

Les mycobactéries d'origine animale isolées au centre Muraz de 1965 à 1968

Techniques d'isolement et d'identification. Résultats

par R. GIDEL, J. P. ALBERT, M. LEFÈVRE, M. MÉNARD et M. RÉTIF
avec la collaboration technique de A. DJOKOUI

RÉSUMÉ

Les auteurs soulignent tout d'abord l'importance des saisies pour tuberculose aux abattoirs de Bobo-Dioulasso. La fréquence de ces saisies a été de 9,61 p. 100 pour les bovins (82.961 animaux inspectés) et de 2,15 p. 100 pour les porcins (16.992 animaux contrôlés) au cours des années 1965 à 1968 incluse. Ils indiquent ensuite les techniques qu'ils ont utilisées pour les prélèvements, l'isolement et l'identification des mycobactéries. Enfin, ils exposent les résultats obtenus concernant les examens directs, les cultures et l'identification des mycobactéries isolées.

Parmi les 639 prélèvements reçus au Laboratoire, 298 cultures furent positives et 250 souches purent être identifiées.

Mycobacterium bovis est l'agent le plus fréquemment rencontré : 89,6 p. 100 des cas.

Mycobacterium tuberculosis a cependant été isolé dans 5,2 p. 100 des cas et des mycobactéries atypiques dans 5,2 p. 100 des cas également. Aucune souche de *Nocardia farcinica* n'a été isolée. Ces résultats montrent la rareté du farcin et l'importance de la tuberculose bovine dans les régions dont les animaux étaient originaires.

Les auteurs concluent en faisant part de leur intention d'entreprendre une étude bactériologique dans les régions sahéliennes d'élevage où des enquêtes tuberculiques récentes ont montré que des liens devaient exister entre tuberculoses humaine et bovine. Ces recherches permettront de préciser les types de mycobactéries en cause et de mieux connaître l'épidémiologie de la maladie dans ces régions.

1. — INTRODUCTION

Depuis de nombreuses années, les vétérinaires chargés de l'inspection des viandes à l'abattoir de Bobo-Dioulasso en Haute-Volta ont été frappés par la fréquence des lésions tuberculeuses chez les animaux abattus dans cet établissement. Dans certaines régions d'Afrique au contraire, la tuberculose semble exceptionnelle : c'est le cas du Tchad notamment. Par contre, dans ce pays et dans d'autres également, on rencontre, avec une fréquence relative, le farcin dû à *Nocardia farcinica*, dont les lésions peuvent évo-

quer, pour l'inspecteur non averti, une tuberculose miliaire. En 1961, une étude sur le farcin a été effectuée aux abattoirs de Fort-Lamy au Tchad (PERPEZAT et al., 1963). Sur 38.201 bovins abattus, 476 ganglions suspects avaient été prélevés. Pour chacun d'eux, les auteurs ont isolé *Nocardia farcinica*, alors qu'aucun cas de tuberculose n'a été mis en évidence.

En ce qui concerne la Haute-Volta par contre, aucun cas de farcin n'a été signalé jusqu'à ce jour, ni à l'abattoir de Bobo-Dioulasso, ni à celui de Ouagadougou, ni dans ceux des centres secondaires.

Il nous a donc paru intéressant d'apporter la preuve bactériologique des nombreux cas de tuberculose dépistés macroscopiquement à l'abattoir de Bobo-Dioulasso et de préciser les types de mycobactéries en cause.

Les S/Sections Tuberculose et Zoonoses du Centre Muraz ont donc entrepris, à partir de 1965, l'identification des souches de myco-bactéries isolées à partir des prélèvements effectués sur les animaux abattus à Bobo-Dioulasso et présentant des lésions tuberculeuses.

2. — IMPORTANCE DES SAISIES POUR TUBERCULOSE A L'ABATTOIR DE BOBO-DIOULASSO

Le pourcentage d'animaux porteurs de lésions tuberculeuses varie considérablement d'une année à l'autre. C'est ainsi que, chez les bovins, les taux suivants ont été observés au cours des 20 dernières années :

7,6 p. 100 en 1950
19,5 p. 100 en 1953
5,6 p. 100 en 1959
14,8 p. 100 en 1962.

Ces variations s'expliquent par le fait qu'une part importante, de l'ordre de 65 à 75 p. 100, des bovins abattus sont d'origines très diverses, un certain nombre d'entre eux provenant des régions fortement infectées du Mali (Ségou, Macina, Mopti).

Au cours des années 1965 à 1968 incluse, 9,61 p. 100 des 82.961 bovins abattus, et 2,15 p. 100 des 16.992 porcins abattus étaient porteurs de lésions tuberculeuses (voir tableau 1). Pendant cette même période, un certain nombre de cas de tuberculose ont également été observés chez

les chevaux (9 cas sur 3.299 animaux inspectés), les moutons et les chèvres.

Comme nous l'avons signalé ci-dessus, un pourcentage important des bovins abattus est d'origine étrangère. Par contre, les équins, ovins et caprins sont, pour la très grande majorité, d'origine voltaïque. Si on étudie la fréquence de la tuberculose bovine en fonction de l'origine des animaux, on s'aperçoit que la maladie sévit avec une fréquence nettement plus élevée chez les animaux d'origine étrangère. Ainsi, en 1968, sur 19.392 bovins abattus, 6.953 étaient d'origine voltaïque et 12.439 d'origine étrangère, la plupart du temps malienne. 1.929 cas de tuberculose ont été observés au total, dont 285 chez des bovins voltaïques, soit 4,10 p. 100 et 1.644 chez des bovins étrangers, soit 13,22 p. 100 ($\chi^2 = 695$ pour deux degrés de liberté : la différence constatée est très hautement significative). Cette observation doit attirer l'attention sur le danger que représente, pour le cheptel local, les animaux en transit provenant de régions contaminées. La réalité de ce danger nous est apparue également au cours de nos diverses enquêtes allergologiques (GIDEL et al., 1969).

3. — TECHNIQUES UTILISÉES POUR L'ISOLEMENT ET L'IDENTIFICATION DES MYCOBACTÉRIES

3.1. Récolte des prélèvements.

Les prélèvements de fragments d'organes et de ganglions tuberculeux sont effectués, à l'abattoir de Bobo-Dioulasso, par les infirmiers spécialistes du Service de l'Élevage, chargés de l'inspection des viandes. Ces prélèvements sont placés aussitôt dans des boîtes de carton paraf-

TABLEAU N° I

Nombre d'animaux abattus et inspectés à Bobo-Dioulasso au cours des années 1965 à 1968 incluses et résultats des saisies pour tuberculose.

Espèce animale	Nombre d'animaux				Pourcentage d'animaux tuberculeux à l'abattage
	Abattus et inspectés	Porteurs de lésions tuberculeuses	Objets d'une saisie totale pour tuberculose	Objets d'une saisie totale partielle pour tuberculose	
Bovins	82.961	7.971	563	7.408	9, 61
Porcins	16.992	366	22	344	2, 15
Equins	3.299	9	4	5	0, 27

finé utilisées habituellement pour recueillir les crachats. Chaque prélèvement est accompagné d'une fiche d'identification numérotée (le même numéro étant reporté sur la boîte), indiquant l'espèce, la race, l'origine, le sexe, l'étendue et le type des lésions ainsi que les organes touchés et la nature de la saisie (totale ou partielle). Ces prélèvements sont apportés au laboratoire de la Tuberculose du Centre Muraz. Les renseignements donnés par les fiches sont reportés sur un registre où figureront ultérieurement les résultats de l'examen direct, de la culture, de l'identification biochimique et, éventuellement, de l'antibiogramme.

3.2. Traitement des prélèvements.

3.2.1. Homogénéisation au bromure de cétyl-pyridinium (BERENCSI et al., 1960).

Plusieurs parcelles des différents prélèvements provenant d'un même animal sont broyées au mortier stérile en présence de sable et d'eau distillée stériles. Le produit du broyat est placé, après décantation, dans un tube à centrifugation à vis, stérile, et mis en contact avec du bromure de cétyl-pyridinium, dans la proportion de 1 volume de broyat pour 5 volumes d'une solution de bromure de cétyl-pyridinium à 5 p. 100 dans de l'eau distillée stérile. Le tube à centrifuger est alors placé à l'étuve à 37° pendant 48 à 72 h, ce temps étant fonction de l'état de conservation des prélèvements. Après ce délai, le tube est centrifugé à vitesse moyenne (3.000 t/mn) pendant 15 à 20 mn. Le surnageant est rejeté et le culot est dilué dans 2 à 3 ml d'eau distillée stérile.

3.2.2. Examen direct après homogénéisation.

Une à deux gouttes du culot dilué sont étalées sur une lame porte-objet et séchées et fixées à l'alcool éthylique flambé. Ce frottis est alors coloré selon la technique du Ziehl rapide à froid (LAPEYSSONNIE et CAUSSE, 1960) dont nous rappellerons succinctement les modalités.

Deux solutions sont utilisées pour cette coloration :

— Une solution A, dont la composition est la suivante :

Fuchsine basique	4 g
Acide phénique	12 g
Alcool à 95°	25 ml
Eau distillée q. s.	300 ml

Elle se prépare en dissolvant la fuchsine dans l'acide phénique chauffé à 80° au bain-marie. Après avoir laissé refroidir, et lorsque la solution est encore tiède, on ajoute l'alcool en agitant. Puis on complète à 300 ml avec de l'eau distillée et on filtre. Après filtration, on ajoute à cette solution 30 gouttes de Teepol (soit 10 gouttes pour 100 ml environ) ou, à défaut, de Tween 80. Cette solution doit être filtrée chaque fois avant l'emploi.

— Une solution B, dont la composition est la suivante :

Alcool absolu	4 parties
Acide sulfurique pur	1 partie
Bleu de méthylène à 1 p. 100	...	7 parties

— *Coloration* : le frottis est recouvert de solution A pendant 4 mn. Puis il est lavé à l'eau et recouvert de solution B pendant 4 mn également. Le frottis est ensuite lavé, séché, puis examiné à l'immersion. Cette technique nous donne de bons résultats, tout en ayant l'avantage d'être plus rapide que la méthode classique à chaud.

3.3. Mise en culture.

Les milieux employés pour les cultures sont des milieux de LOEWENSTEIN-JENSEN à 0,75 p. 100 de glycérine, préparés au Laboratoire à partir de base déshydratée en sachets fournis par le Laboratoire BD-Mérieux. La préparation est effectuée selon la technique indiquée par ce Laboratoire. Les œufs utilisés sont des œufs du jour provenant de volailles sélectionnées et contrôlées sanitairelement par le Service de l'Élevage. Une fois préparé, le milieu est réparti stérilement, sous lampe à ultraviolet, dans des tubes de Coletsos à encoche, à raison de 8 ml par tube. Ces tubes sont ensuite placés en position horizontale au bain-marie coagulateur. Ils sont enfin placés à l'étuve à 37° pendant 48 h pour contrôle de stérilité, puis conservés au réfrigérateur à + 4° jusqu'à leur utilisation qui doit se faire dans les 15 jours.

Le culot dilué est ensemencé en nappes sur 2 tubes de LOEWENSTEIN-JENSEN. Ceux-ci sont portés, non capuchonnés, à l'étuve à 37° pendant 24 h, puis capuchonnés et remis à l'étuve. Les tubes en culture sont surveillés régulièrement, de façon à noter l'apparition des premières colonies et à éliminer éventuellement les tubes souillés. Au bout de 4 mois, les milieux où

aucune culture n'apparaît sont contrôlés au Ziehl et, si celui-ci est négatif, ils sont éliminés. Les tubes positifs sont conservés jusqu'à ce que la culture soit suffisante pour effectuer les tests biochimiques. L'aspect des colonies (lisses ou rugueuses ; isolées ou en nappes ; présence ou absence de pigmentation) est noté sur le registre. Le bacille bovin poussant mal sur LOEWENSTEIN-JENSEN au sortir de l'animal et les cultures étant lentes à obtenir, nous allons dorénavant ensemercer, en même temps que le milieu de LOEWENSTEIN-JENSEN à 0,75 p. 100 de glycérine, un tube de LOEWENSTEIN sans glycérine et un milieu au pyruvate de soude à 0,50 p. 100 (STONEBRINK, 1952).

3.4. Photo-induction.

Cette recherche est effectuée en ensemençant 3 tubes de LOEWENSTEIN-JENSEN, dont 2 sont enveloppés de papier noir. Lorsque le tube découvert montre une culture en pleine croissance, on développe l'un des 2 tubes et on l'expose 30 à 60 mn à 50 cm environ d'une lampe de 40 W. Puis on le recouvre et on le remet à l'étuve. Le lendemain, on découvre les 2 tubes et on compare l'aspect des colonies. Si les colonies qui ont été exposées à la lumière présentent une pigmentation jaune-orange par rapport à celles du tube témoin dont les colonies sont restées blanches, la souche est dite photochromogène. En ce qui concerne les mycobactéries dites scotochromogènes, c'est-à-dire d'emblée pigmentées en jaune ou orange pendant le séjour à l'étuve à l'obscurité, la photo-induction renforce la pigmentation.

3.5. Tests biochimiques.

Nous décrivons succinctement les différents tests utilisés pour l'identification de nos souches de mycobactéries.

3.5.1. Recherche de l'acide nicotinique ou « Niacin test ».

La recherche de la production d'acide nicotinique est un test précieux car il permet à lui seul d'identifier *M. tuberculosis* qui est le seul, avec *M. microti* (bacille de WELLS) et certaines variétés de *M. bovis* à donner une réaction positive. Toutefois, le type *africanum* de *M. tuberculosis* découvert récemment (CASTELS et al.,

1968 et 1969) donne un niacin-test variable selon les souches.

Ce test est effectué sous hotte ou devant une fenêtre ouverte du fait de l'utilisation de bromure de cyanogène qui sert à révéler la présence d'acide nicotinique. Cette recherche se fait sur des cultures en milieu de LOEWENSTEIN-JENSEN abondantes et en pleine croissance. Elle consiste à déposer sur le milieu, à l'aide d'une pipette graduée, 0,5 ml d'une solution d'aniline à 4 p. 100 dans l'alcool à 95 p. 100. Les tubes sont ensuite placés en position horizontale pendant 10 mn environ. Puis on ajoute, avec une seringue munie d'une longue aiguille, 0,5 ml d'une solution à 10 p. 100 de bromure de cyanogène dans l'eau distillée. La lecture s'effectue immédiatement, car la pigmentation s'atténue ensuite. La présence d'acide nicotinique se traduit par une coloration jaune des colonies et une coloration jaune à vert-jaune du liquide. Lorsque la réaction est négative, les colonies ne se colorent pas et le liquide est de couleur verte. Enfin la réaction est dite douteuse si les colonies ne sont pas pigmentées en jaune mais si le liquide est vert-jaune.

3.5.2. Recherche conjointe de la catalase et de la peroxydase à 22° et 70° (CANETTI et al. 1968).

La recherche de ces deux enzymes est faite sur des cultures jeunes. La présence de la catalase dans une souche donnée se traduit par un dégagement gazeux lorsque l'on met cette souche en présence d'eau oxygénée, tandis que la présence de la peroxydase se traduit par un noircissement des colonies lorsque celles-ci sont mises en présence d'eau oxygénée et d'un substrat oxydable tel que catéchol ou benzidine. La technique est la suivante : dans 2 tubes à hémolyse contenant 2 gouttes d'eau distillée, on introduit une anse de culture, soit environ 10 mg. L'un des 2 tubes est porté au bain-marie à 70° pendant 15 mn et refroidi. On introduit alors dans les 2 tubes, 1 ml de la solution suivante, qui se conserve 2 semaines au réfrigérateur (solution de Bogen).

Pyrocatechine	0,1 g
Eau oxygénée à 110 volumes ..	0,5 ml
Tween 80	1,25 ml
Eau distillée.....	100 ml

Une première lecture s'effectue au bout

d'une heure pour la catalase et la peroxydase et une deuxième lecture après 18 h, pour contrôle de la peroxydase, certaines souches n'étant peroxydase positives que tardivement. La formation d'une mousse plus ou moins abondante indique la présence d'une catalase, tandis que la peroxydase est décelée par la couleur du culot, une teinte brun-rouge signifiant la présence de peroxydase. Cependant, l'appréciation des teintes est parfois délicate.

Toutes les mycobactéries, à l'exception des souches de *M. tuberculosis* et *M. bovis* isoniazido-résistantes sont catalase positives. Les mycobactéries sont en général peroxydase négatives, à l'exception des souches de *M. tuberculosis* et *M. bovis* isoniazido-sensibles.

3.5.3. Réduction des nitrates (VIRTANEN, 1960).

Certaines mycobactéries possédant une nitrate réductase réduisent les nitrates en nitrites. La présence de nitrite de sodium pourra être décelée par la réaction de GRIESS.

Cette recherche se fait sur des cultures jeunes, en pleine croissance, âgées de moins d'un mois. Dans un tube à hémolyse contenant deux gouttes d'eau distillée, on introduit 10 mg environ de bacilles (une anse pleine). On ajoute 2 ml d'une solution de nitrate de soude à 0,085 p. 100 en tampon phosphate (NO_3Na : 0,085 g ; $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$: 0,117 g ; $\text{PO}_4\text{HNa}_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$: 0,485 g ; eau distillée : 10 ml). On porte 2 heures à l'étuve à 37°. On ajoute successivement : deux gouttes du réactif A (acide sulfanilique : 0,8 g ; acide acétique : 30 ml ; eau distillée : 100 ml) et deux gouttes du réactif B (α -naphtylamine : 0,5 g ; acide acétique : 30 ml ; eau distillée : 100 ml). La présence de nitrites se traduit par l'apparition immédiate d'une coloration rouge-violette.

Les souches de *M. tuberculosis*, qu'elles soient sensibles ou résistantes à l'isoniazide, réduisent les nitrates en nitrites, à l'exception des souches de type *africanum* pour lesquelles cette opération est en général négative. La plupart des souches de *M. bovis* ne réduisent pas les nitrates. Quant aux mycobactéries dites atypiques, elles se comportent de façon variable selon les espèces.

3.5.4. Recherche des activités amidasiques (BÖNICKE, 1958).

Cette recherche est indiquée pour l'identi-

cation des mycobactéries dites atypiques. Elle doit être faite sur des cultures en pleine croissance car il faut une quantité importante de germes. Cinq amides ont été utilisés aux concentrations suivantes :

pour 100 ml d'eau distillée :

Urée	9,84 mg
Nicotinamide	20,00 mg
Acétamide	9,68 mg
Benzamide	19,85 mg
Succinamide	19,00 mg

Ces solutions sont stérilisées par chauffage à l'autoclave à 100° pendant 30 mn. Elles peuvent être conservées 8 jours au réfrigérateur.

La formation d'ammoniaque est décelée par la technique de RUSSEL qui utilise 3 réactifs :

— Une solution de sulfate de manganèse à 0,003 M obtenue en dissolvant 66,9 mg de SO_4Mn , 4 H_2O dans 100 ml d'eau distillée ;

— Un réactif phénolique préparé comme suit : 25 g d'acide phénique sont dissous dans 10 ml d'eau distillée. Après agitation vigoureuse, on ajoute 54 ml de NaOH, 5 N ; on remue jusqu'à dissolution totale, puis on complète à 100 ml avec de l'eau distillée et on conserve cette solution en flacons teintés bruns ;

— Une solution d'hypochlorite de calcium préparée de la façon suivante : dissoudre 25 g de Cl_2CaO (hypochlorite de calcium) dans 300 ml d'eau distillée chaude. Ajouter, en agitant, 135 ml d'une solution à 20 p. 100 de carbonate de potassium. Faire bouillir quelques minutes pour éliminer l'ammoniaque. On vérifie, par addition d'oxalate de potassium ou d'acide oxalique à 1 p. 100, qu'il n'existe plus d'ions Ca dans la solution. Sinon, on ajoute du carbonate de potassium pour éliminer l'excès de calcium. Puis on complète jusqu'à 500 ml avec de l'eau distillée et on filtre. Cette solution est également conservée en flacons teintés bruns au réfrigérateur.

— *Technique de la réaction* : Les colonies d'une culture abondante sur milieux de LOEWEN-STEIN-JENSEN sont prélevées et mises en suspension dans de l'eau physiologique stérile de manière à avoir une concentration en germes d'au moins 10 mg/ml. Pour chaque amide, on utilise 1/2 ml de suspension bactérienne. Il faut donc prévoir une quantité suffisante de cette

suspension pour pratiquer le test sur les différentes amides. Après avoir procédé à une homogénéisation complète, on effectue deux lavages successifs des bactéries avec de l'eau physiologique stérile. Après la deuxième centrifugation, le culot est ensuite repris en tampon phosphate M/15 à pH 7,2, (PO_4HNa_2 , 12 H_2O = 1,718 g ; $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ = 0,254 g ; eau distillée : 100 ml), de façon à obtenir le même volume que celui de la suspension précédente. On répartit ensuite 1/2 ml de cette suspension dans des tubes à hémolyse contenant 1/2 ml de la solution d'amide 0,00164 M (voir ci-dessus la préparation des solutions des différentes amides). Puis les tubes sont placés à l'étuve à 37° pendant 4 à 12-18 h (4 heures pour les mycobactéries à croissance rapide ; 12 à 18 h pour les mycobactéries à croissance lente).

Après ce délai, la présence d'ammoniaque est décelée par la technique de RUSSEL qui consiste à ajouter à chaque tube :

- 0,1 ml de la solution de sulfate de manganèse,
- 1 ml de réactif phénolique,
- 0,5 ml de la solution d'hyposulfite.

Après agitation, les tubes sont placés durant 15 à 20 mn au bain-marie à 100°. La présence d'ammoniaque se traduit par une coloration bleu-vert.

3.6. Sensibilité aux antibiotiques (CANETTI et al. 1963 et 1968).

La technique utilisée est la méthode des proportions de CANETTI, RIST et GROSSET (1963). La sensibilité est recherchée vis-à-vis des 3 antibiotiques majeurs : isoniazide (I. N. H.), acide para-amino-salicylique (P. A. S.), streptomycine.

Les deux concentrations suivantes sont utilisées pour chaque antibiotique :

INH : 0,1 et 0,2	microgramme par ml	—	—
PAS : 0,25 et 0,50		—	—
Streptomycine : 2 et 4		—	—

Ces solutions d'antibiotiques sont incorporées aux milieux de LOEWENSTEIN-JENSEN avant coagulation.

Les dilutions bacillaires à ensemercer sont les dilutions 10^{-3} et 10^{-5} microgrammes par ml.

Aux concentrations précédemment indiquées, les proportions critiques au-delà desquelles la

souche est considérée comme résistante sont les suivantes :

INH	10 p. 100 et 1 p. 100
PAS	10 p. 100 et 1 p. 100
Streptomycine ..	50-100 p. 100 et 1 p. 100

3.7. Test au Pyrazinamide.

Nous n'avons pas pratiqué ce test jusqu'à présent. Toutefois, vu son intérêt pour le dépistage des souches de type africanum qui sont très sensibles à cet antibiotique, nous envisageons désormais sa mise en œuvre selon la technique de RIST (CANETTI et GROSSET, 1968). Pour pallier à la principale difficulté de ce test, à savoir la croissance très lente des bacilles tuberculeux sur le milieu utilisé, du fait d'un pH de 4,9 dû à la présence du pyrazinamide, CASTETS (M), RIST (N) et BOISVERT (H) (1969), recommandent de déposer sur le milieu, avant l'ensemencement, 0,2 ml de pyruvate de soude à 15 p. 100.

En présence de 50 microgrammes de pyrazinamide par millilitre de milieu de LOEWENSTEIN-JENSEN à pH 4,9, la croissance du type africain est inférieure à 1 p. 100 de la population ensemencée.

3.8. Test au TCH.

La recherche de la sensibilité vis-à-vis de l'hydrazide de l'acide thiofène-2-carboxylique (TCH) est particulièrement intéressante pour l'identification des souches de *M. bovis* et du type africain de *M. tuberculosis*. En effet, ces souches sont sensibles au TCH, alors que celles de *M. tuberculosis* (type humain) y sont résistantes. Sur les conseils du docteur N. RIST, nous allons dorénavant effectuer ce test systématiquement suivant la technique utilisée pour les antibiotogrammes. Les concentrations utilisées sont de 2 et 5 microgrammes de TCH par millilitre de milieu et la proportion critique au-delà de laquelle la souche est considérée comme résistante est 1 p. 100.

La résistance à l'INH étant croisée avec celle au TCH, le comportement à l'égard du TCH ne permet donc pas de différencier les souches bovines et africaines isoniazido-résistantes des souches humaines. La recherche de la sensibilité à l'INH doit donc toujours être faite lorsqu'on effectue le test au TCH afin de pouvoir interpréter correctement celui-ci.

4. — RÉSULTATS

639 prélèvements ont été adressés au Laboratoire au cours des années 1965, 1966, 1967 et 1968 (voir tableau 2). Ces prélèvements concernaient des bovins (zébus, 507 fois ; taurins, 77 fois) ; des porcins (27 fois) ; des équins (8 fois) ; divers

ovins (10 fois) ; des caprins (7 fois) ; divers animaux (poules, 2 fois ; canards, 1 fois ; chiens, 2 fois). Ces prélèvements provenaient pour 221 d'entre eux de saisies totales et pour 413 d'entre eux de saisies partielles ; dans 5 cas (poules, canards, et chiens), il s'agissait de prélèvements effectués par les agents du Service de l'Elevage à l'occasion d'autopsies.

TABLEAU N° II

Nombre de prélèvements tuberculeux adressés au Laboratoire au cours des années 1965 à 1968 incluses pour chaque espèce animale avec indications des saisies pratiquées.

Espèce animale		Nombre de prélèvements tuberculeux adressés au Laboratoire	Nature des saisies pratiquées aux abattoirs sur les animaux objets des prélèvements	
			Totales	Partielles
Bovins	Zébus	507	168	339
	Taurins	77	29	48
Porcins		27	11	16
Equins		8	3	5
Ovins		10	6	4
Caprins		5	4	1
Poules (1)		2	2	-
Canard (1)		1	1	-
Chiens (1)		2	2	-
Total		639	226	413

(1) = Il s'agit de prélèvements effectués par les agents du Service de l'Elevage à l'occasion d'autopsies.

4.1. Résultats des examens directs. (voir tableau 3).

Au début de l'enquête, les examens directs n'ont pas été pratiqués de façon systématique.

C'est la raison pour laquelle ces résultats n'ont pu être donnés pour 116 prélèvements. En ce qui concerne les 523 autres, ces examens ont été positifs dans 160 cas (30,5 p. 100) et négatifs dans 363 cas (69,5 p. 100).

TABLEAU N° III

Résultats des examens directs et des cultures effectués à partir des prélèvements reçus.

Résultats des examens directs								
160 positifs			363 négatifs			116 non effectués		
Cultures			Cultures			Cultures		
Positives	Négatives	Éliminées	Positives	Négatives	Éliminées	Positives	Négatives	Éliminées
90	35	35	156	104	103	52	47	17

4.2. Résultats des cultures. (voir tableau 3).

Sur les 639 prélèvements mis en cultures, 298 ont donné des cultures positives et 186 des cultures négatives. 155 cultures en cours ont dû être éliminées, soit par suite de souillures, soit pour la plupart d'entre elles, à la suite d'un accident d'étuve. Si on ne tient pas compte de ces cultures éliminées, on obtient donc 46,6 p. 100 de résultats positifs pour les prélèvements mis en cultures.

Les 160 examens directs positifs ont donné, du point de vue cultures : 90 cultures positives, 35 négatives et 35 éliminées. En ne tenant pas compte de ces dernières, on obtient donc 72 p. 100 de cultures positives et 28 p. 100 de cultures négatives. L'existence de ces 28 p. 100 de bacilles visibles et non isolés en cultures peut être imputée notamment à deux facteurs. D'une part, il est bien certain que le milieu de LOEWENSTEIN-JENSEN à 0,75 p. 100 de glycérine n'est pas très favorable au développement des *Mycobacterium bovis*. Il est donc probable que certaines souches de ce type n'ont pu se développer et leur existence peut expliquer une partie de ces échecs. Mais d'autre part, l'étude des résultats en ce qui concerne les isoléments de mycobactéries d'origine humaine a montré que le même phénomène, quoique à un degré moindre, pouvait y être observé également (15 p. 100 de bacilles visibles et non isolés en cultures au cours de la période 1966-1968).

Une étude plus attentive de la distribution de ce phénomène a alors montré qu'il apparaissait avec une fréquence plus grande pendant de courtes périodes correspondant à l'utilisation des fins de lots de milieux de culture. L'emploi de milieux frais, préparés depuis moins de 15 jours, devait entraîner une nette amélioration. Toutefois, malgré ces précautions, certains bacilles visibles ne poussent pas en cultures. Le pourcentage de ces bacilles est de l'ordre de 10 à 12 p. 100. Il s'agit vraisemblablement de bacilles isoniazidorésistants qui poussent mal en milieu de LOEWENSTEIN-JENSEN.

4.3. Résultats des identifications. (voir tableau 4).

4.3.1. Critères retenus pour les identifications.

Ces identifications sont prononcées après étude des caractères cultureux et biochimiques.

Pour *Mycobacterium tuberculosis*, les colonies sont rugueuses et eugoniques, apparaissant entre 10 à 30 jours. La catalase et la peroxydase sont en général positives à 22° et négatives à 70°. Le niacin test et les nitrates sont positifs ainsi que la recherche de la nicotinamidase. Enfin, les souches de ce type sont résistantes au TCH et très sensibles au pyrazinamide.

Pour *Mycobacterium bovis*, les colonies sont lisses, bombées, luisantes et dysgoniques, apparaissant très lentement sur milieux de LOEWENSTEIN-JENSEN (souvent après 2 mois ; parfois même après 3 mois). Catalase et peroxydase

TABLEAU N° IV

Résultats des identifications des mycobactéries isolées pour chaque espèce animale.

Espèce animale	Souches	M. tuberculosis			M. bovis			M. atypiques					T	
		I.N.H.			I.N.H.			M. aquae II	M. aquae III	M. batteyi	M. berstelense	M. Kansalii		non identifiées
		S	R	non précisé	S	R	non précisé							
Bovins	Zébus			7	10	17	165	1	1	1	1	1	5	209
	Taurins			3		2	18						1	24
	Porcins	1		2	1		6			1			1	12
	Ovins						3							3
	Equins				1		1							2
	Total	1		12	12	19	193	1	1	2	1	1	7	250

présentent les mêmes caractères que pour le bacille humain, c'est-à-dire qu'elles sont positives à 22° et négatives à 70°. Niacin test, nitrates et nicotinamidase sont en général négatifs. Enfin, *M. bovis* est sensible au TCH et résistant au pyrazinamide.

En ce qui concerne les mycobactéries dites atypiques, l'étude des amidases est nécessaire pour parvenir à l'identification complète. Malgré tout, celle-ci n'est pas toujours aisée et nécessite parfois l'envoi de la souche à un laboratoire spécialisé.

La classification de RUNYON permet de distinguer les groupes suivants :

— Groupe I : Mycobactéries photochromogènes, c'est-à-dire mycobactéries dont les colonies non pigmentées à l'obscurité se pigmentent après exposition à la lumière ;

— Groupe II : Mycobactéries scotochromogènes, c'est-à-dire mycobactéries à croissance lente dont les colonies se pigmentent à l'obscurité ;

— Groupe III : Mycobactéries non chromogènes, c'est-à-dire mycobactéries dont les colonies à croissance lente ne se pigmentent habituellement ni à la lumière ni à l'obscurité ;

— Groupe IV : Mycobactéries à croissance rapide dont les colonies se développent en 3 à 4 jours.

Enfin, dans les résultats qui vont suivre, nous ne faisons pas mention des bacilles tuberculeux de type africain. En effet, nous ne pratiquons pas, jusqu'à présent, les deux tests les plus caractéristiques de ce type, à savoir, la recherche de la sensibilité au TCH et au pyrazinamide. Les colonies sont dysgoniques, mais leur croissance est en général plus rapide que celle de *M. bovis*. Elle n'excède pas 4 à 6 semaines. Le test de la niacine est variable et la réduction des nitrates habituellement négative. Ce dernier caractère est toutefois sujet aussi à variations.

Il n'est donc pas impossible que quelques souches étiquetées *M. bovis* appartiennent en réalité au type africain. Cette hypothèse pourra être confirmée ou infirmée rétrospectivement. En effet, la recherche minutieuse des souches d'origine animale appartenant à ce type sera désormais effectuée systématiquement et les souches dépistées ou suspectes envoyées à l'Institut Pasteur de Paris pour confirmation.

Parmi les 298 cultures positives, 250 souches

au total furent identifiées. Les autres n'ont pu l'être de façon précise pour des raisons diverses (difficultés de la culture au repiquage et surtout perte d'un lot de souches repiquées par suite d'un accident d'étuve). Ces souches ont donc été éliminées.

4.3.2. Résultats globaux des identifications.

— *Mycobacterium tuberculosis* a été isolé 13 fois sur 250, soit dans 5,2 p. 100 des cas. Dans 10 cas les prélèvements provenaient de bovins et dans 3 cas de porcins.

— *Mycobacterium bovis* a été isolé 224 fois sur 250, soit dans 89,6 p. 100 des cas. Dans 212 cas les prélèvements provenaient de bovins (zébus : 192 fois ; taurins : 20 fois) ; dans 7 cas de porcins ; dans 3 cas d'ovins et dans 2 cas d'équins.

— Des mycobactéries atypiques ont été isolées 13 fois sur 250, soit dans 5,2 p. 100 des cas.

Les souches isolées se répartissent ainsi selon la classification de RUNYON :

Groupe I : *M. kansasii* : 1 fois chez un bovin zébu ;

Groupe II : *M. aquae II* : 1 fois chez un bovin zébu ;

M. aquae III : 1 fois chez un bovin zébu également ;

Groupe III : *M. batteyi* : 2 fois dont l'une chez un bovin zébu et l'autre chez un porcine ;

Groupe IV : *M. borstelense* : 1 fois chez un bovin zébu.

7 Mycobactéries n'ont pu être identifiées de façon exacte par manque de concordance entre les différents tests pratiqués (5 fois chez des bovins zébus ; 1 fois chez un bovin taurin ; 1 fois chez un porcine).

4.3.3. Résultats des identifications par espèce animale.

— Bovins : 233 souches au total ont été isolées, dont 209 en provenance de zébus et 24 en provenance de taurins.

Parmi les 233 souches obtenues le bacille humain a été isolé 10 fois soit dans 4,3 p. 100 des cas, le bacille bovin 212 fois, soit dans 91 p. 100 des cas et les mycobactéries atypiques 11 fois, soit dans 4,7 p. 100 des cas.

— Porcins : 12 souches au total ont été isolées. 3 fois, il s'agissait de *M. tuberculosis* ; 7 fois de *M. bovis* et 2 fois de mycobactéries atypiques.

— Ovins : 3 souches ont été isolées et chaque fois, il s'agissait de *M. bovis*.

— Equins : 2 souches ont été isolées, et dans les 2 cas, il s'agissait de *M. bovis*.

4.3.4. Etude des lésions provoquées par *M. tuberculosis* et les mycobactéries dites atypiques.

Dans leur ensemble, ces lésions ne diffèrent pas de celles observées avec *M. bovis*.

En ce qui concerne *M. tuberculosis* les divers types de lésions rencontrées chez chaque espèce animale figurent dans le tableau 5. On peut constater que, contrairement à ce qui est observé en France où ce type de bacille n'engendre chez les bovins qu'une tuberculose fermée et spontanément stabilisée au stade du complexe primaire (JOUBERT et OUDART, 1966), des lésions de tuberculose généralisée ont été rencontrées, chez ces animaux, 4 fois sur 10.

TABLEAU N° V

Nature des lésions observées avec *Mycobacterium tuberculosis* dans les différentes espèces animales.

Espèce animale	Nature de la saisie	Lésions observées avec <i>M. tuberculosis</i>
Porc	Totale	Poumons, foie, rate, reins
"	"	Rate
"	Partielle	Ganglions bronchiques et rétropharyngiens
Zébu	Totale	Poumons, foie, rate, reins, plèvre et péritoine
"	"	- id. -
"	"	Foie, rate, reins, intestins
"	"	Poumons, foie, rate
"	Partielle	Tête, collier, ganglions rétropharyngiens et préscapulaires
"	"	Poumons
"	"	Ganglions bronchiques et rétropharyngiens
Taurin	"	Tête, poumons
"	"	Collier, ganglions préscapulaires
"	"	Ganglions bronchiques

Quant aux lésions imputables aux mycobactéries atypiques, elles sont indiquées dans le tableau 6. Là encore, ces lésions ne semblent pas différer de celles occasionnées par *M. bovis*.

4.3.5. Discussion des résultats.

Si le bacille bovin vient largement en tête parmi les souches isolées, on sera peut-être surpris de la fréquence non négligeable avec laquelle est rencontrée *M. tuberculosis*. Ce bacille a été isolé en effet 1 fois sur 4 chez les porcins. En fait, cette fréquence est très compréhensible,

si l'on considère le mode de vie de ces animaux vivant en cohabitation avec l'homme et se nourrissant en partie des résidus alimentaires laissés par celui-ci. Par contre, la fréquence relative (4,3 p. 100) avec laquelle ce bacille est rencontré chez les bovins peut paraître, à première vue, surprenante, du fait du mode d'élevage extensif de ces animaux. Il faut cependant se souvenir que les peuhls (1), qui conduisent les troupeaux,

(1) Les peuhls sont une race africaine à vocation essentiellement pastorale. Ils pratiquent la religion musulmane et, très souvent, le nomadisme ou la transhumance.

sont en fait en contact étroit avec leurs animaux, marchant chaque jour, pendant des heures, au milieu de ceux-ci.

On conçoit alors très bien dans ces conditions qu'un berger contaminé puisse être à l'origine de ces infestations.

Il peut être intéressant de comparer ces résultats avec ceux obtenus à partir des prélèvements humains au cours de la période 1966 à 1968.

Pour 406 cultures positives (souches nouvelles

isolées), 342 souches ont pu être identifiées avec les résultats suivants :

— *M. tuberculosis* : 328 fois, soit 95,9 p. 100

— *M. bovis* : 10 fois, soit 8,9 p. 100

— *M. atypiques* : 4 fois, soit 1,9 p. 100 (*M. phci* : 1 fois ;

M. aquae III : 1 fois ; scotochromogène : 1 fois ;

M. avium : 1 fois).

TABLEAU N° VI

Nature des lésions observées avec les mycobactéries atypiques dans les différentes espèces animales.

Espèce animale	Nature de la saisie	Type de mycobactéries	Lésions observées avec les mycobactéries dites atypiques
Porc	Totale	atypique non identifiée	Rate, foie, ganglions bronchiques et rétropharyngiens
"	non précisée	batteyi	Non précisées
Zébu	Totale	"	Foie, ganglions bronchiques
"	"	atypique non identifiée	Rate, reins, ganglions bronchiques et préscapulaires
"	"	"	Foie, rate, ganglions préscapulaires
"	Partielle	Aquae II	Rate, poumons, ganglions bronchiques
"	"	Aquae III	Poumons et ganglions bronchiques
"	"	kansasii	- id. -
"	"	borstelense	- id. -
"	"	atypique non identifiée	Ganglions rétropharyngiens, précuraux et préscapulaires
"	"	"	Rate, poumons, tête et ganglions rétropharyngiens
"	"	"	Collier
Taurin	"	"	Poumons et ganglions bronchiques

— La fréquence relativement réduite avec laquelle le bacille bovin est rencontré chez l'homme semble en contradiction avec certains résultats de nos enquêtes allergologiques récentes (ALBERT et GIDEL, 1969). Celles-ci ont montré en effet la coexistence fréquente, dans certaines régions (régions sahéennes en particulier), des tuberculoses humaine et bovine dans un même village. Mais il faut souligner que la quasi-totalité des souches qui ont été isolées chez

l'homme proviennent de sujets qui ne sont pas originaires de ces régions et n'ont eu, de ce fait, que des contacts très indirects avec les bovins.

Enfin, retenons la relative fréquence de la tuberculose chez les chevaux, 9 cas sur 3.299 animaux inspectés, soit 1 pour 366 alors qu'en France, avant que ne soit mis en œuvre le plan d'éradication de la tuberculose bovine, elle ne dépassait pas la fréquence de 1 p. 100.000 (JOUBERT et OUDAR, 1966).

5. — CONCLUSION

Ces recherches confirment, sinon l'absence totale du farcin, du moins la rareté de cette affection dans les régions dont les animaux étaient originaires et soulignent en même temps l'importance de la tuberculose bovine dans ces mêmes régions.

Si *M. bovis* est bien l'agent le plus fréquemment rencontré chez les animaux, *M. tuberculosis* n'est cependant pas exceptionnel. Ce fait, joint à la présence d'un pourcentage non négligeable de *M. bovis* parmi les souches isolées chez l'homme, et surtout, aux résultats de nos enquêtes allergologiques, nous a incités à entreprendre une étude bactériologique de la tuberculose humaine et bovine dans les régions sahéliennes prospectées au cours des enquêtes tuberculeuses. Cette étude permettra de préciser la part qui revient à *M. tuberculosis* et à *M. bovis*, à la fois chez l'homme et chez l'animal et d'éclair-

rer ainsi l'épidémiologie de l'affection dans ces régions.

Organisation de Coopération et de Coordination
pour la lutte contre les Grandes Endémies
(O. C. C. G. E.) — Centre Muraz
Bobo Dioulasso — Haute-Volta
(Directeur : Dr J. H. RICOSSÉ)

Remerciements

Nous exprimons nos vifs remerciements à :
— Messieurs les docteurs CHAMBON et BRES, Directeurs de l'Institut Pasteur de Dakar et Messieurs les docteurs CAUSSE et SARRAT, Chefs de Service à cet Institut, qui ont bien voulu confirmer ou préciser certaines de nos identifications.
— Monsieur N'TON KEITA, Directeur de l'abattoir de Bobo Dioulasso et ses collaborateurs, qui ont accepté de se charger de la récolte des prélèvements.

SUMMARY

The mycobacteria from animal origin isolated by the Muraz Centre from 1965 to 1968. Isolation and identification methods. Results

The importance of confiscates for tuberculosis to the Bobo-Dioulasso slaughter houses is indicated by the authors. The frequency of these confiscates reached to 9.61 p. 100 for the cattle (82,961 inspected animals) and to 2.15 p. 100 for the pigs (16,992 inspected animals) during the 1965 to 1968 included years. The authors indicate the methods employed for the samples, the isolation and the identification of mycobacteria. Finally, the results obtained concerning the direct examinations, the cultures and the identification of isolated mycobacteria are explained.

Among the 639 samplings received by the laboratory, 298 cultures were positive and 250 strains were identified.

Mycobacterium bovis has been the most frequently found : 89.6 p. 100 of cases.

Mycobacterium tuberculosis has been yet isolated in 5.2 p. 100 of cases and atypic mycobacteria in 5.2 p. 100 of cases. These results indicate the scarcity of farcy and the importance of bovine tuberculosis in the areas of which the animals were native.

The authors conclude by informing of their intention to undertake a bacteriological study in the breeding areas of sahel where the late tuberculin investigations have indicated lies between human and bovine tuberculosis. There investigations can allowe to specify the types of mycobacteria and to know better the disease epidemiology in these areas.

RESUMEN

Las micobacterias de origen animal aisladas en el Centro Muraz de 1965 a 1968. Técnicas de aislamiento y de identificación. Resultados

Por de pronto, los autores notan la importancia de los descomisos para tuberculosis en los mataderos de Bobo-Dioulasso. La frecuencia de estos descomisos

llegó a 9,61 p. 100 para los bovinos (82.961 animales inspectados) y 2,15 p. 100 para los cerdos (16.992 animales inspectados) durante los años 1965 a 1968 incluso. Después, indican las técnicas que utilizaron para las muestras, el aislamiento y la identificación de las micobacterias. Por fin, exponen los resultados obtenidos concerniendo a los exámenes directos, los cultivos y la identificación de las micobacterias aisladas.

Entre las 639 muestras recibidas en el Laboratorio, 298 cultivos fueron positivos y se pudo identificar 250 cepas. El agente más frecuentemente encontrado es *Mycobacterium bovis* : en 89,6 p. 100 de los casos.

Sin embargo se aislaron *Mycobacterium tuberculosis* en 5,2 p. 100 de los casos y micobacterias atípicas también en 5,2 p. 100 de los casos. No se aisló ninguna cepa de *Nocardia farcinica*. Estos resultados muestran la rareza de la nocardiosis y la importancia de la tuberculosis de los bovinos en las regiones de las cuales los animales eran originarios.

Emprender un estudio bacteriológico en las regiones sahelianas de crianza donde encuestas tuberculínicas recientes mostraron que relaciones existirían entre las tuberculosis humana y bovina, tal es el propósito, notado en la conclusión, que los autores persiguen. Estas investigaciones permitirán precisar los tipos de micobacterias en causa y mejor conocer la epidemiología de la enfermedad en estas regiones.

BIBLIOGRAPHIE

- ALBERT (J. P.), GIDEL (R.) et RETIF (M.). — Contribution à l'étude de l'épidémiologie de la tuberculose humaine en Afrique Occidentale. Résultats de 5 enquêtes effectuées au moyen de tests tuberculínicos et par sondage aléatoire dans différentes zones climatiques de Côte d'Ivoire et de Haute-Volta. A paraître in « *Revue de Tuberculose et Pneumologie* », 1969.
- AMSLER (R.). — Interdépendance pathologique de l'homme et de l'animal en face des tuberculoses. *Concours médical*, 1969, **18**, 3831-3843.
- BOISVERT (H.). — L'identification des mycobactéries par l'épreuve de réduction des nitrates. *Ann. Inst. Pasteur*, 1961, **100**, 352-357.
- BOISVERT (H.). — Identification de *Mycobacterium bovis*, BCG, et *Mycobacterium microti*. *Ann. Inst. Pasteur*, 1966, **III**, 2, 180-192.
- BOGEN (E.). — *Amer. Rev. Tub.*, 1957, **76**, 1110.
- BONICKE (R.). — *Zetsch. F. Hyg.*, 1958, **145**, 263.
- BUTTIAUX (R.), BEERENS (H.) et TACQUET (A.). — Manuel de techniques bactériologiques. Paris, Edit. Méd. Flammarion, 1963, 505 p.
- CANETTI (G.), RIST (N.) et GROSSET (J.). — Techniques du test de sensibilité de *Mycobacterium tuberculosis* aux médicaments antibacillaires par la méthode des proportions. *Rev. Tub. Pneumol.*, 1963, **27**, 2-3, 263-272.
- CANETTI (G.) et GROSSET (J.). — Techniques et indications des examens bactériologiques en Tuberculose. *Saint-Mandé (94)*, Edit. de la Tourelle, 1968, 193 p.
- CASTETS (M.), BOISVERT (H.), GRUMBACH (F.), BRUNEL (M.) et RIST (N.). — Les bacilles tuberculeux de type africain. Note préliminaire. *Rev. Tub. Pneumol.*, 1968, **32**, 2, 179-184.
- CASTETS (M.), RIST (N.) et BOISVERT (H.). — La variété africaine du bacille tuberculeux humain. *Sixièmes Journées médicales de Dakar*, 1969, C. R. in *Méd. Afr. Noire*, 16/4, 321-322.
- GIDEL (R.), ALBERT (J. P.) et RETIF (M.). — Enquête sur la tuberculose bovine au moyen de tests tuberculínicos dans diverses régions d'Afrique Occidentale (Haute-Volta et Côte d'Ivoire). Résultats et considérations générales. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop.*, 1966, **22**, 2.
- JOUBERT (L.) et OUDAR (J.). — Intertransmissibilité et prophylaxie des tuberculoses humaines et animales. Le problème actuel des mycobactéries atypiques. *Gaz. Méd. France*, 1966, 3603-3616.

- KONNO (K.). — *Science*, 1956, 124, 985.
- LANGERON (M.), KUBIN (M.), MATEJKA (M.). — **Simple Technique for Classification of Mycobacteria**. *Symposium on isolation and classification of Mycobacteria*. Tuberculosis Research Institute, 1964, Prague, Tchécoslovaquie. 2-6 juin 1964.
- LAPEYSONNIE (L.) et CAUSSE (C.). — **Notes sur une méthode de coloration rapide du bacille alcool-acido-résistant utilisable pour le dépistage de la tuberculose au cours des examens systématiques des collectivités**. *Rev. Tub. Pneum.*, 1960, 24, 9-10, 1044-1047.
- OLIVIER (H. R.). — **Traité de biologie appliquée. Tome II. Les diagnostics bactériologiques. Chapitre IV. Mycobacterium tuberculosis et autres mycobactéries**, 1963, par P. J. COLLETSOS, 256-297.
- PERPEZAT (A.), MARIAT (F.), DESTOMBES (P.) et THOME (M.). — **Importance du farcin chez le zébu du Tchad**. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1963, 56, 3, 375-383.
- REGNOULT (M. G.). — **La tuberculose animale dans les territoires Ouest-Africains d'expression française**. *Rev. Path. Gén. Phys. Clin.*, 1963, 573, 1093-1115.
- SARRAT (H.), TACQUET (A.) et BOIRON (H.). — **Techniques d'étude, valeur des méthodes et résultats des identifications de mycobactéries isolées à Dakar**. *Sixièmes journées Médicales de Dakar*, 1969, C. R. in *Méd. Afr. Noire*.
- SARRAT (H.), TACQUET (A.) et CASTETS (M.). — **Les mycobactéries atypiques. Etude des souches isolées à Dakar**. *Sixièmes journées Médicales de Dakar*, 1969, C. R. in *Méd. Afr. Noire*, 16/4, 329-333.
- STONEBRINK (B.). — *Bull. Off. Int. Epiz.*, 1952, 37, 662.
- TACQUET (A.), TISON (F.) et DEVULDER (B.). — **Action des mycobactéries sur les dérivés nitrés**. *Ann. Inst. Pasteur.*, 1966, 110, 2, 252-260.
- TISON (F.) et DEVULDER (B.). — **Techniques actuelles d'isolement et d'identification des mycobactéries**. *Path. Biol.*, 1965, 13, 7-, 458-462.
- VIRTANEN (S.). — **A study of nitrate reduction by mycobacteria**. *Acta Tub. Scandinavia*, 1960, supplément 48.