

REPUBLIQUE DU SENEGAL

Un peuple - Un but - Une foi

MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE L'EQUIPEMENT RURAL



Institut Sénégalais de Recherches Agricoles (ISRA)

FICHE TECHNIQUE n°5 : « Caractérisation biochimique et moléculaire de souches de *Mycobacterium bovis* isolées sur bovins suspects des Abattoirs de Dakar »

MBENGUE Mb¹., DIAGNE S T , LO FT¹., DIALLO A A¹, FALL M²., SAMB Y¹., DIOUF M¹., THIONGANE Y¹., AKAKPO J A³

Contact : Dr Mbaye MBENGUE, Chercheur Microbiologiste, ISRA – LNERV – Hann – Dakar BP 2057
Tel : 221 33 832 36 79 Cel : 221 77 618 29 27 Fax : 221 33 832 36 78 - E - mail ;
mbenguem@yahoo.fr

ISSN: 0850 - 9980

ISRA
VISA

Commission de validité des documents
scientifiques et techniques

VOL9, N°7

ISSN n°.....
Date25 JAN 2017

Le Président

Directeur Scientifique
de l'ISRA
Dr El Hadji TRAORÉ

INTRODUCTION :

Dans les pays en développement, l'élevage représente l'un des principaux piliers de l'économie nationale de par son importance économique voire alimentaire. La forte croissance démographique des pays pauvres, les changements socio – économiques, la faible performance de l'élevage traditionnel par rapport à l'intensif et l'amplification des échanges commerciaux sont à même de favoriser à terme, le risque d'une catastrophe sanitaire (zoonoses etc ...)

La tuberculose bovine, due à *Mycobacterium bovis* et ayant comme principal victime les bovins, affecte d'autres animaux aussi bien domestiques que sauvages et les humains. Cette maladie est présente dans 33 (80%) des 43 pays membres de l'OIE [2].

Au Sénégal, l'existence de la tuberculose bovine est connue depuis très longtemps. En 1952, Mornet a réalisé un travail présentant un tableau avec des relevés d'abattoirs sur la tuberculose bovine remontant à 1931 [10]. Des cas de tuberculose à *Mycobacterium bovis* au nombre d'une trentaine (originaires du Mali) dans 80 % des cas, 20% du Sénégal, ont été diagnostiqués de 2000 à 2012. Des recherches ont été menées en 1976 à partir de 12 carcasses saisies aux abattoirs de Dakar pour suspicion de tuberculose [10].

L'objectif spécifique de cette étude est une caractérisation de souches de *Mycobacterium bovis* isolées de prélèvements suspects de tuberculose par la méthode classique et par la méthode biomoléculaire.

METHODOLOGIE : Les abattoirs de Dakar constituent un service d'inspection et de salubrité des animaux et de leur viande. Ils sont de type industriel car destinés à l'alimentation des grands marchés de consommation et des marchés d'exportation. Le matériel est composé de couteau, de gants, de sachets en plastique et de pots pour le recueil des prélèvements, d'une glacière pour le transport des prélèvements, d'une fiche de commémoratifs pour noter l'espèce saisie, l'âge, le sexe, le poids éventuellement le numéro d'ordre et d'identification de l'animal

Pour les études classiques d'isolement et d'identification du germe, le matériel est constitué de l'usuel en laboratoire : mortiers, pilons, autoclave, centrifugeuse etc...

Pour l'étude moléculaire, le thermocycleur Swift Max Pro (Esco HEALTHCARE), vortex, bain marie, Micropipettes etc..., le gel d'électrophorèse.

Au niveau des abattoirs, les prélèvements sont effectués sur les carcasses au moment de l'inspection de salubrité. Les viscères les plus incriminés sont les poumons suivis du foie. La présence de nodules est vivement recherchée au niveau des poumons par palpation sur toute sa surface et sur la face dorsale de chaque lobe diaphragmatique du poumon, partie du muscle, des ganglions atteints et des poumons. Tous les prélèvements sont acheminés au laboratoire à des fins d'analyse.

Isolement : Le poumon constitue l'organe de choix pour la recherche du bacille tuberculeux avec une première partie qui consiste à décontaminer les prélèvements en vue de l'élimination du maximum de bactéries pouvant contaminer. Une partie du culot obtenu après centrifugation estensemencée dans le milieu de Lowenstein – Jensen en double à savoir un tube glyciné et un autre non glyciné. Ces tubes sont incubés à 37°C pendant quelques jours afin de permettre la croissance des mycobactéries. L'autre partie du culot est utilisée pour réaliser la bactérioscopie après

coloration de Ziehl Neelsen dans le but de détecter éventuellement la présence de bacilles Acido Alcoolo Résistants (BAAR) A rappeler que l'absence de BAAR sur un frottis ne signifie pas que le prélèvement ne contient pas de mycobactéries et par conséquent, la confirmation ou l'infirmerie de la suspicion ne se fera qu'après la mise en culture et la lecture des résultats quatre semaines après l'ensemencement [4]

Cependant étant donné que la croissance des mycobactéries est très lente, ces quatre semaines constituent la première étape du temps de croissance des mycobactéries.

Etude des caractères biochimiques : Il s'agit d'un traitement biochimique par l'utilisation de tests spécifiques dans le but de différencier *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium tuberculosis*, et les mycobactéries atypiques.

Ainsi trois tests principaux : Recherche catalase, de nitrate réductase et production de Niacine.

Analyse biomoléculaire : La PCR ou réaction de polymérisation en chaîne a été utilisée selon le protocole Biorad. L'amplification est obtenue à l'issue de plusieurs cycles successifs : Dénaturation à 94°C – Hybridation des amorces entre 50 et 65°C – Elongation de l'ADN à 72°C.

L'astuce de cette technique consiste à utiliser une paire d'amorces spécifiques et différentes flanquant la séquence à amplifier [12]. Les amorces sont généralement des oligonucléotides qu'il est possible d'obtenir par synthèse chimique. Le rendement théorique de cette réaction est très intéressant puisqu'il permet une amplification théorique de 2^n et n étant le nombre de cycles. La technique PCR qui a été utilisée est la MIRU – VNTR et ETR – VNTR.

Nombre Variable de Répétitions de Tandem (VNTR)

. Dans notre cas les amorces utilisées sont bien MIRU : 20 ; 26 ; 27 et ETR A, ETR B et ETR C.

Les nombres de répétitions VNTR, peuvent bien varier considérablement entre les différentes souches. Le typage VNTR permet donc la distinction de différentes souches.. Par conséquent la présence d'un signal, après amplification d'une région MIRU ou ETR – VNTR, indique que la souche correspondante est bien du CMTB.

Typage VNTR :

Deux étapes constituent ce typage dont l'amplification d'une région VNTR à l'aide de deux amorces hybridant avec des séquences complémentaires aux bords de la région VNTR et le gel d'électrophorèse du produit PCR afin d'estimer la taille du fragment L'interprétation de ce typage se fait par utilisation d'un marqueur de poids moléculaire de 100 paires de base des laboratoires SIGMA – Aldrich renfermant des fragments d'ADN dont la taille varie de 100 à 1000 pb, La taille qui correspond le plus à la taille estimée est égale à 345 pb). Et par une indication dans la première colonne à gauche (dans l'exemple précédent, cela serait le 2 : la souche contiendrait donc 2 répétitions de l'élément VNTR au locus ETR – A).

RESULTATS

Prévalence des lésions tuberculeuses :

Sur un effectif de 200 101 échantillons il y'a eu 37 cas positifs à *Mycobacterium sp* soit une prévalence égale à 0,0185%.

Effet de paramètres sur la prévalence : Age, Race, le sexe des animaux saisis

- **Age** : L'âge moyen des animaux ayant des lésions suspectes est de 6,8 années ce qui est matérialisé dans la figure 1 ; Fréquence des âges P67
- **Race** : La principale race concernée est le Gobra (30) suivie de la Ndama (2), de la race Peulh (2), Maure (1) et Djakore (1)
- **Sexe** : Les animaux sont en majorité de sexe Mâle (36/37 bovins)
- **Origine** : La principale provenance de ces bovins saisis semble être le Mali (3 à 4 bovins) et la Sénégal dans la zone Sylvo pastorale.

- Bactérioscopie sur organe et mise en culture :

Le poumon a été l'organe le plus utilisé pour la recherche de Mycobactéries et l'ensemencement de chaque prélèvement a été fait en double :

L'étude menée à partir du tableau a montré que 2 prélèvements sur les 37 ont donné une bactérioscopie positive. Nous rappelons que l'absence des Bacilles acido alcool résistants dans les frottis ne signifie pas absence de mycobactéries dans les prélèvements car le résultat des cultures peut être tout autre. Le résultat des cultures résumé dans le tableau II montre que 9 échantillons sur les 37 ont donné des colonies de bacilles acido alcool résistants soit un pourcentage de 24,32%.

- Relations entre bactérioscopie et cultures :

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

Les résultats sont rapportés dans la figure n°1:

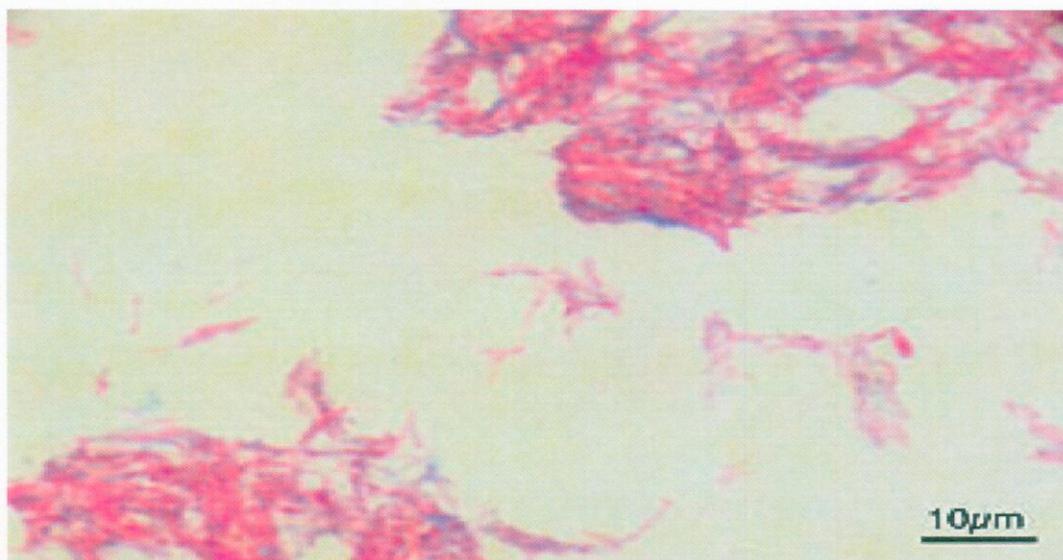


Figure n°1 : *Mycobacterium bovis* observé à l'immersion après coloration de Ziehl Neelsen

- Caractérisation biochimique :

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

- Caractérisation moléculaire (méthode PCR)

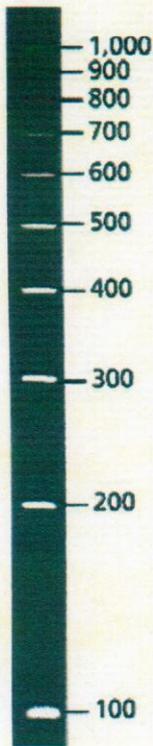
La méthode PCR a fait appel à six paires d'amorces à savoir MIRU 20, MIRU 26, MIRU 27, ETR A, ETR B et ETR C.

Les résultats obtenus avec chaque paire d'amorces sont matérialisés par des images après gel d'électrophorèse sur les figures 1,2 et 3 avec les échantillons qui sont disposés comme suit : marqueur moléculaire, témoin positif, témoin négatif, 3, 6, 6G, 9, 9G, 10, 14G, 29G, 33, 35, 37, puis à nouveau le marqueur de poids moléculaire :

- de la gauche vers la droite pour MIRU 26
- de la droite vers la gauche pour ETR A et ETR C
- Pour MIRU 20 : aucun signal n'a été détecté avec cette paire d'amorces ;
- Pour MIRU 26 : Un signal a été détecté avec l'échantillon 3 : la taille est estimée à environ 250 paires de bases et suivant le tableau d'interprétation de la gamme étalon

Tableau V : Interprétation de la gamme étalon :

• Interprétation



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

La procédure d'interprétation se résume en trois étapes :

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

Suivant ce tableau cette taille est proche de 246 donc il n'y a pas de répétitions de l'élément VNTR au locus 26 (figure

1)

Figure 1 : Résultats de détection des produits PCR avec les amorces de MIRU 26

d'interprétation à la page 61, cette taille est proche de 246 donc il n'y a pas de répétition de l'élément VNTR au locus 26 (figure 7).

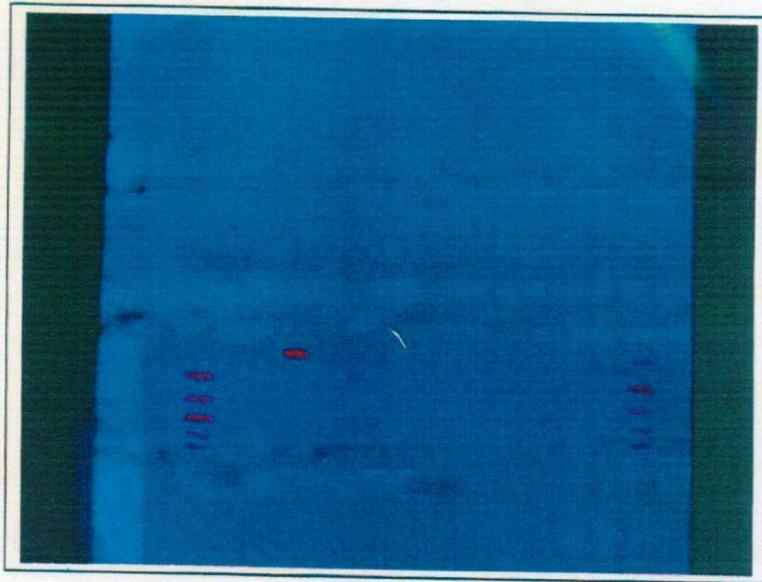


Figure 7: Résultats de la détection des produits PCR avec les amorces de MIRU 26

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

- Pour ETRA A : un signal est détecté
- Pour l'échantillon 6 : nous pouvons noter que la taille estimée est d'environ de 550 pb, proche de 570 avec 5 répétitions de l'élément VNTR au locus ETRA
- L'échantillon 35 : a une taille estimée d'environ de 700pb proche de 720 avec 7 répétitions de l'élément VNTR au locus ETRA (figure 2)

Figure 2 : Résultats de la détection des produits PCR avec les amorces de ETRA :

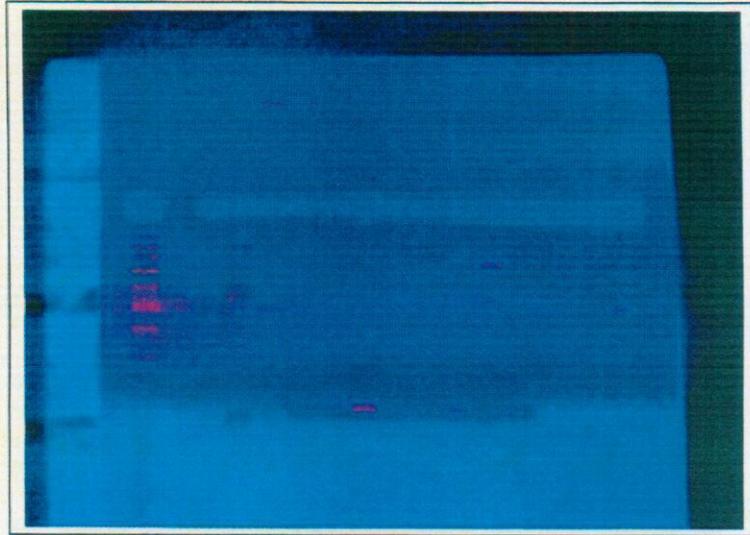


Figure 8: Résultats de la détection des produits PCR avec les amorces de ETR A

- Pour ETR B : aucun signal n'est détecté
- Pour ETR C : un signal est détecté avec l'échantillon 35 avec une taille estimée à 350 pb proche de 334 donc 5 répétitions de l'élément VNTR au locus ETR C (figure 9).

- ETR B : aucun signal n'est détecté

- ETR C : un signal est détecté avec l'échantillon 35 avec une taille estimée égale à 350 pb proche de 334 donc 5 répétitions de l'élément VNTR au locus ETR C (Figure 3)

Figure 3 : Résultats de la détection des produits PCR avec les amorces de ETR C

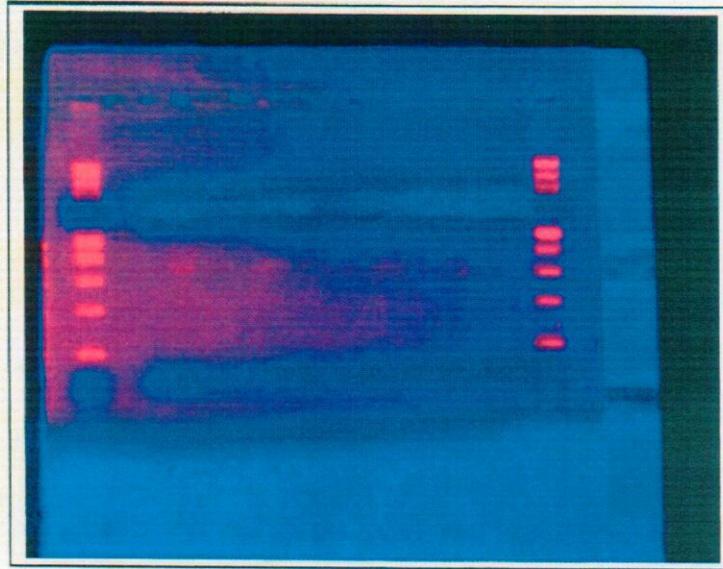


Figure 9: Résultats de la détection des produits PCR avec les amorces de ETR C

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

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

DISCUSSION :

- : 37 échantillons sur un total de 200 101 carcasses de bovins contrôlés. En effet durant les périodes de Tabaski, le nombre de bovins abattus, baisse au profit des abattages des ovins ; cela a été le cas en Janvier 2006 (2933 bovins) et Décembre 2007 (4209 bovins) par rapport aux mois qui les précédaient : Ces résultats de collecte corroborent les observations faites par Gueye et Seydi (1982) et Konte et Unger (2003) [5] qui ont montré la rareté de la tuberculose bovine au Sénégal et par conséquent la faiblesse de sa prévalence (0,0185%). Cette prévalence est très faible, comparée à celle des autres pays de l'Afrique de l'Ouest comme le Mali (1,8%) d'où sont importés la plupart des bovins [3]. Cependant cette origine malienne des bovins suspects à Dakar est à reconsidérer comme le suggérait Doure en 1976 dans ses recherches sur la tuberculose bovine aux abattoirs de Dakar [3]. Le problème de la traçabilité du bétail demeure entier dans la sous région et constitue donc un véritable obstacle à surmonter pour la lutte contre la tuberculose bovine. Le flux incessant et incontrôlé de bétail contribue beaucoup à la propagation de la tuberculose bovine car, les points de regroupements des animaux autour des points d'eau par exemple, augmentent les risques d'infection sans aucune distinction de race et de sexe. Dans notre étude, la race Gobra est la plus atteinte par la maladie ; cela n'est qu'un pur hasard. Il en est de même pour le sexe des animaux suspects car, dans le cadre d'un élevage de rente, ce sont surtout les males qui sont envoyés pour l'abattage et la commercialisation et les femelles sont destinées à la reproduction. Ceci permet de comprendre que tous les bovins soient des males à l'exception d'une femelle qui ne provient pas des abattoirs de Dakar, mais de la ferme de Niacoulrab. Il existe une corrélation entre l'âge des animaux atteints et la tuberculose bovine, ainsi que pourrait laisser présager une maladie chronique. En effet, il existe une corrélation entre et le degré d'infection dans une population infectée, car les individus les plus âgés sont exposés le plus longtemps aux facteurs du risque. Et dans notre cas, la population la plus atteinte est relativement jeune (6 – 7 ans). Concernant les analyses de laboratoire, la coloration de Ziehl a été bien menée ce qui a abouti à l'observation au microscope de fins bacilles acido – alcool – résistants rectilignes ou légèrement incurvés regroupés en amas ou parfois isolés, de coloration rose sur fonds bleu. Le milieu de culture de Lowenstein Jansen que nous avons utilisé a donné de bons résultats bien que la croissance des mycobactéries soit très lente. Les résultats de la bactérioscopie directe sur culot d'organe, ont donné deux prélèvements positifs confirmés par les cultures (le 6 et le 29) et un seul confirmé par la biologie moléculaire (le 6). L'identification biochimique des échantillons qui repose principalement sur les recherches de catalase, de nitrate réductase et de Niacine, ont donné des résultats satisfaisants pour le test à la Niacine (absence de *Mycobacterium tuberculosis*). L'insuffisance des méthodes traditionnelles d'identification des Mycobactéries fait que de plus en plus, les techniques de diagnostics moléculaires sont plus utilisées dans la plupart des laboratoires vétérinaires d'Afrique. Ces techniques d'identification moléculaire, permettent de découvrir et de différencier les souches de *Mycobacterium bovis* dans le but de faire évoluer les enquêtes épidémiologiques systématiques et de régler tant soit peu, le problème de traçabilité des animaux. Par conséquent la PCR est la méthode la plus fiable en matière d'identification de *Mycobacterium bovis* et faisable sur des tubes après deux semaines de culture même en l'absence de toutes colonies visibles ou directement sur l'organe prélevé. Cependant, ces techniques de biologie moléculaire, présentent l'inconvénient d'être très sensibles car un seul écart de température, une mauvaise extraction d'ADN ou la longue durée des réactifs, surtout la TAQ polymérase, peut fausser les résultats attendus. Par conséquent, les discordances existant entre les méthodes

biochimiques et biomoléculaires sont à rechercher suivant les différents inconvénients de chaque méthode.. Ils ont obtenu 7 et 5 répétitions pour ETRA et 5 répétitions pour ETRC donc, il se pourrait que les souches isolées à Dakar, correspondent à celles isolées au Mali mais, cela reste quand même à prouver en poussant beaucoup plus les investigations dans le but d'améliorer les résultats. Les techniques moléculaires sont actuellement rarement utilisées dans les pays en voie de développement où elles sont disponibles, la priorité étant souvent donnée à la médecine humaine. Ils citent par exemple le cas de la Guinée Bissau où des chercheurs ont pu différencier avec succès des souches de *Mycobacterium bovis* et de *Mycobacterium tuberculosis* des autres mycobactéries en combinant des tests biochimiques avec le RFLP (Polymorphisme de la longueur des fragments de restriction) et le spoligotype. Ou encore en Ethiopie, une étude a montré l'importance des techniques moléculaires dans la différenciation des souches de *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium tuberculosis*, et *Mycobacterium africanum* chez les patients tuberculeux (Ayele et al., 2004). Et pour une meilleure gestion de la tuberculose bovine, certaines recommandations peuvent être faites à l'endroit de tous les acteurs qui sont en relation avec cette maladie insidieuse.

- **CONCLUSIONS** : La tuberculose bovine est une maladie contagieuse, débiliteuse de l'homme et de l'animal. Elle est causée par *Mycobacterium bovis* (*M.bovis*) appartenant au complexe Tuberculosis qui comprend aussi *Mycobacterium tuberculosis* et *Mycobacterium avium*. Les ganglions lymphatiques sont le siège initial de l'infection, mais d'autres organes comme les poumons sont également atteints lorsque la maladie est à un stade avancé. Les signes cliniques de la maladie sont la faiblesse, la perte d'appétit, l'amaigrissement et la fièvre. La tuberculose bovine est une maladie chronique et il peut se passer plusieurs années avant que l'animal infecté en manifeste les signes cliniques. L'animal peut être infecté inapparent jusqu'à son départ pour l'abattoir. *Mycobacterium bovis* a pour hôtes habituels les bovins, mais elle peut se transmettre à l'homme de même qu'à d'autres animaux (porcs, chevaux etc...). Les personnes qui risquent le plus de contracter le bacille bovin, sont celles qui sont en contact direct et prolongé avec des animaux infectés, par exemple : les éleveurs, les travailleurs agricoles et les vétérinaires. La façon la plus commune de contracter la maladie, est l'inhalation d'aérosols rejetés dans la respiration et les produits de la toux d'un animal malade. D'autres modes de contamination sont l'ingestion de lait non pasteurisé d'une vache infectée et le partage des mêmes sources d'eau et d'aliments. Comme la maladie peut ne pas s'extérioriser chez les bovins, même dans les stades avancés, le diagnostic est souvent effectué après l'abattage, à l'occasion de l'examen post mortem de la carcasse. Les lésions siègent le plus souvent dans les poumons et les ganglions lymphatiques associés à la tête, à l'appareil respiratoire et au tractus gastro – intestinal. La tuberculose bovine est une maladie très présente dans les pays en voie de développement, mais elle est le plus souvent inconnue des éleveurs et des populations. C'est pour une meilleure connaissance de l'agent étiologique que ce travail qui s'est déroulé sur une période de trois années (2005 – 2008) a été initié au Sénégal au niveau des abattoirs de Dakar. Durant cette période, 37 prélèvements suspects de tuberculose bovine ont été recueillis sur un total de 200 101 bovins. De ces 37 prélèvements, 9 ont donné des bacilles acido- alcool – résistants que sur deux prélèvements. Les 9 bovins infectés ont une moyenne d'âge de 6,8 ans. Ce sont presque tous des mâles et sont originaires pour la plus part du Mali (5 bovins). Cependant, la connaissance de l'origine exacte des bovins, est une préoccupation pour les pays de la sous – région car, ils n'ont pas encore réussi jusqu'à nos jours à régler le problème de la traçabilité, malgré les nombreuses tentatives d'identification du bétail. Au laboratoire, après isolement en culture, des tests biochimiques (catalase, nitrate réductase et Niacine), ont été effectués sur les 9 prélèvements. Le résultat est que 2 prélèvements sont catalase négative, Nitrate réductase négative et Niacine négative, donc contiennent des souches de *Mycobacterium bovis* ; le reste étant des atypiques. A

la suite des tests biochimiques, une identification par la biologie moléculaire (PCR), grâce aux programmes MIRU – VNTR et ETR – VNTR a révélé la présence de *Mycobacterium bovis* dans 3 prélèvements. Cependant, la méthode moléculaire est beaucoup plus fiable par rapport à l'identification biochimique. De plus, la PCR, permet de déterminer la filiation des souches pathogènes et révèle des indices sur l'origine des épidémies, ce qui contribue à identifier les causes des foyers et de ré estimations des risques zoo sanitaires. Par conséquent, les Etats Africains en voie de développement doivent mobiliser des moyens financiers, logistiques et humains afin de développer ces techniques biomoléculaires pour une lutte efficace contre la tuberculose bovine. Les vétérinaires et professionnels de l'Elevage doivent s'impliquer un peu plus dans le dépistage de la tuberculose bovine et informer les éleveurs et les populations sur les risques qu'il y'a à consommer du lait non pasteurisé et de la viande mal cuite.

- **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :**

1- Ayele W. Y., Neill. S. D., Pavlik. I., Zinsstag. J et Weiss. M. G., 2004

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

International Journal of tuberculosis and lung disease 8 (8) : 924 – 937

2 Bourdon J., Marchal N., Pilet Ch. Et Toma B., 1975

Bactériologie Médicale et Vétérinaire : Systématique bactérienne : Les bacilles acido – alcool – résistants

Paris : Doin Editeurs., 48p

3 – Doutre M.P., 1976

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

Rév. Elev. Méd.Vét. Pays trop, 29 (4) : 309 – 311

4 – Gueye Kh. Et Seydi M., 1982

Evolution des saisies de viande dans les abattoirs de la région du Cap vert (Sénégal)

De 1971 à 1980 : Intérêt sanitaire et incidences économiques et sociales

Méd. Afr. Noire, 29 (12) : 803 – 815.

14 – Konte M. Et Unger F., 2003

Résultats d'une étude sur les zoonoses et risques associés pour la santé publique

Réalisée au Sénégal entre 2000 et 2003

Rapport d'étude ; Dakar : ITC – LNERV – 15p