interprétations : le test intradermique cervical (CIT), le test cervical comparatif (CCT), ainsi que le test du pli caudal (CFT) (Schiller et *al.*, 2010).

Le test intradermique présente malheureusement l'inconvénient d'une mauvaise interprétation des résultats sur le terrain dus à une précision imparfaite (imprécision), et une faible sensibilité du test, ainsi que sa non-standardisation (des modification dans les méthodes de production de PPD par exemple) (De la Rua-Domenech et *al.*, 2006).



Figure 4: (A Droite) Injection intradermique de la PPD, (A gauche) Mesure de li de peau 72h après injection (prise par Stéphanie Philizot – SNGTV France), 2013.

2.1.3. Examen post-mortem (Abattoir)

Considéré comme surveillance passive de la maladie, une inspection efficace post-mortem des carcasses bovine au niveau de l'abattoir reste cruciale, et peut fournir des données

épidémiologiques importantes, surtout lors du maintien des systèmes nationaux de traçage bien précis (Schiller et *al.*, 2010). Les lésions se caractérisent par la présence de granulomes, ces derniers sont généralement jaunâtres et caséux, caséo-calcaire ou calcifiés, et le plus souvent encapsulés.

Les ganglions lymphatiques touchés sont répartis un peu partout dans la carcasse (ça dépendra surtout de la porte d'entrée de la bactérie), on site essentiellement : le thorax et la tête, les poumons, le foie et la rate, ainsi que les surfaces des cavités corporelles (Ramos et *al.*, 2015 ; Sen et Garode, 2016).

Cet examen présente l'inconvénient que les lésions trop petites peuvent ne pas être décelées (dans les grands organes ou ganglions lymphatiques) (Schiller et *al.*, 2011). Une étude en Australie a démontré que 47% des lésions chez des bovins atteints n'ont pas été détectées (Schiller et *al.*, 2011).

NB : diagnostic différentiel : *Actynomices bovis*, *Trueperella pyogenas*.

2.2. Diagnostic de laboratoire

2.2.1. Diagnostic histopathologique

C'est un diagnostic qui comporte la révélation de la présence de Mycobactérie par la coloration de Ziehl-Neelson, suivi d'une microscopie optique, ou bien une coloration à l'auramine O, suivi d'une microscopie à fluorescence. Ce type d'examen est réalisé sur des tissus présentant des lésions caractéristiques de la tuberculose telles que la nécrose caséuse, les macrophages et les cellules épithéloïdes, ou d'autres. L'inconvénient c'est qu'on peut observer plusieurs microorganismes acido-alcaloo-résistants et le chevauchement des colorations. Il est conseillé qu'un tel diagnostic doit être complémenter par la culture mycobactérienne (Faye, 2010).

2.2.2. La culture bactérienne

L'isolement de la bactérie est une méthode clé pour un diagnostic plus précis de la maladie. Les échantillons ou les prélèvements effectués sont soumis à un processus de décontamination, avec soit de l'H₂, SO₄ ou l'NAOH, ou d'autres méthodes qui diffère d'un auteur à un autre. Pour l'élimination des microorganismes compétitifs. Suivi d'une inoculation ou l'ensemencement dans un milieu liquide ou solide, ou la combinaison des deux pour une sensibilité plus élevée. Puis leur incubation à des températures différentes, à 30°C ou 37°C (Percival et Williams, 2014). La morphologie caractéristique de *M. bovis* est observée après à peu près 12 semaines

(Ramos et *al.*, 2015). Les bacilles tuberculeux de *M. bovis* apparaissent sur milieu de culture Löweinstein-Jensen, comme des colonies en bâtonnets, dysgoniques lisse, non-pigmentées, avec un aspect caractéristique en « cire de bougie » (Figure 5), contrairement à *M. tuberculosis*, qui apparaissent comme des colonies avec une surface sèche et rigoureuse, non-pigmentées, mais eugoniques avec un aspect en « choufleur » (Barbier, 2016).



Figure 5 : Aspect de colonies de *M. Bovis* sur milieu Löweinstein-Jensen (Barbier, 2016)

2.2.3. Les milieux de culture

- ✚ **Le milieu Lowenstein-Jensen** : contient des sels, œufs, féculs de pomme de terre, l'asparagine, citrate, de la verte malachite (donne une couleur caractéristique pour favoriser la détection des Mycobactéries ou des colonies des souches recherchées), et du glycérol qui est utilisé comme source de carbone. Avec un pH neutre de 7 ((Percival et Williams, 2014).
- ✚ **La gélose Middlebrook 7H10** : ce milieu contient des sels, des vitamines, l'albumine, la catalase, l'acide oléique, le dextrose, le glycérol et aussi la verte de malachite (Percival et Williams, 2014). Avec la présence au minimum 10% de CO₂.
- ✚ **Le Milieu Stonebrink** : c'est un milieu de culture solide, développé en 1951 par Stonebrink, pour l'isolement primaire de *Mycobacterium tuberculosis* (Lesslie, 1959). Contenant l'œuf, de l'acide pyruvique, Hydrogénophosphate de sodium, Phosphate de potassium monobasique (Stonebrink, 1958).

2.3. Diagnostic moléculaire :

2.3.1. La Polymerase Chain Reaction (PCR)

C'est une technique de biologie moléculaire utilisée pour la détection et l'identification précoce de l'ADN bactérien (l'ADN de *M. bovis*), dans différents tissus, et excréation (tissus frais, tissus fixés au formol, lait...etc) et mêmes échantillons environnementaux (Ramos et *al.*, 2015). Des amorces sont utilisées pour l'amplification de séquences cibles spécifique à *M. bovis*, des séquences d'insertion (EX : IS108) et des gènes codant pour des protéines (EX : MPB70 de 24 kDa) (Cosivi et *al.*, 1998). La détection de *M. bovis* se base principalement sur la PCR en d'autres termes sur l'identification d'IS6110 (une seule séquence) et IS1081 (5 exemplaires chez *M. bovis*). Mais vu que *M. bovis* n'a qu'une copie de la séquence IS6110, l'amplification s'est avérée plus sensible sur cette séquence (Vincent, 1995 ; Esteban et *al.*, 2016). Elle offre l'avantage d'être une méthode sensible et rapide, mais nécessite toutefois des échantillons à forte charge bacillaire (de la Rua-Domenech et *al.*, 2006). Srilohasin et *al.*, 2014, ont mis en place une nouvelle méthode ou technique nommée la nouvelle puce à ADN, elle est basée sur une PCR multiplex suivi d'une électrophorèse capillaire et finalement attribuer des valeurs alléliques. Une méthode aussi d'actualité a été utilisée, c'est la PCR tetraplex Cette méthode utilise IS1311 pour identifier le MAC, devR pour identifier le MTC et le espaceur interne transcrit situé entre le 16S et le Les gènes d'ARNr 23S pour identifier le genre Mycobacterium sans pour autant différencier *M. bovis* des autres espèces (Esteban et *al.*, 2016).

2.3.2. Typage (spoligotypage)

C'est la première méthode de criblage des souches, publiée pour la première fois par Kamerbeek et ses collaborateurs en 1997, elle permet de génotyper les souches de *M. bovis* en identifiant le polymorphisme dans une région du génome de séquences répétitives d'ADN, désignées (délimitées) par DR (Direct Repeat). Ces derniers sont caractérisés par la présence ou l'absence de séquences (spacers) dont leur position est fortement conservée. Ces régions DR sont amplifiées par PCR, pour l'identification et la caractérisation de la souche à partir de la présence ou l'absence de 43 espaceurs. Le résultat obtenu est comparé avec la base internationale MBOVIS.ORG pour caractériser la souche. Cette technique permet d'étudier la dynamique de la maladie, déchiffrer les origines des foyers, et apporte des informations complémentaires importantes aux enquêtes épidémiologiques, pour une meilleure traçabilité.

Le génotypage est réalisé par spoligotypage et VNTR, Cependant, l'utilisation de la méthode MIRU-VNTR en association avec le spoligotypage améliore la discrimination des souches (Esteban et *al.*, 2016). Actuellement, l'analyse multi vocale de variables (MLVA : Multiple Loci VNTR Analysis) pour le typage *M. bovis* est la plus utilisés, comprenant la PCR et la mesure de la taille des amplicons. Ainsi que le typage VNTR qui permet un sous-typage des souches initialement identifiées par spoligotypage.

2.4. Diagnostic sérologique

2.4.1. Dosage de l'interféron gamma

C'est un test sanguin In-Vitro développé dans les années 80 en Australie, pour le diagnostic de la réponse à médiation cellulaire de la bTB, utilisé en combinaison avec le test du pli caudal (De la Rua-Domenech et *al.*, 2006, Schiller et *al.*, 2010, Bezos et *al.*, 2014) pour améliorer la sensibilité et la spécificité du dépistage (Drewe et *al.*, 2010). Accepté en 2002 par l'union européenne comme test auxiliaire au test simple à la tuberculine intradermique (Fontana et *al.*, 2018 ; Schiller et *al.*, 2011). Plusieurs études ont démontrées une spécificité et sensibilités accrues de ce test, allant jusqu'à 100% et 99,6% respectivement, donc estimé plus sensible que le test simple à la tuberculine, et surtout pour les animaux qui restent insensibles à la tuberculine (Schiller et *al.*, 2011).

Ce test se réalise en deux étapes : première étape : des aliquotes en double contenant les prélèvements sanguin (prélevés sur des bovins), avec la présence de la tuberculine bovine et la tuberculine aviaire (utilisées comme des Ags sous le nom de BOVIGAM), sont incubés à 37°C, après 16-24h d'incubation, les surnageants plasmatiques sont récupérés et stockés jusqu'à prochaine étape. La deuxième étape consiste en la quantification de la quantité d'IFN γ dans le plasma par une ELISA Sandwich, en utilisant un Kit préalable (De la Rua-Domenech et *al.*, 2006).

NB : les prélèvements de sang total sont prélevés dans des tubes héparines, et transportés immédiatement après échantillonnage. Un contrôle antigénique négatif est à mettre en place également. Les IFN γ sont produites par les lymphocytes T de l'animal atteint, et détectés par les Acs Monoclonaux anti- IFN γ .

2.4.2. Enzyme Linked Assay (ELISA)

C'est une méthode développée en 1971 par les chercheurs suisses Engvall et Perlmann. Et utilisée par de nombreux chercheurs par la suite, dans différents laboratoires de recherche et de diagnostic, citant par exemple Holmgren et Svennerholm en microbiologie diagnostique en 1973. Le dosage immunosorbant liés aux enzymes est un test qui offre plusieurs avantages, dont tester plusieurs échantillons en même temps, avec sa simplicité et rapidité et son faible coût (Bezous et *al.*, 2014). Basés sur la détection colorimétrique du complexe Acs spécifiques avec les Ags. Les Ags généralement utilisés sont : la PPD, l'Ag85, le MPB70, la protéine MPB83, tous ces Ags peuvent augmenter la spécificité et la sensibilité de la technique jusqu'à 90%, en présence de conditions spécifiques (Ramos et *al.*, 2015). Différents antigène sont utilisés dans le sérodiagnostic de la tuberculose bovine et cités dans la littérature, on cite les plus connus :

2.4.2.1. Ag85

C'est un complexe antigénique, composé de trois antigènes à réaction croisée, ils sont les suivants selon l'ordre décroissant de leurs poids moléculaires : 85C, 31,5 kDa, 85B, 30 kDa ; et 85A, 31 kDa. Il fait partie des principales sécrétions de *M. bovis* BCG (Harald et *al.*, 1998).

2.4.2.2. MPB70 / MPB80

C'est des antigènes solubles sécrétés (non associé à la surface bactérienne), hautement spécifique au BCG, considéré comme une protéine cible des réponses immunitaire cellulaires et humorales lors d'une infection au bacille tuberculeux. Utilisés fréquemment dans le diagnostic humoral de la tuberculose bovine (Harald et *al.*, 1998).

2.4.2.3. MPB83

C'est une lipoprotéine associée à la surface bactérienne de *Mycobacterium bovis*, composée d'un site putatif de glycosylation, un nombre de processus lipoprotéique typique et une extrémité N contenant une insertion de 35 acides aminés (Harald et *al.* ; 1998 ; Marassi et *al.*, 2011).

2.4.2.4. ESAT-6

C'est un antigène important des lymphocytes T, comprenant 95 résidus d'acide aminés, excrété par *M. tuberculosis*, trouvé dans les protéines du filtrat de culture à court terme de *M.*

tuberculosis in vitro (CFP) après purification, c'est un antigène caractérisé par des réponses immunitaires très importantes (Brodin et *al.*, 2004).

IV. Les techniques d'enquête – l'échantillonnage

1. Echantillonnage (sondage)

C'est une observation partielle d'une partie de la population statistique choisie, ça vise à explorer les résultats (observation) observés à la totalité de la population. La méthode d'échantillonnage se limite à la façon dont la population statistique sera observée à travers des sous-ensembles appelés (échantillon), les échantillons se divisent en deux types, les probabilistes et les non-probabilistes, on va dans cette partie s'étaler sur les échantillons probabilistes qui concernent notre étude :

1.1. Les échantillons probabilistes

1.1.1. Echantillonnage aléatoire simple

Ce type consiste à tirer avec ou sans remise, un « n » tirage équiprobable (donnant une probabilité égal à tous les éléments de l'ensemble d'être tiré ou de faire partie de l'échantillon) dans la population statistique.

1.1.2. Echantillonnage aléatoire systématique

Repose sur le principe de la présence d'un intervalle entre chaque unité sélectionnée incluse dans l'échantillon, les unités sont numérotées (N : taille d'échantillon), en détermine l'intervalle entre chaque échantillon, puis on choisit au hasard un nombre, puis selon l'intervalle, on choisit le deuxième numéro qu'on appelle (origine choisit au hasard).

1.1.3. Echantillonnage stratifié

C'est un échantillonnage qui consiste en le regroupement des individus ayant des critères en commun dans des sous-ensembles appelés « strate », cet échantillonnage est basé sur le fait que tous les individus doivent appartenir à une strate (strates complémentaires), et chaque individu ne doit pas appartenir à plus d'une strate (strates indépendantes). Suivi d'un tirage aléatoire dans chacune des strates, permettant ainsi à chaque groupe d'être représenté dans l'univers pratique (en pratique) (Gerville-Réache et Couallier, 2011).

NB : il consiste en un échantillonnage aléatoire simple sans remise d'une taille précise dans la strate, indépendamment des autres strates.

1.1.4. Echantillonnage en grappe et à plusieurs degrés

C'est un sondage à plusieurs degrés, il consiste à tirer un échantillon constitué de sous-parties (grappe) du total de l'échantillon (unités primaires), puis de tirer des individus de chaque sous-partie (unités secondaires). L'un des principaux avantages de ce type d'échantillonnage c'est qu'il donne naissance à un échantillon représentatif (Gerville-Réache et Couallier, 2011).

Ou d'une autre manière, c'est choisir un échantillon de « m » grappe, puis une réalisation d'une enquête dans chacune des « m » grappe :

- Soit auprès de tous les éléments (dits aussi unités secondaires) : sondage par grappes.
- Soit en désignant des échantillons d'unités secondaires : sondage à deux degrés

CHAPITRE II : ETUDE PRATIQUE

CHAPITRE II : ETUDE PRATIQUE

Partie A : Optimisation d'un test PPD-ELISA pour le diagnostic de la tuberculose bovine

1. Introduction

La tuberculose bovine est une maladie bactérienne et contagieuse, affectant principalement le bétail, mais peut toucher d'autres animaux domestiques et même sauvages. C'est une maladie qui passe généralement inaperçue et sans symptômes caractéristiques, surtout lors des premiers stades de l'infection, mais se développe par une tuberculose active par la suite avec des symptômes semblables à ceux causées par *M. tuberculosis* (Esteban et al., 2016). Elle cause près de 6% de décès dans le monde par an (Sahli et al., 2018).

Apparût qu'en 1927 pour la première fois dans le bulletin de l'office international des épizooties et inscrite à la liste de l'OIE en 1964 (Awada et al., 2018). Le diagnostic précoce de la maladie reste un moyen de lutte efficace contre la tuberculose, qui permet son éradication et limite sa propagation, d'où la nécessité de développer ou de compléter les tests classiques de diagnostic de tuberculose et principalement l>IDR avec des tests auxiliaires plus sensibles et plus spécifiques.

L'ELISA se compte parmi les tests sérologiques de choix. Considéré comme très sensible, spécifique et peu coûteux (Saegerman et al., 1995).

Dans cette première partie de cette étude, notre principal objectif était d'optimiser une Enzyme Linked Assay pour la détection rapide et simple de *Mycobacterium bovis*, en testant des échantillons de sérums bovins collectés sur le terrain au niveau de la région de Constantine et en se basant principalement sur les résultats de l'intradermo réaction et des inspections en post-mortem au niveau des abattoirs des mêmes bovins prélevés.

2. Matériel

2.1. Réactifs

Albumine sérique bovine (BSA), o-phénylènediamine dichlorhydrate «OPD» ($C_6H_4(NH_2)_2 \cdot 2HCl$), peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), acide sulfurique (H_2SO_4) et IgG anti-bovin (molécule entière) – Anticorps de peroxydase produit dans le lapin (anti-IgG-HPRO) a été acheté auprès

de Sigma-Aldrich (France), un dérivé de protéine purifiée à la tuberculine (Bovituber® PPD) a été obtenu auprès de Synbiotics, Lyon, France.

8 g de chlorure de sodium (NaCl), 0,2 g de dihydrogénophosphate de potassium (KH₂PO₄), 1,53 g d'hydrogénophosphate disodique dodécahydraté (Na₂HPO₄.12H₂O) et 0,2 g de chlorure de potassium (KCl) dans 1 L d'eau distillée. 576 mg de bicarbonate de sodium (NaHCO₃, MW = 84 g / mol) et 333 mg de carbonate de sodium (Na₂CO₃, MW = 106 g / mol) dans 100 ml d'eau distillée. 1,02 g d'acide citrique monohydraté (C₆H₈O₇.H₂O, MW = 210,14 g / mol) et 1,46 g d'hydrogénophosphate disodique dodécahydraté (Na₂HPO₄, MW = 141,96 g / mol) dans 100 ml d'eau distillée. Le Ph des tampons a été ajusté en utilisant du chlorure d'hydrogène (HCl) ou de l'hydroxyde de sodium (NaOH). 0,05% de monolaurate de sorbitane de polyéthylène glycol « Tween20 » (C₅₈H₁₁₄O₂₆) dans du PBS 0,1 M.

Tous les réactifs sont des Sigma-Aldrich. Dérivé protéique purifié (PPD) utilisé comme un Ag. ESAT-6 utilisé comme un Ag 36 comparative à la PPD.

2.2. Appareillage

Des plaques de microtitrage ELISA à 96 puits, des plaques à fond plat en polystyrène avec une surface MaxiSorp, des plaques de dilution à fond rond en polypropène, un photomètre à microplaque Thermo Scientific™ Multiskan™ FC, un vortex (Vortex LMS, VTX – 3000L), une centrifugeuse (Thermo Scientific™), des aiguilles, des tubes secs, une hotte chimique, un Incubateur (IN110), une microbalance (Analytical balance), pipettes (10µl, 100µl, 200µl, 1000µl) (Eppendorf Research®), une pipette multicanaux (Eppendorf Research®), les cônes, ciseaux, pied à coulisse, un pistolet d'injection.

3. Méthodes

3.1. Echantillonnage d'optimisation du test

3.1.1. Zone d'étude

Des fermes ont été ciblées et dans lesquelles des prélèvements ont été effectués au niveau de la région de Constantine, avec des statuts différents, entre exploitations avec antécédents et d'autres indemnes de la maladie. Ces fermes contenaient des bovins programmés pour l'abattage sanitaire.

3.1.2. Population étudiée

3.1.2.1. Groupe des bovins positifs

Les bovins ciblés faisaient partie d'exploitations avec antécédents par rapport à la tuberculose bovine et suspectée touchées par la maladie.

3.1.2.2. Groupe des bovins négatifs

Les fermes faisaient partie d'une région officiellement indemne de tuberculose bovine (OTF), des animaux sains, mais programmés pour abattage pour d'autres motifs (production de viande, problèmes locomoteur, mammite chroniques ... etc.).

3.2. Prélèvement sanguin

3.2.1. Prélèvement de sang

Il existe deux types de prélèvements chez les bovins, soit par la veine jugulaire ou par la veine coccygienne. Dans notre travail, 10 ml de sang de chaque animal ont été prélevés de la veine coccygienne (au niveau de la queue), collectés dans des tubes secs sous vide simples étiquetés avec des codes à barres uniques (numéro de l'animal, numéro d'échantillon et nom de la ferme). Les échantillons ont été conservés dans des glacières à + 4 ° C jusqu'à leur transport au laboratoire.

3.2.2. Centrifugation et collecte des sérums

Les tubes collectés une fois au laboratoire, ont été centrifugés à 3000 tr / min pendant 10 min. Les sérums extraits obtenus ont été aliquotés dans des tubes cryovials à code-barres uniques (Figure 6). Les aliquotes ont ensuite été conservées à -20 ° C jusqu'à utilisation ultérieure.



Figure 6 : (A gauche) Prélèvement de sang, (A droite) récupération du sérum (photo personnelle)

3.3. Intra-Dermo-Tuberculation (IDR)

Le test à la tuberculine a été effectué conformément aux instructions et recommandations du Ministère algérien de l'agriculture et a été effectué sous le contrôle de la Direction des services agricoles (DSA). Tout d'abord, le site d'injection, sur le tiers central du côté gauche du cou de l'animal, a été vérifié pour l'absence de nodule ou de lésion à l'endroit ciblé, puis a été marqué en tondant le poil de chaque bovin avec des tondeuses ou des ciseaux courbes. En deuxième lieu, l'épaisseur du pli cutané au site d'injection a été mesurée à l'aide d'un pied à coulisse et les mesures ont été enregistrées. Ensuite, 0,1 ml de PPD bovin (2000 UI) a été injecté par voie intradermique (dans la peau) avec un pistolet d'injection, et la lecture du test a été effectuée après 72 h. Chaque site d'injection a d'abord été inspecté visuellement et ressenti avec les doigts pour toute réaction (gonflement), et l'épaisseur du pli cutané a été remesuré. Enfin, les mesures et le type de réaction ainsi que toutes les informations (âge, sexe, race, type de production, etc.) ont été enregistrées pour chaque bovin, ainsi que le résultat du test après interprétation. L'animal était considéré comme positif si le gonflement était supérieur à 4 mm.

3.4. Inspection à l'abattoir

Les carcasses entières et abats des animaux échantillonnés en ante-mortem sur le terrain ont été inspectés en post-mortem au niveau de l'abattoir pour la recherche éventuelle des lésions macroscopiques propre à la tuberculose bovine. L'inspection consiste en une palpation, puis incision ou pas des ganglions lymphatiques trachéobronchiques, médiastinaux, pré scapulaires et rétro pharyngiens, selon la présence ou non des lésions typiques de la maladie, ainsi qu'une inspection visuelle, puis une incision des poumons, du foie, des reins et du pis s'ils sont aussi touchés. Les autres ganglions lymphatiques ne sont incisés que si une lésion est détectée au niveau des tissus cités ci-dessus. La carcasse entière est condamnée si une tuberculose généralisée avec atteinte des ganglions lymphatiques de la carcasse est diagnostiquée, sinon seul l'organe infecté ou la partie infectée de l'organe est rejeté.

3.5. Développement du Test ELISA (Protocole)

3.5.1. Préparation de tampons

- **Le Phosphate Buffer Saline**

On a mis 8 g de NaCl, 0,2 g de KH_2P_04 , 1,53 g de $\text{Na}_2\text{HP}_04 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ et 0,2 KCl dans 800 ml d'eau distillée suivi d'une agitation magnétique. Puis on a rajouté de l'eau distillée jusqu'à

l'obtention d'un volume total de 1L, ainsi que l'ajustement du Ph à 7,4 en utilisant HCl ou NaOH.

- **Tampon de fixation ou de revêtement (carbonate-bicarbonate 0,1 M, Ph 9,6)**

On a ajouté à 80 ml d'eau distillée, 576 mg de bicarbonate de sodium et 333 mg de carbonate de sodium. Ensuite, le pH a été ajusté à 9,6 en utilisant HCl ou NaOH. De l'eau distillée a été ensuite ajoutée jusqu'à ce que le volume final atteigne 100 ml.

- **Tampon de lavage (PBS-T 0.05%)**

On a ajouté 250µl de Tween 20 à 500 ml de PBS « PBS (pH 7,4) et Tween 20 (0,05%) », le tout a été agité jusqu'à l'obtention d'une solution homogène.

- **Tampon citrate-phosphate**

Dans 80 ml d'eau distillée on a ajouté 1,02 g d'acide citrique monohydraté et 1,46 g d'hydrogénophosphate disodique dodécahydraté. Ensuite, le Ph a été ajusté à 5 en utilisant HCl ou NaOH. Suivi de l'ajout de l'eau distillée jusqu'à ce que le volume final atteigne 100 ml.

3.5.2. Préparation et optimisation des solutions de travail

3.5.2.1. Choix de l'antigène

On a ajouté 1ml de l'antigène à 9ml de tampon de fixation (étape de sensibilisation). Dans ce travail on a utilisé deux types d'Ag, le complexe protéique PPD qui est extrait de la culture bouillie de bacilles tuberculeux (*Mycobacterium tuberculosis*) (commercialisé), et l'ESAT-6 (qui nous a été fourni par le laboratoire d'épidémiologie et de microbiologie vétérinaire (LEMV), Institut Pasteur de Tunis), il a été produit après clonage et purification par chromatographie comme suit :

L'expression et la purification d'ESAT-6 dans des cellules d'E. Coli BL21 ont été réalisées conformément au protocole recommandé de l'Université de l'Etat du Colorado (contrat de matériaux de recherche TB NIH, NIAIDNO1-AI-40091). Les cellules transformées avec le plasmide codant pour ESAT-6, Pet23b-Rv3875 (esxA) ont été cultivées dans un milieu LB (Sigma-Aldrich, Seelze, Allemagne) contenant 100 µg M11 d'ampicilline (Sigma Aldrich) et l'expression d'ESAT-6 a été induite par l'ajout d'IPTG 0,25 Mm (Euromedex, Souffelweyersheim, France) pendant 5 h à 37 ° C. Les cellules ont ensuite été récoltées et lysées par sonication dans le tampon A [20 mMTris-HCl Ph 8, 500 Mm NaCl, 5 Mm imidazole, cocktail d'inhibiteurs de protéase EDTAfree (Roche Life Science, Mannheim, Allemagne), 1,8

mg M11 Dnase 1 (Roche Life Science) et 200 lg M11 lysozyme (Sigma-Aldrich)]. On a ensuite laissé le lysat se lier à la sépharose chélatante chargée de nickel (Sigma-Aldrich). La colonne a été abondamment lavée avec 40 Mm d'imidazole avant d'être rééquilibrée avec 10 Mm de Tris-HCl. Selon le protocole, la colonne a été traitée ou non avec du Tris-Hcl 10 Mm contenant 0,5% du détergent indiqué (le détergent ASB a été utilisé pour éviter la contamination dus aux endotoxines). La colonne traitée avec un détergent a ensuite été lavée avec 10 volumes de TrisHCl 10 Mm pour éliminer l'excès de détergent avant l'étape d'élution finale de l'ESAT-6 marqué His par 500 Mm d'imidazole.

L'excès d'imidazole a été éliminé des fractions éluées en utilisant une colonne PD-10 (Amersham, GE Healthcare, VelizyVillacoublay, France) et du PBS contenant des inhibiteurs de protéase. La protéine purifiée a été jugée pure à plus de 95% par SDS / PAGE à 15%, suivie d'une coloration au bleu de Coomassie. La quantification des protéines a été réalisée en utilisant le test de protéine d'acide bicinchoninique (BCA ; Sigma-Aldrich).

3.5.2.2. Optimisation de la solution et du nombre de lavage

On a utilisé deux types de solution de lavage, à savoir, le PBS ou le tampon de lavage le PBS-Tween, avec une modification du nombre de lavage allant de trois à six lavages pour chacune.

3.5.2.3. Optimisation de solution de blocage

Le blocage des sites dans notre plaque a été fait par la BSA (Bovine Serum Albumin) à différentes concentrations (1%, 2%, 3%, 4%), à différentes températures (+4°C, 37°C, température ambiante), et à de différentes durée (60 min, 90 min, 180 min, et toute la nuit).

3.5.2.4. Optimisation de la dilution des sérums

La dilution de 1/100 des sérums a été faite dans du BSA ou dans le PBS.

3.5.2.5. Préparation de la solution de conjugué

La solution de travail du conjugué a été préparée juste avant son utilisation. 2 µl d'anti-IgG-HPRO ont été dissous dans 10 ml de PBS pour obtenir une dilution de conjugué de 1/5 000.

3.5.2.6. Préparation de solution de substrat (solution de révélation)

Une proportion de 10 mg d'OPD (1 comprimé d'O-phenylenediamine) ont été dissous dans 25 ml de tampon citrate-phosphate pour l'obtention d'une concentration de 0,4 mg / ml d'OPD.

10 ml de peroxyde d'hydrogène frais à 30% ont été ajoutés par la suite à la solution tampon de substrat immédiatement avant l'utilisation.

3.5.2.7. Préparation de solution STOP

On a utilisé 3 M d'Acide Sulfurique comme solution de stoppage de notre réaction.

3.5.3. Préparation des plaques

3.5.3.1. Préparation de la plaque de dilution

Un volume de 198 µl / puits de 1% de (BSA ou PBS) ont été distribués dans chaque puits de plaques de microtitration à fond rond à 96 puits. Ensuite, 2 µl / puits du premier sérum ont été ajoutés aux deux premiers puits de la première colonne de la plaque pour obtenir un duplicata d'une dilution finale de sérum de 1/100. La même procédure a été répétée pour l'échantillon de 44 sérums suivant en chargeant les deux puits de plaque avec chaque sérum. Les 6 derniers puits de la dernière colonne ont été réservés respectivement au témoin (pas de sérum, seulement BSA ou PBS), au sérum témoin négatif (ELISA négatif, IDR négatif, absence de lésions tuberculeuses à l'abattoir), et au sérum témoin positif (ELISA positif, IDR positif, présence de lésions tuberculeuses à l'abattoir).

3.5.3.2. Préparation de la plaque de travail (plaque sensibilisée par l'Antigène)

Un volume de 100 µl de solution de travail a été distribué dans chaque puits d'une plaque ELISA de microtitrage à 96 puits à fond plat. La plaque a ensuite été recouverte d'un scellant pour plaques, enveloppée dans du papier aluminium et placée à 4 ° C pendant 24 heures.

Remarque : la plaque peut être conservée jusqu'à deux mois à 4°C.

3.5.4. Mode opératoire – réalisation du test ELISA

La plaque revêtue de (PPD ou ESAT-6) obtenue a été récupérée du réfrigérateur, puis la solution d'antigène a été secouée et la plaque a été lavée trois fois, chacune avec 200 µL / puits de solution de lavage, pour éliminer la (PPD ou ESAT-6) en excès. Ensuite, les sites libres non revêtus dans les puits de plaque ont été saturés en distribuant 100 µL / puits de solution de blocage de BSA (1%, 2%, 3%, 4% de BSA dans 0,1 M de PBS), et la plaque a été recouverte de scellant pour plaque et incubée à (4°C, 37 ° C, T° ambiante) pendant (60 min, 90 min, 180 min, ou toute la nuit). Par la suite, la plaque a été lavée trois à six fois comme décrit

précédemment en distribuant 200 µl de tampon de lavage PBS-T ou de PBS Dans chaque lavage. Après cela, 1/100 échantillons de sérum dilués dans (la BSA ou dans le PBS). Ont été ajoutés aux puits de plaque et la plaque a été couverte et incubée pendant 1 h à 37 ° C. Pour les contrôles sur plaque, aucun sérum (seulement BSA ou PBS) n'a été ajouté aux puits blancs, un sérum négatif (ELISA négatif, IDR négatif, absence de lésions de tuberculose dans l'abattoir) a été distribué dans les puits de contrôle négatifs et un sérum positif (ELISA présence positive, IDR positive, de lésions tuberculeuses dans l'abattoir) ont été ajoutées aux puits témoins positifs. Ensuite, trois à six étapes de lavage comme décrit ci-dessus ont été effectuées pour éliminer les anticorps non liés et l'excès de sérum. Dans une autre étape, 100 µL de la solution conjuguée (1/5000 anti-IgG-HPRO dilué dans du PBS 0,1 M, préparé juste avant son utilisation) (anti IgG anti bovine marqués à la peroxydase de raifort (HRP)) ont été ajoutés à chaque puits de la plaque ELISA et cette dernière a été incubée pendant 1 h à 37 ° C. Trois à six autres étapes de lavage ont été effectuées à nouveau pour éliminer les anticorps conjugués à la peroxydase non liés. Enfin, 100 µL / puits de la solution de substrat OPD préparée fraîche (préparée en dissolvant 10 mg OPD (1 comprimé) dans 25 ml de tampon citrate-phosphate puis en ajoutant, immédiatement avant utilisation, 10 Ml de peroxyde d'hydrogène à 30%) ont été ajoutée rapidement et la plaque a été recouverte d'un scellant pour plaques, enveloppée dans du papier aluminium et incubée dans l'obscurité pendant 3 minutes. Dans la dernière étape, la réaction a été arrêtée en ajoutant 50 µL / puits de H2SO4, solution d'arrêt 3 M (Figure 8) et la densité optique OD a été lue à la longueur d'onde 450 nm par un lecteur de plaque ELISA automatique (Figure 7).

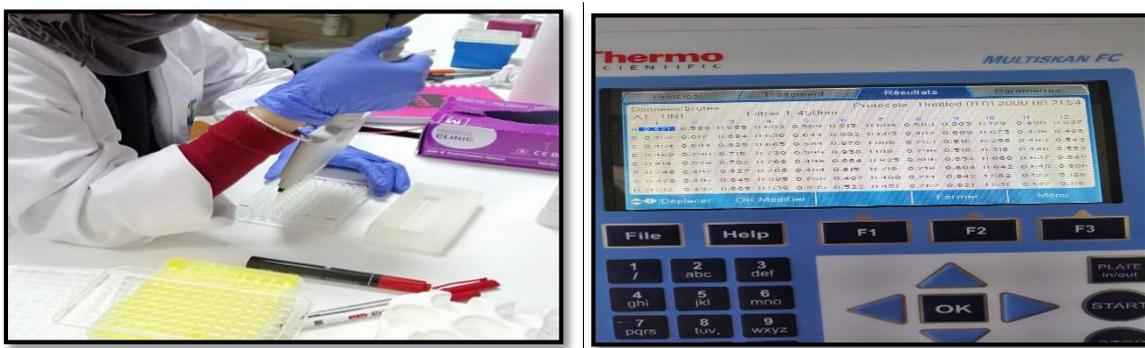


Figure 7 : (A gauche) Réalisation de la technique ELISA, (A droite) Lecture des plaques préparées dans un lecteur ELISA (photomètre à microplaque) (photo personnelle).

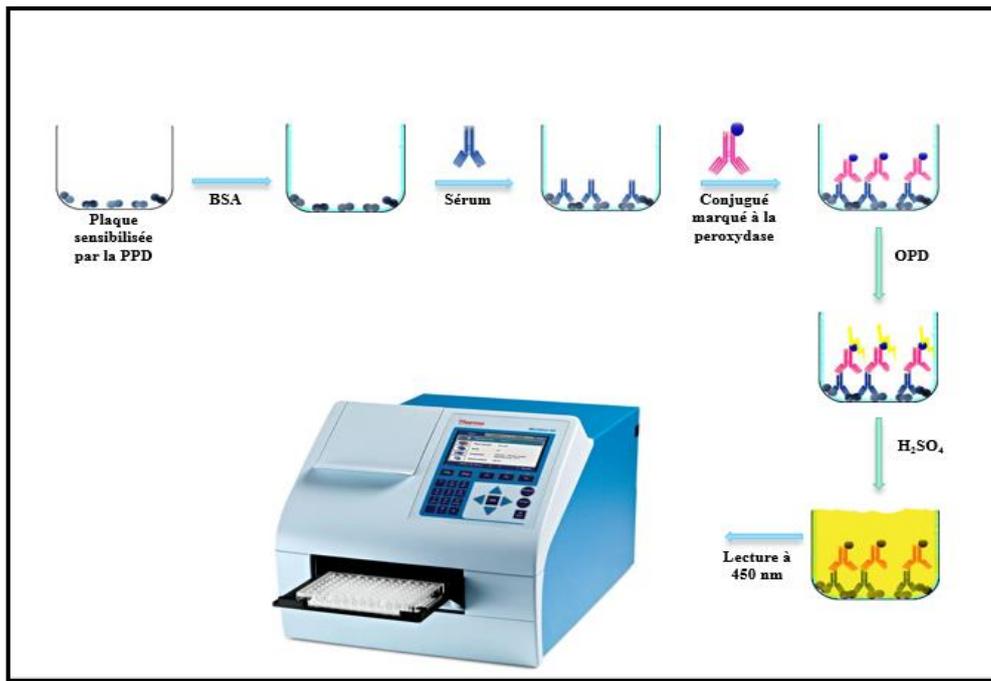


Figure 8 : les étapes de la PPD-ELISA (photo personnelle)

3.5.5. Calcul du seuil de positivité

Afin de déterminer le seuil de positivité de notre PPD-ELISA, les prélèvements sanguins prélevés en ante-mortem dans le pool de bovins indemnes de tuberculose (issus d'élevages sans tuberculose, abattus pour d'autres raisons que la tuberculose bovine (pour saisie, ou d'autres maladies) et n'ont montré aucun signe clinique de tuberculose, ont été criblés pour les anticorps contre les antigènes PPD. La moyenne arithmétique des valeurs de DO450 nm pour ces échantillons négatifs a été obtenue Selon la règle empirique (règle 68–95–99,7 ou règle des trois sigmas). On considère que 99,7% des valeurs de DO450 nm obtenues se situent à moins de trois écarts-types de la moyenne (Freund et *al.*, 2010 ; Gao et *al.*, 2016). Et les échantillons étaient considérés comme positifs si la $DO_{450nm} > \text{moyenne} + 3S.D$ (du pool négatif) (Felgner et *al.*, 2015).

Et pour confirmer notre seuil et valider nos résultats, les échantillons de sérum positifs prélevés sur les bovins destinés à l'abattage ont été testés avec la PPD-ELISA optimisée.

Partie B : Etude Epidémiologique : Séroprévalence et Facteurs de risques

1. Introduction

L'épidémiologie est selon Evans une étude quantitative des évènements dans lesquelles les processus pathologiques se sont développés dans les groupes de populations. Y compris les facteurs affectant leur distribution, leur incidence et la réponse de l'hôte.

L'élevage bovin en Algérie représente une source rentable d'une importance extrême pour le pays, avec une population locale qui oscille entre 60% et 80% de l'ensemble du cheptel. Et un nombre de têtes atteignant les 1843930 têtes en 2016 (DSA, 2019). Mais les programmes de surveillance et de lutte mis en place pour la tuberculose bovine rencontrent des lacunes, et un défaut de coopération entre les différents acteurs impliqués dans la lutte contre la maladie. La maladie reste largement négligée par l'ensemble des éleveurs et agriculteurs, qui sont non-conventionnés avec les services de dépistage de la maladie, ainsi que le non-contrôle ante-mortem des bovins dans les marchés à bétail. La tuberculose bovine n'est donc découverte ou suspectée que dans les abattoirs, et la surveillance sur le terrain n'est limitée qu'au test classique à la tuberculine (le dépistage par ce test n'est pas systématique), sans pour autant utiliser de la tuberculine comparative (CCT), qui malgré tout présente l'avantage de différencier entre les infections dus à *M. bovis* et celles dus à d'autres mycobactéries (Boukary et al., 2011). Il y'a aussi abattage des cas positifs, suivi d'une séquestration et désinfection des exploitations concernées, avec une tuberculination des restes des bovins 6 semaines après le dernier cas déclaré dans la même exploitation. Une caractérisation plus détaillée de la situation épidémiologique implique plusieurs étapes, dont la nécessité d'examiner les variations de la séroprévalence en fonction des caractéristiques géographiques et des modes d'emplois des différentes méthodes d'élevage.

L'Est algérien est une région fertile et propice à l'agriculture et à l'élevage. Elle contient de vastes zones de pâturages et de nombreux points d'eaux qui sont fréquentés en permanence par le bétail. Ces zones constituent des lieux de rassemblement où se côtoient en fortes densités des troupeaux de bovins d'origines parfois distantes. La tuberculose bovine étant une maladie qui se transmet par contact direct entre animaux ou lors de l'ingestion d'aliments contaminés, les contacts fréquents et répétés entre les bovins crée des conditions favorables à la propagation de la maladie (Faye et al., 2011). C'est des conditions qui permettent la dissémination de la maladie entre un animal sain et autre atteint (Dumont et al., 2018). Le mode d'élevage est

préssumé être largement responsable du maintien et de la propagation de la maladie à l'intérieur du pays et entre pays voisins (Masiga et *al.*, 1996). La compréhension de l'éco-épidémiologie de la tuberculose bovine au niveau de la région étudiée se considère comme une approche hautement importante, pour la mise en place d'un système de contrôle de la maladie à l'échelle nationale et internationale.

Les deux principaux objectifs de cette partie de notre travail est de déterminer les taux de séroprévalence de la Tuberculose bovine dans l'Est Algérien et les principaux facteurs influençant directement ou indirectement sur l'apparition et la dissémination de la maladie.

2. Enquête

2.1. Echantillonnage

Des échantillons de sérums ont été prélevés au niveau de trois régions de l'Est Algérien, sur une période de 12 mois.

2.1.1. Présentation des zones d'étude

L'Est de l'Algérie, et qui s'étend sur une superficie d'à peu près 106370 Km², couvre des régions à climat différent allant de aride à semi-aride, voir humide. Les trois régions étudiées se localisent dans la région steppique (M'sila) et la région des hauts plateaux pour (Constantine et Sétif). Représentant à peu près 26% du Nord Est de l'Algérie. Ces trois régions se caractérisent par un système d'élevage bovin semi-intensif dans la majorité des cas. Regroupant environ 10% du cheptel bovin Algérien. La majorité des exploitations laitières possèdent des élevages mixtes (vaches laitières et veaux d'engraissement).

La présente étude a été réalisée dans trois régions de l'Est Algérien, et qui sont : Sétif, M'sila et Constantine.

2.1.1.1. La wilaya de Sétif

La wilaya de Sétif est située dans le Nord Est de l'Algérie, avec une superficie de 6504Km², elle est située dans les hauts plateaux, et limitée par les wilayas suivantes : au nord par Bejaia et Jijel, à l'est par Mila, au sud par Batna et m'sila, et à l'ouest par bordj-Bou-Arredj, elle est caractérisée par un climat semi-aride sec et froid (A.N.I.R.E.F, 2019 ; D.P.S.B, Sétif, 2019). Des prélèvements ont été effectués dans la commune d'Ain Lahjar (Figure 9), situé à environ

26Km au sud de la ville de Sétif, avec une altitude de 903m, une latitude de 35°56' Nord et une longitude de 5°32' Est (D.P.S.B, Sétif, 2019).

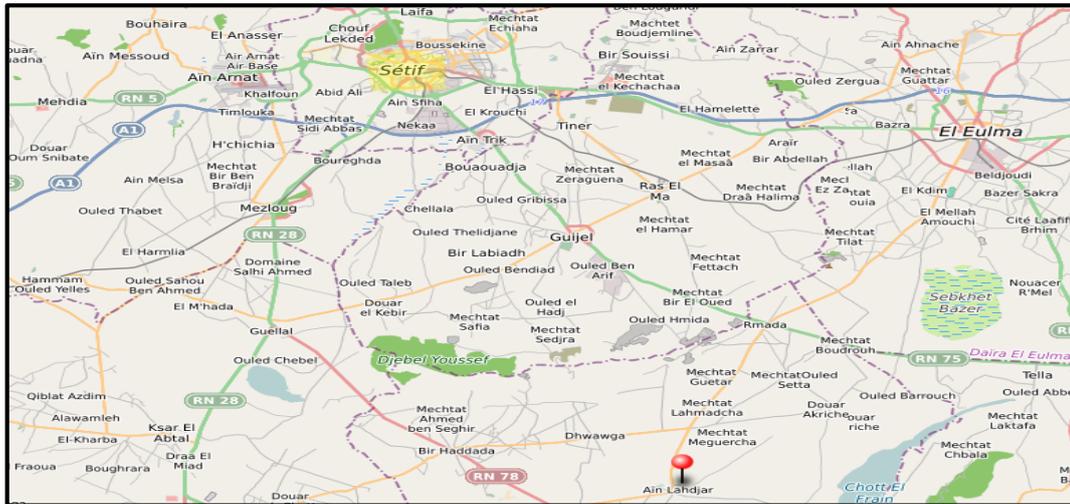


Figure 9 : Ferme visitée, wilaya de Sétif (Framacarte)

2.1.1.2. La wilaya de M'sila

La wilaya de M'sila est située à 250Km au sud-est du pays, s'étendant sur une superficie de 18718 Km², entre 35°18' Nord et 4°15' Est. Elle se caractérise écologiquement par une grande variété de milieux : entre le domaine semi-aride à subhumide au Nord de la wilaya et le domaine aride et sub-saharien au sud. Nos prélèvements ont été effectués dans les quatre coins de la wilaya, comme présenté dans la figure 10.

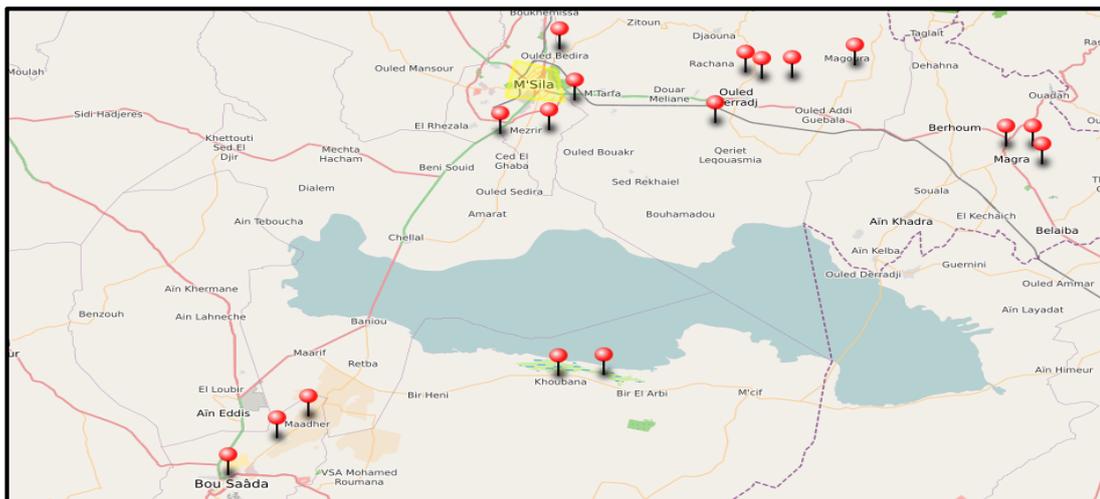


Figure 10 : différentes exploitations visitées wilaya M'sila (Framacarte)

2.1.1.3. La wilaya de Constantine

La wilaya de Constantine, située au Nord-Est de l'Algérie, sur l'atlas tellien, couvrant une superficie d'à peu près 222 910 hectares (DSA, 2019), caractérisée par un climat subhumide chaud, avec des températures variables allant d'une minimale de -6 C° en hiver jusqu'à des maximums de 47° C en été. Nos prélèvements ont été effectués au niveau de trois communes de la wilaya de Constantine, à savoir : Ali Medjeli, Elkhroub, et Ibn Ziyed (Figure 11).

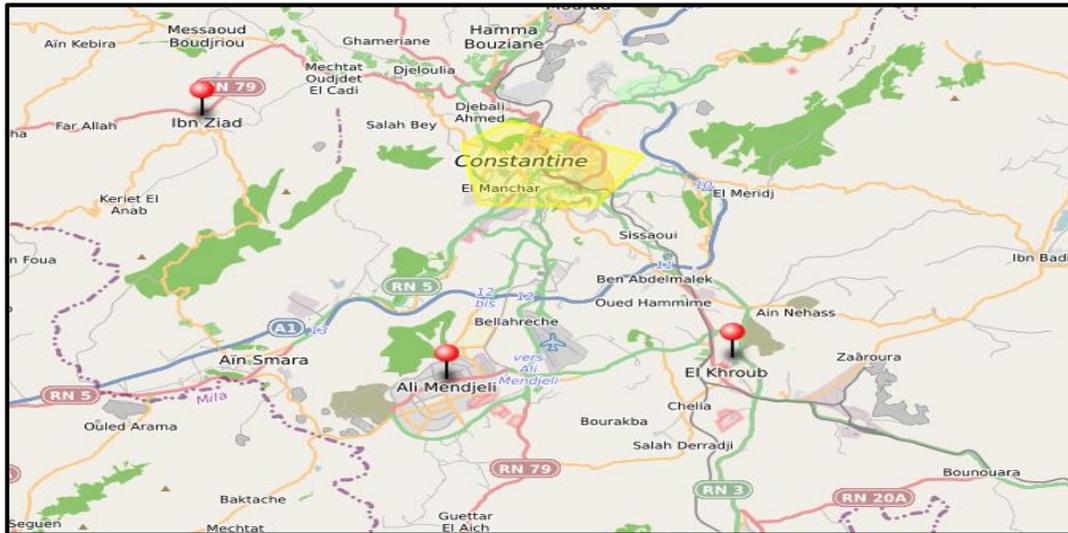


Figure 11 : différentes exploitations visitées wilaya de Constantine (Framacarte)

2.1.2. Formule de calcul de la taille d'échantillon

La taille minimale de l'échantillon (nombre de bovins) a été estimée à 383 en utilisant la formule suivante :

$$n = t^2 \times p \times (1-p) / m^2$$

- **n** : Taille d'échantillon minimale pour l'obtention de résultats significatifs pour un événement et un niveau de risque fixé.
- **t** : Niveau de confiance (la valeur type du niveau de confiance de 95 % sera 1,96).
- **p** : proportion estimée de la population qui présente la caractéristique.
- **m** : Marge d'erreur ou intervalle de confiance (IC) (généralement fixée à 5 %).

2.2. Analyse statistiques des datas

2.2.1. Logiciel R (Version 3.6.1)

Nous avons utilisé le logiciel R dans notre étude dans le but principal de sélectionner les variables significativement associées à la séroprévalence de la tuberculose bovine dans les régions étudiées.

2.2.2. SIG (un système d'information géographique)

C'est un système informatique qui nous a permis en combinaison avec Google Maps de réaliser l'assemblage et l'organisation de diverses sources, ainsi que l'analyse et présentation cartographique de diverses informations localisées géographiquement, tout en contribuant à la gestion de l'espace. C'est un système qui permet un stockage adéquat et définitif, et de fournir des plans adaptés pour la prévention des simulations (Thierry, 1996).

2.2.3. WinEpiscope (calcul prévalence)

C'est un progiciel informatique épidémiologique, nous l'avons utilisé dans l'analyse de notre enquête de terrain. Il est utilisé aussi dans les études d'observations. Basé sur Microsoft Windows et un modèle mathématique simple.

2.2.4. SurveyMonkey (Logiciel de calcul de l'échantillon)

C'est un site de sondage en ligne : <https://fr.surveymonkey.com/mp/sample-size-calculator/>

3. Méthodes d'étude

3.1. Echantillonnage de terrain

On a fait un échantillonnage aléatoire stratifié sur deux niveaux : le premier niveau était la zone de pâturage où se trouvent les exploitations, et le second les exploitations en elles-mêmes (Figure 12).

3.1.1. Choix des fermes (la zone de pâturage où se trouvent les exploitations)

La population étudiée était constituée de fermes de plus de 10 têtes de bétail, situées dans l'Est de l'Algérie. Une base d'échantillonnage regroupant toutes les zones de pâturage de la région de l'Est de l'Algérie a été établie. De plus, une stratification sur la distance séparant la zone de

pâturage du centre de la ville a été réalisée afin d'améliorer la représentation de l'échantillonnage. Deux strates ont ainsi été définies, la strate 1, les zones de pâturage qui étaient dans un rayon de 20 km, et dans la strate 2 les zones de pâturage qui étaient dans un rayon de 20 à 40 km. Soixante parcelles de pâturage réparties dans les deux strates ont été identifiées : 43 dans la première et 17 dans la seconde. Un tirage au sort a été effectué avec un taux d'échantillonnage identique dans chaque strate. Dans chaque parcelle sélectionnée, une ou deux fermes (selon la taille du site) ont été choisies par échantillonnage aléatoire simple (sélection), en utilisant un système de loterie tel que décrit par Munyeme et *al* (2008).

3.1.2. Echantillonnage des bovins au niveau des exploitations

La population étudiée concernait les animaux âgés de 6 mois ou plus. Les animaux plus jeunes, qu'ils soient mâles ou femelles, ont été exclus de cette étude en raison de leur faible impact sur l'épidémiologie de la maladie (statut immunitaire très faible), et les bovins soumis à un test cutané de tuberculination ont également été exclus de cette étude. Tous les animaux des troupeaux sélectionnés qui répondaient aux critères d'inclusion ont été retenus.

Le nombre d'échantillons dans chaque ferme a été déterminé en divisant le nombre total des échantillons en fonction de la taille des fermes, préalablement sélectionnées comme décrit ci-dessus. Au niveau de la ferme, les bovins ont été trouvés précédemment étiquetés par le propriétaire dans leurs oreilles (chaque vache a un numéro unique) afin qu'ils puissent être facilement identifiés. Après cela, les animaux ont été organisés au hasard dans un tableau (de 1 à N = nombre total de bovins dans la ferme). Enfin, les échantillons ont été sélectionnés dans le tableau en générant des nombres aléatoires choisis entre 1 et N (sans remplacement) sur l'ordinateur à l'aide d'un générateur de nombres aléatoires.



Figure 12 : des exploitations visitées durant la période d'étude (photo personnelle)

3.2. Test Tuberculique et diagnostic sérologique

3.2.1. Prélèvement de sang et intradermoréaction

Ils ont été réalisés comme décrit précédemment dans la partie (A).

3.2.2. Diagnostic Sérologique (la PPD – ELISA)

Le test a été réalisé après son optimisation comme détaillé dans la partie (A) :

Après la préparation de la plaque d'ELISA sensibilisée par l'Antigène, la plaque est lavée avec la solution de lavage. Ensuite, les puits de plaque ont été saturés avec la solution de blocage puis incubée. Après un Lavage, suivi de l'ajout du sérum dilué dans chaque puits et incubation pendant 1 h à 37 ° C. un autre lavage puis ajout de la solution du conjuguée, suivi d'une incubation pendant 1 h à 37 ° C. lavage puis l'ajout de la solution de substrat OPD préparée immédiatement avant utilisation, la plaque est ensuite incubée dans l'obscurité pendant 3 minutes. La réaction a été arrêtée par la solution d'arrêt (H₂SO₄), la densité optique OD a été lue à la longueur d'onde 450 nm en utilisant un lecteur de plaque ELISA automatique.

3.2.3. Calcul de la séroprévalence

La prévalence d'une maladie est un indice de morbidité qui se définit comme étant le nombre de cas atteints par la maladie divisé par la population totale à un temps donné. Permettant ainsi d'estimer la probabilité qu'un sujet soit atteint de la maladie à un moment précis (Sbai-Idrissi et al., 2002).

Peu de données ont été rapportées sur la prévalence de la tuberculose bovine en Algérie, sauf quelques études comme celles de Boulahbal et al 1978, Berg et al en 2010 et celle de Sahraoui et al en 2008, 2009, et 2011. Très peu de données sur La séroprévalence sérologique individuelle de la tuberculose bovine existent, on ne dispose d'aucune donnée certifiée et valide par une étude consistante et crédible dans la littérature scientifique concernant cette pathologie dans notre pays. Notre étude a été une première en Algérie, touchant trois régions de l'Est Algérien.

$$\text{Séroprévalence} = \frac{\text{nombre d'animaux infectés}}{\text{nombre total des animaux}} \times 100$$

3.3. Les facteurs de risques

3.3.1. Enquête et collecte des données

Une enquête inférentielle transversale prospective a été réalisée. Les données épidémiologiques propres aux animaux, à la ferme et à d'autres facteurs associés ont été collectées à l'aide d'un questionnaire épidémiologique de terrain mis en place (Annexe), rédigé en français et transmis oralement en langue locale « arabe » par des entretiens (face à face) avec les propriétaires concernés pour une amélioration de la précision des données collectés.

Notre enquête s'est basée sur trois grands axes de facteurs de risques :

3.3.1.1. Facteurs propres à l'animal

Il existe des facteurs propres à l'animal très susceptibles de maintenir la propagation de la maladie chez le bétail, de par le rôle de leurs origines, ainsi que leur état individuel ou du groupe. Pour les déterminer, on a entrepris les variables suivantes :

« Âge », « Sexe », « Animaux achetés dans un pays répertorié comme non OTF », « Animaux loués ou prêtés ou empruntés ES », « Nourriture supplémentaire fournie au pâturage », « Présence d'au moins un bâtiment commun pour le bétail et le stockage d'aliments pour animaux », « Nombre d'animaux détenus en copropriété au cours de la période d'étude », « Zone d'intersections spatiale dans une zone tampon autour de 3m pâturages des troupeaux et pâturages voisins « à risque » troupeaux de bovins à la date de référence », « Au moins un animal a gardé le pâturage tout au long de l'année au cours de la période d'étude », « Taille du troupeau à la date de référence ».

3.3.1.2. Facteurs propre à la ferme

L'exploitation se considère comme étant l'environnement de base pour les animaux, surtout dans les élevages intensifs. Donc l'exploration d'une structure adéquate et des instructions d'élevage bien établies a été faite via quelques variables dans notre étude :

« Type d'élevage », « Source d'achat alimentaire contrôlé », « Type de transport d'animaux Propre camion / Camion de commerce collectif », « Clôture de séparation efficace entre les troupeaux », « Présence d'autres espèces domestiques en contact direct ou indirect avec le bétail », « Supplémentation en sel sur le pâturage E », « Présence de bâtiments agricoles dans différents lieux géographiques », « zone d'intersection spatiale dans une zone tampon autour de 3 m pâturages des troupeaux et pâturages des troupeaux de bovins voisins à la date de référence », « Présence de chèvres à la ferme au cours de la période d'étude », « Présence de chat ou des chiens à la ferme au cours de la période d'étude », «Présence de chevaux à la ferme au cours de la période d'étude», « Présence de conteneur pour les pierres de lèche durant la période d'étude ».

3.3.1.3. Facteurs propres aux points de partage (au pâturage)

Le pâturage se considère comme la surface où beaucoup d'animaux peuvent rentrer en contact directe ou indirecte, le voisinage ou la présence de point de partage entre des animaux ou des fermes de différentes régions est considéré comme un paramètre d'augmentation des risques de transmission de la tuberculose bovine chez le bétail, parmi les variables entrepris et étudiées dans ce contexte dans notre étude on a :

« Partager un point d'eau commun avec un autre troupeau de bovins », « Équipement en copropriété avec d'autres éleveurs de bovins », « Echanges de parcelles de pâturage avec les voisins », « Au moins une parcelle de pâturage louée à un autre éleveur de bétail », « Présence de points d'alimentation au sol communs dans le pâturage », « La diversité des troupeaux voisins : la probabilité que deux pâturages voisins appartiennent au même troupeau à la date de référence », «le partage d'un point d'eau au pâturage avec un «à risque» troupeau de bovins au cours de la période d'étude », « Présence de mangeoires communes au pâturage pendant la période d'étude », « Présence de creux au pâturage pendant la période d'étude », « La présence de mangeoires veau au pâturage pendant la période d'étude », « Présence de racks au pâturage pendant la période d'étude ».

3.3.2. Prédiction et analyse préliminaire de l'influence des principaux facteurs de risques

En nous appuyant sur nos connaissances des pratiques de formation et de conduite des troupeaux à travers le pays, et sur l'expérience d'autres pays, selon ce qui est instauré dans la littérature scientifique, nous pouvons établir un nombre de prédiction concernant les facteurs de risques qui influencent sur la variations de la prévalence de la tuberculose bovine . Ces prédictions reposent essentiellement sur les hypothèses que la mobilité des troupeaux favorise la diffusion spatiale de la tuberculose bovine et que les rassemblements de bétail en fortes densités favorisent également l'apparition de foyer localisés. Mais surtout le type d'élevage et les comportements des éleveurs de bétails qui jouent un rôle important dans ce contexte.

3.3.2.1. Variabilités liées à la géographie

Les caractéristiques agro-climatiques déterminent la distribution spatiale des pâturages et des points d'eau qui conditionnent à leur tour les déplacements et les regroupements des troupeaux. En particulier, on constate sur le terrain que les déplacements des animaux sont étroitement liés aux rythme des crues et décrues des régions incluses dans cette enquête, et à la densité des fourrages sur les pâturages disponibles. Les régions de m'sila différentes sensiblement du point de vue des caractéristiques agro-paysagères et par conséquent du point de vue des facteurs de risques de déplacement du bétail. Les animaux de la région de M'sila effectuent essentiellement des déplacements pour atteindre les zones fourragères aménagées. Il en résulte un regroupement momentané des groupes d'animaux de toutes les fermes sur ces pâturages aménagés. Il est cependant possible parfois de rencontrer des troupeaux de M'sila dans la région des haut plateaux (Sétif, Constantine) mais presque jamais les animaux des haut plateaux dans la région de M'sila. Ce constat nous pousse à effectuer cette enquête afin de voir s'il y a vraiment une variation de la séroprévalence de la tuberculose bovine à travers ces trois régions de l'Est algérien, et surtout de déterminer quels sont les facteurs de risque qui influencent ces variations de séroprévalence de cette pathologie bovine. Une investigation préliminaire des variations géographique de la proportion.

3.3.2.2. Variabilités liées à la taille des troupeaux et la pratique d'élevage

3.3.2.2.1. Influence de la taille du troupeau

L'influence de la taille du troupeau sur la prévalence est difficile à prédire. Il faut tout d'abord distinguer l'influence de la taille du troupeau sur la probabilité d'introduction du *Mycobacterium bovis* dans le troupeau et l'influence de la taille du troupeau sur la propagation de cette bactérie au sein du cheptel bovin. La probabilité d'introduction de la bactérie dans un troupeau pourrait augmenter avec la taille du troupeau. En effet, la probabilité qu'au moins un animal d'un troupeau rentre en contact avec un animal infecté d'un autre troupeau devrait augmenter avec la taille du troupeau. Les modèles théoriques de dynamique épidémiologiques suggèrent que l'influence de la taille du troupeau sur la propagation de la bactérie au sein d'un troupeau est liée à l'influence de la taille du troupeau sur le nombre de contacts avec des animaux infectés du même troupeau qu'un animal susceptible subit au cours d'une unité de temps (McCallum et al., 2001). Si les troupeaux de grande taille sont élevés à de plus fortes densités (i.e. plus grand nombre d'animaux par unité de surface) que les troupeaux de petite taille, ce nombre de contact devrait augmenter avec la taille du troupeau. La transmission est alors qualifiée de densité dépendante (i.e le taux de transmission varie en fonction de la densité d'animaux infectés) et on s'attend à observer une relation positive entre la prévalence sérologique d'un animal et la taille du troupeau dont cet animal est issu. Ce type de transmission a été utilisé par Lesnoff et al (2002) pour construire un modèle conceptuel de la diffusion de la pathologie au sein d'un troupeau homogène. A contrario, si les densités sont identiques dans les troupeaux de grande taille et de petite taille, le nombre de contact avec des animaux infectés qu'un animal susceptible subit au cours d'une unité de temps devrait être identique dans les troupeaux de grande et de petite taille. La transmission est alors qualifiée de fréquence dépendante (i.e le taux de transmission varie en fonction de la fréquence des animaux infectés) et on s'attend à ne pas observer de relation entre la prévalence sérologique d'un animal et la taille du troupeau dont cet animal est issu. Ce type de transmission a été utilisé par Mariner et al., (2006a) pour modéliser la dynamique épidémiologique au sein de grands troupeaux homogènes. Ces modèles théoriques de diffusion d'une pathologie au sein de troupeaux homogènes suggèrent donc que si la densité des troupeaux est proportionnelle à leur taille, la prévalence devrait être plus élevée dans les troupeaux de grande taille. D'autres modèles se sont intéressés aux dynamiques épidémiologiques dans des populations structurées en sous-populations. Dans ce type de modèle, les contacts au sein de chaque sous population sont plus

fréquents que les contacts entre sous populations. Ces modèles sont susceptibles de représenter de manière plus réaliste la situation rencontrée dans ces régions de l'Est algérien où le cheptel bovin est structuré en un ensemble de troupeaux qui sont mis en un contact plus ou moins fréquent et avec une intensité plus ou moins élevée. Le modèle proposé par Mariner et *al.*, (2006b) est particulièrement intéressant puisqu'il est paramétré spécifiquement pour représenter la dynamique épidémiologique de la tuberculose bovine. D'après ce modèle, dans une population structurée en troupeaux, la probabilité d'infection d'un troupeau à une date quelconque présente une relation positive avec la taille du troupeau. On s'attend donc à observer dans de telles populations une relation positive entre la prévalence sérologique d'un animal et la taille du troupeau dont cet animal est issu.

Une investigation préliminaire des variations de la proportion d'animaux positifs dans notre échantillon en fonction de la taille des troupeaux suggère que la proportion des séropositifs est identique dans les grands et les petits troupeaux dans les régions étudiées situées à l'Est algérien. En revanche la proportion d'animaux séropositifs semble plus importante dans les petits troupeaux que dans les grands troupeaux dans les deux régions de m'sila et Constantine. Ce patron ne correspond à aucune des prédictions issues des modèles mentionnés ci-dessus (Figure 13). Ceci illustre la difficulté à prédire l'influence de la taille du troupeau. Il suggère que dans la région de m'sila les troupeaux de petites taille ont plus de contacts avec d'autres troupeaux que les troupeaux de grande taille (et donc une probabilité d'introduction de *Mycobacterium bovis* plus forte) et/ou que les troupeaux de petite taille sont élevés en plus forte densité que les troupeaux de grande taille (i.e. plus fort taux de transmission intra-troupeau). En plus de la présence de d'autres facteurs qui influencent ces variations de prévalence d'un endroit à un autre.

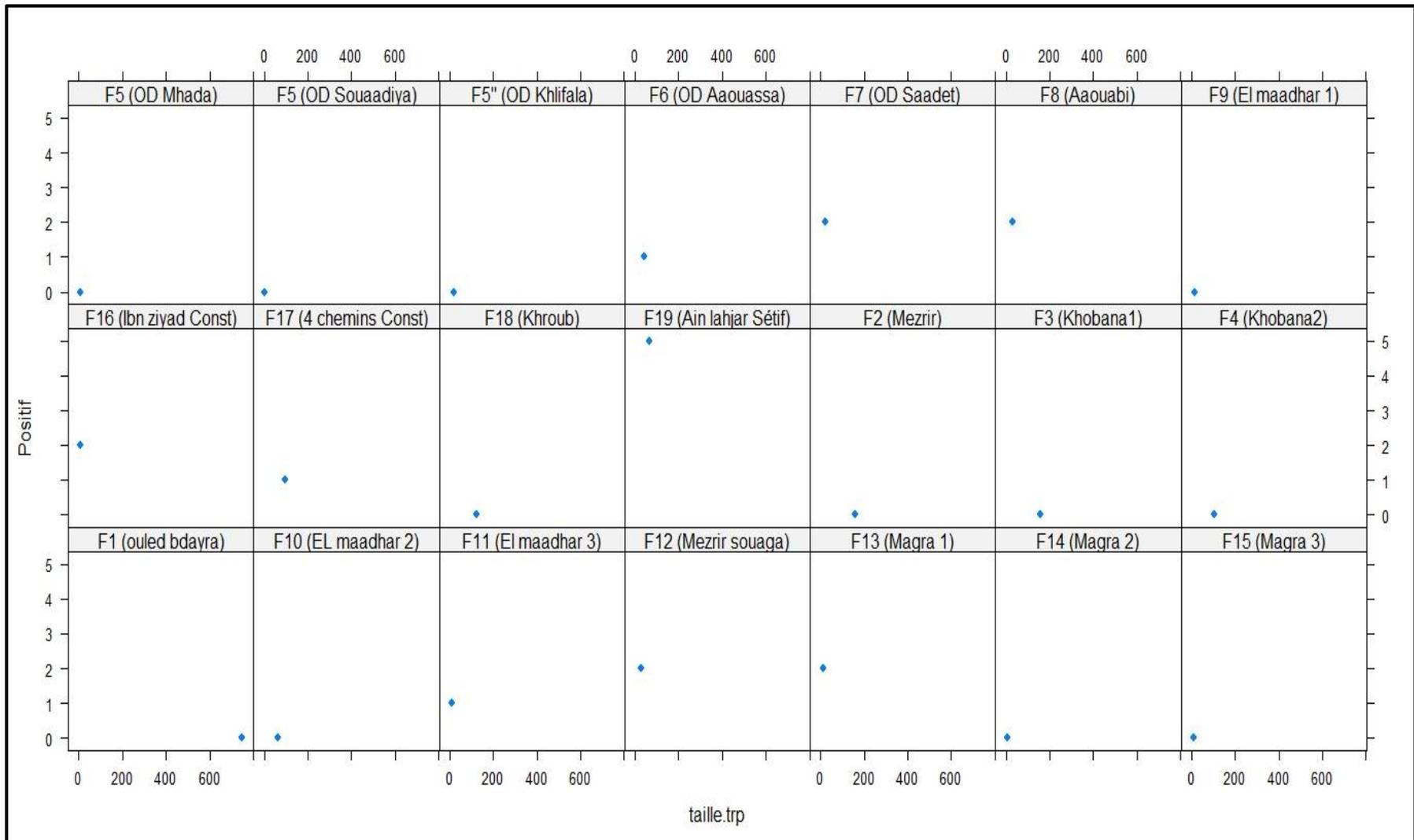


Figure 13 : la distribution des proportions d’animaux séropositifs dans l’ensemble des fermes des trois régions de l’Est Algérien.

3.3.2.2.2. Influence de la pratique d'élevage

Intuitivement et d'après les modèles présentés par Mariner *et al.*, (2006b), la probabilité d'infection d'un troupeau devrait présenter une relation positive avec le taux de contact entre ce troupeau et d'autres troupeaux. Les pratiques d'élevage sont les principaux déterminants des taux de contact entre troupeaux. En particulier, il semble évident que les troupeaux non contrôlés « Non OTF » ont plus de contact avec d'autres troupeaux que les troupeaux sédentaires. C'est la raison pour laquelle le bétail non contrôlé est suspecté être largement responsable du maintien et de la propagation de la maladie à l'intérieur du pays et entre les pays voisins en Afrique (Provost *et al.*, 1987, Masiga *et al.*, 1996). Nous prédisons donc une plus forte prévalence sérologique chez les animaux issus de troupeaux non contrôlés « Non OTF » que chez les animaux issus de troupeaux sédentaires. Pour prouver un tel constat, nous procédons dans cette étude à une modélisation logistique multi variée et mixte (GLMM), et ceci dans un but de dévoiler quels sont les facteurs de risque qui interviennent dans les variations de ces prévalences d'une région à une autre dans l'Est algérien.

3.3.3. Analyse statistiques et stratégie d'analyse (modélisation statistique)

L'exploration préliminaire des patrons (facteurs de risques) de variation de la prévalence n'est pas suffisante pour tirer des conclusions solides, et ceci pour plusieurs raisons. Elle ne permet pas d'évaluer les effets des variables considérées les unes en présence des autres, et non d'établir la significativité statistique des effets testés, elle ne permet pas aussi de quantifier et de tenir compte des phénomènes d'agrégation des animaux de statut sérologique similaire. C'est pourquoi nous avons entrepris une modélisation statistique rigoureuse des variations de la prévalence sérologique dans notre échantillon.

3.3.3.1. Distribution géographique (spatiale) de la séroprévalence

Afin de bien visualiser la répartition spatiale de la séroprévalence de la tuberculose bovine dans l'Est de l'Algérie, nous avons adopté une méthode d'analyse par système d'information géographique (SIG), basée sur la base de données (Google Maps) grâce au Package LeafletR (Graul, 2016) du logiciel R (R Core Team, 2019).

3.3.3.2. Le Test-t de student

C'est un test statistique permettant de faire une comparaison entre les moyennes de deux groupes d'échantillons, et voir si la différence est statistiquement significative. Il existe plusieurs variantes pour ce test :

- Le test-t de student pour un seul échantillon.
- Un test-t de student non apparié : pour une comparaison entre deux échantillons indépendants.
- Un test-t de student apparié : pour une comparaison entre deux échantillons dépendants.

Dans cette partie de notre étude on a utilisé le test-t student non-apparié afin de comparer les moyennes observées de groupes d'échantillons sans aucun lien. Et savoir si la différence est significative statistiquement. Et ceci en évaluant la valeur absolue t, si cette dernière est supérieure à la valeur critique (risque alpha = 5%), alors la différence est significative, dans le cas contraire la différence n'est pas significative.

Donnant un exemple de deux groupes, le test-t student est calculé comme suit :

$$t = \frac{m_A - m_B}{\sqrt{\frac{s^2}{n_A} + \frac{s^2}{n_B}}}$$

A et **B** : deux groupes différents à comparer

m_A et **m_B** : la moyenne du groupe A et du groupe B respectivement

n_A et **n_B** : la taille des deux groupes

S² est la variance commune aux deux groupes. On l'a calculé selon la formule suivante :

$$S^2 = \frac{\sum (x - m_A)^2 + \sum (x - m_B)^2}{n_A + n_B - 2}$$

3.3.3.3. Variance des effets aléatoires – Sélection des variables associées à la séroprévalence – bivarié chi² test

Pour les maladies contagieuses en générale et la tuberculose bovine en particulier, on s'attend à observer d'importantes variations de la prévalence entre les troupeaux surtout à une échelle géographique localisée comme les fermes. Un premier objectif de cette modélisation statistique

est de quantifier ces variations. Pour se faire, on utilise des « effets aléatoires » dans le modèle. Dans notre étude, on considère les effets aléatoires dans les troupeaux et à une échelle plus large au niveau des fermes qui représentent la plus petite représentation administrative dans les régions. Grâce à ces effets aléatoires, il est possible de quantifier la variance entre troupeaux et entre fermes au niveau de chaque région de la zone d'étude, l'objectif étant de déterminer les niveaux d'agrégation. En effet, l'agrégation induit une interdépendance du statut sérologique entre animaux appartenant au même troupeau ou à la même ferme. Si l'on ne tient pas compte de cette interdépendance, on surestime le nombre d'unités statistiques indépendantes les unes des autres et les tests des effets fixes sont anti conservateurs, c'est-à-dire que l'on a tendance à retenir des effets fixes non significatifs.

La quantification des variations de la prévalence entre troupeaux et entre communes se fait par l'estimation des écart-type (ρ) (i.e. la racine carrée de la variance (ρ^2)).

Tableau 1 : les facteurs de risques retenus pour l'analyse statistique maximale

Les Facteurs de risque	
Age	Non / Oui
Sexe	Femelle /male
Type d'élevage (Extensif / Intensif)	Extensif/intensif
Animaux achetés dans un pays répertorié comme non OTF	Oui / Non
Source d'achat alimentaire contrôlé	Oui /Non
Type de transport d'animaux Propre camion / Camion de commerce collectif	Oui /Non
« Animaux loués ou prêtés ou empruntés ES »	Oui /Non
Echanges de parcelles de pâturage avec les voisins	Oui /Non
Partager un point d'eau commun avec un autre troupeau de bovins	Oui /Non
Clôture de séparation efficace entre les troupeaux	Oui /Non
Équipement en copropriété avec d'autres éleveurs de bovins	Oui /Non
Au moins une parcelle de pâturage louée à un autre éleveur de bétail	Oui /Non
Présence d'autres espèces domestiques en contact direct ou indirect avec le bétail	Oui /Non
Nourriture supplémentaire fournie au pâturage	Oui /Non
Supplémentation en sel sur le pâturage E	Oui /Non
Présence de points d'alimentation au sol communs dans le pâturage	Oui /Non
Présence de mangeoires communes au pâturage	Oui /Non
Présence de bâtiments agricoles dans différents lieux géographiques	Oui /Non
Présence d'au moins un bâtiment commun pour le bétail et le stockage d'aliments pour animaux	Oui /Non
	Oui /Non

3.3.3.4. GLMM (modèle mixte linéaire généralisé)

La variable dont on souhaite décrire les variations est la probabilité d'un résultat positif aux tests sérologiques ELISA utilisés sur les échantillons. Pour ce type de variable à expliquer, on a utilisé un modèle linéaire généralisé dans lequel la distribution sous-jacente est une distribution binomiale et la fonction de lien est la fonction logis. Etant donné que le modèle statistique que l'on va utiliser contient des effets aléatoires et des effets fixes, on a utilisé un modèle linéaire généralisé mixte (GLMM).

C'est un modèle de logiciel de calculs statistiques de régression linéaire. Le modèle linéaire comprend généralement des composants systématiques et aléatoires (Nelder et Wedderburn, 1972). C'est une combinaison entre deux types d'extension de modèles linéaires classiques ; les modèles linéaires généralisés (GLM) pour élargir l'ensemble des lois étudiées (considérées), et les modèles linéaires mixtes (LMM) conçu pour l'introduction d'effet aléatoire dans la partie explicative du modèle (Lavergne et Trottier, 2000).

3.3.3.5. Le Test HL = le test de Hosmer-Lemeshow

C'est un test statistique pour l'évaluation de la qualité de l'ajustement pour les modèles de régression logistique. C'est fréquemment utilisé dans les modèles de prévision des risques. C'est un test très utilisé, en raison de sa simplicité d'interprétation, sa facilité d'utilisation ou de mise en œuvre et son adoption généralisée par les progiciels statistiques connus (Paul et *al.*, 2012).

3.3.3.6. Le modèle maximal

Le modèle maximal inclut en plus des effets aléatoires importants, les effets fixes de toutes les variables explicatives susceptibles d'influencer la prévalence sérologique. Dans cette partie de notre étude, ces variables explicatives sont en nombre de 34 facteurs de risques (voir Annexe). Ce modèle maximal est le même pour les Trois régions mais est ajusté indépendamment pour chacune des régions.

A) Une fois le modèle maximal construit, on a commencé par examiner son ajustement aux données. La première étape était l'évaluation de la nécessité d'intégrer les effets aléatoires au modèle. Pour se faire, on a déterminé l'ajustement du modèle aux données lorsque le modèle ne contient aucun effet aléatoire et l'ajustement du modèle aux données, lorsque les effets aléatoires sont inclus. Le test utilisé établit la probabilité d'observer les données sous

l'hypothèse que le modèle représente la réalité. Lorsque la p-valeur est très faible, la probabilité d'observer les données sous l'hypothèse que le modèle représente la réalité est très faible et le modèle est par conséquent mal ajusté aux données. Lorsque la p-valeur est forte, la probabilité d'observer les données sous l'hypothèse que le modèle représente la réalité est forte et le modèle est par conséquent bien ajusté aux données. Dans notre cas on a utilisé Le test d'Hosmer-Lemeshow (HL) qui n'était pas significatif avec un $p = 0,668$, sans mettre en évidence un manque d'adéquation du modèle avec les données.

B) L'étape suivante consistait à vérifier que tous les effets aléatoires sont bien nécessaires dans le modèle maximal. En effet, l'algorithme qui permet d'ajuster le modèle est plus performant lorsque seul les effets aléatoires importants sont inclus dans le modèle. Pour évaluer la significativité des effets aléatoires on a utilisé un test du rapport de vraisemblance. Une p-valeur faible indique que l'effet aléatoire est significatif, une p-valeur forte indique que l'effet aléatoire n'est pas significatif (p -valeur < 0.05).

C) Une fois le modèle maximal identifié et ajusté aux données, on a construit tous les modèles emboîtés dans le modèle maximal (i.e. les modèles obtenus en éliminant un ou plusieurs effets fixes du modèle maximal) et on a sélectionné parmi ces modèles, le modèle minimal adéquat, c'est-à-dire le modèle qui ne contient que les effets fixes importants. Pour se faire on a comparé tous les modèles emboîtés dans le modèle maximal à l'aide du critère d'information d'Akaike (AIC), Ce critère permet d'identifier le modèle qui présente le meilleur compromis entre complexité (i.e. nombre de paramètres) et ajustement aux données.

C'est-à-dire qu'il permet de sélectionner le modèle qui explique le plus de variation dans les données avec le moins de paramètres possibles. Le meilleur modèle est celui qui a le plus faible AIC. Plus l'AIC est petit, meilleur est le modèle.

D) Afin de confirmer la significativité statistique des effets sélectionné par l'AIC, nous avons finalement calculé des p-valeur pour chaque effet inclus dans les modèles sélectionnés par l'AIC. Ces p-valeur ont été déterminés par la méthode du bootstrap paramétrique. Etant donné un modèle et un effet inclus dans ce modèle et dont on veut déterminer la significativité statistique, cette méthode consiste à simuler un grand nombre de fois (on a choisi de le faire 5000 fois) les valeurs de la variable à expliquer (nombre d'animaux positifs) sous l'hypothèse que les données ont été générées par le modèle n'incluant pas l'effet dont on souhaite déterminer la significativité statistique, c'est-à-dire sous l'hypothèse que cet effet est inexistant. Ce dernier modèle est qualifié de modèle nul, alors que le modèle contenant la variable dont on souhaite évaluer la significativité est qualifié de modèle alternatif. On a ajusté à chaque jeu de

données simulé le modèle nul et le modèle alternatif. Puis, pour chaque jeu de donnée simulé, on a évalué l'écart d'ajustement aux données entre ces deux modèles. Cet écart d'ajustement a été évalué par la différence de déviance entre le modèle nul et le modèle alternatif (équivalent au rapport de vraisemblance). Etant donné que l'on a simulé un grand nombre de fois les données sous le modèle nul, on obtient un grand nombre de valeurs possibles de l'écart d'ajustement entre le modèle nul et le modèle alternatif lorsque le modèle nul représente la réalité et le modèle alternatif est faux. Ces valeurs permettent d'approximer la distribution de l'écart d'ajustement entre le modèle nul et le modèle alternatif lorsque le modèle nul ne représente la réalité et le modèle alternatif est faux. Pour obtenir la p-value de l'effet ciblé, il nous a suffi de comparer l'écart d'ajustement entre le modèle nul et le modèle alternatif obtenu lorsque ces deux modèles sont ajustés aux données observées à la distribution de cet écart d'ajustement sous l'hypothèse nulle, approximée, comme expliqué plus haut par le calcul de cet écart dans un grand nombre de jeux de données simulés sous le modèle nul. Si l'écart observé est grand lorsqu'il est rapporté à la distribution de l'écart attendu sous le modèle nul, on en conclut qu'il est peu probable d'obtenir cette valeur de l'écart d'ajustement dans un cas où le modèle nul correspond à la réalité, et par conséquent, on conclut que le modèle alternatif est le plus probable étant donné les données observées et donc que l'effet cible a une influence significative. A contrario, si l'écart observé se situe dans la norme de la distribution de l'écart attendu sous le modèle nul, on en conclut que cette valeur est plausible dans un cas où le modèle nul correspond à la réalité, et par conséquent, que l'effet cible n'a pas une influence significative. Plus précisément, la significativité est exprimée par une p-valeur qui est la proportion des valeurs d'écart d'ajustement entre modèle nul et alternatif simulés sous le modèle nul qui sont supérieurs à l'écart d'ajustement entre modèle nul et alternatif obtenu avec les données observées. Si cette p-valeur est inférieure à 5% (moins de 5% des écarts d'ajustement simulés sous le modèle nul sont supérieurs à l'écart d'ajustement obtenu avec les données observées) on considèrera que l'effet cible est significatif.

E) Une fois qu'a été défini le modèle minimum adéquat qui ne contient que des effets statistiquement significatifs, on peut représenter les variations de la prévalence sérologique à partir des paramètres estimés dans ce modèle. Ces estimations et leurs intervalles de confiance ont été encore une fois obtenus par une méthode bootstrap paramétrique. A chaque itération, cette méthode consiste à effectuer un tirage aléatoire dans les distributions des estimateurs des paramètres des effets fixes et dans les distributions des effets aléatoires obtenues en ajustant le modèle minimal adéquat (ou modèle final) aux données observées. Chaque série de tirage

permet d'obtenir une série contenant une estimation de la prévalence moyenne pour chacune des catégories distinguées dans le modèle final. En itérant ce processus un grand nombre de fois, on obtient les distributions des estimations des moyennes des prévalences dans chacune des catégories distinguées dans le modèle final. Ces distributions sont alors utilisées pour établir les intervalles de confiance de ces moyennes. Le nombre d'itérations a été fixé à 5000.

3.3.3.7. ACM (Analyse Multidimensionnelle)

Permet d'analyser le modèle de relations de plusieurs variables dépendantes catégorielles, c'est aussi une méthode générale factorielle, s'appliquant sur un tableau dans le but de décrire un ensemble d'individus par un ensemble de variables qualitatives. Utilisée dans le traitement des questionnaires (questionnaire à choix multiples). L'ACM s'interprète géométriquement par des nuages dont les points représentent les lignes du tableau analysé, et un nuage dont ses points représentent les colonnes de ce même tableau.

Techniquement, l'ACM est obtenue en utilisant une analyse de correspondance standard sur une matrice d'indicateur (c'est-à-dire une matrice dont les entrées sont de 0 ou de 1). Les pourcentages de variance expliquée doivent être corrigés et l'interprétation de l'analyse des correspondances des distances entre points doit être adaptée (Abdi et Valentin, 2007).

Dans la pratique, en particulier dans le domaine du traitement d'enquêtes (ou de questionnaires), il est rare qu'on se limite à deux variables (deux questions). Le problème statistique que pose alors ce type de données est l'analyse de la liaison pouvant exister entre un nombre quelconque de variables qualitatives. L'Analyse des Correspondances Multiple (A.C.M.) est la méthode factorielle de Statistique Descriptive Multidimensionnelle qui permet de traiter ce problème.

3.3.3.7.1. Principe de l'ACM

Dans notre enquête on considère que L'ensemble des individus (fermes) peut être représenté dans un espace à plusieurs dimensions où chaque axe représente les différentes variables (facteurs de risques) utilisées pour décrire chaque individu (ferme). Plus précisément, pour chaque variable qualitative, il y a autant d'axes que de modalités moins un. Ainsi il faut dans notre cas 08 axes pour décrire une ferme à 09 facteurs de risques. Un tel nuage de points trop important est aussi difficile à interpréter que de lire directement le fichier de données. Afin de mieux représenter ce nuage de points, on va procéder à un changement de systèmes de coordonnées. Les individus seront dès lors projetés et représentés sur un nouveau système

d'axe. Ce nouveau système d'axes est choisi de telle manière que la majorité des variations soit concentrées sur les premiers axes. Les deux-trois premiers axes permettront d'expliquer la majorité des différences observées dans l'échantillon, les autres axes n'apportant qu'une faible part additionnelle d'information. Dès lors, l'analyse pourra se concentrer sur ces premiers axes qui constitueront un bon résumé des variations observables dans l'échantillon :

- **Problématique**

Il s'agit d'étudier les liaisons pouvant exister entre les 09 variables (facteurs de risques) considérées dans le model final de la GLMM et l'ensemble des individus (fermes) afin de déterminer quels sont les facteurs de risques spécifiques pour chaque ferme, et ceux qui permettent de provoquer des variations dans la prévalence de cette pathologie bovine, Pour étudier ces liaisons, la démarche sera comme suit :

3.3.3.7.2. La méthode (Réalisation de l'ACM dans notre étude)

Nous avons créé un tableau de données ne contenant que les variables que nous avons souhaité prendre en compte pour notre analyse factorielle, dans notre cas les 09 facteurs de risques obtenus par le model GLMM. Le calcul de l'ACM se fait tout simplement avec le logiciel R, package ade4 (Graul, 2016).

L'analyse des correspondances multiples est donc une technique descriptive visant à résumer l'information contenue dans un grand nombre de variables afin de faciliter l'interprétation des corrélations existantes entre ces différentes variables. On cherche à savoir quelles sont les modalités corrélées entre elles.

Dans notre étude cette analyse nous a permis de regrouper en fonction des facteurs de risques qui influencent de manière directe sur la variation de la séroprévalence en un groupe homogène les exploitations présentes dans l'Est Algérien.

Partie C : Etude rétrospective sur la tuberculose bovine dans l'Est Algérien

1. Introduction

La tuberculose bovine est une maladie commune à l'homme et à différentes espèces animales. Elle existe depuis toujours dans le monde entier et surtout dans notre pays où la situation est plutôt négligeable. La maladie en Algérie s'incruste silencieusement depuis l'antiquité suite à des causes multiples, engendrant des pertes économiques considérables. Elle se caractérise par un tableau clinique polymorphe. Sur le plan anatomique elle se distingue des autres maladies inflammatoires, par l'apparition de tubercules dans les ganglions lymphatiques chez les animaux atteints.

Un programme d'éradication de la maladie en Algérie a été mis dès les Années 90, et malgré les quelques efforts soutenus, la maladie n'a cessé de se propager et son éradication n'a pas été atteintes. Parmi les raisons connues, la pertinence du Protocole général de dépistage et recensement mis en place se considère comme défaillant.

Le principal objectif de cette partie de notre travail est de mettre en revue toutes les informations pertinentes trouvées dans les directions des services agricoles des régions étudiées (Sétif, M'sila et Constantine), les rapports de cas déclarés et recensés, ainsi que les découvertes d'abattoir et les organes saisis pendant les dix dernières années. Ce qui nous permettra d'évaluer la prévalence de la maladie, sa dispersion ou distribution dans le terrain, ainsi que son évolution au cours de ces années. Une analyse secondaire de toutes les informations recueillies a été faite. Notons que notre enquête rétrospective a été effectuée au niveau de l'ensemble des abattoirs régionaux des trois régions étudiées (Sétif, M'sila, Constantine) ainsi que les directions des services agricoles.

2. Méthodes

2.1. Collecte des données

Toutes les informations récoltées à partir des registres de surveillance au niveau des abattoirs avec respectivement tous les détails relatifs aux bovins dépistés, abattus, organes saisis ...etc. mensuellement et annuellement pendant les dix dernières années, ainsi que les archives de la DSA concernant la maladie pendant la même période ont été enregistrés dans un fichier sur ordinateur et ont été traités par la suite.

2.2. Analyse des données

Les données ont été analysées par le Microsoft Excel 2013, pour déterminer les fréquences, les proportions et les rapports de prévalence.

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

Partie A : optimisation d'un test PPD-ELISA pour le diagnostic de la tuberculose bovine

Tableau 2 : Le total des animaux dépistés par intradermo tuberculation et inspection post-mortem pour l'optimisation de l'Enzymo-Linked-Assay.

Le total des animaux dépistés		
63 Bovins		
IDR		Inspection Post-mortem (Abattoir)
Les animaux positifs	Les animaux négatifs	Les animaux éliminés
5	54	4
PPD-ELISA		

IDR : Intradermoréaction, **PPD** : Protein Purified Derivatives

1. Inspection ante-mortem des bovins

Des prélèvements sanguins ont été prélevés sur 54 bovins testés négatifs aux réactions intradermiques, issus d'élevages sans tuberculose et abattus pour d'autres motifs tels que les problèmes locomoteurs, production de viande ou encore les mammites, sans montrer des signes cliniques de tuberculose. D'autres échantillons de sérum ont été prélevés sur 9 bovins, dont 5 seulement étaient positifs au test intradermique (IDR Positif) (Tableau 2). Ils provenaient d'élevages avec antécédents et aussi infectés par la tuberculose bovine, (bovins malades, certains présentaient des signes cliniques de la maladie (hypertrophie de quelque ganglions pouvant être détectés à travers la peau surtout ceux de la tête , fièvre, toux et pneumonie associée, respiration difficile, faiblesse, émaciation et extrême maigreur, hyper salivation), d'autres ne présentaient pas de signes mais été testés positifs aux réactions intradermiques. Les

4 bovins suspectés tuberculeux, mais trouvés négatifs par l'IDR ont été écartés de notre étude pour éviter toutes confusions avec une fausse négativité.

2. Intradermo tuberculation des bovins

L'intradermo tuberculation a été effectuée conformément aux instructions de la DSA mais elle a été faite après le prélèvement sanguin pour éviter toute confusion dans les résultats de l'ELISA. Les résultats concernant les fermes visitées qui ont déjà enregistrées des antécédents par rapport à la maladie et dont les bovins ont été identifiés, ont révélé cinq cas positifs au test intradermique sur les 9 bovins prélevées et suspectés touchés par la maladie. Concernant les autres fermes indemnes de tuberculose bovine, et dont l'abattage des bovins prélevés était programmé pour d'autres motifs, nous avons décelé, 54 bovins de fermes différentes qui étaient négatifs et qui ne présentaient aucune réaction au test tuberculinique.

Les tests intradermiques reconnus par l'OIE comme test officiel de dépistage (Fontana et *al.*, 2018), jugés efficace dans la détection précoce des bovins (cas précliniques) aux premiers stades de l'infection par *M. bovis* (Buddle et *al.*, 2009). Mais Il a été estimé après plusieurs études, que ces tests sont d'une sensibilité assez faible, pouvant engendrer des lacunes dans les programmes de lutte contre la tuberculose bovine et surtout dans les troupeaux fortement touchés, et pouvant bannir de façon durable l'éradication de la maladie. La fiabilité des tests cutanés est diminuée par de nombreux facteurs, comme la présence d'animaux à un stade avancé de la maladie (immunité à médiation cellulaire). Dans plusieurs études similaires à la nôtre, plusieurs antigènes et protéines ont été estimés plus efficaces que le test intradermique surtout pour les faux négatifs, comme celle de Picasso-Risso et *al.*, (2019), où il a été démontré que les IGRA sont plus sensibles que les dosages intradermiques. La majorité des pays développés utilisent en plus du test intradermique unique (SIT), le test intradermique comparatif (CCT), que son utilisation demeure absente dans notre pays, tous les deux ont été estimés faiblement spécifiques à cause des réactions croisées avec des mycobactéries non pathogènes (Praud et *al.*, 2014). Contrairement à l'étude de Klepp et *al.*, (2019) où il a été démontré que le test comparatif augmente la spécificité du test intradermique et que certaines études ont liées l'absence de réponses significatives à la tuberculine chez les bovins aux types de seringue utilisées (McLintock ou Dermojet) (Díez-Guerrier et *al.*, 2018 ; Roy et *al.*, 2019). D'autres à l'activité biologique de la PPD et au site d'inoculation (Rua-Domenech et *al.*, 2006).

3. Inspection post-mortem des bovins

L'inspection après l'abattage des carcasses a révélé l'absence de lésions macroscopiques caractéristiques de tuberculose bovine, sur les 54 bovins déjà testés négatifs à l'IDR, avec aucun signe clinique de tuberculose bovine en ante-mortem. Les 5 bovins prélevés et testés positifs au test tuberculinique, ont présentait des lésions macroscopiques de tuberculose bovine, à localisation surtout pulmonaire (Figure 14 « B »). Cette localisation pulmonaire est probablement due à la principale voie d'infiltration de l'agent infectieux qui est la voie respiratoire. La détection de tuberculose miliaire ou caséuse aussi a été faite, avec association avec une hypertrophie des ganglions lymphatiques rétro pharyngiens, pré scapulaire, dans quelques carcasses, et les pectoraux, et pré costaux dans d'autres. Présence de petits nodules (miliaires) (Figure 14 « C »), ainsi que des caséifications ou même calcifications à la découpe au niveau des ganglions ou tissus. On a aussi noté la présence de tubercules au niveau de la plèvre et du péritoine.

En Algérie, l'historique des études effectuées au niveau des Abattoirs dans d'autres régions du pays sont peu abondants, D'autres études menées par Sahraoui et al en (2008) et (2011), sur les lésions suspectes de tuberculose bovine aux Abattoir de Blida et Alger, montrant un pourcentage de 76,92% se localisant dans les ganglions lymphatiques respiratoires et une prévalence de 3,58% de la maladie. L'étude évoquée en 2011 concernait la tuberculose caprine dont le dépistage est en manque, l'étude a révélé une prévalence de 6,03% parmi les 995 carcasses de chèvres.

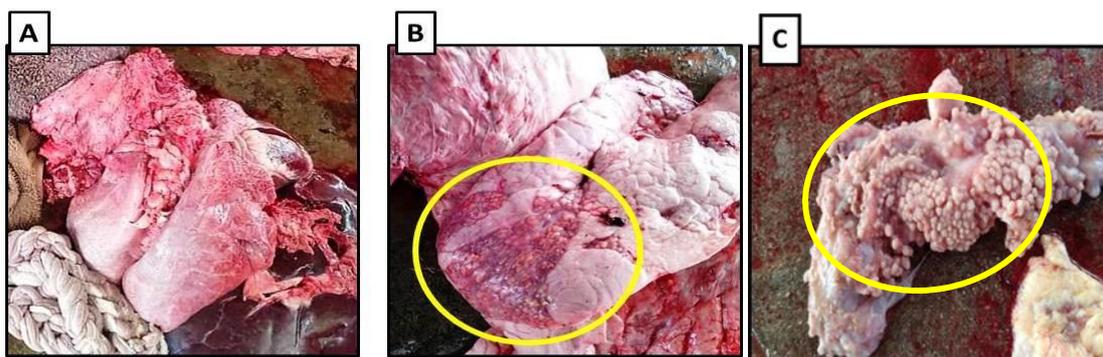


Figure 14 : « A » Poumon Sain, « B » Lésions de tuberculose bovine dans les poumons des bovins, « C » gains de millet (nodules tuberculeux) au niveau de la plèvre (photo personnelle)

4. Développement et optimisation du test ELISA

Le diagnostic simple, rapide, sensible et spécifique est le meilleur moyen pour le contrôle des maladies infectieuses animales telles que la tuberculose bovine. Peu de temps après l'infection par cette maladie, l'immunité cellulaire est activée, cependant, au fur et à mesure que la maladie progresse l'immunité cellulaire diminue donnant place à une réponse humorale à des antigènes spécifiques (Waters et *al.*, 2006). L'optimisation de test de diagnostic sensible à la détection efficace des animaux malades et ceux anergiques reste un moyen clé.

Il est à mentionner que l'efficacité du réactif ou du tampon de blocage des puits lors d'un test ELISA est estimé en fonction de l'ampleur d'inhibition de la réaction colorée, en la comparant avec les micros puits non traités. Donc des valeurs élevées d'absorbance (DO) sont interprétées par la présence de plus de sites, et un blocage minime. Sachant que la sensibilité du test dépend principalement du niveau des bruits de fond de la réaction colorée et de l'affinité des réactifs.

Le développement et l'optimisation de notre test ELISA réalisée sur les 59 sérums récoltés a suscité plusieurs étapes qui ont donné des résultats prometteurs du point de vue diagnostic rapide et concret de la tuberculose bovine :

4.1. Optimisation de l'antigène

Pour étudier les différences dans les réponses antigéniques des deux protéines (PPD et ESAT-6) et de leur importance dans le diagnostic de la maladie. Une ELISA comparative a été réalisée sur les sérums de 59 bovins prélevés. 54 bovins négatifs et 5 bovins déclarés positifs suite au diagnostic clinique ante-mortem, Test Tuberculinique et inspections post-mortem des carcasses.

Les Anticorps contre les deux antigènes utilisés ont été détectés dans les sérums positifs collectés, Les résultats obtenus montrent que les bovins testés ont répondu de manière globalement similaire aux deux antigènes séroactifs testés. Les différences des DO n'étaient pas significatives, où la valeur de la densité optique (DO) des sérums négatifs pour la PPD et pour l'ESAT-6 était de l'ordre de 0,412 et 0,407 respectivement. Pour les sérums positifs Les valeurs des DO pour la PPD et l'ESAT-6 étaient respectivement 1,123 et 1,25 (Figure 15). Ce qui signifie que les deux protéines peuvent être utilisées pour le diagnostic rapide et simple de la tuberculose bovine. Mais reste à suggérer que l'utilisation de la PPD, comme choisie dans

notre étude, reste un moyen plus rapide et beaucoup plus pratique du côté disponibilité et prête à user à tout besoin.

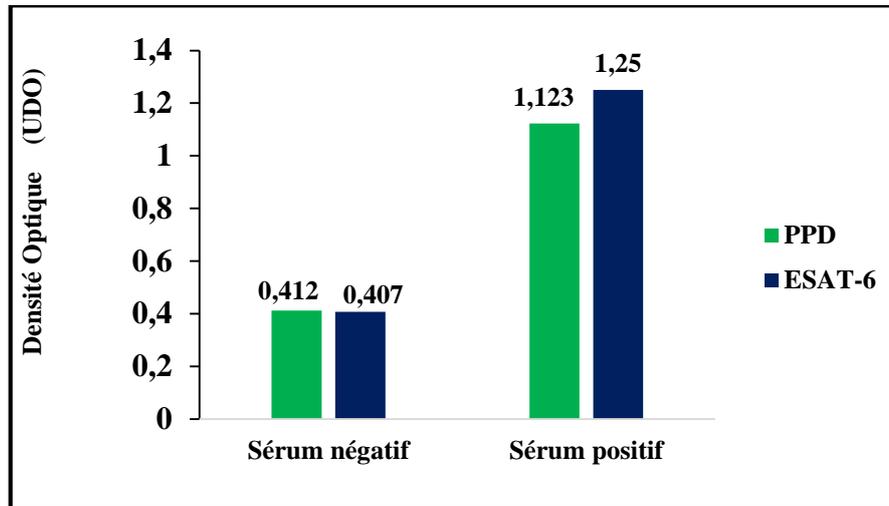


Figure 15 : Optimisation de l'Antigène

Nos résultats obtenus nous indiquent aussi que l'ESAT-6 est un antigène qui peut être utilisé dans le test ELISA pour le diagnostic de la tuberculose bovine, en raison de sa bonne sensibilité, néanmoins, aucun avantage significatif n'a été observé comparé avec la PPD.

Le développement des tests de diagnostic de la tuberculose bovine reste le moyen clé pour lutter contre cette maladie, mise à part la culture bactérienne qui reste une méthode très sensible et efficace, mais d'un délai très long qui ne peut malheureusement pas aider le diagnostic rapide. Le développement de nouveaux outils de sérodiagnostic constitue un potentiel important, pour la détection précoce et tardive de la maladie (détection de la maladie à différents stades). Cela nécessite une compréhension approfondie des réponses immunitaires développées (générées) et des antigènes reconnus au cours de la maladie.

Dans des études antérieures sur *Mycobacterium tuberculosis*, la PPD a été désigné comme étant l'antigène avec la meilleure valeur de sensibilité parmi d'autres, avec la possibilité d'être développé comme une cible de diagnostic (Dewi et al., 2019). Il consiste en un mélange protéique (complexe protéine) comprenant une grande variété d'antigène, et le plus utilisé aussi pour les tests IFN (Interféron) in vitro (Risalde et al., 2017). Dans les premiers stades d'infection expérimentale dans l'étude de Pollock et Andersen en (1997), les bovins se caractérisaient par de fortes réponses IFN- γ , dirigés vers la fraction de masse la plus faible, contrairement aux stades ultérieurs où la reconnaissance des antigènes est plus large. La principale cible des lymphocytes T pour cette réponse IFN- γ dominante s'est avérée être

l'antigène sécrété ESAT-6. Qui est suggéré comme un antigène à potentiel majeur pour le diagnostic de la tuberculose bovine, mais ceci aux premiers stades de l'infection.

Le test sérologique PPD-ELISA qui est basé sur la détection des anticorps avec une sensibilité élevée surtout chez les animaux à un stade avancé de la maladie reste de tous les côtés le point fort pour associer ce test au test tuberculinique qui reste dans la majorité des cas insensible à cette tranche d'animaux. C'est un test simple à réaliser en un temps très court, et en raison du potentiel sérodiagnostique élevé de certains antigènes pour la détection des anticorps antituberculeux, ce test est proposé dans notre étude et dans plusieurs études effectuées comme un test auxiliaire de choix.

La PPD est un complexe antigénique constitué de plusieurs protéines, Exemple : Rv3874 « CFP-10 », Rv1980c « MPT64 », Rv2244 « protéine porteuse d'acyle », y compris la EsxB-Rv3875 (ESAT-6) (Borsuk et *al.*, 2009). Dans l'étude de Eirin et *al.*, (2015), il a été démontré que les performances des deux antigènes PPD et ESAT-6 étaient similaires à celle de l'antigène précieux Mb2845c qui représente une grande potentialité de discrimination des bovins positifs et négatifs. Vraisemblablement à Notre étude qui a révélé que la PPD et l'ESAT-6 sont deux antigènes à capacité diagnostique presque similaire, contrairement à l'étude de tripathi et *al.*, (2019), où ils ont indiqué que l'ESAT-6 est caractérisée par une spécificité accrue dans le test ELISA, comparée à la PPD. Une autre étude de Keshavarz et *al.*, (2015) a montré que l'ESAT-6 Elisa est un moyen approprié pour le dépistage de la maladie en complémentarité avec le test tuberculinique. Mais l'ESAT-6 présente le même inconvénient que le test tuberculinique, c'est qu'il détecte les bovins tuberculeux surtout lors des premiers stades d'infection, comme il a été démontré récemment dans l'étude de Anahita Bahmanjeh et *al.*, (2020) où il a été trouvé que L'ESAT-6 a une sensibilité plus élevée que la PPD dans le diagnostic des infections tuberculeuses actives (nouvelles) (l'ESAT-6 est dominant dans les premiers stades d'infection), Avec une sensibilité de 60% et une spécificité de 88,63%. Ce qui signifie que l'ESAT-6 est un antigène très efficace pour la détection des anticorps dirigés contre la maladie aux premiers stades de l'infection, chose qu'on ne peut pas déterminer chez l'animal en ante-mortem et présentera l'inconvénient de donner de faux résultats pour les animaux en stade avancé de la maladie, et son utilisation seul restera insuffisante. Contrairement à la PPD. Ce qui incite à l'utilisation de la PPD qui est un cocktail d'antigènes, ou l'utilisation d'un cocktail d'antigènes comportant que les antigènes les plus spécifiques et à potentiel, les utiliser comme des bio marqueurs diagnostique, pour s'assurer de la détection efficace et sûre de l'agent infectieux aux

différents stades de la maladie. Et ainsi faire face à toutes les variabilités rencontrées dans la reconnaissance des antigènes au cours de l'infection.

4.2. Optimisation de la solution et du nombre de lavage

4.2.1. Optimisation de la solution de lavage (PBS-T / PBS)

Les valeurs de DO (Absorbance) lors de l'utilisation du PBS-T diminuent convenablement pour les sérums négatifs et positifs par rapport aux DO enregistrés lors de l'utilisation du PBS seule (Figure 16). Ceci s'explique par le fait que la Tween se considère comme un additif tensioactif (détergent non-ionique) ayant la grande capacité d'éliminer l'excès de réactifs et de réduire les liaisons non-spécifiques, donc permet d'éviter les bruits de fond par élimination des absorbances non-spécifiques, tout en permettant l'amélioration de l'étalement des réactifs, car il a la capacité d'augmenter la stabilité de la bio surface (Soler et *al.*, 2014). En plus de ces caractéristiques, la Tween 20 a été évalué par Michael Steinitz en (2000), comme étant un bon réactif de blocage lors d'une étude similaire à la nôtre consacrée à l'estimation de l'effet du blocage de la Tween 20 adhéree à la phosphatase alcaline. Il a été démontré que l'utilisation de la Tween 20 même à des concentrations faibles permet de bloquer les sites de liaison libres des micros puits, il permet donc une saturation optimale et une inhibition complète de la liaison (non spécifiques), ce qui permet d'éviter toutes liaisons non-spécifiques résiduelles des réactifs utilisés dans le test.

4.2.2. Optimisation du nombre de lavage

Selon la Figure 16, on remarque effectivement une augmentation de la valeur des DO lors de la diminution du nombre de lavage entre trois et quatre lavages pour les sérums négatifs où on note des valeurs de 0,68 et 0,574 (PBS-T), et 1,106 et 0,83 (PBS). Contrairement au nombre de lavages cinq et six où on observe des diminutions des valeurs de DO et qui sont presque similaires pour les sérums négatifs avec 0,409 et 0,410 (PBS-T) et 0,752 et 0,682 (PBS). Pour les sérums positifs, les valeurs de DO lors de trois lavages sont de l'ordre de 1,356 et 1,406 respectivement, par rapport aux valeurs de DO lors des cinq, six lavages où les valeurs observées variaient entre 1,168 et 1,109 (Figure 16).

L'augmentation du nombre de lavage joue un rôle crucial aussi dans l'élimination efficace et sûre des liaisons non-spécifiques, par l'élimination des antigènes en excès, ou les Anticorps non fixés sur l'Antigène, ainsi que l'excès de conjuguée, qui peuvent interférer le test et les résultats par la suite.

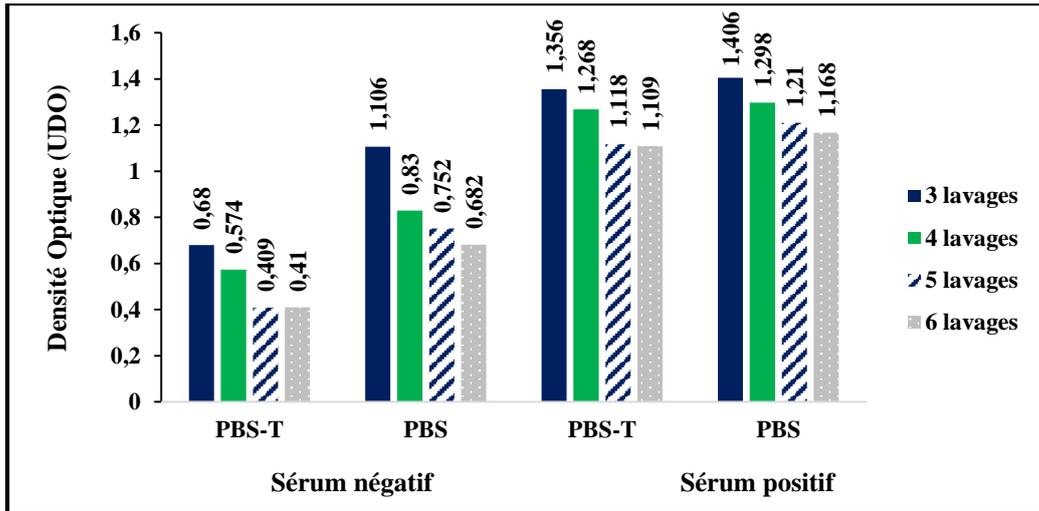


Figure 16 : Optimisation du nombre et de la solution de lavage.

4.3. Optimisation de la solution de blocage

4.3.1. Optimisation de la solution de blocage en fonction de la concentration et de la température d'incubation

L'utilisation du tampon de blocage à différentes concentration n'a révélé aucune particularité, nos résultats des valeurs de DO étaient presque similaires. Contrairement à l'effet de la température où des valeurs allant de 0,41 à 0,416 ont été observé pour le sérum négatif à 37°C, et des valeurs allant de 1,121 et 1,122 pour le sérum positif. Comparé à 4°C et à la température ambiante où les valeurs ont augmenté jusqu'à 0,643 et 1,312 pour le sérum négatif et positif respectivement (Figure 17). Ceci s'explique par le fait qu'à 37°C il y'a eu un tassement plus efficace de la couche de BSA, effectuant ainsi la formation d'une plus grande surface de contact par molécule absorbée. On considère donc que la BSA est plus sensible au traitement thermique, parce que les protéines BSA sont plus stable thermiquement (Junren Ma *et al.*, 2019). Ce qui permet une diminution du bruit de fond lors d'une augmentation de la température Evitant de cette manière les faux positifs tout en maximisant la spécificité et la sensibilité de notre test.

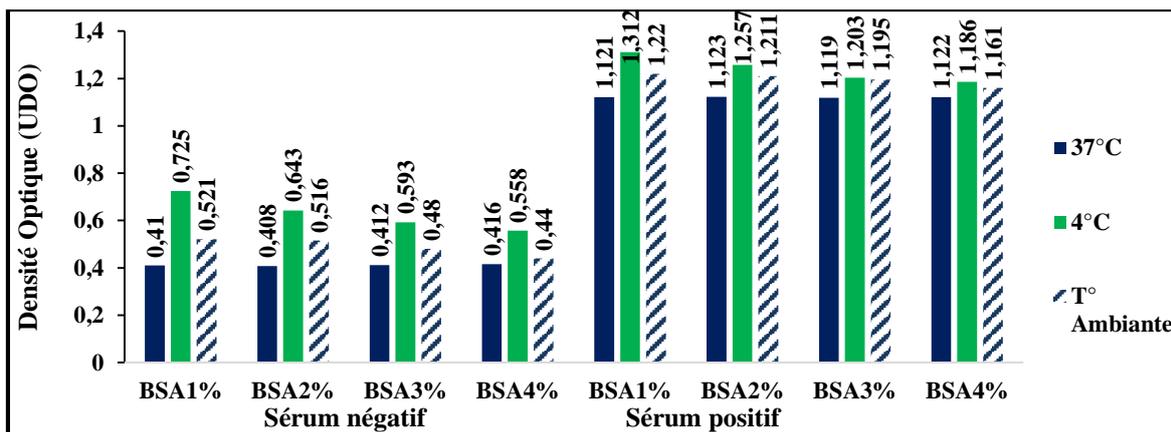


Figure 17 : Optimisation en fonction de la concentration et de la température d’incubation de la solution de blocage « BSA ».

4.3.2. Optimisation de la solution de blocage en fonction du temps d’incubation

Avec une température fixée à 37°C, nos résultats ont montré que l’utilisation d’une saturation avec le tampon de blocage pendant une durée de 60 minutes seulement a donné des valeurs de DO supérieures à la norme avec 0,686 et 1,249 pour le sérum négatif et positif respectivement (Figure 18), qui sont interprétés par la formation de bruit de fond non spécifiques, contrairement à des durées supérieures ou égale à 90mn où les DO étaient presque similaires et significatives. La durée joue un rôle direct dans la réalisation adéquate de l’absorbance spécifique des différents composés de la solution de sensibilisation (Tampon de fixation - Ag) Et donc assurer une meilleure distinction entre les sérums positifs et négatifs.

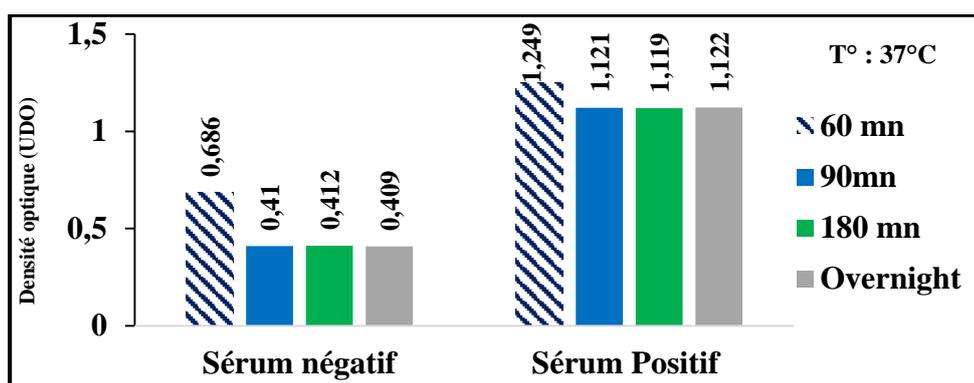


Figure 18 : Optimisation de la solution de blocage en fonction du temps d’incubation.

La liaison entre la plaque et les biomolécules (Acs et agent de blocage) est généralement faible, ce qui peut être perturbé lors de l’étape de lavage ou d’agitation. Et incite donc l’utilisation d’un

tampon bloquant pour occuper efficacement les espaces créés lors du détachement des biomolécules.

La BSA (Bovine Serum Albumin) est la protéine la plus utilisée pour le blocage dans les essais biologiques, mais les meilleures conditions de son utilisation ont été toujours source de recherche pour la science afin de maximiser la sensibilité et la spécificité des tests. Les tampons de blocage (comme la BSA) ont un grand impact sur ces deux paramètres. Dans notre étude L'utilisation optimale du tampon de blocage BSA a permis efficacement d'éviter la formation des bruits de fond qui résulte par la formation de liaisons non-spécifique responsable de l'augmentation de l'absorbance au niveau des puits, ce qui peut conduire à de faux résultats. Dans des études similaires à la nôtre, La BSA a été désignée comme un tampon de blocage se caractérisant par la captation spécifique des anticorps anti-BSA qui seront par la suite détectés par le conjugué. La BSA se fixe par interaction électrostatique sur les puits, il est très important pour l'occupation des liaisons libres de la surface de chaque puits (Xiao et Isaacs, 2012). Et donc éviter les liaisons non-spécifiques qui peuvent exister entre l'anticorps et d'autres composants du puits (Exemple Acs et Ags). L'avantage d'utilisation de la BSA comme tampon de blocage a été validé dans pas mal d'études, citant celle de Junren Ma et *al.*, (2019), où il a été démontré que la BSA a de grande performance de revêtement dans les tests biologiques de surface, avec une efficacité de blocage de 90%. Elle fait partie des meilleures protéines testées côté efficacité, elle inhibe jusqu'à 90% des liaisons non-spécifique (l'adsorption non-spécifique), et ceci même à des concentrations minimales (Vogt et *al.*, 1987). Des études différentes à la nôtre, ont évalué des efficacités de blocage supérieure à la BSA, comme l'étude de Liberelle et *al.*, (2013), comme une couche de dextrane carboxyméthylé immobilisé (CMD). Contrairement à une autre étude similaire à la nôtre, réalisée par Michael Steinitz, (2000), ainsi que celle de Riquelme et *al.*, (2016), où la BSA a été désignée comme le tampon donnant la plus grande capacité de blocage, notamment en présence de Tween 20.

4.4. Optimisation de la dilution des sérums

Les densités optiques (DO) obtenues ont montré une meilleure discrimination à des dilutions de sérum à 1/100 en BSA 1% au lieu du PBS (1/100), contrairement à d'autres études et dans beaucoup de cas où ce tampon de lavage (PBS) est utilisé dans la dilution des sérums.

ce tampon de blocage BSA permet comme cité supra de réduire le bruit de fond en évitant la formation de liaisons non spécifiques pouvant donner de faux résultats lors de la lecture des DO des puits ne contenant que du PBS à la place du sérum. Lors de l'utilisation de la BSA, les

valeurs des DO pour les sérums négatif et positif étaient inférieures à celles trouvées lors de l'utilisation du PBS. Avec une DO de 0,41 par rapport à 0,465 pour les sérums négatifs, et une valeur de DO de 1,121 contrairement à 1,163 pour les sérums positifs (Figure 19). Les densités optiques obtenues dans les puits (blancs) sont d'un ordre de grandeur de 0 à 0,050 en utilisant le PBS et de l'ordre de 0 à 0,02 seulement avec la BSA.

Ce qui nous a conduit à l'utilisation du tampon de blocage (BSA) dans les dilution des sérums mieux que le PBS, pour avoir un double effet de blocage pour éviter et diminuer le maximum la formation de liaison non-spécifiques (entre antigène et plaque) pouvant fausser les résultats.

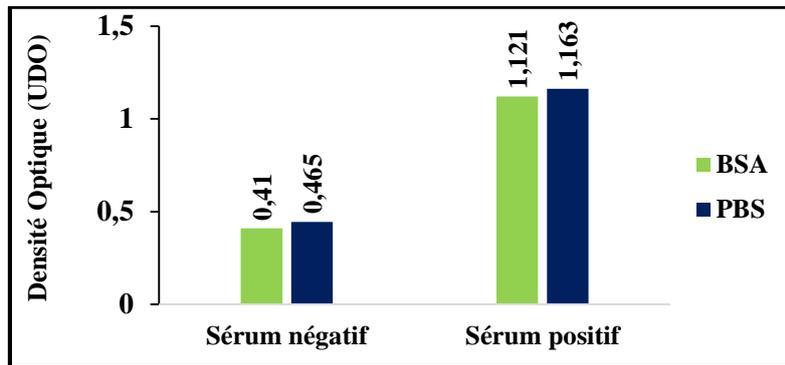


Figure 19 : Optimisation de la dilution des sérums.

5. Le rendu du test PPD-ELISA et calcul du seuil de positivité

L'utilisation de la combinaison des modifications sur la totalité des sérums nous a permis d'obtenir des résultats de densité optique significatifs. Les sérums ont réagi avec le même conjugué, mais les valeurs de DO étaient plus homogènes et la discrimination était plus élevée lors d'une dilution sérique de 1/100 dans du BSA 1%, une concentration à 1/5000 du conjugué, et une saturation avec le tampon de saturation BSA 1% pendant 90 minutes avec six lavages après chaque étapes et l'utilisation d'un seul comprimé d'OPD comme substrat de révélation.

Les combinaisons ont été répétées trois jours d'intervalle, afin d'évaluer la validité et la reproductibilité de notre PPD-ELISA. Avec des différences très minimes, variant logiquement suite aux manipulations et conditions de travail.

L'objectif principal de cette partie de notre étude était de développer et optimiser un test ELISA plus sensible et plus spécifique pour le diagnostic de M. bovis. En raison du nombre très faible des positifs, le calcul significatif de la sensibilité et la spécificité du test nous a été insignifiant, d'où la focalisation sur les résultats et la lecture des DO obtenues. La concentration des

anticorps est liée à la distribution du nombre de bacilles ainsi que la gravité des lésions, mais l'expression des IgG par les bovins infectés par *Mycobacterium Bovis* reste incomprise.

La moyenne arithmétique des valeurs de DO450 nm pour les échantillons négatifs a été obtenue à $0,41 \pm 0,1$. Selon la règle empirique (règle 68–95–99,7 ou règle des trois sigmas). Nous avons déterminé qu'une valeur de DO de 0,730 était le meilleur point de coupure ; c'était donc la meilleure valeur pour distinguer les sérums des animaux infectés et non infectés (Figure 20).

6. Sensibilité et spécificité du test Sérologique

La spécificité de notre test a été maximisée jusqu'à 99,99%. Cependant, il était très difficile de trouver et de prélever des échantillons d'animaux tuberculeux positifs avec tous les critères requis (bovins malades, testés positifs aux réactions intradermiques, provenant d'élevages infectés par la tuberculose bovine, présentant des signes cliniques de la maladie et leur inspection post-mortem révèle des lésions de tuberculose). Malheureusement, il nous a été possible de collecter seulement 5 échantillons de ce groupe positif. Pour cette raison, ce nombre a été considéré comme petit (faible) pour calculer dans les normes la sensibilité du test, mais cette dernière peut être estimée et nous donner une idée, vu qu'elle nous a permis une distinction considérable entre les animaux infectés et non infectés.

Dans cette optique et afin de confirmer les résultats obtenus, les échantillons de sérum positifs prélevés dont le nombre de 5 bovins tuberculeux positifs provenant d'élevages infectés par la tuberculose bovine et qui ont été testés positifs aux réactions intradermiques. Ces échantillons collectés ont été testés avec la PPD-ELISA optimisée, et les résultats obtenus sont en accord avec ceux précédemment obtenus à la fois par le test intradermique et l'examen post-mortem des animaux. Les valeurs de DO450 nm des bovins infectés oscillent entre 0,84 et 1,255 avec une moyenne arithmétique de $1,14 \pm 0,14$, qui sont plus élevées que le seuil choisi.

Les valeurs OD450 nm suivantes sont les résultats obtenus (en double) : {S1 (0,902, 0,84) ; S2 (1,142, 1,18) ; S3 (1,191, 1,215) ; S4 (1,188, 1,206) ; S5 (1,255, 1,244) ; (contrôle positif (1,241, 1,255) ; contrôle négatif (0,384, 0,422); blanc (0,085, 0,089))}. Comme clairement montré, les valeurs OD450 nm des 5 échantillons entiers sont supérieures à 0,73 choisi comme point de coupure PPD-ELISA, ce qui peut indiquer que notre test peut faire la distinction entre les sérums d'animaux infectés et non infectés. De plus, la moyenne arithmétique des valeurs de DO450 nm obtenue était de $1,14 \pm 0,14$. En appliquant la règle empirique sur ces 5 échantillons, nous avons trouvé que la «moyenne - 3SD = 0,72» est assez égale au point de coupure «0,73» calculé avec la DO450 nm des échantillons du pool des négatifs.

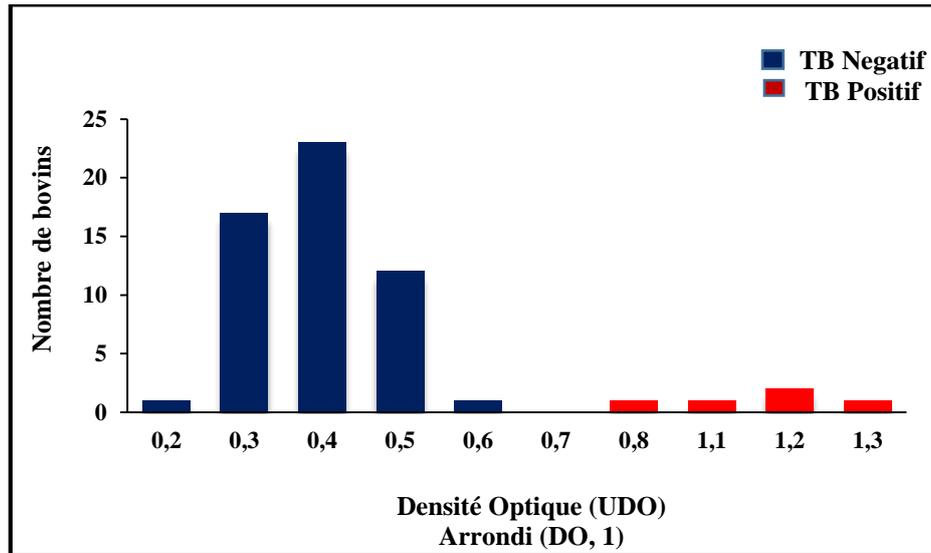


Figure 20 : Diagramme de la distribution des bovins testés par la PPD-ELISA en fonction de leurs valeurs DO 450 nm

Des efforts considérables ont été déployés pour le développement d'une ELISA efficace et appropriée pour le terrain. Aznar et *al.*, (2014), où une ELISA à antigènes multiples a été optimisée pour la détection de l'infection à *M. bovis* chez les blaireaux, avec une sensibilité et une spécificité de 30,77% (assez faible mais suffisante pour atteindre une puissance statistique de l'essai vaccinal de plus de 80%) et 99,99% respectivement. Une autre étude presque similaire réalisée par Griffa et *al.*, (2020), pour l'optimisation et la validation d'un test ELISA pour le diagnostic de cette pathologie basée sur un mélange antigénique à partir d'un extrait total de la souche de référence AN5, avec une spécificité de 95,95% et une valeur prédictive positive de 83,72%. Chaque étude se base sur des paramètres différents liés au test, soit l'antigène utilisé, les tampons ou les substrats de révélation, mais tous pour un même but semblable à notre étude qui est l'amélioration de la reproductibilité, de la standardisation et de la sensibilité diagnostique et qui nécessite l'optimisation.

Notre test nécessite des manipulations ultérieures complémentaires et un nombre de bovins positifs plus élevé pour répondre convenablement aux paramètres de validation d'un test établies par l'organisation mondiale de la santé (OIE), à savoir, la répétabilité, coefficient de variation, la reproductibilité (Ex : coefficient de Pearson) ... etc.

Partie B : Etude Epidémiologique : Séroprévalence et facteurs de risques

1. Séroprévalence de la tuberculose bovine

Tableau 3 : nombre d'échantillons prélevés pour l'estimation de la séroprévalence dans les trois régions (M'sila, Sétif, Constantine).

Fermes	Total bovins prélevés	Nombre d'échantillons prélevés dans chaque région			Prévalence globale
		Constantine	M'sila	Sétif	
21	516	65	278	173	3,49%

1.1. Echantillonnage

Un total de 516 bovins ont été échantillonnés (tous des bovins de 6 mois ou plus) conformément au modèle expliqué dans le chapitre 2 (Tableau 3). Sur une période d'une année. Les bovins appartiennent à 21 exploitations, situées à différentes communes des trois régions sur lesquelles notre étude a été effectuée dans l'Est de l'Algérie : M'sila, Constantine, et Sétif. Les échantillons de bovins ont été prélevés avant le test intradermique (IDR). Seuls 266 sur l'ensemble des bovins échantillonnés ont été testés par le test tuberculitique, en raison de la non convention de toutes les exploitations avec la direction des services agricoles (ou le service de détection et de surveillance).

1.2. Test tuberculitique et Diagnostic sérologique

1.2.1. IDR, PPD-ELISA et calcul de la séroprévalence

Un pourcentage de 100% IDR négatif a été enregistré et validé par la direction des services agricoles sur les 266 bovins tuberculinités des 516 Bovins prélevés se localisant dans les trois différentes régions étudiées.

Le test PPD-ELISA optimisé est une méthode quantitative simple, spécifique et très sensible, qui a été réalisée sur la totalité des bovins prélevés sur le terrain. Il nous a permis de déceler les animaux positifs grâce à la visualisation de la réaction coloré dus à la formation du complexe PPD-IgG.

La lecture des plaques Elisa a été faite par le photomètre à microplaque sur une longueur d'onde de 450nm (Figure 21). La densité optique (DO) allait de 0,2-0,6 pour les négatifs, un seuil de positivité marqué à 0,730 comme déterminé dans la partie précédente. Et des valeurs de DO allant jusqu'à 1,3 pour les positifs (Figure 22).

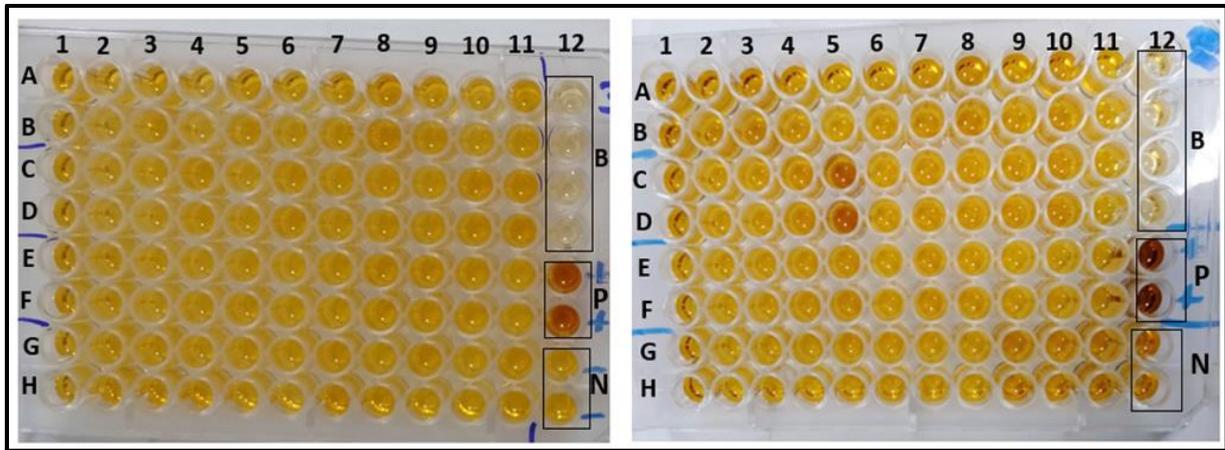


Figure 21 : plaque ELISA (photo personnelle)

La séroprévalence de la tuberculose bovine a été déterminée par criblage d'échantillons de sérums prélevés avant le test intradermique de tuberculine, de 516 bovins âgés de six mois ou plus. Les résultats obtenus concernant la séroprévalence de la tuberculose bovine des trois régions de l'Est Algérien (M'sila, Sétif et Constantine) ont montrés des taux croissants allant du taux le plus bas enregistré dans la région de Sétif (Séroprévalence = 1,72 (IC à 95%: 0,1–3,65). Un taux moyen marqué dans la région de Msila (séroprévalence = 3,42 (IC à 95%: 1,35-5,50) et un taux élevé dans la région de Constantine (séroprévalence = 7,81 (95 % CI : 1.24–14.38) (Tableau 2, Figure 23). 18 bovins sur les 516 prélevés ont montré une densité optique (DO450nm) supérieur au seuil fixé à 0,730, et donc une séroprévalence d'une valeur de 3,49% dans le Nord Est Algérien.

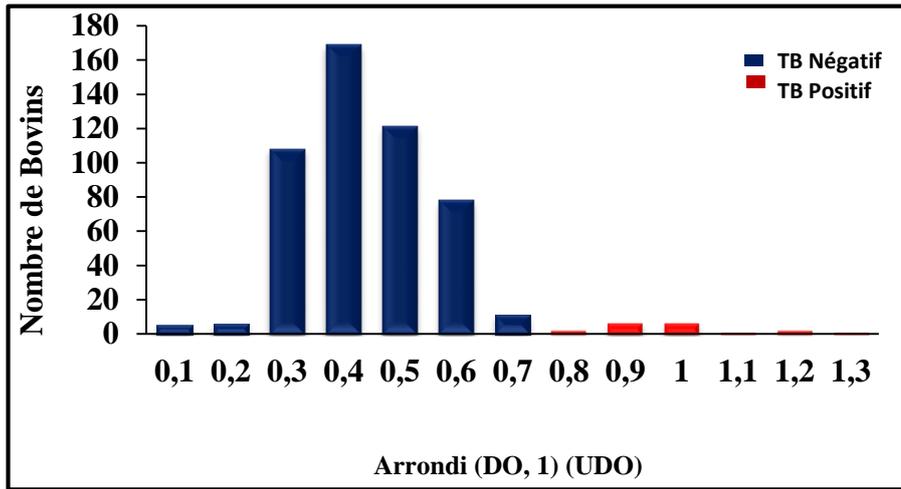


Figure 22 : diagramme de la distribution des bovins testés en fonction de leurs valeurs OD450 nm obtenues par PPD-ELISA

Tableau 4 : Variations de la séroprévalence de bTB entre les trois régions de l’Est algérien

Régions	Estimations	Intervalle de confiance 95%
Sétif	1,72%	0,1 – 3,65
M’sila	3,42%	1,35 – 5,50
Constantine	7,81%	1,24 – 14,38

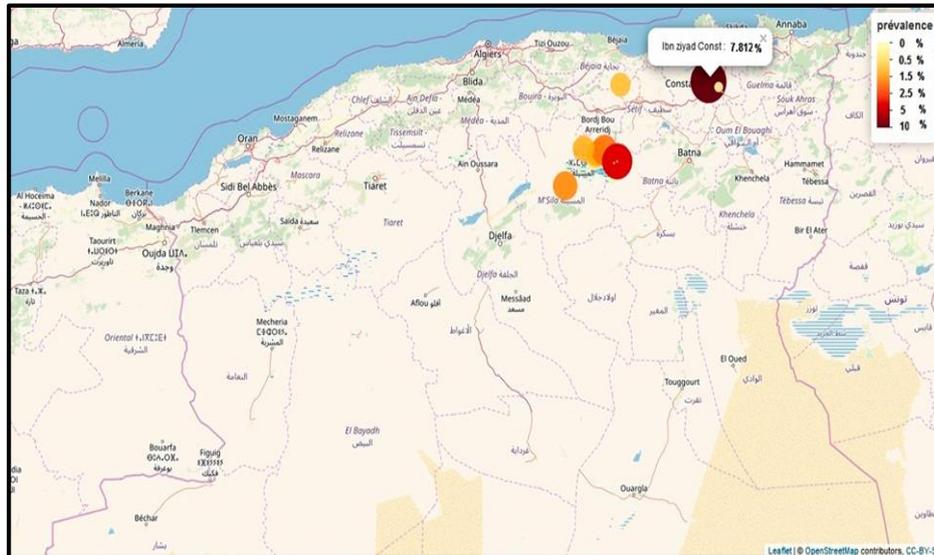


Figure 23: Répartition spatiale de la séroprévalence de la tuberculose bovine dans les trois régions de l’est de l’Algérie : Msila, Sétif et Constantine (la taille et l’intensité de la couleur des cercles dépendent de la croissance de la séroprévalence de la tuberculose dans les trois régions de l’est de l’Algérie) (Figure réalisée par le logiciel R-SIG (R Core Team, 2019), package leaflet (Graul, 2016) (Djafar et al ; 2020)

En Algérie la distribution spatiale de la séroprévalence de la tuberculose bovine est mal connue, d'après notre recherche bibliographique aucune étude sur la séroprévalence et les facteurs de risque en Algérie n'a été publié dans la littérature scientifique au cours de ces trois décennies. Des études très différentes de la nôtre sur la prévalence de la tuberculose bovine ont été rapportées comme celle de Boulahbal et *al* en (1978), sur le rôle de *Mycobacterium tuberculosis* dans la tuberculose bovine, ce qui a été validé par un pourcentage de 6,2% de la pathogénicité de cette souche pour les bovins. Et celle de Sahraoui et *al* en (2009), qui consistait à un Suivi d'une caractérisation moléculaire de la souche de *Mycobacterium bovis* à partir de prélèvements d'abattoir, dont 89% ont montré des spoligototypes semblables à ceux déjà trouvés en Europe.

La prévalence de la maladie dans notre étude et qui était d'une valeur de 3,49% (Figure 24), était presque similaire à celle trouvée en Algérie en 2008 suite à l'inspection de lésions évocatrices de bTB dans deux abattoirs (Alger et Blida) avec une prévalence des lésions apparentes de 3,6% (Sahraoui et *al.*, 2009). Une étude similaire à cette dernière Au Maroc avec une prévalence de 3,7% en 2017, suite à une étude des lésions macroscopiques de la bTB dans les abattoirs (Yahyaoui-azami et *al.*, 2017). Une autre étude très récente effectuée par Ayad et *al.*, (2020) en Algérie au niveau de l'abattoir aussi de la région de Bejaia, donnant une prévalence de 2.06% (4092 bovins/199 077).

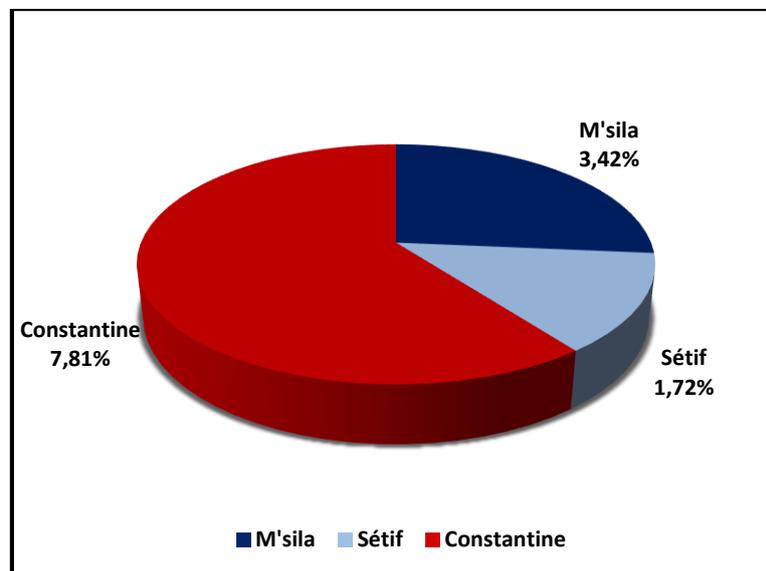


Figure 24 : La prévalence de la tuberculose selon la PPD-ELISA Dans trois régions de l'Est Algérien

La tuberculose bovine se compte parmi les maladies à déclaration obligatoire les plus dangereuses pour la santé humaine et animal, avec un grand potentiel zoonotique.

La situation de la tuberculose bovine en Algérie est mal connue, permettant à la maladie de se propager et provoquer des dégâts en silence. Le programme de surveillance et de dépistage évoqué par les services agricoles connaît encore et toujours des lacunes, et ceci par rapport aux conditions de travail, de collaboration avec les éleveurs, la fraude, les limites concernant la sensibilité et la spécificité du test cutané, ainsi qu'un diagnostic pauvre de la maladie. Le diagnostic de cette dernière se limite au Test tuberculinique, ou à des découvertes d'abattoir. Sans pour autant l'élargir et l'approfondir par des tests bactériologiques, histopathologiques ou même moléculaires. Au fur et à mesure que la maladie progresse chez l'animal, il y'a une diminution de la réponse à médiation cellulaire et l'installation de la réponse à médiation humorale ou les réponses sérologiques. Aucun test officiel n'a été mis en considération pour ce type de réaction (détection d'ACs) qui peuvent rester inapparents chez les animaux lors de la tuberculation. Ce qui permettra de rater l'infection chez ces animaux anergique et ouvrir une voie de contamination extrême. Il reste tout de même très important d'éviter des faux positifs et faux négatifs trouvés, d'incriminer d'autres méthodes garantissant la fiabilité du diagnostic.

Le diagnostic post-mortem par l'isolement de l'agent infectieux, bien que considéré comme une méthode de référence, plusieurs contraintes y sont liées, tel que la variabilité des processus d'identification, la biosécurité, la culture bactérienne qui nécessite un laboratoire BSL3, qui est difficile à trouver dans les pays en développement, ainsi que le temps très long qui peut aller jusqu'à trois mois pour l'isolement de la bactérie, y compris l'histopathologie qui manque de spécificité (Lopes et *al.*, 2020).

L'introduction des tests sérologiques a été faite dans les années 90, mais avec une sensibilité (18 à 73%) et une spécificité minimale (Fontana et *al.*, 2018). Un test sérologique pour la détection des anticorps anti-*Mycobacterium bovis* (*M. bovis*) avec une sensibilité et une spécificité crédible, est selon Carneiro et *al.*, (2020), une alternative viable pour la détection de l'infection. Les tests Elisa ont été validés comme test auxiliaire utiles dans plusieurs études pour améliorer la spécificité et la sensibilité chez plusieurs espèces, surtout avec l'utilisation d'Ags spécifiques (Waters et *al.*, 2011, Casal et *al.*, 2014, Fontana et *al.*, 2018).

Des résultats prometteurs dans notre étude pouvant être pris comme une nouvelle approche pour l'amélioration des tests du diagnostic sérologique. Dans la présente étude, on cherchait à valider une méthode de dépistage basée sur la réponse humorale des bovins tuberculeux, avec un test qui pourrait compléter le test intradermique officiel.

Dans cette partie de notre étude, 516 bovins ont été testés, une prévalence de 3,49 % a été enregistrée, avec un pourcentage de 100% IDR négatif a été par la suite déclaré sur la totalité des bovins prélevés se localisant dans les trois différentes régions étudiées. C'est ce qui explique l'étude de Carneiro et *al.*, (2020), où il a été prouvé que le test ELISA est plus sensible que le test cutané CCT (comparative cervical test), même en l'absence de l'effet du rappel, et que le test cutané à la tuberculine (TCT) ne parvient pas dans la majorité des cas à déceler le stade chronique de l'infection. Ce qui prouve triplement que la PPD-ELISA est un test auxiliaire significativement fiable et nécessaire. Les animaux ont été prélevés avant la tuberculination, pour éviter tout résultat confondu avec l'immunité que peut développer les animaux vis-à-vis de la tuberculine.

L'utilisation de la PPD-ELISA, comme un test auxiliaire pour le diagnostic sérologique de la bTB, est considéré comme une bonne méthode. La sensibilité de notre PPD-ELISA test a été estimée de 70-95%, selon la qualité du dérivé protéique purifié (PPD) utilisé, et les différentes conditions de réalisation du test. Dans des études réalisées dans d'autre pays, comme celle de Garbaccio, (2019), la sensibilité et la spécificité ont été estimées à 60%, 99% respectivement, celle de Kang, 2020, un Se de 67,3%, et une Sp de 92,2%. Une autre de Singhla, (2019) avec une Se 47,4%, et une Sp de 90,9%. Une autre étude très similaire à la nôtre a suggéré que la PPD-ELISA avec une sensibilité de 57,74% et une spécificité de 91,34% pourrait être utilisée comme test auxiliaire au test tuberculinique (Thakur et *al.*, 2015). Des études estiment que la sensibilité d'un test ELISA peut être maximisée, lorsque le test est appliqué au troupeau infecté 15 jours après le test intradermique SIT, mais peut diminuer lorsque l'ELISA est effectuée sur des sérums de bovins appartenant à des troupeaux qui n'ont pas été sujets au rappel préalable du test cutané (Casal et *al.*, 2014). Ce qui peut en partie renforcer l'estimation du pourcentage de la sensibilité de notre test qui a été effectué sur des bovins avant leur tuberculination, et d'autres n'ayant pas été sujets au rappel du test. Ces différences de sensibilité et de spécificité s'expliquant donc par les différents protocoles d'ELISA utilisés et optimisés et aussi des différents facteurs liés au terrain. Nos valeurs dans cette étude et qui sont assez expressifs sont interprétés par le fait qu'un tel Test (la PPD-ELISA) optimisé, peut être appliqué comme un test complémentaire pour le diagnostic efficace de la maladie, et surtout pour les animaux anergiques, qui restent insensible au test cutané simple à la tuberculine.

Notre test a été évalué aussi en le comparant avec ce qui a été trouvé dans les études de Ritacco et *al* en (1990) et Sayin et Erganis, (2013), comme une technique spécifique et très sensible pour le diagnostic de la tuberculose bovine. En plus de l'effet de la PPD qui a été utilisée comme

un Ag. Jouant un rôle crucial dans l'augmentation de sensibilité et surtout la spécificité du test (Amicosante et *al.*, 1999). C'est aussi un complexe protéique qui présente l'avantage d'être disponible, surtout dans notre pays, et près à utilisation directement dans les tests Elisa, ce qui permet tout de même un gain de temps. Des études différentes de la nôtre ont validé d'autres tests ELISA sur l'utilisation de d'autres antigènes, comme le MPB70, MPB83, ESAT6, CFP10, P22, ...etc. (Fontana et *al.*, 2018, Griffa et *al.*, 2020). Et Celle de Al-Mouqatea et *al.*, (2018), où une estimation bayésienne entre l'utilisation d'une ELISA commerciale et de l'interféron gamma, a donné une sensibilité et une spécificité de l'Elisa de 61.1% (33.1–84.6%) et 85.4% (81.7–88.8%) respectivement, et celles de l'IFN γ étaient de l'ordre de 85.0% (67.6–95.3%) et de 90.4% (86.7–95.3%). D'autres études sur l'utilisation d'un test ELISA compétitive basé sur les anticorps comme la mAb 3B8 ciblant spécifiquement l'Ag Ag85A (dirigé contre Ag85A), avec une sensibilité et une spécificité du test de 83,5% (167/200) et de 54,2% (26/48) respectivement (Xu et al ; 2017), sachant que l'Ag85A est une protéine qui génère une forte réponse immunitaire lors de l'infection à *M. bovis*.

Notre étude a pu en partie évaluer les performances des tests Elisa utilisant la PPD comme antigène dans le diagnostic de la tuberculose bovine, surtout après l'optimisation de différents paramètres liés à ce test. Mais puisque la réponse à *M. bovis* n'est pas constante chez les bovins, et que différentes espèces répondent différemment à différents antigènes, démontré par plusieurs études comme celle de Bezos et *al.*, (2014), donc plusieurs antigènes ou protéines peuvent être essentiel pour maximiser la sensibilité du test et donc du diagnostic.

L'éradication et le contrôle de la maladie repose en grande partie sur son diagnostic précoce. Le test ELISA utilisé avec une sensibilité et une spécificité bonne, son cout faible, son temps de réalisation minime par rapport au test tuberculinique qui nécessite au minimum deux visites sur le terrain (Refaya et *al.*, 2020) représente un grand avantage pour le diagnostic, et devraient être développé et validé pour compléter les techniques officielles basées sur la réponse immunitaire à médiation cellulaire, pour un meilleur contrôle et une meilleure éradication de la maladie.

2. Facteurs de risque

Après le calcul de la séroprévalence de la tuberculose bovine dans l'Est algérien, et la constatation des variations géographiques de la proportion d'animaux séropositifs dans notre échantillon, une enquête épidémiologique a été nécessaire à effectuer, afin de déterminer quels

sont les facteurs de risque qui influencent ces variations de séroprévalence de cette pathologie bovine.

2.1. Les facteurs prédictifs dans le modèle

Nous avons procédé à un test de chi 2 bivarié afin de déterminer les facteurs prédictifs qui peuvent avoir une influence sur la variation de la séroprévalence de la tuberculose bovine dans les trois régions de l'Est Algérien.

Les facteurs qui ont une P Value inférieure à 0,2, sont les facteurs qui sont susceptibles d'avoir un effet prédictif (Tableau 5). Sachant que selon la nécessité de l'étude, certains facteurs ont une pertinence et un poids et peuvent être introduits dans le modèle malgré une P Value supérieure à 0,2. Ces facteurs sont appelés les facteurs prédictifs forcés, comme c'est le cas du facteur (Animaux achetés dans un pays répertorié comme non OTF) dans notre étude avec un P Value = 0,882.

Tableau 5 : Effet des facteurs prédictifs dans le modèle saturé

Variables		Négative N (%)	Positif N (%)	P
Âge	Non	317 (63.7)	8 (44.4)	0.097
	Oui	181 (36.3)	10 (55.6)	
Sexe	Femelle	477 (95.8)	16 (88.9)	0.164
	Male	21 (4.2)	2 (11.1)	
Type d'élevage	Extensif	56 (11.2)	5 (27.8)	0.033
	Intensif	442 (88.8)	13 (72.2)	
Animaux achetés dans un pays répertorié comme non OTF	Non	448 (90.0)	16 (88.9)	0.882
	Oui	50 (10.0)	2 (11.1)	
Source d'achat alimentaire contrôlé	Non	444 (89.2)	15 (83.3)	0.439
	Oui	54 (10.8)	3 (16.7)	
Type de transport d'animaux Propre (camion / camion de commerce collectif)	Non	386 (77.5)	12 (66.7)	0.282
	Oui	112 (22.5)	6 (33.3)	
Animaux loués ou prêtés ou empruntés ES	Non	444 (89.2)	14 (77.8)	0.133
	Oui	54 (10.8)	4 (22.2)	
Echanges de parcelles de pâturage avec les voisins	Non	429 (86.1)	12 (66.7)	0.021
	Oui	69 (13.9)	6 (33.3)	
Partager un point d'eau commun avec un autre troupeau de bovins	Non	82 (16.5)	2 (11.1)	0.545
	Oui	416 (83.5)	16 (88.9)	
Clôture de séparation efficace entre les troupeaux	Non	165 (33.1)	5 (27.8)	0.635
	Oui	333 (66.9)	13 (72.2)	
Équipement en copropriété avec d'autres éleveurs de bovins	Non	439 (88.2)	12 (66.7)	0.007
	Oui	59 (11.8)	6 (33.3)	
Au moins une parcelle de pâturage louée à un autre éleveur de bétail	Non	210 (42.2)	7 (38.9)	0.782
	Oui	288 (57.8)	11 (61.1)	
Présence d'autres espèces domestiques en contact direct ou indirect avec le bétail	Non	478 (96.0)	16 (88.9)	0.143
	Oui	20 (4.0)	2 (11.1)	
Nourriture supplémentaire fournie au pâturage	Non	199 (40.0)	8 (44.4)	0.703
	Oui	299 (60.0)	10 (55.6)	
Supplémentation en sel sur le pâturage E	Non	163 (32.7)	8 (44.4)	0.300
	Oui	335 (67.3)	10 (55.6)	
Présence de points d'alimentation au sol communs dans le pâturage	Non	428 (85.9)	12 (66.7)	0.023
	Oui	70 (14.1)	6 (33.3)	
Présence de mangeoires communes au pâturage	Non	414 (83.1)	11 (61.1)	0.016
	Oui	84 (16.9)	7 (38.9)	
Présence de bâtiments agricoles dans différents lieux géographiques	Non	320 (64.3)	8 (44.4)	0.086
	Oui	178 (35.7)	10 (55.6)	
Présence d'au moins un bâtiment commun pour le bétail et le stockage d'aliments pour animaux	Non	69 (13.9)	6 (33.3)	0.021
	Oui	429 (86.1)	12 (66.7)	

2.2. Modèle Maximal

2.2.1. Variations des effets aléatoires entre modèle saturé et modèle final

L'estimation des écarts-type des effets aléatoires entre les deux modèles montre qu'il n'y a pas de différence entre les deux modèles (=1.814) (Tableau 6). Ceci traduit l'importance, et la nécessité des effets aléatoires dans notre modèle.

Tableau 6 : Estimations des écarts types (racine carrée de la variance) des effets aléatoires entre le modèle saturé et le modèle final ($\sigma = \rho$: Coefficient de Spearman).

Effets aléatoires entre les deux modèles		
	σ^2 variance	Ecart type
Modèle saturé	3,29	1,81
Modèle final	3,29	1,81

2.2.2. Ajustement du modèle

La probabilité d'observer les données sous l'hypothèse que le modèle représente la réalité est égale à $p=0.668$ (Tableau 7), lorsque les effets aléatoires sont inclus dans le modèle. Cette valeur est identique aussi bien pour le modèle saturé, que pour le modèle final. Une P-valeur importante indique une forte probabilité d'observer les données sous l'hypothèse que le modèle représente la réalité. On conclut donc que le modèle s'ajuste mal sans l'inclusion des effets aléatoires dans les trois régions étudiées. (*Hosmer-Lemeshow* test = 4.934 p value = 0.668).

Tableau 7 : Test d'ajustement du modèle maximal

Test de <i>Hosmer – Lemeshow</i> (HL)		
	Valeur du test	P - Value
Modèle maximale	4,934	0,668

2.2.3. Comparaisons des modèles possibles pour les effets fixes

L'importance des différents effets fixes est évaluée par comparaison des valeurs d'AIC des modèles incluant différentes combinaisons de ces effets. Le modèle de moindre AIC est d'une part le modèle n'incluant que l'effet ($V4 \sim V3 + V5 + V6 + V8 + V10 + V11 + V12 + V13 + V15 + V17 + V18 + V19 + V20$, AIC= 143.37). (Tableau 8).

Tableau 8 : Sélection de modèle pour les effets fixes par comparaison des AIC

Model	Nombre des facteurs	AIC
Model 1	V16, V9, V1, V2, V7, V14, V12, V15, V19, V8, V17, V6, V13, V10, V11, V18, V20, V3, V5	163.02
Model 2	V9, V7, V1, V2, V14, V12, V19, V8, V17, V6, V15, V13, V10, V18, V20, V3, V11, V5	161.42
Model 3	V7, V1, V2, V14, V12, V19, V8, V17, V6, V15, V13, V18, V10, V3, V11, V20, V5	160.73
Model 4	V1, V14, V2, V12, V19, V8, V17, V6, V15, V13, V10, V18, V3, V11, V20, V5	159.09
Model 5	V2, V14, V12, V19, V8, V17, V6, V15, V13, V10, V3, V18, V11, V20, V5	158.02
Model 6	V14, V12, V19, V8, V17, V6, V15, V13, V10, V3, V18, V11, V20, V5	156.98
Model 7	V8, V12, V19, V15, V6, V17, V13, V10, V11, V3, V20, V18, V5	143.37

NB : V1= Âge, V2= Sexe, V3= Type d'élevage, V5= Animaux achetés dans un pays répertorié comme non OTF, V6= Source d'achat alimentaire contrôlé, V7= Type de transport propre aux Animaux (camion / camion de commerce collectif), V8= Animaux loués ou prêtés ou empruntés ES, V9= Echanges de parcelles de pâturage avec les voisins, V10= Partager d'un point d'eau commun avec un autre troupeau de bovins, V11= Clôture de séparation efficace entre les troupeaux, V12= Équipement en copropriété avec d'autres éleveurs de bovins, V13= Au moins une parcelle de pâturage louée à un autre éleveur de bétail, V14= Présence d'autres espèces domestiques en contact direct ou indirect avec le bétail, V15= Nourriture supplémentaire fournie au pâturage, V16= Supplémentation en sel sur le pâturage E, V17= Présence de points d'alimentation au sol communs dans le pâturage, V18= Présence de mangeoires communes au pâturage, V19= Présence de bâtiments agricoles dans différents lieux géographiques, V20 Présence d'au moins un bâtiment commun pour le bétail et le stockage d'aliments pour animaux".

2.2.4. Choix des effets fixes inclus dans les modèles sélectionnés par l'AIC

Le choix des effets fixes à inclure dans le modèle final a été effectué par la méthode du bootstrap paramétrique. Seuls les effets fixes taille (nommer les facteurs de risque dont $p < 0.05$) (Tableau

9) ont été pris en compte dans l'estimation de la prévalence de la tuberculose bovine dans l'Est algérien.

Tableau 9 : P- value des effets inclus dans les modèles de plus faible AIC, déterminés par bootstrap paramétrique (7800 itérations pour chaque p-value). En plus des effets fixes, les modèles pour l'Est algérien incluent l'effet aléatoire ferme.

Effets fixes dans le modèle final	P – Value
Type d'élevage	0.024
Animaux achetés dans un pays répertorié comme non OTF	0.030
Source d'achat alimentaire contrôlé	0.018
Animaux loués ou prêtés ou empruntés	0.053
Partager un point d'eau commun avec un autre troupeau de bovins	0.036
Clôture de séparation efficace entre troupeaux	0.038
Type de transport propre aux Animaux (camion / camion de commerce collectif)	0.033
Équipement en copropriété avec d'autres éleveurs de bovins	0.046
Au moins une parcelle de pâturage louée à un autre éleveur de bétail	0.039
Nourriture supplémentaire fournie au pâturage	0.083
Présence de points d'alimentation au sol communs dans le pâturage	0.042
Présence de mangeoires communes au pâturage	0.037
Présence de bâtiment agricole dans différentes zones géographiques	0.061
Présence d'au moins un bâtiment commun pour le bétail et le stockage d'aliments pour animaux	0.015
Âge	0.219
Sexe	0.180
Type de transport	0.225
Echanges de parcelles de pâturage avec les voisins	0.238
Présence d'autres espèces domestiques en contact direct ou indirect avec le bétail	0.135
Supplémentation en sel sur les pâturages	0.500

2.2.5. Estimation des Odds ratio dans la zone d'étude

On démarre des deux principes statistiques conventionnellement retenus par l'ensemble de la communauté scientifique, l'OR retenu est celui :

- le OR qui prend la valeur la plus élevée.
- mais surtout, dont son intervalle de confiance ne contient pas la valeur 1.

De ce fait on remarque que « les animaux achetés dans un pays répertorié comme non OTF » est le facteur qui a l'OR le plus élevé et son intervalle ne contient pas la valeur 1. De ce fait, il a été considéré comme le facteur le plus influençant sur la variation de la prévalence de la tuberculose bovine dans l'Est algérien. Suivi du facteur «Équipement en copropriété avec d'autres éleveurs de bovins » avec un OR de 10,76 et un intervalle de 1.20 – 96.58 (Tableau 10, Figure 25).

Tous ces facteurs sont retenus non seulement grâce à leur OR, mais aussi à la valeur de leur P-Value qui est inférieure à 0,05 % (voir tableau 9). Et qui sont de l'ordre de 0,030 et 0,046 pour les deux facteurs respectivement.

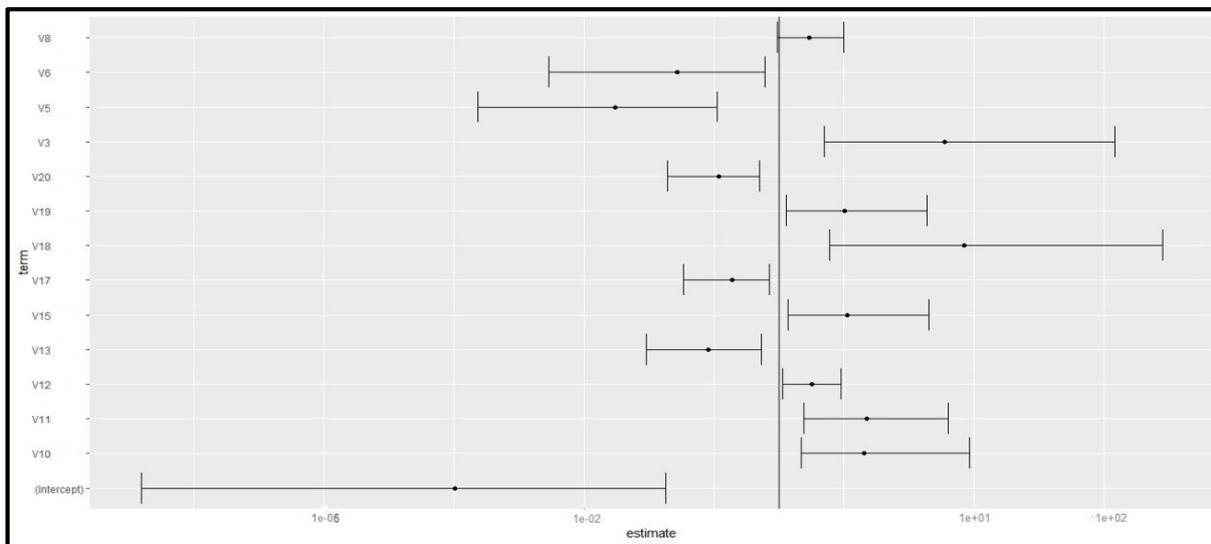


Figure 25 : Distribution des Odds ratio selon le modèle GLMM dans notre enquête.

V6= Source d'achat alimentaire contrôlé, **V8**= Animaux loués ou prêtés ou empruntés ES, **V5**= Animaux achetés dans un pays répertorié comme non OTF, **V3**= Type d'élevage, **V20** Présence d'au moins un bâtiment commun pour le bétail et le stockage d'aliments pour animaux, **V19**= Présence de bâtiments agricoles dans différents lieux géographiques, **V18**= Présence de mangeoires communes au pâturage, **V17**= Présence de points d'alimentation au sol communs dans le pâturage, **V15**= Nourriture supplémentaire fournie au pâturage, **V13**= Au moins une parcelle de pâturage louée à un autre éleveur de bétail, **V12**= Équipement en copropriété avec d'autres éleveurs de bovins, **V11**= Clôture de séparation efficace entre les troupeaux, **V10**= Partager un point d'eau commun avec un autre troupeau de bovins.

Tableau 10 : Odd-ratios (OR) établi pour chaque facteur de risque indépendamment à partir des estimations des modèles mixtes.

Modèle finale	Estimation (OR Final)	Intervalle de confiance 95%
Type d'élevage	0.00	0.00 - 0.04
Animaux achetés dans un pays répertorié comme non OTF	13.90	2.67 - 72.38
Source d'achat alimentaire contrôlé	0.00	0.00 - 0.07
Animaux loués ou prêtés ou empruntés	0.00	0.00 - 2.39
Partager un point d'eau commun avec un autre troupeau de bovins	7.82	0.71 - 85.91
Clôture de séparation efficace entre troupeaux	3.59	1.06 - 12.22
Type de transport propre aux Animaux (camion / camion de commerce collectif)	5.47	1,87 - 16.03
Équipement en copropriété avec d'autres éleveurs de bovins	10.76	1.20 - 96.58
Au moins une parcelle de pâturage louée à un autre éleveur de bétail	0.01	0.00 - 0.53
Nourriture supplémentaire fournie au pâturage	12.10	0.41 - 35.69
Présence de points d'alimentation au sol communs dans le pâturage	0.04	0.00 - 0.97
Présence de mangeoires communes au pâturage	6.80	2.43 - 19.06
Présence de bâtiment agricole dans différentes zones géographiques	11.04	0.41 - 32.77
Présence d'au moins un bâtiment commun pour le bétail et le stockage d'aliments pour animaux	0.02	0.00 - 0.51

2.3. L'ACM (L'Analyse des Correspondances Multiple)

2.3.1. Les pourcentages d'inertie des différentes dimensions

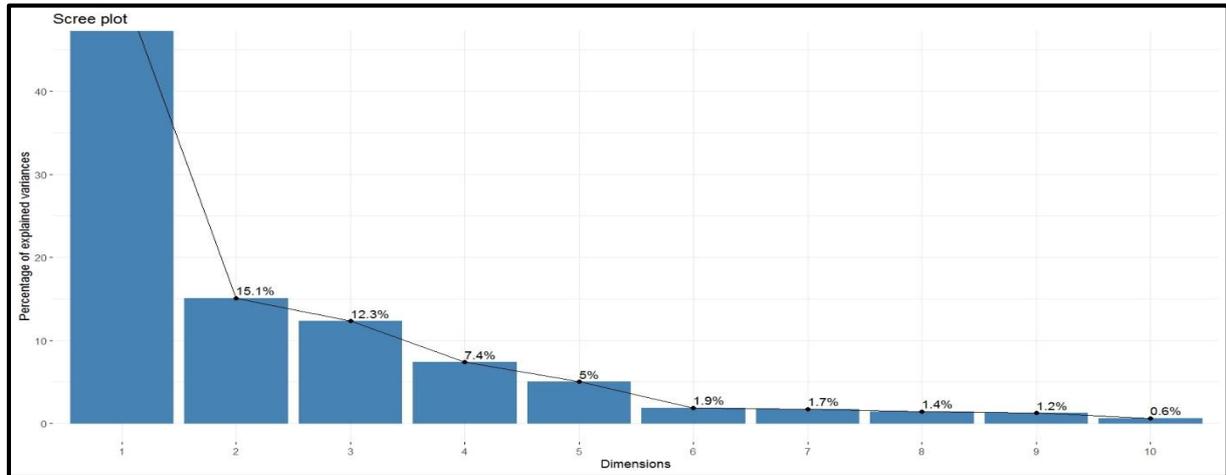


Figure 26 : Prévalence des variances expliquées en fonction des dimensions.

Tableau 11 : pourcentage d'inertie des différentes dimensions

Axe (Dim)	Dim 1	Dim 2	Dim 3	Dim 4	Dim 5	Dim 6	Dim 7	Dim 8	Dim 9	Dim 10	Dim 11	Dim 12	Dim 13
Variance	0.528	0.151	0.123	0.074	0.050	0.019	0.017	0.014	0.012	0.006	0.004	0.002	0.000
% de var	52.775	15.063	12.313	7.365	5.004	1.881	1.715	1.414	1.241	0.616	0.407	0.204	0.000
Cumulative % de var	52.775	67.839	80.152	87.517	92.521	94.402	96.117	97.532	98.773	99.389	99.796	100.000	100.000

Les pourcentages ci-dessus étant relatifs à la totalité de l'information contenue dans le tableau.

Ainsi, les trois premiers axes de cette analyse représentent 80.152 % de la dispersion totale (52.775 + 15.063 + 12.313), ce qui est largement davantage. Et reflète presque le pourcentage réel. Ces trois axes sont donc à prendre en considération pour cette enquête (Tableau 11, Figure 26).

2.3.2. Corrélation entre les variables et les principaux axes

Le graphique de la Figure 27, ainsi que le tableau 12 et tableau 13, permettent d'identifier les variables les plus corrélées avec chaque axe (axe 1 et axe 2). Les corrélations au carré entre les variables et les axes sont utilisées comme coordonnées de ces variables.

Tableau 12 : corrélation entre les variables et l'axe 1

Dim 1	R2	P.Value
V3	0.9501112	7.905196e-14
V13	0.8363615	6.661950e-09
V20	0.8357124	6.919659e-09
V18	0.7444543	4.842049e-07
V10	0.6461798	1.133405e-05
V5	0.4635963	6.799284e-04
V16	0.2519468	2.041959e-02

Tableau 13 : corrélation entre les variables et l'axe 2.

Dim 2	R2	P.Value
V12	0.6251050	0.00001992172
V11	0.5698874	0.00007646826

On constate que les variables V3, V13, V20, V18, V10, V5 et V16 sont les plus corrélées avec la dimension 1 (Axe 1), De même, les variables V11 et V12 sont les plus corrélées avec la dimension 2 (Axe 2).

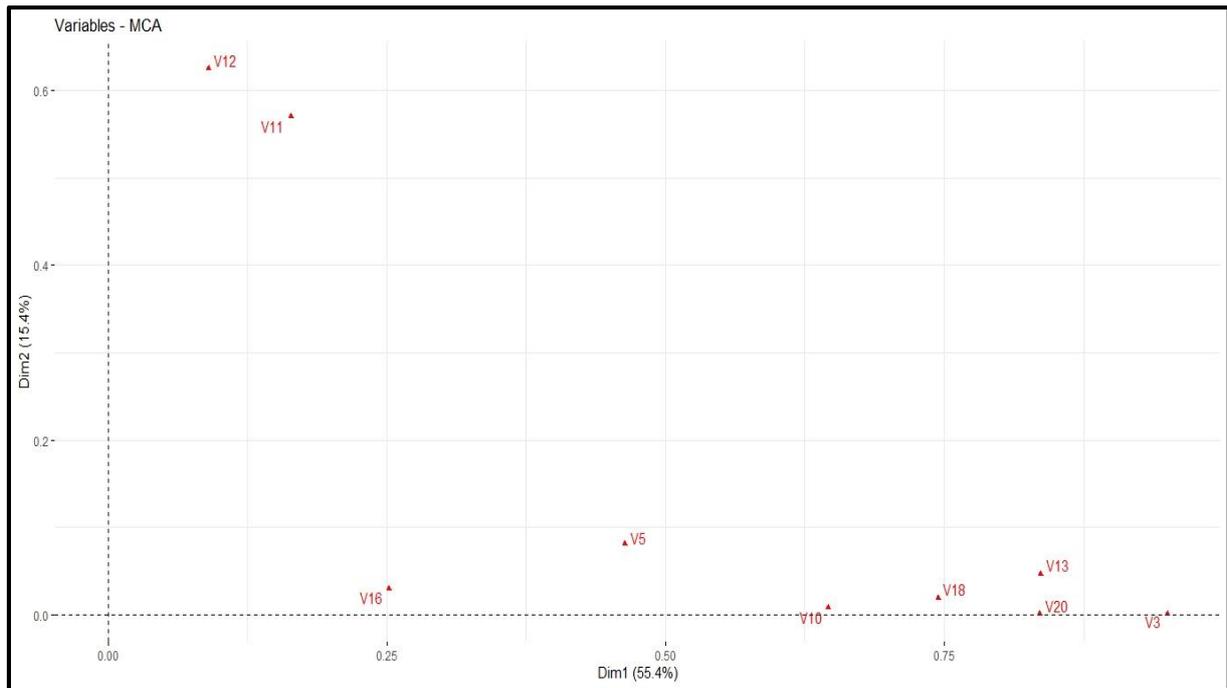


Figure 27 : Corrélation entre les variables et les principaux Axes

2.3.3. Corrélation entre les individus (les fermes) et les axes principaux

On démarre d'un principe que : plus la confection de corrélation est proche de 1 plus elle est parfaite, par conséquent l'individu (ferme) est prise en considérations.

De ce fait on peut tirer du tableau de corrélation ainsi que son graphe, quelques individus qui ont des coefficients de corrélations proche du 1 et donc très présent en considérations dans l'analyse des facteurs de risque les plus influençant sur la variation de la prévalence de la tuberculose bovine dans l'Est algérien (Tableau 14, Figure 28).

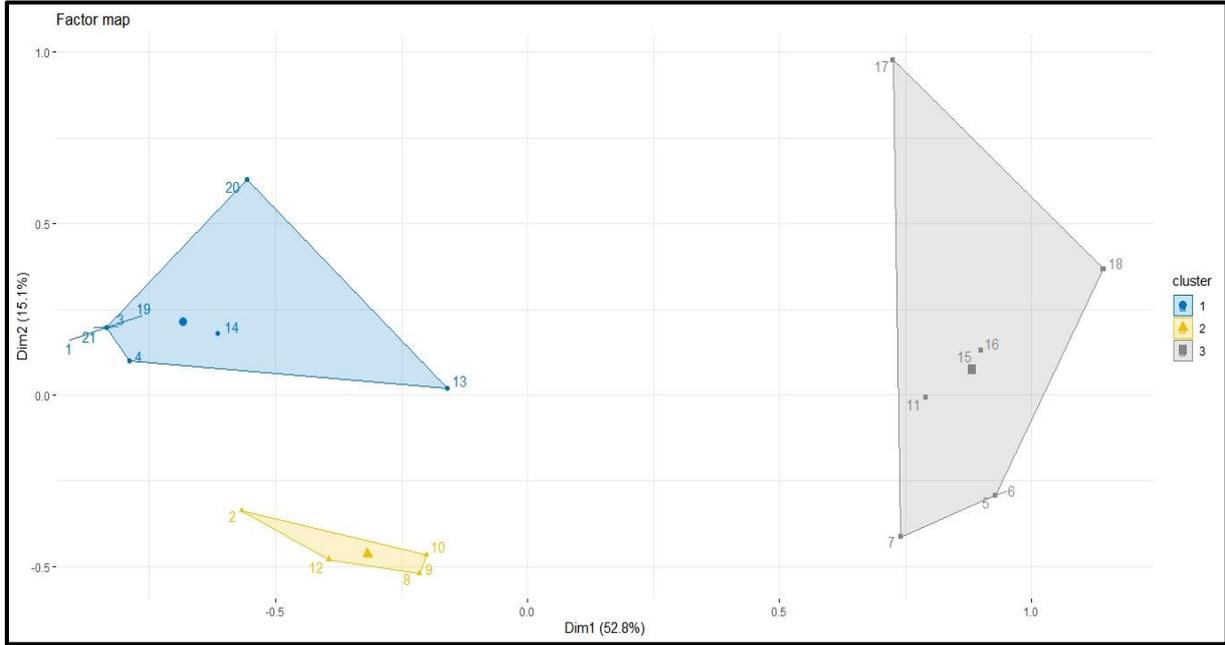


Figure 28 : Corrélation entre les fermes et les principaux Axes

Tableau 14 : corrélation entre les individus et les principaux axes

Ferme	Dim 1	Dim 2	Dim 3	Dim 4	Dim 5
ouled bdayra	0.89851742	0.010612679189	0.0172246129	0.018812082	0.016688422
Mezrir	0.63945029	0.000506750884	0.2743697337	0.041024988	0.004610763
Khobana 1	0.89851742	0.010612679189	0.0172246129	0.018812082	0.016688422
Khobana 2	0.44159222	0.206793657980	0.1630039477	0.044226277	0.123423100
OD Souaadiya	0.75034840	0.209376084028	0.0005188511	0.003218123	0.001838894
OD M'hada	0.75034840	0.209376084028	0.0005188511	0.003218123	0.001838894
OD Khlifala	0.50497904	0.294644153352	0.0119905547	0.083806465	0.025386143
OD Aaouassa	0.63945029	0.000506750884	0.2743697337	0.041024988	0.004610763
OD Saadet	0.63945029	0.000506750884	0.2743697337	0.041024988	0.004610763
Aaouabi	0.16910653	0.000003310301	0.4377932717	0.022155254	0.019772108
El maadhar 1	0.51861334	0.123682194184	0.0135855770	0.303314924	0.001255718
EL maadhar 2	0.63945029	0.000506750884	0.2743697337	0.041024988	0.004610763
El maadhar 3	0.08308139	0.034472066861	0.2239381408	0.116077647	0.531320080
Mezrir souaga	0.15692365	0.280107152626	0.3090210293	0.065330922	0.000444503
Magra 1	0.55926982	0.014095650494	0.1882838933	0.192837997	0.015811902
Magra 2	0.55926982	0.014095650494	0.1882838933	0.192837997	0.015811902
Magra 3	0.38060324	0.372885388402	0.0804602621	0.143323218	0.000210726

Ibn ziyad Const	0.75937751	0.137130922603	0.0010775658	0.039960944	0.004586286
4 chemins Const	0.89851742	0.010612679189	0.0172246129	0.018812082	0.016688422
Khroub	0.09207871	0.492725922181	0.1895432551	0.006796810	0.145435287
Ain lahjar Sétif	0.89851742	0.010612679189	0.0172246129	0.018812082	0.016688422

2.3.4. Le biplot asymétrique de l’ACM de notre model final

Le graphique par défaut de l’ACM (analyse des correspondances multiples) est un graphique “symétrique”, dans lequel les lignes et les colonnes sont représentées en coordonnées principales. Dans cette situation, il est impossible d’interpréter la distance entre les points lignes et les points colonnes, ce qui veut dire qu’on ne peut pas déterminer les facteurs de risque liés à chaque fermes et qui ont une influence sur la variation de la prévalence. Pour surmonter ce problème, le plus simple est de faire un graphique asymétrique. Cela signifie que, les profils colonnes doivent être représentées dans l’espace des lignes ou vice-versa (Figure 29).

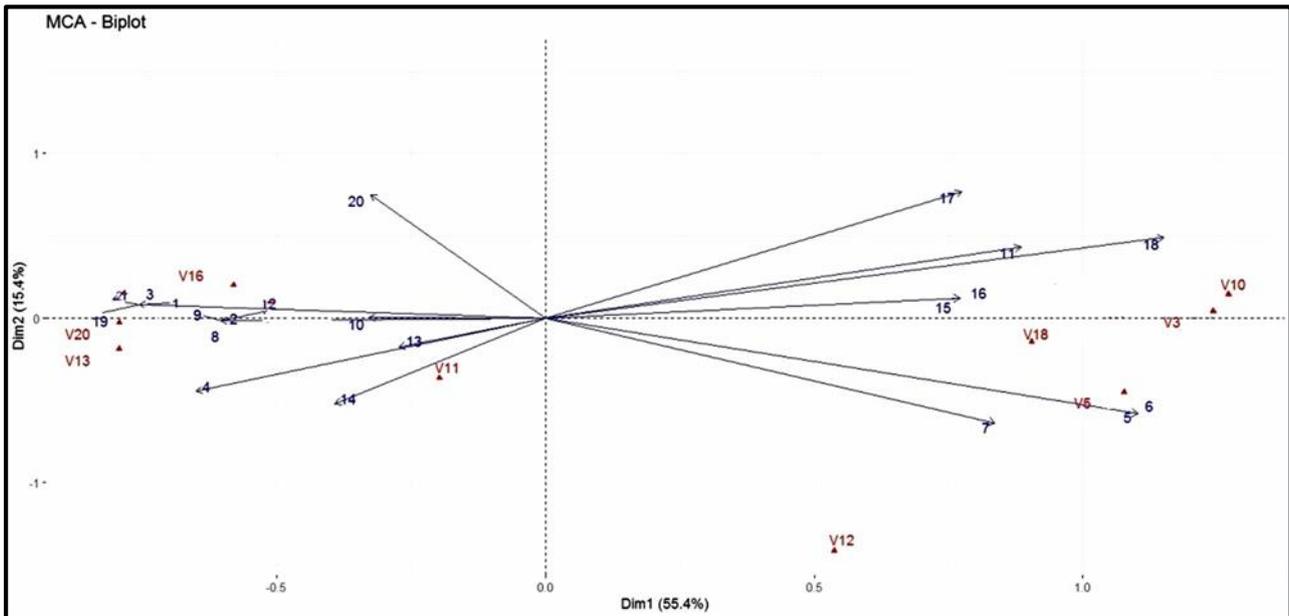


Figure 29 : ACM-Biplot asymétrique des exploitations en fonction des facteurs de risque pertinents

(avec V3 = Type d'élevage ; V5 = Animaux achetés dans un pays répertorié comme non OTF; V10 = Partage d'un point d'eau commun avec un autre troupeau de bovins; V11 = Clôture de séparation efficace entre troupeaux; V12 = Équipement en copropriété avec d'autres éleveurs; V13 = Au moins une parcelle de pâturage louée à un autre éleveur de bétail; V16 = Supplémentation en sel sur le pâturage; V18 = Présence de mangeoires communes au pâturage; V20 = Présence d'au moins un bâtiment commun pour le bétail et le stockage des aliments pour animaux; et 1 = Ferme «ouled bdayra»; 2 = Ferme «Mezrir»; 3 = Ferme «Khobana1»; 4 = Ferme Khobana2 »; 5 = Ferme «OD Souaadiya»; 6 = Ferme "OD M'hada"; 7 = Ferme «OD Khlifala»; 8 = Ferme «OD Aaouassa»; 9 = Ferme «OD Saadet»; 10 = Ferme «Aaouabi»; 11 =

Ferme «El maadhar 1»; 12 = Ferme «EL maadhar 2»; 13 = Ferme «El maadhar 3»; 14 = Ferme «Mezrir souaga»; 15 = «Magra 1»; 16 = Ferme «Magra 2»; 17 = Ferme «Magra 3»; 18 = Ferme «Ibn ziyad Const»; 19 = «4 chemins Const»; 20 = Ferme «Khroub»; 21 = Ferme «Ain lahjar Sétif»).

Selon l'OIE (Office International des Epizooties), désormais connu sous le nom de l'Organisation mondiale de la santé animale, le statut «OTF» (Officiellement indemne de tuberculose) est attribué à un pays lorsque le pourcentage de cheptel bovin confirmé infecté ne dépasse pas 0,1% / an pour tous les troupeaux pendant 6 ans (Reviriego Gordejo et Vermeersch, 2006). Cela a incité de nombreux pays à rétablir des programmes de contrôle et d'éradication de la tuberculose bovine, qui leur permettent de réduire considérablement l'incidence de la maladie à *M. bovis* chez les bovins et les humains (Vekemans et al., 1999). Et ceci est surtout connu dans la majorité des pays d'Europe occidentale où le taux de séroprévalence de la tuberculose est <0,1% (Acha et Szyfres, 2005), en revanche 85% des bovins d'Afrique et 82% de la population humaine vivent dans un environnement où La tuberculose causée par *M. bovis* n'est pas contrôlée (Cosivi et al., 1998). En Algérie aucune étude n'a été menée dans le milieu rural jusqu'à la présente étude, montrant une séroprévalence de 3,49% dans l'Est de l'Algérie, sur un échantillon de 516 bovins répartis sur 21 exploitations appartenant à trois régions ; Msila, Sétif et Constantine. Ce taux de séroprévalence relativement faible nous laisse classer l'Algérie en terme de tuberculose bovine en situation intermédiaire entre pays industrialisés où le taux est pratiquement très faible voire insignifiant (<0,1%) (Fritsche et al., 2004; Biet et al., 2005), et les pays d'Afrique, d'Amérique latine et d'Asie où le taux de séroprévalence est très élevé, qui varie de 10% à 24% (Ameni et al., 2007; Sidibé et al., 2003; Schelling et al., 2000 ; Ngandolo et al., 2009). Afin de justifier cette situation intermédiaire de séroprévalence de la tuberculose en Algérie, il est apparu nécessaire de déterminer quels facteurs de risque influent sur le taux de séroprévalence constatée dans notre pays.

Au total, 21 fermes ont été sélectionnées et analysées pour cette étude. Le modèle final a permis de retenir 13 variables associées au statut sérologique de la tuberculose chez le bétail (voir tableau 6 et 7). Ainsi et selon les résultats de notre étude, la principale voie de transmission de la tuberculose bovine nous semble être « la présence de mangeoires communes au pâturage », suivie par « le type d'élevage intensif », qui ne fait pas exception qu'en Algérie car il a été signalé dans plusieurs études, notamment au Royaume-Uni et en Espagne (Humblet et al., 2009; Skuce et al., 2012), ainsi que « les pratiques agricoles intensives » (Johnston et al., 2011). En revanche, le facteur « Animaux achetés dans un pays répertorié comme non OTF » est retenu en Algérie selon notre étude comme un facteur hautement protecteur contre la tuberculose,

contrairement à presque toutes les études précédentes (Bessell *et al.*, 2012). Car les éleveurs algériens achètent leurs troupeaux via un seul canal, une "Coopérative de l'Etat" qui à son tour se ravitaille, en important des races bovines de pays industrialisés certifiés "OTF" par l'OIE, ce qui contribue favorablement et significativement à réduire le taux de séroprévalence de la maladie en Algérie, et la placer dans une situation intermédiaire entre les pays industrialisés et les pays en développement tels que les pays africains et asiatiques.

Afin d'établir correctement les facteurs de risque les plus pertinents qui agissent d'une manière ou d'une autre sur le taux de séroprévalence de la tuberculose bovine en Algérie, nous avons mené une analyse descriptive multidimensionnelle telle que l'analyse des correspondances multiples (ACM), qui nous a permis de déterminer deux groupes reproducteurs opposés, selon les facteurs de risque qui influencent en grande partie le taux de la séroprévalence de la maladie. Le premier groupe d'élevage qui associe les fermes "OD Souaadiya, OD M'hada, OD Khlifala, Magra 2, Magra 1, Ibn ziyad Const, El maadhar 1, Magra 3" qui sont situées dans les deux régions de Msila et Constantine, où la séroprévalence de la maladie selon notre étude a été classée comme moyenne à Msila, et même élevée à Constantine (voir tableau 2, Figure 23). Cette variation de la séroprévalence de ces deux régions est jugée influencée par trois facteurs de risques, qui sont par ordre décroissant selon leur coefficient de corrélation, les suivants : "Partage d'un point d'eau commun avec un autre troupeau de bovins", "Type d'élevage intensif", et aussi "présence de mangeoires communes au pâturage". Ces facteurs de risque expliquent généralement le contact nez-à-nez. Ce dernier a été aussi mentionné dans presque toutes les études précédentes (Ayele *et al.*, 2004). Le second groupe qui est formé par les fermes "ouled bdayra, Khobana1, 4 chemin Const, Ain lahjar Sétif, OD Aaouassa, EL maadhar 2, OD Saadet, Khroub, Khobana2, Mezrir souaga, Aaouabi, El maadhar 3" appartenant aux deux régions de Msila et Sétif où la séroprévalence est considérée comme faible voire moyenne. Ces exploitations sont influencées par quatre facteurs sélectionnés en fonction de leurs coefficients de corrélation décroissants : "Présence d'au moins un bâtiment commun pour l'élevage et le stockage des aliments pour animaux", "Au moins une parcelle de pâturage louée à un autre éleveur", "Clôture de séparation efficace entre troupeaux" et enfin "Supplémentation en sel au pâturage". Tous ces facteurs reflètent le degré de confinement du bétail et de ses aliments. En général, si l'on résume les facteurs responsables de l'apparition de la tuberculose bovine dans une ferme de l'Est de l'Algérie, on voit que la contamination d'un troupeau résulte de l'un et / ou de l'autre des trois mécanismes connus de la communauté scientifique ; qui sont : l'introduction ou la réintroduction d'un animal ; le voisinage et en dernier lieu la récidivité. Mais

ce qui est impérativement à noter, c'est que ces facteurs de causalité dépendent des conditions épidémiologiques locales propres à chaque groupe agricole.

Certains facteurs de risques, bien qu'ils puissent avoir un grand impact sur la présence de la maladie, ils peuvent être insignifiants dans d'autres pays du monde, en raison de la situation épidémiologique spécifique à chaque pays. Dans notre étude les trois facteurs les plus pertinents cités supra, sont inclus dans la catégorie des facteurs de risques trouvés ou identifiés dans les pays en développement et même ceux développés, citant par exemple, les mouvements incontrôlés des animaux, la transhumance (qui est un mouvement permettant le contact entre différents troupeaux), aussi et surtout la performance minimale des tests utilisés, à savoir le test cutané (Humblet et *al.*, 2009). Ce qui incite en grande partie l'apparition et la récurrence de la maladie. Compte tenu de la situation épidémiologique de la tuberculose bovine dans l'Est de l'Algérie, faute d'informations scientifiques crédibles et très difficiles, il n'en est pas moins vrai que cette maladie reste largement méconnue en Algérie. Cependant, les résultats satisfaisants de cette présente étude ont montré des indicateurs épidémiologiques influençant la variation du taux de séroprévalence de cette zoonose. Ces indicateurs existent dans toutes les zones agro-écologiques et dans tous les types de production, mais se répartissent de manière spécifique pour chaque localité agricole, et à des taux variables. Des taux plus bas sont observés dans les régions des hauts plateaux (Sétif), en passant par Msila qui est une zone steppique et pastorale où la séroprévalence reste modérément élevée, allant à Constantine qui se caractérise par un type d'élevage presque complètement intensif dont la séroprévalence de la tuberculose bovine est marquée par un taux élevé. Mais grosso modo, selon notre étude, l'Est de l'Algérie est généralement marqué par une séroprévalence intermédiaire entre les pays industrialisés et les pays en développement, notamment l'Afrique.

La diminution de la séroprévalence peut être le résultat de la politique du pays qui consiste à acheter les troupeaux reproducteurs à un pays certifié OTF, ce qui peut contrôler et limiter le risque d'introduction d'un animal infecté par la bTB externe dans les fermes algériennes. Selon le décret N°12 au chapitre 5 du cahier des charges et règlements normalisés définissant les conditions sanitaires générales et organisationnelles spécifiques zootechniques pour l'importation des génisses et vaches laitières gestantes relâchées en Algérie en mai 2007, l'importateur d'animaux doit se voir délivrer une exemption sanitaire par les services vétérinaires officiels pour chaque opération d'importation. Et les animaux reproducteurs importés doivent être accompagnés d'un certificat sanitaire du pays d'origine et d'un rapport d'analyse de laboratoire pour chaque animal (<https://www.franceagrimer.fr/content/download/>

2128 / document / Algerie-CC-mai07.pdf). Cependant, certaines exploitations et éleveurs ne respectent pas les mesures réglementaires lors de l'achat de bovins, en particulier dans l'Est de l'Algérie où certains propriétaires préfèrent acheter leurs troupeaux par eux-mêmes, près des frontières avec la Tunisie et la Libye qui sont considérés comme des pays non OTF, sans oublier les marchés noirs en Algérie, et les exploitations qui ne sont pas soumises au contrôle réglementaire de la maladie par les services concernés. La collaboration entre les éleveurs et les services de contrôle n'étant pas obligatoire dans notre pays.

Il est vrai qu'il y a un peu de dépassement de la loi par certains propriétaires et que l'effort de l'Etat pour éradiquer cette maladie doit s'améliorer en luttant contre ces dépassements, mais cela ne veut pas dire que ces lois n'ont pas de valeurs car on a trouvé qu'ils ont contribué à la diminution de cette séroprévalence et ont mis l'Algérie dans une situation épidémiologique intermédiaire entre pays en développement et pays développés. Cela pourrait être considéré comme une bonne étape sur la voie de l'éradication de la tuberculose bovine en Algérie.

En outre, un « certificat zoo sanitaire pour l'exportation vers l'Algérie de bovins à des fins de reproduction » et un « certificat de soutien vétérinaire privé pour l'exportation de bovins à des fins de reproduction vers l'Algérie » sont obligatoires pour importer des bovins reproducteurs en Algérie. Ces deux documents garantissent que les animaux importés sont en bonne santé car ils exigent que « les animaux importés proviennent de troupeaux, officiellement indemnes de brucellose et de tuberculose, conformément au Code zoosanitaire (pays OTF) » et « les animaux ont réagi négativement à un test tuberculinique comparatif effectué sur le pays d'origine plus de 3 jours et moins de 60 jours avant le départ » (<https://www.agriculture.gov.ie/animalhealthwelfare/tradeinliveanimalspoultryinclgamebirdsetc/tradewithnon-eucountries/healthcertificatesfortheexportoflivestock/>). Pour ces raisons, nous considérons que le facteur « Animaux achetés dans un pays répertorié comme non OTF » est un facteur de protection car il limite l'introduction d'animaux infectés dans les élevages algériens et prévient le harponnage des infections d'origine externe dans le pays.

Il reste tout de même très important de mettre en place un système d'épidémiologie-surveillance, pour minimiser les risques d'infection de la faune, et spécifiquement les bovins. Parce que la persistance de *M. Bovis* dans l'environnement est un facteur qui doit être étudié aussi, afin d'évaluer concrètement son rôle épidémiologique dans la transmission de la maladie.

Partie C : Etude rétrospective sur la tuberculose bovine dans l'Est Algérien

1. Etude rétrospective sur la tuberculose bovine (2007-2018)

Les rapports sur les bovins dépistés, abattus ainsi que les organes saisis dans les trois wilayas étudiées Sétif, M'sila et Constantine de 2007 à 2018 se présentent comme suit :

1.1. M'sila

Concernant le test tuberculique et les programmes de surveillances sur le terrain au niveau de la wilaya de M'sila, les données de la DSA étaient assez étroites, avec un nombre estimé très faible d'animaux dépistés par rapport au nombre totale de têtes de bovins présents dans cette wilaya. Le dépistage a touché un nombre maximal de 1857 enregistré en 2009, et un minimum de 304 enregistré en 2014 (Tableau 15). Ces fluctuations liées au test intradermique sont surtout dus aux variations du nombre d'exploitations conventionnées avec les autorités concernées.

Après l'analyse des données, nos observations ont montré que le taux le plus élevé (6,40%) des animaux dépistés positifs au test tuberculique a été enregistré en 2012, avec un taux de prévalence globale de 2,5% de 2009 à 2012. La prévalence la plus élevée (6,40%) était en 2012, et le taux de prévalence le plus faible (0,65%) était en 2017 (Figure 30). Ceci peut être attribué au nombre élevé d'animaux dépistés. On a également noté un taux de prévalence décroissant de l'année 2012 à 2017, peut être dus à l'ensemble des sensibilisations de l'ensemble des propriétaires, éleveurs et responsables de la région, ainsi que le développement de différents outils d'élevage et d'agriculture.

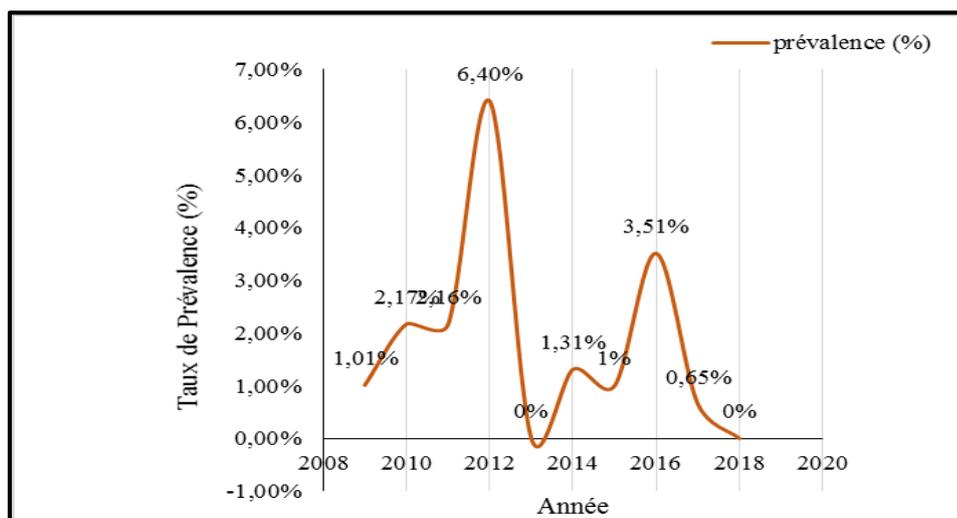


Figure 30 : Prévalence Animaux dépistés par test tuberculique M'sila (2009-2017).

Tableau 15 : Animaux dépistés, M'sila (2009-2018)

Année	Nombre Animaux dépistés	Cas enregistrés	Prévalence (%)
2009	1857	20	1,01%
2010	735	16	2,17%
2011	1800	39	2,16%
2012	703	45	6,40%
2013	485	/	/
2014	304	4	1,31%
2015	1402	14	1%
2016	1310	46	3,51%
2017	1668	11	0,65%
2018	975	/	/

Au niveau de l'abattoir, les organes saisis sont selon le nombre en ordre décroissant comme suit : poumons, fois puis la carcasse à son total (Figure 31). Ce qui signifie que la localisation de la maladie est en grande partie pulmonaire, marqué surtout en 2016 (36 Bovins saisis), ceci est expliqué par le fait que la maladie est une pathologie principalement aéroportée dont la transmission se fait par inhalation de l'agent infectieux bactérien, qui est considérée comme l'une des principales voies de transmission de la tuberculose. Cependant aucune lésion n'a été observée au niveau des intestins. Ceci s'applique à ce qui a été rapporté dans l'étude de Palmer et *al.*, (2004) où il a été démontré que jusqu'à 90% des lésions macroscopiques de bTB étaient pulmonaires. Un pourcentage plus élevée que l'étude de Jajere et *al.*, (2018), démontrant qu'un taux de 11,87%.

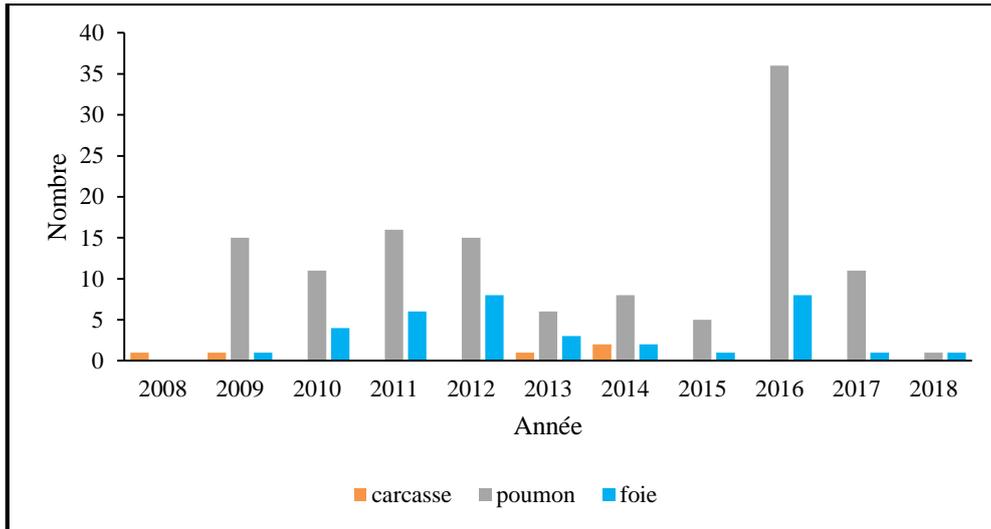


Figure 31 : Organes Saisis (2008 – 2018), M'sila

1.2. Sétif

Concernant la wilaya de Sétif, parmi les animaux dépistés au niveau de l'abattoir, la prévalence de la tuberculose bovine dans la totalité des animaux abattus a touché le pic en 2014, avec un taux de 2,77 %. Considéré comme faible ($P < 5\%$). Tandis que les taux de prévalence les plus faibles qui étaient de l'ordre de 0,81%, 1,09%, 0,7%, ont été enregistrés durant les années 2007, 2008, 2009 respectivement (Figure 32).

Une similitude entre la prévalence de la tuberculose bovine et celle de l'atteinte pulmonaire dus à *M. bovis* a été signalée, expliquée par la focalisation majoritairement pulmonaire de la maladie. Avec une atteinte moindre du foie, et un premier pic du taux de prévalence de l'atteinte hépatique enregistré en 2015 (0,55%) durant les douze années consécutives (2007 – 2018).

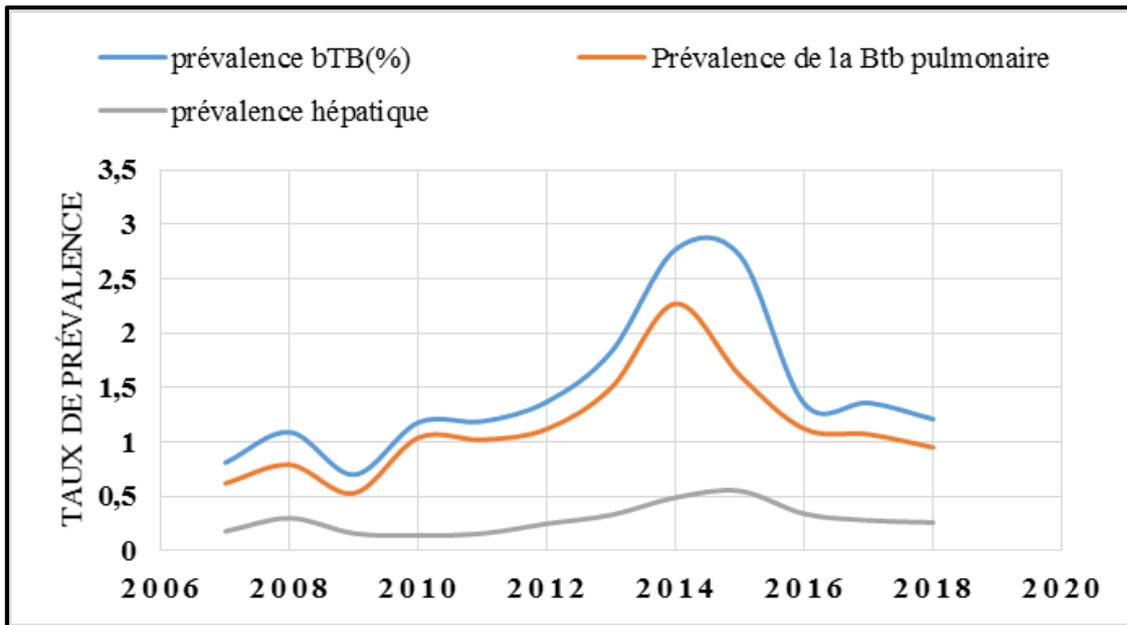


Figure 32 : prévalence de la tuberculose bovine celle des organes saisis dans l’Abattoir de Sétif (2007 – 2018).

Après une comparaison de la prévalence de la maladie durant les trois années (2015-2017) entre test tuberculinique et inspection des carcasses et abats à l’abattoir, ainsi qu’une comparaison entre le nombre d’animaux dépistés par test tuberculinique et les animaux découverts tuberculeux à l’abattage, il a été constaté qu’une différence remarquable a été notée, avec des prévalences aux alentours de 0,3% pour l’IDR et un taux atteignant presque les 3% concernant les découvertes d’abattoir de 2015 à 2017 (Figure 33). La différence entre les deux méthodes de dépistage ante et post mortem a été validée par ces résultats, expliquant la nécessité et l’importance primordiale des inspections à l’abattoir, où la majorité des cas de tuberculose bovine sont des découvertes à l’abattage sanitaire.

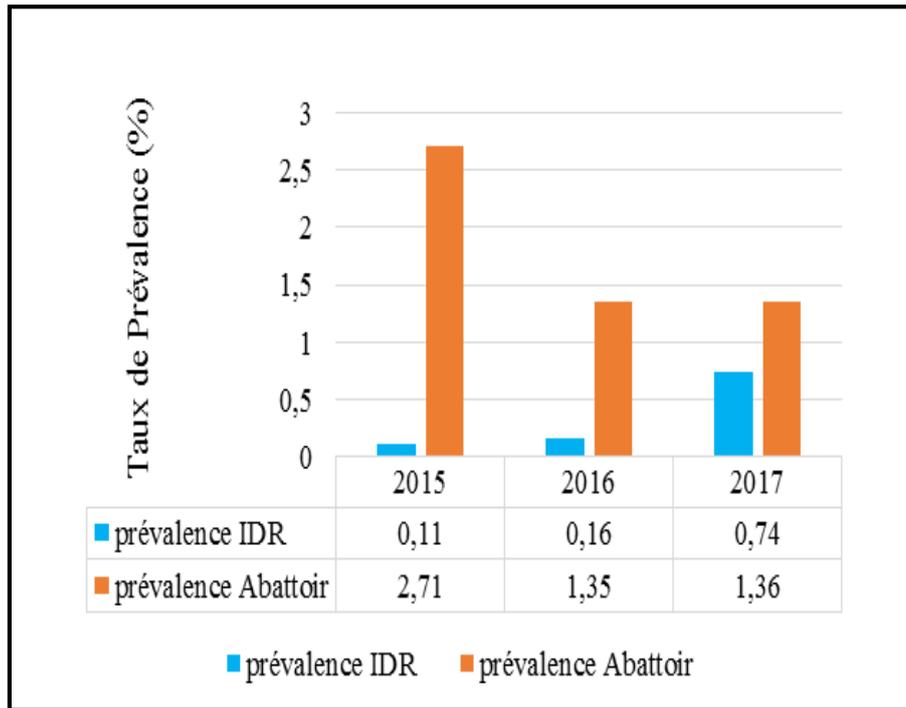


Figure 33 : Nombre / Prévalence des animaux dépistés tuberculeux par tuberculination et inspection en post-mortem à Sétif (2015 – 2017).

1.3. Constantine

Concernant la wilaya de Constantine, après avoir examiné rétrospectivement un total de 139278 bovins Abattus, les informations de dix années consécutives ont été rapportées, de 2009 à 2018, avec un pic de tuberculose bovine enregistré en 2012, avec une prévalence de 4,79%, diminuant jusqu'à 0,16% en 2017, et une rehausse l'année d'après avec une prévalence de 2,45% (Figure 34).

Concernant les organes saisis, l'atteinte hépatique était moindre, avec des saisis totaux nuls des carcasses pendant six Années (2009 – 2014) selon les enregistrements d'Abattoir, et une augmentation brutale en 2015, avec une prévalence de 0,12% (Figure 35).

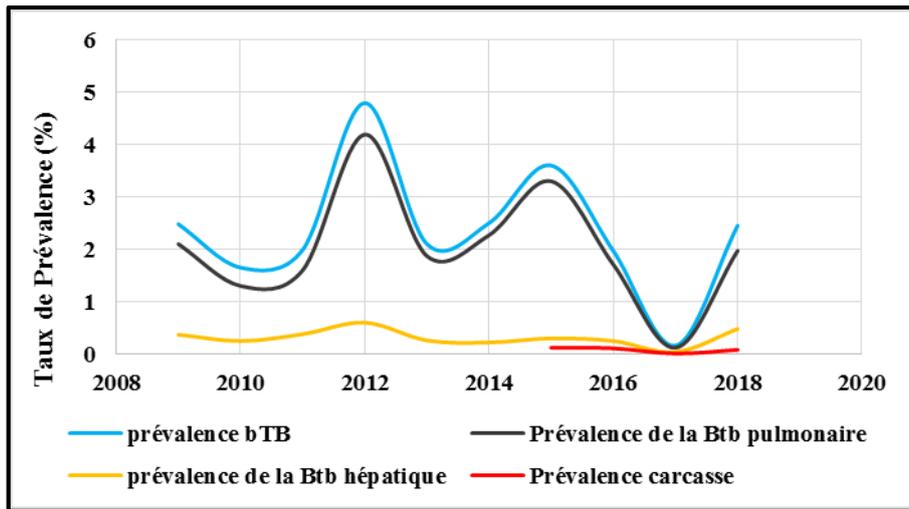


Figure 34 : Prévalence de la tuberculose bovine et des organes saisis à l’abattoir de Constantine (2009 – 2018).

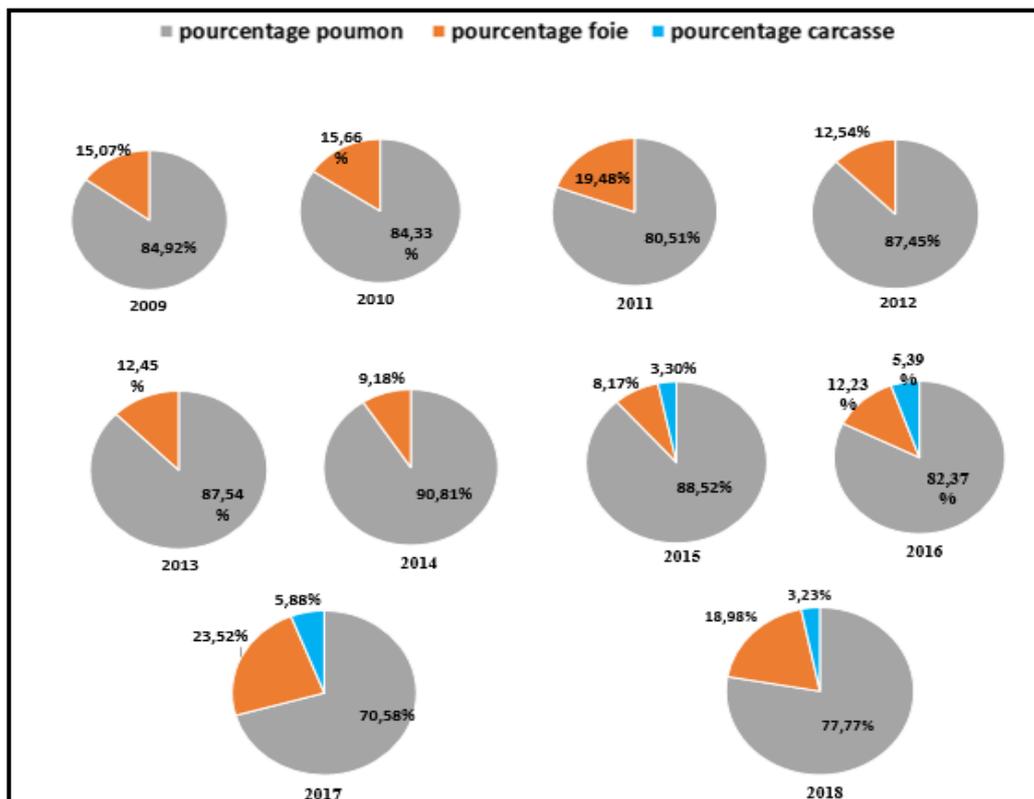


Figure 35 : Pourcentage des organes saisis au niveau de l’abattoir de Constantine (2009 – 2018)

D’après la Figure ci-dessous (Figure 36), et après une comparaison entre l’intraderno tuberculination et les inspections post-mortem des carcasses abattues entre (2013 – 2018), une différence très significative a été enregistrée, avec des fluctuations des taux de prévalence entre

des valeurs de 0,04% et 1,81% pour l’IDR, et entre 0,16% et presque les 4% pour les découvertes d’abattoir.

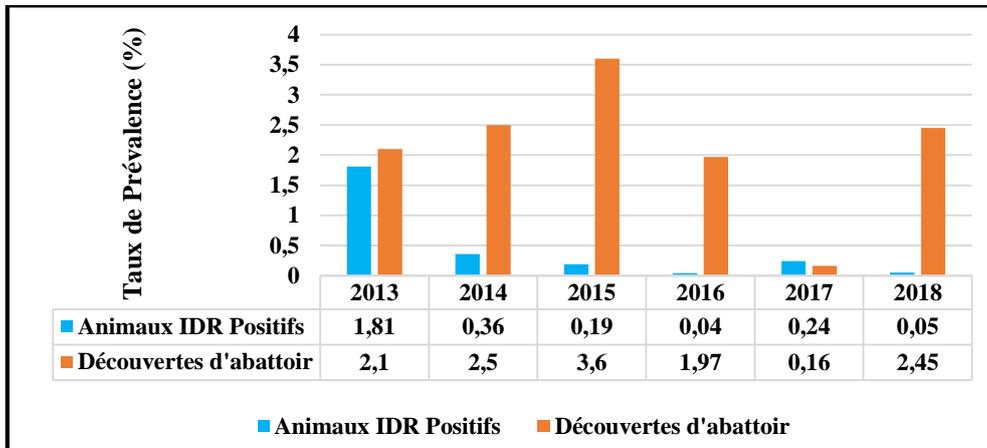


Figure 36 : Nombre des animaux dépistés tuberculeux par tuberculination et inspection en post-mortem à Constantine (2013 – 2018).

En 2013 le pourcentage de la maladie a atteint presque les 3% de l’ensemble de la population dépistée par tuberculination dans la wilaya, et c’était le pic, avec 26 exploitations infectées (ce qui représente 10% de l’ensemble des exploitations visitées). Au cours des cinq années d’après, le nombre de cas a diminué, surtout en 2016 où la maladie n’a été décelée que dans une seule exploitation des 204 visitées, ce qui révèle une prévalence de 0,5% seulement (Figure 37).

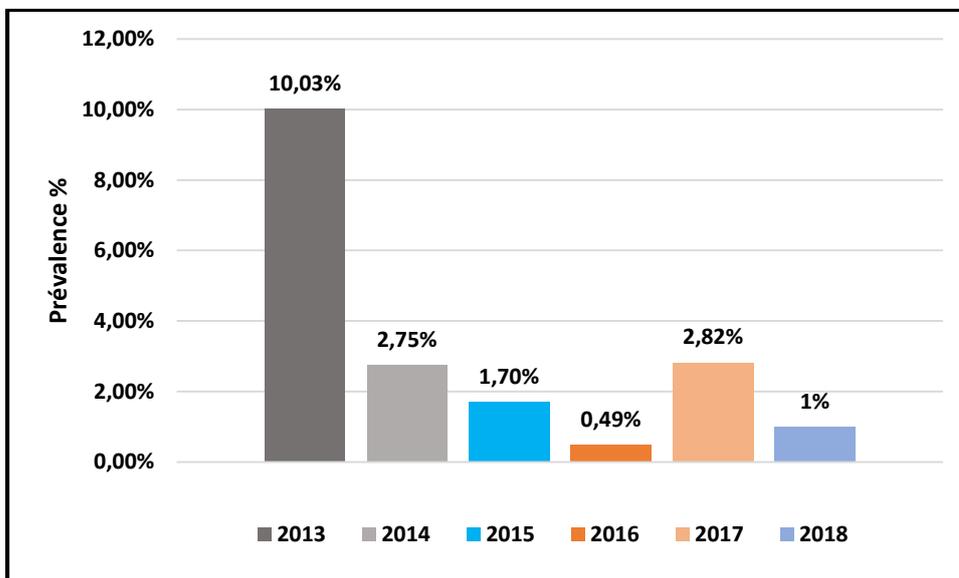


Figure 37 : Prévalence des exploitations atteintes wilaya de Constantine (2013-2018)

La tuberculose bovine est une maladie zoonotique chronique destructive, qui menace la santé humaine et animale, et provoque de graves problèmes économiques dans de nombreux pays dans le monde, y compris l'Algérie, avec un impact négatif assez lourd sur le commerce. Elle se caractérise par la formation de tubercules dans de nombreux organes, principalement les poumons, le foie, les nœuds lymphatiques, ainsi que les intestins (Jajere et al ; 2018). L'une des principales voies d'infection des bovins par la maladie est leur exposition à des aérosols. En seconde lieu, la consommation d'aliments contaminés. Ou une transmission directe par le contact nez à nez entre animaux. La maladie dans notre pays reste une infection mal gérée et surtout dans le terrain, ce qui rend la situation imprévisiblement plus grave.

L'importance de L'inspection post-mortem comme outil de diagnostic est considérable, c'est un moyen vital et nécessaire pour le contrôle épidémiologique de différentes maladies et zoonoses, afin d'apporter les données fiables pour la prévention continue des pathologies.

C'est pour cette raison qu'une étude rétrospective a été menée pour apporter les informations concernant tous les bovins qui ont été enregistrés présentant des lésions de tuberculose au niveau des différents abattoirs des trois wilayas et sur le terrain concernant le test d'intradermo tuberculination. Les données rapportées concernaient les archives d'au moins les dix dernières années, à partir de 2007. Ces données épidémiologiques servent de références pour des études ultérieures, et pour évaluer l'efficacité des outils de diagnostics les plus utilisés dans notre pays, à savoir, le test de tuberculination et les inspections post-mortem des carcasses dans les abattoirs, et par la suite évaluer les pourcentages des prévalences rapportées sur la maladie et les comparer avec celle retrouvée dans notre étude, pour avoir une vision globale et détaillée sur la situation des trois régions étudiées concernant cette pathologie.

Au total 139278, 347086 et bovins ont été Abattus, dont 2,19% (2009 – 2018) et 1,39% (2007 – 2018) présentaient des lésions de tuberculose bovine dans les abattoirs de chacune des wilayas de Constantine et Sétif respectivement. Un total de 11239 de bovins ont été dépistés sur le terrain à M'sila, dont à peu près 1,73% (2009 – 2017) de cas IDR positifs ont été enregistrés.

Ces résultats de notre étude rétrospective montrent que la tuberculose bovine est endémique en Algérie et ceci depuis plus de dix ans, avec des taux de prévalences de la maladie (suite aux inspections des lésions typiques de la tuberculose bovine trouvés dans les Abattoirs) qui varient entre 4,79% (2012) et 0,16% (2017), avec des augmentations intermittentes entre les années. C'est ce qui s'explique dans un premier temps par une progression positive dans l'ensemble du programme de surveillance et de dépistage de la tuberculose bovine dans ces communes. Mise

à part les lacunes rencontrées dans le terrain, et le manque de coopération efficace entre les responsables.

Des études réalisées dans notre pays au niveau des abattoirs, comme celle de Sahraoui et al sur des carcasses inspectées en 2007, une prévalence de 3,58% a été mentionnée, dans les abattoirs au Nord de l'Algérie, qui est presque similaire à celle rapporté à M'sila en 2016, qui était de l'ordre de 3,51%, et légèrement similaire à celles rapportées à Constantine en 2014, 2015 et 2018, avec 2,50%, 3,60% et 2,45% respectivement. Une étude très récente a aussi révélé l'ampleur de l'infection par *M. bovis* au niveau de la région de Bejaïa, située également à l'Est Algérien, avec un taux de prévalence de 2.06% (Ayad et al ; 2020). Ce qui signifie que la maladie est omniprésente dans différentes régions en Algérie et ne cesse d'exister pendant plusieurs années.

On compare aussi notre étude à celles des pays maghrébins voisins, comme celle de Yahyaoui-Azami et al, (2017) au Maroc, lors d'une caractérisation moléculaire de souches de tuberculose bovine dans deux abattoirs au Maroc, une prévalence de 3,7% d'animaux présentant des lésions tuberculeuses sur un total de 8658 a été enregistrée. En Tunisie, une prévalence de 4,9% a été mentionnée, lors de l'isolement de la souche *Mycobacterium bovis* de 102 vaches dans différentes régions tunisiennes (Ben Kahla et al ; 2011). Deux pays voisins où la présence de la maladie reflète en grande partie sa présence en Algérie, en raison des échanges effectués à plusieurs niveaux. En Afrique, l'étude effectuée par Sa'idu et al en 2017 au Nigeria, a enregistré des prévalences faibles comme celles de notre pays, variant de 0,34% à 1,04%. Contrairement à la prévalence rapportée dans le même pays en 2020, qui était plutôt élevée et de l'ordre de 9,3% selon les lésions trouvées au niveau de l'abattoir de Maiduguri (Lawan et al ; 2020). En Ethiopie, une étude de terrain sur 384 de bovins a révélé une prévalence de 1,56% (Addisu et Abebe ; 2020). Au Ghana, deux différentes études ont été faites en 2014, une prévalence de 2,48% sur les bovins suite au test intradermique (Asante-Poku et al ; 2014), et une prévalence de 5%, concernant 2886 de carcasses inspectées à l'abattoir (Samuel et al ; 2014). Une différence dans les prévalences entre terrain et abattoir est souvent enregistrée, souvent élevée dans les abattoirs, ce qui prouve que des lacunes dans le diagnostic de la maladie sont présentes au niveau du terrain.

Les pertes économiques dus aux saisis d'un grand nombre d'organe se considèrent comme un facteur à ne pas négliger, pouvant expliquer les indulgences vis-à-vis de la maladie avec les éleveurs et bouchers, se manifestant par la fraude. Donnant place à des fluctuations dans le taux

de prévalence d'animaux infectés par la tuberculose bovine qui diffèrent d'une région à une autre, et d'une année à une autre comme observées dans les trois régions recensés. Comme le cas de Constantine où Les données concernant le taux de saisis des carcasses n'ont pas été enregistrées pendant six années consécutives. Ceci pourrait être dus aux insuffisances et à un manque de moyens de surveillance lors des inspections au niveau des abattoirs, comme il a été mentionné dans l'étude de Jajere et *al.*, (2018). Le taux de tuberculose bovine assez faible comparé à d'autres pays développé peut être expliqué aussi par le faux diagnostic des animaux tuberculeux présentant des lésions microscopiques indétectables à l'œil nu, ce qui incite d'encourager d'utiliser plusieurs tests de dépistage et diagnostic pour validation et des tests auxiliaires pour une meilleure sensibilité et spécificité, avec une surveillance concrète de la traçabilité du programme.

La fraude dans le commerce des bovins, ainsi que le non-respect des instructions évitant la contamination entre les troupeaux fait que la maladie ne cesse d'exister et de persister, même si les prévalences enregistrées sont de faible niveau. C'est parce que les chiffres enregistrés ne concerne qu'une petite partie de l'ensemble de la population bovine de chacune des régions, en raison du manque de coopération entre les autorités responsables du dépistage et les propriétaires des animaux, les éleveurs ou producteurs. Pour éviter ou échapper à toutes les mesures et instructions appliquées par les services concernés (tel que l'identification de l'ensemble des bovins de l'exploitation, la vaccination antirabique de tous les bovins du cheptel, le système d'évacuation des eaux usées doit être fonctionnel, le propriétaire doit se conformer à toutes les prescriptions sanitaires vétérinaires, et en cas d'introduction d'un nouvel animal, le propriétaire est censé informer l'inspection vétérinaire de la wilaya) (Foughali et *al.*, 2019). Ils évitent et refusent tout agrément sanitaire avec la DSA, cet agrément est une attestation annuelle désignant la situation sanitaire de l'élevage qui doit être indemne de tuberculose et de brucellose. Ceci explique aussi en partie la différence très claire existante entre les cas positifs trouvés suite au test intradermique et les découvertes d'abattoir qui peuvent concernés des bovins abattus pour d'autres motifs. Ce qui incite la mise en place de programmes plus efficaces, avec une sensibilisation bien ciblée. Ainsi que la mise en place d'une traçabilité entre les points de vente, le terrain, et l'abattoir.

L'une des raisons causantes de la fluctuation du taux de prévalence de la maladie est la période d'abattage qui varie selon les périodes d'intersaison et les hautes saisons, les fêtes religieuses... etc. le reste des facteurs restent inconnus, pouvant dépendre purement du personnel et des attitudes peu coopératives des bouchers ou des éleveurs. Certains auteurs relisent les

fluctuations de l'apparition de la maladie à la distribution saisonnière (saisons pluviales et saisons sèches) et aux conditions climatiques (Ayadi et *al.*, 2020) qui sont considérés comme des facteurs de risque, car la tuberculose bovine est une maladie chronique avec une hypersensibilité retardée, qui peut s'extérioriser chez les bovins immuno déprimés (suite à l'immunocompromission) se manifestant spécifiquement pendant la saison froide (Sa'idu et *al.*, 2017). C'est ce qui a été validé dans l'abattoir de Constantine avec des taux de prévalence majoritairement supérieurs à ceux observés à Sétif et M'sila, prenant comme exemple l'année 2012 avec des taux de 4,79% et 1,37% à Constantine et Sétif respectivement, ceci est expliqué en premier lieu par le climat très froid et humide mais aussi par le fait que la majorité des bovins abattus provenaient des régions hautes où le froid régit, fragilisant ainsi les animaux et atteignant leur immunité. Il est tout de même très important de signaler que les bovins abattus au niveau de l'abattoir de Constantine ne regroupaient pas seulement les bovins de la région, mais englobait aussi d'autres wilayas avoisinantes, y compris quelques communes de Sétif. Ce qui peut expliquer en partie les taux annuels enregistrés, avec un nombre de bovins abattus changeant en fonction des mouvements des éleveurs et du bétail. Un mouvement qui reste tout de même assez flou.

Lors de l'analyse des données collectées au niveau des abattoirs, on a aussi constaté que la localisation de la tuberculose était principalement pulmonaire, avec des taux de prévalence atteignant jusqu'à 4,19%, suivi de l'atteinte hépatique avec un taux minimum de 0,04% jusqu'à un maximum de 0,55% dans notre étude. Ces résultats sont en accord avec l'étude de Kanchora et *al.*, (2020) sur la localisation surtout pulmonaire des lésions typiques de la pathologie mais avec des taux plus élevés (14,3%). Ceci est expliqué par la contamination des animaux qui se fait soit par inhalation des aérosols ou par ingestion d'aliments contaminés. Des constatations de l'étude de Abbate et *al.*, (2020) en Italie étaient similaires à la nôtre, avec 5173 (99,08%) des 5221 bovins positifs présentant des lésions de tuberculose bovine dans la cavité thoracique ($p < 0,0001$), principalement les poumons, suivis de l'atteinte hépatique avec un taux de 0,77% ($n = 40$). Aucune donnée sur les autres organes saisis n'a été enregistrées, ce qui explique le manque d'informations au niveau de nos abattoirs, et met l'inspection de routine en cause. On trouve aussi l'étude de Lawan et *al.*, (2020), où il a été démontré que les lésions tuberculeuses sont localisées surtout dans les ganglions lymphatiques thoraciques (30.1%) et les poumons (19.4%) plus que les autres organes.

Le décalage entre le taux de cas recensés par dépistage au test tuberculique et les découvertes d'abattoir a été enregistré dans plusieurs études, qui concordent avec la nôtre, comme celle

effectuée en France, où 64% de foyers tuberculeux ont été découverts lors des inspections à l'abattoir, contre 8% avec le test tuberculitique (Mirana, 2013). Reste à noter que le respect des procédures d'inspection et la réalisation adéquate des démarches et instructions sanitaires jouent un rôle très utile dans la bonne réalisation du programme de surveillance de la tuberculose bovine.

Cette partie de notre étude révèle que la tuberculose bovine ne cesse de se répandre, et que l'infection est présente à plusieurs niveaux, mais avec une découverte limitée. Ce qui incite à appliquer des programmes de surveillance plus strictes et actives, à sensibiliser toutes les personnes concernées pour toucher toutes les exploitations possibles, ainsi que des recherches et des diagnostics supplémentaires sont à envisager, pour approfondir nos connaissances de l'éco-épidémiologie de la maladie, son contrôle efficace, et par la suite son éradication.

D'un autre côté il reste très important de mettre en place des programmes de sensibilisation et d'encouragement pour les marchands et les bouchers, en les compensant pour les carcasses condamnées, ce qui permettra l'aboutissement à des inspections plus approfondies et éviter donc le risque d'exposition du public à la tuberculose zoonotique.

**CONCLUSION GENERALE ET
PERSPECTIVES**

Conclusion générale

Les tests sérologiques sont des outils prometteurs conçus pour la détection des anticorps dirigés contre les antigènes de *Mycobacterium bovis* responsable de la tuberculose bovine, particulièrement l'Elisa qui est un test d'une spécificité, sensibilité et efficacité accrue, permettant un diagnostic précoce, précis et peu coûteux. Aussi l'étude que nous avons effectuée est jugée comme première en Algérie. Cette étude comporte non seulement un aperçu rétrospectif des dix dernières années dans les trois régions de l'Est Algérien (Sétif, M'sila et Constantine) Mais aussi le sérodiagnostic de la tuberculose bovine et les facteurs qui y sont associés, par une étude transversale et inférentielle. L'analyse des facteurs éco-épidémiologiques qui peuvent influencer la persistance de la maladie, la contamination entre bovins et exploitations, ainsi que le maintien d'un taux variable et considérable de séroprévalence de la tuberculose bovine, nous a permis de soustraire un facteur de risque protecteur parmi les 34 variables analysées qui avaient une relation directe et indirect avec la pathologie. Le facteur (animaux achetés dans un pays répertorié comme non OTF) selon notre étude, est un contributeur très significatif à la baisse ou à la diminution du taux de séroprévalence dans cette partie de l'Algérie. Cela s'explique par le fait que certains bovins reproducteurs sont importés de pays certifiés OTF par l'OIE, Ce qui peut contrôler et limiter le risque d'introduction d'un animal infecté par la bTB dans les fermes algériennes d'un côté, mais sans pour autant limiter la propagation de la maladie en raison de la présence de marché non contrôlés et d'échange de bovins sans le respect des mesures réglementaires. Ce qui incite à la mise en place de collaborations encourageantes avec les éleveurs et marchands.

D'après les résultats obtenus, la PPD-ELISA optimisée et appliquée sur les 516 bovins prélevés répartis sur 21 exploitations, sur une durée de 12 mois, a permis un diagnostic efficace et rapide des bovins malades. La combinaison des étapes d'optimisation établies a donné un résultat très intéressant et a montré une alternative potentielle pour le diagnostic de la tuberculose bovine. Ce qui nous pousse à inciter à la généralisation de ces approches, qu'elles soient primitives ou auxiliaires, sur l'ensemble des exploitations bovines, pour un diagnostic plus rapide et plus sensible, et également avoir une vision bien claire sur la situation épidémiologique de la maladie dans le pays, son taux de prévalence, et donc son contrôle sur une grande échelle, bannir sa propagation, diminuer ses dégâts sociales et surtout économiques.

La partie conçue pour l'étude rétrospective sur la tuberculose bovine dans l'Est Algérien, nous a permis de constater que cette pathologie est présente depuis au moins une dizaine d'années,

avec des taux de prévalence qui varient de 0,2% à 5%, avec des lésions principalement pulmonaires. Ce qui nous permet d'avancer que la voie aérienne est la principale voie de contamination. Et de ce fait, évaluer les différents programmes mis en place pour son éradication. Il est a remarqué que des efforts ont été déployés pour mettre fin à cette zoonose, sans y parvenir sur plusieurs niveaux écologiques et épidémiologiques. Ce qui nécessite d'autres mesures de prévention et de dépistage avec une plus ample sensibilisation.

Perspectives

- Développer d'avantage des tests pour le diagnostic efficace de la tuberculose bovine.
- La vaccination comme alternative pour la prévention (après le développement d'Ag hautement spécifique pour la souche bactérienne).
- L'adaptation du système de surveillance et de contrôle à toutes les conditions préalables (élevage et région).
- La mise en place d'une approche épidémiologique de géolocalisation des différents exploitations et par la suite la distribution spatiale des foyers tuberculeux.
- Renforcement du suivi et de l'assainissement de toutes les exploitations ou fermes présentes.

RÉFÉRENCES

REFERENCES

1. Abbate, JM, Arfuso, F., Iaria, C., Arestia, G., et Lanteri, G. (2020). Prévalence de la tuberculose bovine chez les bovins abattus en Sicile, dans le sud de l'Italie. *Animaux*, 10 (9), 1473. doi: 10.3390 / ani10091473.
2. Abdi, H., et Valentin, D. (2007). Analyse des correspondances multiples. *Encyclopédie des mesures et des statistiques*, 2 (4), 651-657.
3. Acha, P.N., Szyfres, B. (2005). *Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux*, 3eme édition.
4. Adékambi T, Reynaud-Gaubert M, Greub G, Gevaudan M J, La Sola B, Raoult D, Drancourt M. (2004). Amoebal Coculture of « *Mycobacterium massiliense* » sp. Nov. From the sputum of a patient with hemoptoic pneumonia. *Journal Of Clinical Microbiology*. P5493-5501. Vol. 42, No. 12.
5. Adekambi, T. (2004). Dissection des relations phylogénétiques entre 19 espèces de *Mycobacterium* à croissance rapide par séquençage des gènes ARNr 16S, hsp65, sodA, recA et rpoB. *Journal International De Microbiologie Systématique Et Évolutionnaire*, 54 (6), 2095-2105. doi: 10.1099 / ijs.0.63094-0.
6. Addisu, S., & Abebe, B. (2020). Prevalence of bovine tuberculosis and its zoonotic implication in and around Bonga town, south west Ethiopia. *Asian Journal of Medical and Biological Research*, 6(1), 107–122. doi:10.3329/ajmbr.v6i1.46485
7. Ahirwar, R., Bariar, S., Balakrishnan, A., et Nahar, P. (2015). Le blocage de la BSA dans les dosages d'immunosorbants liés à une enzyme est une étape non obligatoire: une étude en perspective sur le mécanisme de blocage de la BSA dans les protocoles ELISA courants. *RSC Advances*, 5 (121), 100077-100083. doi: 10.1039 / c5ra20750a
8. Ahombo, G., Willison., Nguimbi. J C E., Moyen, R., Ampa, R., Et Satre, M., (2014). Identification moléculaire des souches de mycobactéries. *Afrique SCIENCE* 10(2) (2014) 318 – 327. ISSN 1813-548X, <http://www.afriquescience.info>.
9. Alame-Emane, AK, Xu, P., Pierre-Audigier, C., Cadet-Daniel, V., Shen, X., Sraouia, M., J. F. Djoba Siawaya, H. Takiff, Q. Gao, Gicquel, B. (2015). La résistance aux pyrazinamides chez *Mycobacterium tuberculosis* survient après une résistance à la rifampicine et aux fluoroquinolones. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 19 (6), 679–684. doi: 10.5588 / ijtd.14.0768.
10. Aldewachi, H., Chalati, T., Woodroffe, M. N., Bricklebank, N., Sharrack, B., & Gardiner, P. (2018). *Gold nanoparticle-based colorimetric biosensors*. *Nanoscale*, 10(1), 18–33. doi:10.1039/c7nr06367a
11. Alihalassa, S. (2018). Comprendre l'épidémiologie de la tuberculose en Algérie. *Revue Des Maladies Respiratoires*, 35, A234–A235. doi:10.1016/j.rmr.2017.10.545.
12. Allison, P., (2012). When can you safely ignore multicollinearity. *Statistical horizons* 5,1–2.
13. Al-Mouqatea, S., Alkhamis, M., Akbar, B., Ali, A., Al-Aqeel, H., Bin-Heji, A.,... Perez, A. (2018). Estimation bayésienne de la précision des tests ELISA et gamma pour la détection de la tuberculose bovine chez les bovins laitiers négatifs au test du pli caudal au Koweït. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 30 (3), 468–470. doi: 10.1177 / 1040638718759574.
14. Ameni G, Aseffa A, Engers H, Young D, Gordon S, Hewinson G, Vordermeier M (2007) High prevalence and increased severity of pathology of bovine tuberculosis in Holsteins compared to zebu breeds under field cattle husbandry in central Ethiopia. *Clin and Vaccine Immunol* 14: 1356–1361.
15. Amicosante, M., Houde, M., Guaraldi, G., et Saltini, C. (1999). Sensibilité et spécificité d'un test ELISA multi-antigène pour le diagnostic sérologique de la tuberculose. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease* , 3 (8), 736-740.
16. Analyse-R, (2020). Introduction à l'analyse d'enquêtes avec R et RStudio Dernière mise à jour : 17 juin 2020. Joseph Larmarange, Julien Barnier, Julien Biaudet, François Briatte, Milan Bouchet-Valat, Ewen Gallic, Frédérique Giraud, Joël Gombin, Mayeul Kauffmann, Christophe Lalanne, , Nicolas Robette. P649.
17. Asante-Poku, A., Aning, K.G., Boi-Kikimoto, B. & YeboahManu, D., (2014). 'Prevalence of bovine tuberculosis in a dairy cattle farm and a research farm in Ghana', *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 81(2) Art. #716, 6 pages. <http://dx.doi.org/10.4102/ojvr.v81i2.716>.
18. Awada, L., Tizzani, P., Erlacher-Vindel, E., Forcella, S., et Caceres, P. (2018). 1 Tuberculose bovine: image mondiale. *Tuberculose bovine*, 1.

REFERENCES

19. Ayad, A., Bensid, A., Benabdelhak, A. C., Ait-Yahia, F., Dergal, N. B. (2020). First Report on Tuberculosis Based on Slaughterhouse Data in Bejaia Province, Algeria: A Retrospective 10-Year Survey. *Kocatepe Vet J* (2020) 13(2):118-124 DOI: 10.30607/kvj.683269.
20. Ayele, W.Y., Neill, S.D., Zinsstag, J., Weiss, M.G., Pavlik, I., (2004). Bovine tuberculosis: an old disease but a new threat to Africa. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 8, 924–937.
21. Aznar, I., Frankena, K., More, S.J., Whelan, C., Martin, W., Gormley, E Gormley5 , L A. L. Corner5 , Murphy6 , M C. M. De Jong, MCM (2014). Optimisation et évaluation des caractéristiques d'un ELISA à antigènes multiples pour la détection de l'infection à *Mycobacterium bovis* dans un essai sur le terrain d'un vaccin contre le blaireau. *PLoS ONE*, 9 (7), e100139. doi: 10.1371 / journal.pone.0100139.
22. Barbier, E. (2016). Prévalence de *Mycobacterium bovis* dans les agroécosystèmes: analyse de réservoirs environnementaux potentiels (sol, eau douce, faune du sol et faune aquatique) et traçage de la circulation de cette bactérie entre les différents compartiments (Doctoral dissertation).
23. Barbier, E., Boschioli, M.L., Gueneau, E., Rochelet, M., Payne, A., de Cruz, K.,... Hartmann, A. (2016). Première détection moléculaire d'échantillons environnementaux de *Mycobacterium bovis* provenant d'une région française atteinte de tuberculose endémique bovine. *Journal of Applied Microbiology*, 120 (5), 1193–1207. doi: 10.1111 / jam.13090.
24. Bahmanjeh, A., Ataei Kachooei, S., Faezi Ghasemi, M., Mosavari, N., Hassanzadeh, S. M. (2020). Study on Differentiation of Pathogen-Nonpathogen *Mycobacterial* Infections Using ESAT6-CFP10 in ELISA System. *Arch Pharma Pract* 2020;11(2):28-36.
25. Ben Kahla, I., Boschioli, M., Souissi, F., Cherif, N., Benzarti, M., Boukadida, J., & Hammami, S. (2011). Isolation and molecular characterisation of *Mycobacterium bovis* from raw milk in Tunisia. *African Health Sciences*, 11(3). doi:10.4314/ahs.v11i3.70032
26. Bergey, D. H., et al. 1930 *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 3d ed. Williams & Wilkins, Baltimore, Md. (1939, 5th ed., *ibid.*) In H. J. CONN AmN ISABEL DIMMICK, SOIL BACTERIA SIMILAR IN MORPHOLOGY TO MYCOBACTERIUM AND CORYNEBACTERIUM, N. Y. State Agricultural Experiment Station, Geneva, New York, 1947; P303.
27. Berg, S., Garcia-Pelayo, M. C., Muller, B., Hailu, E., Asiimwe, B., Kremer, K., James Dale,1 M. Beatrice Boniotti,6 Sabrina Rodriguez,7 Markus Hilty,8 Leen Rigouts,17 Rebuma Firdessa,3 Adelina Machado,16 Custodia Mucavele,16 Bongo Nare Richard Ngandolo,12 Judith Bruchfeld,10 Laura Boschioli,6,9 Anne'le Mu'ller,2 Naima Sahraoui,14 Maria Pacciarini,6 Simeon Cadmus,11 Moses Joloba,4 Dick van Soelingen,5 Anita L. Michel,18 Berit Djønne,15 Alicia Aranaz,7 Jakob Zinsstag,20 Paul van Helden,2 Franc,oise Portaels,17 Rudovick Kazwala,13 Gunilla Ka'llenius,19 R. Glyn Hewinson,1 Abraham Aseffa,3 Stephen V. Gordon,21 and Noel H. Smith, N. H. (2010). African 2, a Clonal Complex of *Mycobacterium bovis* Epidemiologically Important in East Africa. *Journal of Bacteriology*, 193(3), 670–678. doi:10.1128/jb.00750-10
28. Bessell, P.R., Orton, R., White, P.C., Hutchings, M.R., Kao, R.R., (2012). Risk factors for bovine Tuberculosis at the national level in Great Britain. *BMC Vet. Res.* 8, 51. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-8-51>
29. Bezos, J., Casal, C., Romero, B., Schroeder, B., Hardegger, R., Raeber, A.J.,... Domínguez, L. (2014). Techniques ante mortem actuelles pour le diagnostic de la tuberculose bovine. *Recherche en sciences vétérinaires*, 97, S44 – S52. doi: 10.1016 / j.rvsc.2014.04.002
30. Biet, F., Boschioli, M.L., Thorel, M.F., Guilloteau, L.A., (2005). Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium-intracellulare* complex (MAC). *Vet. Res.* 36, 411–436.
31. Blancou., J.M. (1972). Comparaison de techniques pratiques de diagnostic de la tuberculose bovine. *Reu. Elev. Méd. vét. Pays trop.* 1972, 25 (1) : 29-35.
32. Bocquentin et Duvalet, (1990). Amélioration de la reproductibilité du test ELISA adapté à la détection d'anticorps anti-Trypanosoma congolense chez les bovins. *Revue l'lev. Méd. vét. Pays trop.*, 1990, 43 (2) : 179-186.
33. Bougherara, R., & Asmani, F. (2017). Contribution à l'étude de la tuberculose bovine au niveau de l'abattoir communal Draa Ben Khedda wilaya de Tizi-Ouzou (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
34. Boukary A R, Thys E, Mamadou S, Rigouts L, Matthys F. Vias franck S.G, Gamatie D, Yenikoye A, Saegerman C. (2011). La tuberculose a *Mycobacterium bovis* en Afrique subsaharienne. *Ann. Med. Vet.*, 2011, 155, 23-37.
35. Boukary, AR, Thys, E., Rigouts, L., Matthys, F., Berkvens, D., Mahamadou, I.,... Saegerman, C. (2012). Facteurs de risque associés à la tuberculose bovine et caractérisation moléculaire des souches de *Mycobacterium bovis* en milieu urbain au Niger. *Maladies transfrontalières et émergentes*, 59 (6), 490–502. doi: 10.1111 / j.1865-1682.2011.01302.x

REFERENCES

36. Boulahbal F, Benelmouffok A, Brahimi K. (1978). [Rôle de *Mycobacterium tuberculosis* dans la tuberculose bovine]. Archives de l'Institut Pasteur d'Algérie. Institut Pasteur D'Algérie, 01 Jan 1978, 53: 155-164
37. Borsuk S., Seixas FK, Ramos DF, Rizzi C., Dellagostin OA (2009). Identification of Proteins from Tuberculin Purified Protein Derivative (PPD) with Potential for TB Diagnosis Using Bioinformatics Analysis. Dans: Guimarães KS, Panchenko A., Przytycka TM (eds) *Advances in Bioinformatics and Computational Biology*. BSB 2009. Notes de cours en informatique, vol 5676. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-03223-3_15
38. Broughan, J. M., Judge, J., Ely, E., Delahay, R. J., Wilson, G., Clifton-Hadley, R. S., ... Downs, S. H. (2016). A review of risk factors for bovine tuberculosis infection in cattle in the UK and Ireland. *Epidemiology and Infection*, 144(14), 2899–2926. doi:10.1017/s095026881600131x
39. Bonsu OA., Laing E., Akanmori BD., (2000). Prevalence of tuberculosis in cattle in the Dangme-West district of Ghana, public health implications. *Acta Trop.* 2000 Jul 21 ;76(1) : 9-14. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10913759>)
40. Boucher Olivier. (2012). *Aérosols atmosphériques Propriétés et impacts climatiques*. Chapitre 2. ISBN 978-2-8178-0054-7 Springer Paris Berlin Heidelberg New York. (Springer-Verlag France, Paris 2012).
41. Buddle, B., Livingstone, P., et de Lisle, G. (2009). Progrès du diagnostic ante mortem de la tuberculose chez les bovins. *New Zealand Veterinary Journal*, 57 (4), 173-180. doi: 10.1080 / 00480169.2009.36899.
42. Carrisoza-Urbina, J., Morales-Salinas, E., Bedolla-Alva, MA, Hernández-Pando, R., et Gutiérrez-Pabello, JA (2019). Formation de granulomes atypiques chez les veaux infectés par *Mycobacterium bovis*. *PLOS ONE*, 14 (7), e0218547. doi: 10.1371 / journal.pone.0218547
43. Casal, C., Díez-Guerrier, A., Álvarez, J., Rodríguez-Campos, S., Mateos, A., Linscott, R.,... Aranaz, A. (2014). Utilisation stratégique de la sérologie pour le diagnostic de la tuberculose bovine après des tests cutanés intradermiques. *Microbiologie vétérinaire*, 170 (3-4), 342–351. doi: 10.1016 / j.vetmic.2014.02.036
44. Charles O. Thoen, James H. Steele, Michael J. Gilsdorf. (2006). *Mycobacterium bovis Infection in Animals and Humans*. Second Edition. Blachwell publishing. Chapter 1. 19- 346.
45. Cleaveland S, Laurenson M, Taylor L (2001). Diseases of humans and their domestic mammals: Pathogen characteristics, host range and the risk of emergence. *Proceedings of the Royal Society of London Series B* 356: 991–999.
46. Clegg, T. A., Duignan, A., Whelan, C., Gormley, E., Good, M., Clarke, J., ... More, S. J. (2011). Using latent class analysis to estimate the test characteristics of the γ -interferon test, the single intradermal comparative tuberculin test and a multiplex immunoassay under Irish conditions. *Veterinary Microbiology*, 151(1-2), 68–76. doi:10.1016/j.vetmic.2011.02.027
47. Code zoo sanitaire international de l'OIE (2001), mammifères, oiseaux et abeilles. Dixième édition. <https://www.oie.int/doc/ged/D6465.PDF>. 21p
48. Corner, L.A., Costello, E., Lesellier, S., O'Meara, D., Sleeman, D.P. and Gormley, E. (2007) Experimental tuberculosis in the European badger (*Meles meles*) after endobronchial inoculation of *Mycobacterium bovis*: I. Pathology and bacteriology. *Res Vet Sci* 83, 53–62.
49. Cosivi, O. (1998). Zoonotic Tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in Developing Countries. *Emerging Infectious Diseases*, 4(1), 59–70. doi:10.3201/eid0401.980108
50. Cross, M., Heeren, A., Cornicelli, L. J., & Fulton, D. C. (2018). Bovine Tuberculosis Management in Northwest Minnesota and Implications of the Risk Information Seeking and Processing (RISP) Model for Wildlife Disease Management. *Frontiers in Veterinary Science*, 5. doi:10.3389/fvets.2018.00190
51. De la Rua-Domenech, R., Goodchild, AT, Vordermeier, HM, Hewinson, RG, Christiansen, KH et Clifton-Hadley, RS (2006). Diagnostic ante mortem de la tuberculose chez les bovins: examen des tests tuberculiques, du dosage de l'interféron γ et d'autres techniques de diagnostic auxiliaires. *Research in Veterinary Science*, 81 (2), 190–210. doi: 10.1016 / j.rvsc.2005.11.005
52. de Micheaux, P. L., Drouilhet, R., & Liqueur, B. (2014). Statistique descriptive. In *Le logiciel R* (pp. 367-410). Springer, Paris.
53. Dejene, S. W., Heitkönig, I. M. A., Prins, H. H. T., Lemma, F. A., Mekonnen, D. A., Alemu, Z. E., ... de Boer, W. F. (2016). Risk Factors for Bovine Tuberculosis (bTB) in Cattle in Ethiopia. *PLOS ONE*, 11(7), e0159083. doi:10.1371/journal.pone.0159083.

REFERENCES

54. Delaune D, Janvier F, Rapp C, G r me P, M cha  F, Fabre M, Soler C, M rens A. (2012). Actualit s de l'infection   Mycobacterium bovis en France :   propos de 4 cas. *Ann Biol Clin* 2012 ; 70(2) : 231-6 doi:10.1684/abc.2012.0664
55. Denny GO., Wilesmith JW., (1999). Bovine tuberculosis in Northern Ireland: a case-control study of herd risk factors. *Vet Rec.* 1999 Mar 20 ; 144(12) :305-10. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10212503>)
56. Dewi, D. N. S. S., Mertaniasih, N. M., Soedarsono, Ozeki, Y., Artama, W. T., Fihiruddin, ... Matsumoto, S. (2019). Characteristic profile of antibody responses to PPD, ESAT-6, and CFP-10 of Mycobacterium tuberculosis in pulmonary tuberculosis suspected cases in Surabaya, Indonesia. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases.* doi:10.1016/j.bjid.2019.07.001.
57. Díez-Guerrier, A., Roy, A., de la Cruz, M. L., Sáez, J. L., Sanz, C., Boschioli, M. L., ... Bezos, J. (2018). Evaluation of the use of a needle-free injection syringe as a cause of non-specific reactions in the intradermal tuberculin test used for the diagnosis of bovine tuberculosis. *Research in Veterinary Science*, 119, 56–60. doi:10.1016/j.rvsc.2018.05.016.
58. Djafar, Z. R., Benazi, N., Bounab, S., Sayhi, M., Diouani, M. F., Benia, F. (2020). Distribution of seroprevalence and risk factors for bovine tuberculosis in east Algeria. *Preventive Veterinary Medicine.* <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.105127>
59. Domingo, M., Vidal, E. et Marco, A. (2014). Pathologie de la tuberculose bovine. *Recherche en sciences vétérinaires*, 97, S20 – S29. doi: 10.1016 / j.rvsc.2014.03.017.
60. Drewe, JA (2009). Qui infecte qui? Réseaux sociaux et transmission de la tuberculose chez les suricates sauvages. *Actes de la Royal Society B: Biological Sciences*, 277 (1681), 633–642. doi: 10.1098 / rspb.2009.1775.
61. Dufour, B., et B net, JJ (2013). De l'éradication de la tuberculose bovine en France   sa récidive: illustration des facteurs de complexité. * pid miologie et Santé Animale* , (64), 71-82.
62. Dumont, Y., Lounnas, M., Carrière, C., Solassol, J., Ba nuls, A.-L., et Godreuil, S. (2018). Tuberculose bovine: une maladie globalisée   interface homme-animal. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2018 (503), 58–63. doi: 10.1016 / s1773-035x (18) 30179-5.
63. Eddebarh, A. (1989). Systèmes extensifs d'élevage bovin laitier en Méditerranée. *Options Méditerranéennes, Série Séminaires*, (6), 123-133.
64. Eirin, ME, Macias, A., Magnano, G., Morsella, C., Mendez, L., Blanco, FC,... Cataldi, AA (2015). Identification et évaluation de nouveaux antigènes de Mycobacterium bovis dans le test de libération d'interféron gamma in vitro pour le diagnostic de la tuberculose bovine. *Tuberculose*, 95 (6), 795–801. doi: 10.1016 / j.tube.2015.07.009
65. Elnaker, Y.F., Diab, M.S., Ibrahim, N.A., El-Gedawy, A., Zaki, R.S., Radwan, A., (2019). Seroprevalence and molecular characterization of Mycobacterium bovis infection in camels (Camelus dromedarius) in the Delta region, Egypt. *Vet. World* 12 (8), 1180–1187. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.1180-1187>.
66. Esteban J, Muñoz-Egea M. (2016). Mycobacterium bovis and other uncommon members of the Mycobacterium tuberculosis complex. *Microbiol Spectrum* 4(6):TNMI7-0021-2016. doi:10.1128 /microbiolspec.TNMI7-0021-2016.
67. Etter, E., Donado, P., Jori, F., Caron, A., Goutard, F., et Roger, F. (2006). Analyse des risques et tuberculose bovine, une zoonose r emergente. *Annales de la New York Academy of Sciences* , 1081 (1), 61-73.
68. FAO, (2012). Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, FAO – Production et santé animales : <http://www.fao.org/ag/againfo/home/fr/index.htm>
69. Faye, S. (2010). Evaluation de nouveaux outils de diagnostic de la tuberculose bovine: Conditions d'utilisation d'un test de dosage d'IFN  et d'un test PCR IS6110 en temps réel (Doctoral dissertation, AgroParisTech).
70. Faye, S., Moyen, J.-L., Gares, H., Benet, J.-J., Garin-Bastuji, B., & Boschioli, M.-L. (2011). Determination of decisional cut-off values for the optimal diagnosis of bovine tuberculosis with a modified IFN  assay (Bovigam ) in a low prevalence area in France. *Veterinary Microbiology*, 151(1-2), 60–67. doi:10.1016/j.vetmic.2011.02.026
71. Felgner, J., Juarez, S., Hung, C., Liang, L.I., Jain, A., Dos  kaya, M., Felgner, P.L., Caner, A., G r z, Y., Davies, D.H., (2015). Identification of Toxoplasma gondii antigens associated with different types of infection by serum antibody profiling. *Parasitology* 142, 827–838. <https://doi.org/10.1017/S0031182014001978>.
72. Fell, S., Br ckl, S., Büttner, M., Rettinger, A., Zimmermann, P., et Straubinger, RK (2016). Deux méthodes d'extraction d'ADN alternatives pour améliorer la détection des membres du complexe Mycobacterium-tuberculosis dans les échantillons de tissus de bovins et de cerfs rouges. *Microbiologie BMC* , 16 (1), 213.

REFERENCES

73. Fifis, T., Costopoulos, C., Corner, L.A., et Wood, P.R. (1992). Serological reactivity to *Mycobacterium bovis* protein antigens in cattle. *Veterinary Microbiology*, 30 (1992) 343-354. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam.
74. Fontana S, Pacciarini M, Boifava M, Pellesi R, Casto B, Gastaldelli M, et al. (2018). Development and evaluation of two multi-antigen serological assays for the diagnosis of bovine tuberculosis in cattle. *J Microbiol Methods*. 2018;153:118–26. doi:10.1016/j.mimet.2018.09.013
75. Freney J., Renaud F., Leclercq R. et Riegel P. (2007). Précis de bactériologie clinique. Ed. Eska. 2007. 1780p.
76. Freund, R.J., Wilson, W.J., Mohr, D.L., (2010). Data and statistics. CHAPTER 1. In: Freund, R.J., Wilson, W.J., Mohr, D.L. (Eds.), Third E. Academic Press, Boston, pp. 1–65. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374970-3.00001-9>.
77. Fritsche, A., Engel, R., Buhl, D., Zellweger, J.P., (2004). *Mycobacterium bovis* tuberculosis: from animal to man and back. *Int. J. Tuberc. Lung Dis*. 8, 903–904.
78. Gao, X., Yang, H., Lu, L., (2016). Optimization of wind turbine layout position in a wind farm using a newly-developed two-dimensional wake model. *Appl. Energy* 174, 192–200. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.04.098>.
79. Garbaccio, S. G., Garro, C. J., Delgado, F., Tejada, G. A., Eirin, M. E., Huertas, P. S., ... Zumárraga, M. J. (2019). Enzyme-linked immunosorbent assay as complement of intradermal skin test for the detection of *mycobacterium bovis* infection in cattle. *Tuberculosis*, 117, 56–61. doi:10.1016/j.tube.2019.05.006
80. Gerville-Réache, L., & Couallier, V. (2011). Échantillon représentatif (d'une population finie): définition statistique et propriétés.
81. Gonzalo-Asensio J, Malaga W, Pawlik A, Astarie-Dequeker C, Passemar C, Moreau F, Laval F, Daffé M, Martin C, Brosch R, Guilhot C. (2014). Evolutionary history of tuberculosis shaped by conserved mutations in the PhoPR virulence regulator. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:11491– 11496.
82. Good M, Bakker D, Duignan A and Collins DM (2018). The History of In Vivo Tuberculin Testing in Bovines: Tuberculosis, a “One Health” Issue. *Front. Vet. Sci*. 5:59. doi: 10.3389/fvets.2018.00059
83. Graul, C., (2016). leafletR: Interactive Web-Maps Based on the Leaflet JavaScript Library., R Packag. Version 0.4-0. <http://cran.r-project.org/package=leafletR>.
84. Griffin, J. M., Haheisy, T., Lynch, K., Salman, M. D., McCarthy, J., & Hurley, T. (1993). The association of cattle husbandry practices, environmental factors and farmer characteristics with the occurrence of chronic bovine tuberculosis in dairy herds in the Republic of Ireland. *Preventive Veterinary Medicine*, 17(3-4), 145–160. doi:10.1016/0167-5877(93)90025-o.
85. Grooms, D. L., Bolin, S. R., Plastow, J. L., Lim, A., Hattey, J., Durst, P. T., ... Smith, R. W. (2019). Survival of *Mycobacterium bovis* during forage ensiling. *American Journal of Veterinary Research*, 80(1), 87–94. doi:10.2460/ajvr.80.1.87.
86. Guta S, Casal J, Napp S, Saez JL, Garcia-Saenz A, et al. (2014) Epidemiological Investigation of Bovine Tuberculosis Herd Breakdowns in Spain 2009/ 2011. *PLoS ONE* 9(8): e104383. doi:10.1371/journal.pone.0104383
87. Gutierrez, M. C., Brisse, S., Brosch, R., Fabre, M., Omaïs, B., Marmiesse, M., ... Vincent, V. (2005). Ancient Origin and Gene Mosaicism of the Progenitor of *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS Pathogens*, 1(1), e5. doi:10.1371/journal.ppat.0010005
88. Haddad N., Ostyn A., Karoui C., Masselot M., Thorel M.F., Hugues S.L., Inwald J., Hewinson R.G. et Durand B., (2001). Spoligotype diversity of *Mycobacterium bovis* strains isolated in France from 1979 to 2000. *Journal of Clinical Microbiology*. Vol. 39 (10), pp. 329-330.
89. Haddad N., Masselot M. et Durand B., (2004a). Molecular differentiation of *Mycobacterium bovis* isolates. Review of main techniques and applications. *Research in Veterinary Science*. Vol. 76, pp. 1-18.
90. Haddad N., Ostyn A., Karoui C., Thorel M.F. et Durand B., (2004b). Le typage moléculaire des isolats de *Mycobacterium bovis*. *Bulletin des GTV*. 23 janvier/février, pp. 329-330.
91. Jajere, SM, Atsanda, NN, Bitrus, AA, Hamisu, TM et Goni, MD (2018). Une étude rétrospective de la tuberculose bovine à l'abattoir municipal de l'État de Bauchi, au nord-est du Nigéria. *Monde vétérinaire*, 11 (5), 598.
92. Jarlier V, Cambau E, Sougakoff W. (2004). Quels sont les nouveaux outils diagnostiques de la tuberculose ? Quel est leur intérêt pour la prise en charge du malade et quelles sont leurs indications ? les tests d'amplification génique. Première partie. Elsevier Masson SASP 3S37.

REFERENCES

93. HARS J., ROSSI S., (2009). Results of the surveillance of regulated contagious diseases in the french wildlife. Bulletin de l'Académie vétérinaire de France Tome 162 - N°3. 216-220 p. <http://www.academie-veterinaire-defrance.org>.
94. Hars, J., Lambert, S., Moyen, J-L., Gares, H., Viau, A., Salvaudon, M., Boschioli, M, L., Richomme, C. (2016). Epidemiological study on bovine tuberculosis in roe deer (*Capreolus capreolus*) in Dordogne département. Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation n° 74. 12-14 p.
95. Harald G. Wiker, Konstantin P. Lyashchenko, A. Murat Aksoy, Kenneth A. Lightbody, John M. Pollock, Sergiy V. Komissarenko, Sergiy O. Bobrovnik, Irina N. Kolesnikova, Leonid O. Mykhalsky, Maria L. Gennaro, And Morten Harboe. (1998). Immunochemical Characterization of the MPB70/80 and MPB83 Proteins of *Mycobacterium bovis*. INFECTION AND IMMUNITY, Apr. 1998, p. 1445–1452 Vol. 66, No. 4
96. Hervé Abdi & Dominique Valentin (2007). Multiple Correspondence Analysis. In: Neil Salkind (Ed.) (2007). Encyclopedia of Measurement and Statistics
97. Hlavsa, MC, Moonan, PK, Cowan, LS, Navin, TR, Kammerer, JS, Morlock, GP,... LoBue, PA (2008). Tuberculose humaine due à *Mycobacterium bovis* aux États-Unis, 1995–2005. *Maladies infectieuses cliniques*, 47 (2), 168–175. doi: 10.1086 / 589240
98. Huang L, Nazarova EV, Russell DG. (2019). *Mycobacterium tuberculosis*: bacterial fitness within the host macrophage. *Microbiol Spectrum* 7(2): BAI-0001-2019. doi:10.1128/microbiolspec.BAI0001-2019.
99. Huchon, G. (1997). Infection tuberculeuse et tuberculose pulmonaire de l'adulte. *Revue des maladies respiratoires. Supplément*, 14(5), 5S49-5S59.
100. Humblet, M.-F., Boschioli, M. L., & Saegerman, C. (2009). Classification of worldwide bovine tuberculosis risk factors in cattle: a stratified approach. *Veterinary Research*, 40(5), 50. doi:10.1051/vetres/2009033
101. Johnston, W.T., Vial, F., Gettinby, G., Bourne, F.J., Clifton-Hadley, R.S., Cox, D.R., Crea, P., Donnelly, C.A., McInerney, J.P., Mitchell, A.P., Morrison, W.I., Woodroffe, R., (2011). Herd-level risk factors of bovine tuberculosis in England and Wales after the 2001 foot-and-mouth disease epidemic. *Int. J. Infect. Dis.* 15 (12), e833–e840. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2011.08.004>.
102. Kaneene, J. B., Bruning-Fann, C. S., Granger, L. M., Miller, R., & Porter-Spalding, B. A. (2002). Environmental and farm management factors associated with tuberculosis on cattle farms in northeastern Michigan. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 221(6), 837–842. doi:10.2460/javma.2002.221.837.
103. Keshavarz, R., Mosavari, N., Tadayon, K., Fardid, F., Ghaderi, R., Babadi, KS,... Magami, SG (2015). Développement et optimisation d'un système de détection basé sur ESAT6-ELISA du complexe *Mycobacterium tuberculosis*, adapté à l'éradication de la tuberculose bovine. *Journal international de mycobactériologie*, 4, 114. doi: 10.1016 / j.ijmyco.2014.10.029
104. Kevin Potard. (2017). Les émissions de composés organiques volatiles (COVs) des sols dans les paysages agricoles : identification des sources et incidences sur la qualité de l'air. *Sciences agricoles. Université Rennes 1, 2017. Français.* <NNT : 2017REN1B058>. <tel-01831899>. 15-20 p.
105. H.H. KLEEBERG. (1984). Tuberculose humaine d'origine bovine et santé publique. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 3 (1), 33-54.
106. Klepp, L. I., Eirin, M. E., Garbaccio, S., Soria, M., Bigi, F., & Blanco, F. C. (2019). Identification of bovine tuberculosis biomarkers to detect tuberculin skin test and IFN γ release assay false negative cattle. *Research in Veterinary Science*, 122, 7–14. doi:10.1016/j.rvsc.2018.10.016 .
107. Koni, A., Juma, A., Morini, M., Nardelli, S., Connor, R., & Koleci, X. (2015). Assessment of an ELISA method to support surveillance of bovine tuberculosis in Albania. *Irish Veterinary Journal*, 69(1).doi:10.1186/s13620-016-0069-2. (partie discussion).
108. Konstantinou, G.N., (2017). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Methods Mol. Biol.* 1592, 79–94.
109. Krebs Charles J. (1994). *The Experimental Analysis of Distribution and Abundance. Ecology. Third Edition. Chapter 23. Species Diversity I: Theory.* P513.
110. Lagrange, P. H. (1991). Les mycobactéries opportunistes. *Réactions de l'hôte. Médecine et Maladies Infectieuses*, 21(2), 35–45. doi:10.1016/s0399-077x(05)80116-7

REFERENCES

111. Lavergne, C., Trottier, C. Sur l'estimation dans les modèles linéaires généralisés à effets aléatoires. *Revue de statistique appliquée*, tome 48, no 1 (2000), p. 49-67
112. Lawan, F. A., Ejeh, E. F., Waziri, A., Kwanashie, C. N., Kadima, K. B., & Kazeem, H. M. (2020). Prevalence of Tuberculosis in Cattle Slaughtered at Maiduguri Central Abattoir, Nigeria. *Sahel Journal of Veterinary Sciences*, 17(3), 14-21. Retrieved from <http://saheljvs.org/index.php/saheljvs/article/view/167>.
113. Lesnoff, M., Thiaucourt, F., Bonnet, P., Bicout, D., Balenghien, T., Abdicho, S., ... & Lancelot, R. (2002). Modèle conceptuel pour prédire la diffusion intra-troupeau de la péripneumonie contagieuse bovine. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 55(4), 253-257.
114. Lesslie, I. W. (1959). A Comparison of Biological and some Cultural Methods for the Primary Isolation of Mycobacterium Tuberculosis. *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics*, 69, 1-10. doi:10.1016/s0368-1742(59)80001-1
115. Liberelle, B., Merzouki, A. et Crescenzo, GD (2013). Revêtements de dextrane carboxyméthylé immobilisés pour un ELISA amélioré. *Journal of Immunological Methods*, 389 (1-2), 38-44. doi: 10.1016 / j.jim.2012.12.007
116. Lignereux, Y., & Peters, J. (1999). Histoire de la tuberculose animale: données écrites et traces archéologiques. Contribution de la paléopathologie animale à l'histoire de la tuberculose. *Bulletin CEHM*, 28, 21-36.
117. Lilenbaum, W., Ribeiro, E. ., Souza, G. ., Moreira, E. ., Fonseca, L. ., Ferreira, M. A. ., & Schettini, J. (1999). Evaluation of an ELISA - PPD for the diagnosis of bovine tuberculosis in field trials in Brazil. *Research in Veterinary Science*, 66(3), 191-195. doi:10.1053/rvsc.1998.0229
118. Lopes, P.H., Akweongo, P., Wurapa, F., Afari, E., Sackey, S., Ocansey, D., Nyarko, K.M., (2016). Bovine tuberculosis surveillance system evaluation, Greater-Accra Region, Ghana, 2006-2011. *Pan Afr. Med. J.* 25 (Suppl 1), 10. <https://doi.org/10.11604/pamj.suppl.2016.25.1.6181>.
119. Lopes, B. C., dos Reis, E. M., de Bitencourt, F. B. R., Loiko, M. R., Bezerra, A. V. A., Bueno, T. S., ... Mayer, F. Q. (2020). A molecular strategy to optimize bovine tuberculosis post-mortem diagnosis and the exposure to Mycobacterium tuberculosis variant bovis. *Molecular Biology Reports*. doi:10.1007/s11033-020-05718-7
120. Lotte M, (2013). Principales zoonoses bactériennes transmises par le chien et le chat à l'homme et les méthodes de prévention associées. 99 p.
121. Ma, G. J., Ferhan, A. R., Jackman, J. A., & Cho, N. J. (2019). Quantitative assessment of bovine serum albumin proteins for blocking applications. *bioRxiv*, 869677. <https://doi.org/10.1101/869677>
122. Machado, A., T. Rito, S. Ghebremichael, N. Muhate, G., Maxhuza, C., C.,... Correia-Neves, M. (2018). Diversité génétique et voies de transmission potentielles de Mycobacterium bovis au Mozambique. *PLOS Maladies tropicales négligées*, 12 (1), e0006147. doi: 10.1371 / journal.pntd.0006147.
123. Marangon, S., Martini, M., Dalla Pozza, M., & Ferreira Neto, J. (1998). A case-control study on bovine tuberculosis in the Veneto Region (Italy). *Preventive Veterinary Medicine*, 34(2-3), 87-95. doi:10.1016/s0167-5877(97)00087-1
124. Mariner J.C, McDermott J., Heesterbeek J.A.P., Thomson G., Martin S.W. (2006a). A model of contagious bovine Pleuropneumonia transmission dynamics in East Africa, *Prev. Vet. Med.* 73(1), 55-74.
125. Mariner J.C., McDermott J., Heesterbeek J.A.P., Thomson G., Roeder P.L., Martin S.W. (2006b). A heterogeneous population model for contagious bovine Pleuropneumonia transmission and control in pastoral communities of East Africa. *Prev. Vet. Med.* 73(1), 75-91.
126. Marsot, M., Béral, M., Scoizec, A., Mathevon, Y., Durand, B., & Courcoul, A. (2016). Herd-level risk factors for bovine tuberculosis in French cattle herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 131, 31-40. doi:10.1016/j.prevetmed.2016.07.006.
127. Masiga, W.N., Domenech, J., and Windsor, R.S. (1996) Manifestation and epidemiology of Contagious bovine pleuropneumonia in Africa. *Scientific and Technical Review* , 15: 1283-1303.
128. McCallum, H. (2001). Comment modéliser la transmission des agents pathogènes? *Trends in Ecology & Evolution*, 16 (6), 295-300. doi: 10.1016 / s0169-5347 (01) 02144-9.
129. A McGeary, 2008. The Role Of Mycobacterium Bovis In Tuberculosis In Africa. *Medical Journal of Therapeutics Africa* 2008 Vol 2, No 1. Page 59

REFERENCES

130. Michelet, L., De Cruz, K., Hénault, S., Tambosco, J., Richomme, C., Réveillaud, É., ... Boschirol, M. L. (2018). Mycobacterium bovis Infection of Red Fox, France. *Emerging Infectious Diseases*, 24(6), 1150–1153. doi:10.3201/eid2406.180094.
131. Mirana, R. T. (2013). Thèse sur Tuberculose Bovine A Travers L'inspection Des Viandes A L'abattoir Municipal D'antsiranana I.
132. Moda, G., Daborn, C. J., Grange, J. M., Cosivi, O. (1996). The zoonotic importance of Mycobacterium bovis. *Tubercle and Lung Disease* (1996) 77, 103-108.
133. Monaghan, M. L., Doherty, M. L., Collins, J. D., Kazda, J. F., & Quinn, P. J. (1994). The tuberculin test. *Veterinary Microbiology*, 40(1-2), 111–124. doi:10.1016/0378-1135(94)90050-7.
134. Moutou F., Artois M, (2001). Les mammifères sauvages réservoirs potentiels de zoonoses. *Méd Mal Infect* ; 31 suppl 2 : 159-167.
135. Munroe, F. ., Dohoo, I. ., McNab, W. ., & Spangler, L. (1999). Risk factors for the between-herd spread of Mycobacterium bovis in Canadian cattle and cervids between 1985 and 1994. *Preventive Veterinary Medicine*, 41(2-3), 119–133. doi:10.1016/s0167-5877(99)00051-3
136. Munroe FA., Dohoo IR., McNab WB. (2000). Estimates of within-herd incidence rates of Mycobacterium bovis in Canadian cattle and cervids between 1985 and 1994. *Prev Vet Med*. 2000. Jun 12; 45(3-4):247-56. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10821964>)
137. Munyeme, M., Muma, JB, Skjerve, E., Nambota, AM, Phiri, IGK, Samui, KL,... Tryland, M. (2008). Facteurs de risque associés à la tuberculose bovine chez les bovins traditionnels des zones d'interface bétail / faune dans le bassin de Kafue en Zambie. *Médecine vétérinaire préventive*, 85 (3-4), 317–328. doi: 10.1016 / j.prevetmed.2008.03.006.
138. Mylrea, P. (2010). Eradication de la tuberculose bovine de la Nouvelle-Galles du Sud - Un siècle d'efforts. *Australian Veterinary Journal*, 67 (3), 104–107. doi: 10.1111 / j.1751-0813.1990.tb07724.x.
139. Ndishimye Pacifique (2016). Tuberculose en Roumanie : Contribution à la mise en évidence des facteurs de risque et des caractéristiques cliniques et biologiques des patients hospitalisés dans la région de Cluj-Napoca.
file:///C:/Users/AsusPC/Desktop/PhDThesis_PacifiqueNdishimye.pdf
140. Nelder, JA et Wedderburn, RWM (1972). Modèles linéaires généralisés. *Journal de la Royal Statistical Society. Série A (général)*, 135 (3), 370. doi: 10.2307 / 2344614.
141. Ngandolo, B.N., Diguimbaye-Djaib'e, C., Müller, B., Didi, L., Hilty, M., Schiller, I., Schelling, E., Mobeal, B., Toguebaye, B.S., Akakpo, A.J., Zinsstag, J., (2009). Diagnostics ante et post mortem de la tuberculose bovine au sud du Tchad : cas des bovins destinés à l'abattage. *Rev. d'élevage médecine vétérinaire des pays Trop*. 62, 5–12.
142. Ngandolo, B. N. (2012). Diagnostic et épidémiologie moléculaire de la tuberculose bovine au Tchad: cas des bovins destinés à l'abattage (Doctoral dissertation, University_of_Basel).
143. OIE.(2001) http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Media_Center/docs/pdf/Disease_cards/BOVINE-TB-FR.pdf
144. OIE. (2018). *Terrestrial Manual 2018*. Chapter 3.4.6 Bovine Tuberculosis.
145. Okafor, C. C., Grooms, D. L., Bruning-Fann, C. S., Averill, J. J., & Kaneene, J. B. (2011). Descriptive Epidemiology of Bovine Tuberculosis in Michigan (1975–2010): Lessons Learned. *Veterinary Medicine International*, 2011, 1–13. doi:10.4061/2011/874924
146. Okeke, L. A., Fawole, O., Muhammad, M., Okeke, I. O., Nguku, P., Wasswa, P., Dairo D, Cadmus, S. (2016). Bovine tuberculosis: a retrospective study at Jos abattoir, Plateau State, Nigeria. *Pan African Medical Journal*, 25. doi:10.11604/pamj.2016.25.202.5669 159. doi:10.1016/j.vetmic.2011.02.039
147. Olea-Popelka, F., Muwonge, A., Perera, A., Dean, A. S., Mumford, E., Erlacher-Vindel, S Forcella, B J Silk, L Ditiu, A El Idrissi, M Raviglione, O Cosivi, P LoBue, P I Fujiwara. (2017). Zoonotic tuberculosis in human beings caused by Mycobacterium bovis —a call for action. *The Lancet Infectious Diseases*, 17(1), e21–e25. doi:10.1016/s1473-3099(16)30139-6
148. Organisation mondiale de la santé (OMS), Organisation mondiale de la santé animale (OIE) & Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) (2017). – Feuille de route pour la tuberculose zoonotique.

REFERENCES

149. Palisson, A., Courcoul, A., et Durand, B. (2017). Analyse de l'organisation spatiale des pâturages en tant que réseau de contacts, implications pour la propagation potentielle des maladies et la biosécurité du bétail, France, 2010. *PloS one*, 12 (1), e0169881.
150. Palmer, M.V., Waters, W.R. and Whipple, D.L. (2004) Investigation of the transmission of *Mycobacterium bovis* from deer to cattle through indirect contact. *Am J Vet Res* 65, 1483–1489
151. Palmer, M. V., & Waters, W. R. (2011). Bovine Tuberculosis and the Establishment of an Eradication Program in the United States: Role of Veterinarians. *Veterinary Medicine International*, 2011, 1–12. doi:10.4061/2011/816345
152. Paul, P., Pennell, M. L., & Lemeshow, S. (2012). Standardizing the power of the Hosmer-Lemeshow goodness of fit test in large data sets. *Statistics in Medicine*, 32(1), 67–80. doi:10.1002/sim.5525
153. Payne, A., Hars, J., Fossot, C., Barbier, E., Hartmann, A., Boschirol, M-L., Gueneau, E., Dufour, B., Gilot-Fromont, E., (2014). Rôle des populations sauvages dans le système multi-hôtes de *Mycobacterium bovis* en Côte d'Or : évaluation du risque de transmission-retour aux bovins et du risque de constitution de réservoir sauvage, *Épidémiol. Santé Anim.*, 65, 133-150.
154. Percival, SL et Williams, DW (2014). *Mycobacterium*. *Microbiologie des maladies d'origine hydrique*, 177–207. doi: 10.1016 / b978-0-12-415846-7.00009-3
155. Pereira, AC, Reis, AC, Ramos, B. et Cunha, MV (2020). Tuberculose animale: impact de l'hétérogénéité de la maladie dans la transmission, le diagnostic et le contrôle. *Maladies transfrontières et émergentes*. doi: 10.1111 / tbed.13539
156. Pérez-Lago, L., Navarro, Y. & García-de-Viedma, D., (2013). Current knowledge and pending challenges in zoonosis caused by *Mycobacterium bovis*: A review. *Research in Veterinary Science*, 97, pp.S94–S100.
157. Picasso-Risso, C., Perez, A., Gil, A., Nunez, A., Salaberry, X., Suanes, A., & Alvarez, J. (2019). *Modeling the Accuracy of Two in-vitro Bovine Tuberculosis Tests Using a Bayesian Approach*. *Frontiers in Veterinary Science*, 6. doi:10.3389/fvets.2019.00261.
158. Portaeles F. (1987). Le SIDA et les Mycobactéries atypiques. *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.* 67, 93-116.
159. Praud, A., Boschirol, MI, Meyer, L., Garin-Bastuji, B., Et Dufour, B. (2014). Évaluation de la sensibilité du test gamma-interféron et du test cervical comparatif intradermique unique pour le diagnostic de la tuberculose bovine dans les conditions de terrain. *Epidemiology and Infection*, 143 (01), 157–166. doi: 10.1017 / s0950268814000338.
160. Proding, WM, Indra, A., Koksalan, OK, Kilicaslan, Z. et Richter, E. (2014). *Mycobacterium caprae* infection chez l'homme. *Examen d'experts de la thérapie anti-infectieuse*, 12 (12), 1501-1513. doi: 10.1586 / 14787210.2014.974560.
161. Provost, A., Perreau, P., Beard, A., Le Goff, C., Martel, J. L., and Cottew, G.S. (1987). Contagious bovine pleuropneumonia. *Scientific and Technical Review*, 6: 625- 679.
162. R Core Team, (2019). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Found. Stat. Comput, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
163. Ramos, D.F., Silva, P.E.A. and Dellagostin, O.A. (2015). Diagnosis of bovine tuberculosis: review of main techniques. *Braz. J. Biol.*, 2015, vol. 75, no. 4, pp. 830-837. [http://dx.doi.org/ 10.1590/1519-6984.23613](http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.23613)
164. Refaya, A. K., Bhargavi, G., Mathew, N. C., Rajendran, A., Krishnamoorthy, R., Swaminathan, S., & Palaniyandi, K. (2020). A Review on Bovine Tuberculosis in India. *Tuberculosis*, 101923. doi:10.1016/j.tube.2020.101923
165. Reviriego Gordejo, F.J., Vermeersch, J.P. (2006). Towards eradication of bovine tuberculosis in the European Union. *Vet. Microbiol.* 112, 101–109. [https://doi.org/ 10.1016/j.vetmic.2005.11.034](https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.11.034)
166. Riquelme, MV, Zhao, H., Srinivasaraghavan, V., Pruden, A., Vikesland, P., et Agah, M. (2016). Optimisation du blocage de l'attachement bactérien non spécifique aux biocapteurs impédimétriques. *Recherche sur la détection et la bio-détection*, 8, 47–54. doi: 10.1016 / j.sbsr.2016.04.003
167. Risalde, M. Á., Thomas, J., Sevilla, I., Serrano, M., Ortiz, JA, Garrido, J.,... Ruiz-Fons, JF (2017). Développement et évaluation d'un test d'interféron gamma pour le diagnostic de la tuberculose chez le cerf élaphe infecté expérimentalement par *Mycobacterium bovis*. *Recherche vétérinaire BMC*, 13 (1). doi: 10.1186 / s12917-017-1262-6
168. Ritacco, V., Lopez, B., Barrera, L., Nader, A., Fliess, E. and Kantor, I.N. (1990). Further evaluation of an indirect enzyme linked immunosorbent assay for the diagnosis of bovine tuberculosis. *J. Vet. Med.* 37: 19-27, 1990.
169. Robinson, Pennsylvanie (2018). Performativité et microbe: exploration de *Mycobacterium bovis* et des écologies politiques de la tuberculose bovine. *BioSocieties*. doi: 10.1057 / s41292-018-0124-1

REFERENCES

170. Roos, E. O., Buss, P., de Klerk-Lorist, L.-M., Hewlett, J., Hausler, G. A., Rossouw, L., ... Miller, M. A. (2016). Test performance of three serological assays for the detection of *Mycobacterium bovis* infection in common warthogs (*Phacochoerus africanus*). *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 182, 79–84. doi:10.1016/j.vetimm.2016.10.006
171. Roos, E. O., Olea-Popelka, F., Buss, P., de Klerk-Lorist, L.-M., Cooper, D., van Helden, P. D., van Helden, Miller, M. A. (2018). Seroprevalence of *Mycobacterium bovis* infection in warthogs (*Phacochoerus africanus*) in bovine tuberculosis-endemic regions of South Africa. *Transboundary and Emerging Diseases*. doi:10.1111/tbed.12856
172. ROWE, M. T., & DONAGHY, J. (2008). *Mycobacterium bovis*: the importance of milk and dairy products as a cause of human tuberculosis in the UK. A review of taxonomy and culture methods, with particular reference to artisanal cheeses. *International Journal of Dairy Technology*, 61(4), 317–326. doi:10.1111/j.1471-0307.2008.00433.x.
173. Roy, A., Díez-Guerrier, A., Ortega, J., de la Cruz, M. L., Sáez, J. L., Domínguez, L., ... Bezos, J. (2019). *Evaluation of the McLintock syringe as a cause of non-specific reactions in the intradermal tuberculin test used for the diagnosis of bovine tuberculosis*. *Research in Veterinary Science*, 122, 175–178. doi:10.1016/j.rvsc.2018.11.025
174. Saegerman, C., Delville, J., De Waele, L., Gilson, D. (1995). Serological and cutaneous testing of bovine tuberculosis with the A60 antigen complex from *Mycobacterium bovis*, strain Calmette-Guérin. *Prev. Vet. Med.* 23 (3-4) (1995) 239–248
175. Sahli, H., Mouelhi, A., Diouani, M.F., Tlig, L., Refai, A., Landoulsi, R.B., Sayadi, M., Essafi, M., (2018). An advanced intelligent ELISA test for bovine tuberculosis diagnosis. *Biomed. Signal Process. Control* 46, 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.bspc.2018.05.031>.
176. Sahraoui N ; Yala D ; Ouzrout R ; Guetarni D et Boulahbal F, (2008). Enquête Sur La Tuberculose Bovine Dans Deux Abattoirs D'Algérie. *Archives de l'Institut Pasteur d'Algérie*, T.66 2007/2008. 147-155 p.
177. Sahraoui, N., Müller, B., Guetarni, D., Boulahbal, F., Yala, D., Ouzrout, R., Berg S, Smith N H and Zinsstag J (2009). Caractérisation moléculaire de souches de *Mycobacterium bovis* isolées de bovins abattus dans deux abattoirs en Algérie. *Recherche vétérinaire BMC*, 5 (1), 4. doi: 10.1186 / 1746-6148-5-4
178. N Sahraoui, B Muller, Yala D, Boulahbal F, Ouzrout R, Zinsstag J, Guetarni D. (2010). Evaluation des VNTR (variable number of tandem repeats) des isolats de *Mycobacterium bovis* en Algérie. *Ann Biol Clin* 2010 ; 68 (4) : 449-53. doi: 10.1684/abc.2010.0459.
179. Sa'idu AS et al. (2017). Retrospective study of bovine tuberculosis in Gombe Township Abattoir, Northeastern Nigeria. *Int J of Vet Sci Med*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijvsm.2017.01.003>.
180. Samuel, K. A., Oti, K. G., Ephraim, M.-M., Isaac, K. A. G., Darlington, O., Frank, A. B., ... Richard, K. G. (2014). Slaughter surveillance for tuberculosis among cattle in three metropolitan abattoirs in Ghana. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*, 6(7), 198–207. doi:10.5897/jvmah2014.0291.
181. Sayin, Z. et Erganis, O. (2013). Diagnostic de la tuberculose bovine par PPD-ELISA et sonication-ELISA. *Journal israélien de médecine vétérinaire* , 68 , 180-184.
182. Sbai-Idrissi, K, Galoisy-Guibal, L, Boutin, J-P. (2002). Que sont l'incidence et la prevalence ?. *Med Trop* 2002 ; 62 : 199-201.
183. Schelling, E., Diguimbaye, C., Daoud, S., Daugla, D.M., Bidjeh, K., Tanner, M., G.J., Z. (2000). La tuberculose causée par *Mycobacterium bovis*: résultats préliminaires obtenus chez les pasteurs nomades Foulbés et Arabes dans le Chari-Baguirmi au Tchad. *Sempervira* 8, 44–45.
184. Schiller, I., Oesch, B., Vordermeier, HM, Palmer, MV, Harris, BN, Orloski, KA,... Waters, WR. (2010). Tuberculose bovine: un examen des techniques de diagnostic actuelles et émergentes en vue de leur pertinence pour le contrôle des maladies et l'éradication. *Maladies transfrontières et émergentes, non – non*. doi: 10.1111 / j.1865-1682.2010.01148.x
185. Schiller, I., RayWaters, W., Vordermeier, H. M., Jemmi, T., Welsh, M., Keck, N., ... Oesch, B. (2011). Bovine tuberculosis in Europe from the perspective of an officially tuberculosis free country: Trade, surveillance and diagnostics. *Veterinary Microbiology*, 151(1-2), 153–

REFERENCES

186. Schubel N, Rupp J, Gottschalk S, Zabel P, Dalhoff K. (2006). Disseminated *Mycobacterium bovis* infection in an immunocompetent host. *Eur J Med Res*, 2006; 11: 163-6.
187. Sen, U., & Garode, A. M. (2016). Impact of bovine tuberculosis on public health hazards from frozen bovine meat consumption in world. *J Bacteriol Mycol Open Access*, 2(4), 102-107.
188. Sidib'e, S., Dicko, N.A., Fan'e, A., Doumbia, R.M., Sidib'e, C.K., Kant'e, S., Mangan'e, O., Konat'e, B., Kon'e, A.Z., Maïga, M.S., Fofana, M., (2003). Tuberculose bovine au Mali : r'esultats d'une enqu'ete 'epid'emiologique dans les 'elevages laitiers de la zone p'eriurbaine du district de Bamako. *Rev. d'elevage m'edecine v'et'erinaire des pays Trop.* 56, 115–120
189. Singhla, T., Boonyayatra, S., Chulakasian, S., Lukkana, M., Alvarez, J., Sreevatsan, S., Wells, S.J., (2019). Determination of the sensitivity and specificity of bovine tuberculosis screening tests in dairy herds in Thailand using a Bayesian approach. *BMC Vet. Res.* 15 (1), 149. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1905-x>.
190. Soler, M., Estevez, M.-C., Alvarez, M., Otte, M., Sepulveda, B., et Lechuga, L. (2014). Détection directe des biomarqueurs protéiques dans les fluides humains à l'aide de stratégies d'immobilisation d'anticorps spécifiques au site. *Capteurs*, 14 (2), 2239–2258. doi: 10.3390 / s140202239
191. Solomon Addisu* and Belay Abebe. (2020). *Asian Journal of Medical and Biological Research.* 6 (1), 107-122; doi: 10.3329/ajmbr.v6i1.46485 file:///C:/Users/AsusPC/Downloads/46485-Article%20Text-153245-1-10 20200417.pdf
192. Souza, I.I., Melo, E.S., Ramos, C.A., Farias, T.A., Osorio, ´ A.L., Jorge, K.S., Vidal, C.E., Silva, A.S., Silva, M.R., Pellegrin, A.O., Araújo, F.R. (2012). Screening of recombinant proteins as antigens in indirect ELISA for diagnosis of bovine tuberculosis. *SpringerPlus* 1 (1), 77. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-1-77>.
193. Skuce, R.A., Allen, A.R., McDowell, S.W.J. (2012). Herd-level risk factors for bovine tuberculosis: a literature review. *Vet. Med. Int.* 2012, 10. <https://doi.org/10.1155/2012/621210>, 621210. *Zambia. Prev. Vet. Med.* 85, 317–328. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2008.03.006>.
194. Supply, P., & Brosch, R. (2017). The Biology and Epidemiology of *Mycobacterium canettii*. *Strain Variation in the Mycobacterium Tuberculosis Complex: Its Role in Biology, Epidemiology and Control*, 27–41. Doi : 10.1007/978-3-319-64371-7_2
195. Srilohasin P, Chairasert A, Tokunaga K, Nao N, Prammananan T. (2014). Novel DNA chip based on a modified DigiTag2 assay for hightthroughput species identification and genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates. *J Clin Microbiol* 52:1962–1968.
196. Stanford, JL et Grange, JM (1974). La signification et la structure des espèces appliquées aux mycobactéries. *Tubercule*, 55 (2), 143–152. doi: 10.1016 / 0041-3879 (74) 90008-7.
197. Steinitz, M. (2000). Quantification de l'effet de blocage du Tween 20 et de l'albumine sérique bovine dans des micropuits ELISA. *Analytical Biochemistry*, 282 (2), 232-238. doi: 10.1006 / abio.2000.4602
198. Stonebrink, B. (1958). The use of a pyruvate containing egg medium in the culture of Isomazid resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis* var. hommls. *Acta Tuberc Scand.*, 35:67-80
199. Sweeney, FP, Courtenay, O., Hibberd, V., Hewinson, RG, Reilly, LA, Gaze, WH et Wellington, EMH (2007). Surveillance environnementale de *Mycobacterium bovis* dans les excréments de blaireau et le sol de sédimentation du blaireau par PCR en temps réel, comme confirmé par immunofluorescence, immunocapture et culture. *Microbiologie appliquée et environnementale*, 73 (22), 7471–7473. doi: 10.1128 / aem.00978-07.

REFERENCES

200. Thakur Mukesh Kumar, Sinha Dharmendra Kumar, Singh Bhoj Raj, (2015). Evaluation of PPD based ELISA in the Diagnosis of Bovine Tuberculosis. *Journal of Animal Research*. 2015, Volume: 5, Issue: 4. PP 761-766. DOI : 10.5958/2277-940X.2015.00126.6.
201. Joliveau Thierry. (1996). Gérer l'environnement avec des S.I.G. Mais qu'est-ce qu'un S.I.G. ? / Managing environment with G.I.S. But what is a G.I.S. ? In: *Revue de géographie de Lyon*, vol. 71, n°2, 1996. Système d'information géographique et gestion de l'environnement. pp. 101-110; doi : <https://doi.org/10.3406/geoca.1996.4333> https://www.persee.fr/doc/geoca_0035-113x_1996_num_71_2_4333.
202. Thoen, C., LoBue, P., et de Kantor, I. (2006). L'importance de *Mycobacterium bovis* en tant que zoonose. *Microbiologie vétérinaire*, 112 (2-4), 339–345. doi: 10.1016 / j.vetmic.2005.11.047.
203. Thorel, M. F. (2003). Tuberculose. *Principales Maladies Infectieuses et Parasitaires du Bétail, Europe et Régions Chaudes*, 927-961.
204. Trewby, H, Wright, D M, Skuce, R A, McCormick, C, Mallon, T R, Presho, E L, Kao, R R, Haydon, D T and Biek, R. (2017). Relative abundance of *Mycobacterium bovis* molecular types in cattle: a simulation study of potential epidemiological drivers. *BMC Veterinary Research*. 13:268.
205. Tripathi, D. K., Srivastava, K., Nagpal, K. L., Shukla, P. K., & Srivastava, K. K. (2019). Exploration of some new secretory proteins to be employed for companion diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis*. *Immunology Letters*. doi:10.1016/j.imlet.2019.03.010
206. Trost, B., Stuber, T., Surujballi, O., Nelson, J., Robbe-Austerman, S., Smith, N.H., Desautels, L., Tikoo, S.K., Griebel, P. (2016). Investigation of the cause of geographic disparities in IDEXX ELISA sensitivity in serum samples from *Mycobacterium bovis* infected cattle. *Sci. Rep.* 6, 22763. <https://doi.org/10.1038/srep22763>.
207. Tsai, T.-T., Huang, C.-Y., Chen, C.-A., Shen, S.-W., Wang, M.-C., Cheng, C.-M., & Chen, C.-F. (2017). Diagnosis of Tuberculosis Using Colorimetric Gold Nanoparticles on a Paper-Based Analytical Device. *ACS Sensors*, 2(9), 1345–1354. doi:10.1021/acssensors.7b00450.
208. Ujjal Sen, Anil Mahadeo Garode, (2016). Impact of bovine tuberculosis on public health hazards from frozen bovine meat consumption in world. *Journal of Bacteriology & Mycology*, 2016;2(4):102–107
209. Vergnon-Miszczycha D, Suy F, Robert F, Carricajo A, Fresard A, Cazorla C, Guglielminotti C, Lucht F, Botelho-Nevers E. (2015). GuillainBarré syndrome associated with *Mycobacterium bovis* lymphadenitis. *Infection* 43:603–608.
210. Vekemans, M., Cartoux, M., Diagbouga, S., Demb'el'e, M., Kon'e, B., Delafosse, A., Dera, A., Van de Perre, P. (1999). Potential source of human exposure to *Mycobacterium bovis* in Burkina Faso, in the context of the HIV epidemic. *Clin. Microbiol. Infect.* 5, 617–621.
211. Vincent, V. (1995). Taxonomie des mycobactéries. *Revue Française Des Laboratoires*, 1995(273), 27–31. doi:10.1016/s0338-9898(95)80195-2
212. Vogt, RV, Phillips, DL, Omar Henderson, L., Whitfield, W., et Spierto, FW (1987). Différences quantitatives entre diverses protéines en tant qu'agents bloquants pour les plaques de microtitration ELISA. *Journal of Immunological Methods*, 101 (1), 43–50. doi: 10.1016 / 0022-1759 (87) 90214-6
213. Wangoo, A., Johnson, L., Gough, J., Ackbar, R., Inglut, S., Hicks, D., . . . Vordermeier, M. (2005). Advanced Granulomatous Lesions in *Mycobacterium bovis*-infected Cattle are Associated with Increased Expression of Type I Procollagen, $\gamma\delta$ (WC1+) T Cells and CD 68+ Cells. *Journal of Comparative Pathology*, 133(4), 223-234. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2005.05.001>

REFERENCES

214. Waters, WR., Palmer, MV., Thacker, TC., Bannantine, JP., Vordermeier, HM., Hewinson, RG., Greenwald, R., Esfandiari, J., McNair, J., Pollock, JM., Andersen, P., Lyashchenko, KP. (2006). Réponses anticorps précoces à l' infection expérimentale à *Mycobacterium bovis* chez les bovins Clin. Vacc. Immunol. , 13 (2006) , pp. 648 – 654
215. Waters WR, Buddle BM, Vordermeier HM, Gormley E, Palmer MV, Thacker TC, et al. (2011). Development and evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for use in the detection of bovine tuberculosis in cattle. Clin Vaccine Immunol. 2011;18:1882–8. doi:10.1128/CVI.05343-11.
216. Welsh, M. D., Cunningham, R. T., Corbett, D. M., Girvin, R. M., McNair, J., Skuce, R. A. D,G. Bryson, Pollock, J. M. (2005). Influence of pathological progression on the balance between cellular and humoral immune responses in bovine tuberculosis. Immunology, 114(1), 101–111. doi:10.1111/j.1365-2567.2004.02003.x
217. WHO (2016) Global tuberculosis report 2016. Geneva, Switzerland
218. WHO. (2018). Tuberculosis Report.
219. Wiker, HG, Lyashchenko, KP, Aksoy, AM, Lightbody, KA, Pollock, JM, Komissarenko, SV, ... et Harboe, M. (1998). Caractérisation immuno-chimique des protéines MPB70 / 80 et MPB83 de *Mycobacterium bovis*. Infection et immunité , 66 (4), 1445-1452. 10.1128 / IAI.66.4.1445-1452.1998.
220. World Health Organization. Expert Committee on Tuberculosis report on the Fifth Session; 1950 Sep 11- 16; Geneva, Switzerland. Geneva: The Organization; 1951. Technical Report Series 32.
221. World Organisation for Animal Health (OIE). (2014). Report of the meeting of the OIE Scientific Commission for Animal Diseases. 2014-<http://www.oie.int/fi> leadadmin/Home/eng/International_Standard_Setting/docs/pdf/SCAD/A_SCAD_Sept2014.pdf (accessed March 12, 2016).
222. Xiao, Y., et Isaacs, SN. (2012). Dosage immuno-enzymatique (ELISA) et blocage avec de l'albumine sérique bovine (BSA) - toutes les BSA ne sont pas identiques. Journal of Immunological Methods, 384 (1-2), 148-151. doi: 10.1016 / j.jim.2012.06.009.
223. Xu, Z., Hu, T., Xia, A., Li, X., Liu, Z., Min, J., ... Jiao, X. (2017). Generation of Monoclonal Antibodies against Ag85A Antigen of *Mycobacterium tuberculosis* and Application in a Competitive ELISA for Serodiagnosis of Bovine Tuberculosis. Frontiers in Veterinary Science, 4. doi:10.3389/fvets.2017.00107.
224. Yahyaoui-Azami, H., Aboukhassib, H., Bouslikhane, M., Berrada, J., Rami, S., Reinhard, M., ... Zinsstag, J. (2017). Molecular characterization of bovine tuberculosis strains in two slaughterhouses in Morocco. BMC Veterinary Research, 13(1). doi:10.1186/s12917-017-1165-6
225. Yahyaoui Azami, H., Ducrotoy, M. J., Bouslikhane, M., Hattendorf, J., Thrusfield, M., Conde- Álvarez, R., ... Zinsstag, J. (2018). *The prevalence of brucellosis and bovine tuberculosis in ruminants in Sidi Kacem Province, Morocco. PLOS ONE, 13(9), e0203360.* doi:10.1371/journal.pone.0203360.
226. Zanella G, Durand B, Hars J, Moutou F, Garin-Bastuji B, Duvauchelle A, et al. (2008). *Mycobacterium bovis* in wildlife in France. J Wildl Dis. 2008;44(1):99-108.

ANNEXE

1. Questionnaire :

Mouvement des Troupeaux des termes à long termes					
X ₁	Nombre d'animaux achetés à partir des troupeaux « à risque – non OTF » dans les six années précédant la date de référence	Catégorique: 0 animal acheté <input type="checkbox"/> au moins 1 animal acheté <input type="checkbox"/>			
X ₂	source d'achat alimentaire contrôlé (Canal d'alimentation des animaux pendant la période d'étude)	Codé 1 : aucun achat <input type="checkbox"/> 2: l'achat direct auprès du vendeur <input type="checkbox"/> 3: par une coopérative <input type="checkbox"/> 4: par un commerçant de bétail <input type="checkbox"/>			
X ₃	Type de transport des animaux pendant la période d'étude	Codé1: aucun achat <input type="checkbox"/> 2 : avec propre camion de l'agriculteur <input type="checkbox"/> 3: avec un autre camion (d'une tierce personne ou un commerçant) <input type="checkbox"/>			
Mouvement Temporelle des Troupeaux					
X ₄	Nombre d'animaux loués, prêtés ou empruntés au cours de la période d'étude	0 <input type="checkbox"/> ou ≥ 1 <input type="checkbox"/>			
X ₅	Nombre d'animaux détenus en copropriété au cours de la période d'étude	0 <input type="checkbox"/> ou ≥ 1 <input type="checkbox"/>			
Contact Avec Des Troupeaux Voisins Ou Pâturage					
X ₆	Zone d'intersections spatiale dans une zone tampon autour de 3m pâturages des troupeaux et pâturages voisins « à risque » troupeaux de bovins à la date de référence	0 <input type="checkbox"/> ou $\geq 1m^2$ <input type="checkbox"/>			
X ₇	La diversité des troupeaux voisins : la probabilité que deux pâturages voisins appartiennent au même troupeau à la date de référence				
X ₈	zone d'intersection spatiale dans une zone tampon autour de 3 m pâturages des troupeaux et pâturages des troupeaux de bovins voisins à la date de référence				
Partage des points d'eau					
X ₉	Le partage d'un point d'eau au pâturage avec un autre troupeau de bovins au cours de la période d'étude	oui <input type="checkbox"/> ou non <input type="checkbox"/>			
X ₁₀	Le partage d'un point d'eau au pâturage avec un «à risque» troupeau de bovins au cours de la période d'étude	oui <input type="checkbox"/> ou non <input type="checkbox"/>			
X ₁₁	Clôtures permettant une séparation efficace entre les troupeaux étudiés et voisins (pas de contacts à-nez, le nez)	oui <input type="checkbox"/> ou non <input type="checkbox"/>			
Contact indirect entre les Troupeaux					

X ₁₂	Équipements détenus en copropriété (camion de bétail, goulotte à bétail et épandeur de fumier) au cours de la période d'étude	oui <input type="checkbox"/> ou non <input type="checkbox"/>				
X ₁₃	Matériel loué, prêté ou emprunté (camion à bétail, goulotte à bétail ou épandeur de fumier) pendant la période d'étude	oui <input type="checkbox"/> ou non <input type="checkbox"/>				
X ₁₄	Au moins une parcelle de pâturage loué pendant la période d'étude.	Code 1 : pas de location <input type="checkbox"/> 2 : location à tondre <input type="checkbox"/> 3 : location à brouter bétail <input type="checkbox"/>				
Contact Avec D'autres Animaux Et Compris La Faune Sauvage						
X ₁₅	La présence d'autres espèces domestiques à la ferme au cours de la période d'étude	oui <input type="checkbox"/> ou non <input type="checkbox"/>				
X ₁₆	Présence de chèvres à la ferme au cours de la période d'étude	oui <input type="checkbox"/> ou non <input type="checkbox"/>				
X ₁₇	Présence de chat ou des chiens à la ferme au cours de la période d'étude	oui <input type="checkbox"/> ou non <input type="checkbox"/>				
X ₁₈	Présence de chevaux à la ferme au cours de la période d'étude	oui <input type="checkbox"/> ou non <input type="checkbox"/>				
X ₁₉	alimentation supplémentaire fournie au pâturage dans la soirée au cours de la période d'étude.	oui <input type="checkbox"/> ou non <input type="checkbox"/>				
X ₂₀	Au moins un animal a gardé le pâturage tout au long de l'année au cours de la période d'étude.	oui <input type="checkbox"/> ou non <input type="checkbox"/>				
X ₂₁	La supplémentation du sel fourni au pâturage pendant la période d'étude.					
X ₂₂	Présence de conteneur pour les pierres de lèche durant la période d'étude.	Codé 1 : pas de roche sel <input type="checkbox"/> 2: lécher le sel dans un récipient <input type="checkbox"/> 3 : pas de conteneur <input type="checkbox"/>				
X ₂₃	Présence de mangeoires communes au pâturage pendant la période d'étude	oui <input type="checkbox"/> ou non <input type="checkbox"/>				
X ₂₄	Présence de creux au pâturage pendant la période d'étude	oui <input type="checkbox"/> ou non <input type="checkbox"/>				
X ₂₅	Présence de racks au pâturage pendant la période d'étude	oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/>				
X ₂₆	La présence de mangeoires veau au pâturage pendant la période d'étude	oui <input type="checkbox"/> ou non <input type="checkbox"/>				
X ₂₇	La présence de points d'alimentation communs sur le sol au pâturage au cours de la période d'étude	oui <input type="checkbox"/> ou non <input type="checkbox"/>				
X ₂₈	La présence de points d'eau au pâturage pendant la période d'étude.	Codé 1: pompes ou baignoires <input type="checkbox"/> 2: ruisseaux <input type="checkbox"/> 3: étangs <input type="checkbox"/>				
X ₂₉	Présence de bâtiments de ferme à différents endroits géographiques.	oui <input type="checkbox"/> ou non <input type="checkbox"/>				

X ₃₀	Présence d'au moins un bâtiment agricole commun (pour le logement du bétail ou pour le stockage des aliments) à plus de 300 m des zones habitées (bâtiment isolé)	oui <input type="checkbox"/> ou non <input type="checkbox"/>				
Les Variables De Confusion Et Les Variables <i>Appariées</i>						
X ₃₁	Taille du troupeau à la date de référence					
X ₃₂	Type de troupeau (bœuf, les produits laitiers, mixte)					
X ₃₃	Sexe	Nbre F <input type="checkbox"/> Nbre M <input type="checkbox"/>				
X ₃₄	Age	Moins de 5ans <input type="checkbox"/> plus de 5ans <input type="checkbox"/>				

