

**République Algérienne Démocratique et Populaire**

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université « Dr. MOULAY Tahar » de Saida

Faculté des sciences

*Département de biologie*

*Laboratoire de biotoxicologie, pharmacognosie et valorisation biologiques des plants*



## *Mémoire*

Présenté pour l'obtention du diplôme du Master en biologie

**Option :** Microbiologie appliquée

**Mise en évidence des résidus des antibiotiques  
(Oxytétracycline et Néomycine) dans la chair des poulets**

Présenter par : **MR. MANSOURI ABDELJALLIL**

**M<sup>ELLE</sup>. REZAZGUI HANENE**

Soutenue publiquement, le 23 Juin 2016 devant le jury composé de :

<b>Mr. KAHOULAK</b>	Maitre de conférences « A »	Université de Saida	Président
<b>Mr. ADLIDEH</b>	Maitre de conférences « B »	Université de Saida	Examineur
<b>Mr. ZIANIK</b>	Maitre de conférences « B »	Université de Saida	Encadreur
<b>Mr. Benreguiég.M</b>	Maitre de conférences « B »	Université de Saida	Invite

**Année universitaire : 2015/2016**

## *Remerciement*

*Nos plus vifs remerciements vont à Monsieur **Ziani.K**, maitre de conférences à l'université de Saida. Sa gentillesse, sa disponibilité dans les moments difficiles, et ses conseils judicieux ont été pour nos l'unique repère, puisse-t-il trouver dans ce travail le témoignage de nos profonde gratitude.*

*Nous témoignent notre reconnaissance à **Mr Kahloula K**, pour l'honneur qu'il nous fait de présider le jury.*

*Nous remerciant vivement **MrAdli DEH**, pour avoir accepté de juger ce travail.*

*Docteur **Benouisse O** qui a mis à notre disposition les échantillons pour réalisés notre travail*

*Nous remercions profondément tous les enseignants de la spécialité de microbiologie appliquée et de la spécialité biochimie et physiologie cellulaire.*

*Nous ne pourrons terminer, sans remercier tous les membres de Laboratoire de biologie, tous ses qui ont participé d'une manière ou d'une autre dans l'élaboration de ce projet de fin d'étude.*

## Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à ceux qui m'ont soutenu, m'ont encouragé durant toute ma période d'étude, et pour leurs sacrifices consentis .A ceux qui ont toujours voulu que je sois le meilleur : À ma mère et mon père.*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mes frères et Mes sœurs spécialement ma sœur Sarah*

*À mes amis ; surtout kadirou cheikh, H'maimed Med ali ,*

*Amine ,cheikh boya ,Ahemd ,*

*À tous les étudiants de ma promotion,*

*Ainsi qu'aux autres que j'avais connus depuis mon enfance à ce jour*

***Abdeldjalil***



# Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à ceux qui m'ont soutenu, m'ont encouragé durant toute ma période d'étude, et pour leurs sacrifices consentis. A ceux qui ont toujours voulu que je sois la meilleure :*

*A mes chère parent*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*A mes oncles et mes tantes surtout ma tante Safia  
A mes amis ; Halima ,Aziza, Fatima ,Nadjet, Mloka  
et Hafsa*

*A tous les étudiants de ma promotion,  
Ainsi qu'aux autres que j'avais connu depuis mon  
enfance à ce jour*

*Rezazgui Hanene*

## Abstract

The consumption of flesh chicken meat to get the nutritional needs in animal proteins. However, these foods can carries a harmful substances for the health of consumer it's the case of antibiotics residues. The detection of these is carried out by several techniques on raw meat. The objective of this study is to detect the presence of antibiotics residues in raw and cooked meat, before and after the end of withdrawal period by a qualitative methods (four plats) and semi-quantitative (Premi® Test). The first method has shown positive results for all samples analyzed, while the Premi® Test analysis showed negative results for raw meat tested and positive results for cooked and samples analyzed after the withdrawal period. Thus, the presence of these toxic substances in our diet is an indisputable risk, requiring the establishment of an adequate monitoring system.

**Key words:** flesh chicken meat, antibiotics residues, screening, Premi®Test, withdrawal period, cooking.

## Résumé

La consommation des viandes du poulet de chair a pour but de satisfaire les besoins nutritionnels en protéines animales. Néanmoins, ces denrées alimentaires peuvent être apportées des substances nuisibles pour la santé de consommateur c'est le cas des résidus des antibiotiques. La mise en évidence de ces derniers est réalisée par plusieurs techniques sur les viandes crues. L'objectif de cette étude est de détecter la présence des résidus des antibiotiques dans des viandes crues et cuites, avant et après la fin de délai d'attente par des méthodes qualitatives (quatre boites) et semi-quantitatives (Premi®Test). La première méthode a montré des résultats positifs pour tous les échantillons analysés, tandis que l'analyse par le Premi®Test a révélé des résultats négatifs pour les viandes crues analysés et des résultats positifs pour les échantillons cuits et analysés après la fin de délai d'attente. De ce fait, la présence de ces substances toxiques de notre alimentation est un risque incontestable, ce qui impose l'établissement d'un système de surveillance adéquat.

Mots clés : Poulets de chair, résidus d'antibiotique, screening, Premi®Test, délai d'attente, cuisson.

## الملخص

استهلاك لحوم الدجاج يكون بهدف تلبية احتياجات الفرد الغذائية من البروتينات الحيوانية. ولكن يمكن لهذه الأطعمة أن تحمل مواد الضارة بصحة المستهلك كبقايا المضادات الحيوية، والكشف عن وجود هذه البقايا في اللحوم النيئة يتم عن طريق العديد من التقنيات. الهدف من هذه الدراسة الكشف عن وجود بقايا المضادات الحيوية في اللحوم النيئة والمطبوخة، قبل وبعد انتهاء مهلة انتظار. عن طريق أساليب نوعية (quatre-boites) و شبه كمية (Premi®Test) ، أظهرت الطريقة الأولى نتائج ايجابية لكل العينات التي تم تحليلها في حين أن تحليل (Premi®Test) أعطى نتائج سلبية لتحليل اللحوم النيئة و نتائج ايجابية للعينات المطبوخة و ذلك بعد انتهاء مدة الانتظار . ومن خلال هذا، فتواجد هذه المواد السامة في نظامنا الغذائي يعد خطر لا جدال فيه، مما يتطلب إنشاء نظام مناسب للرصد.

**كلمات المفتاحية :** لحوم الدجاج ، بقايا المضادات الحيوية ، (Premi®Test) ، مدة الانتظار ، الطبخ.

## Liste des abréviations

---

<b>AAE</b>	Acides Aminés Essentiels
<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>AFNOR</b>	Agence Française de Normalisation
<b>AFSSA</b>	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments
<b>AGP</b>	Antibiotic Growth promoters
<b>AK30</b>	Amikacin
<b>AMM</b>	Autorisation de Mise sur le Marché
<b>AMP10</b>	Ampicillin
<b>ANSES</b>	Agence Nationale de sécurité sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement
<b>ARF</b>	Antibiotiques Régulateurs de la flore
<b>ARN</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>ATB</b>	Antibiotique
<b>ATCC</b>	American Type Culture Collection
<b><i>B .subtilis</i></b>	<i>Bacillus subtilis</i>
<b>B8</b>	Bacitracine
<b>C</b>	Concentration critique supérieure
<b>c</b>	concentration critique inférieure
<b>C°</b>	degré Celsius

## Liste des abréviations

---

<b>CEE</b>	Communauté Économique Européenne
<b>CIP5</b>	Ciprofloxacine
<b>CL10</b>	Colistine
<b>CMI</b>	Concentration Minimale Inhibitrice
<b>CPG</b>	Chromatographie en phase gazeuse
<b>CRLs</b>	Community Reference Laboratories for Residues.
<b>CSP</b>	Code de la Santé Publique (Catégorie socioprofessionnelle)
<b>CVMP</b>	Committee for Veterinary Medicinal Products
<b>DA</b>	Dinar Algerian
<b>DA2</b>	Clindamycine
<b>DAOA</b>	Denrées Alimentaires d'Origine Animale
<b>DJA</b>	Dose Journalière Admissible (ou Autorisée)
<b>DSM</b>	Diagnostique et Statistique Manuel
<b>E15</b>	Erythromycine
<b>ELISA</b>	Enzyme-Linked-ImmunoSorbent-Assay
<b>EMA</b>	European Medicines Evaluation Agency
<b>ESB</b>	Encéphalopathie Spongiforme Bovine.
<b>Gram (-)</b>	Gram négative
<b>Gram (+)</b>	Gram positive

## Liste des abréviations

---

**HPLC** High Performance Liquid Chromatography

**JORADP** Journal Officiel De La République Algérienne Démocratique Et Populaire

**K30** Kanamycine

**Kg** kilogramme

**l** litre

**LMR** Limite Maximale de Résidus

**LMRMV** Limite Maximale de Résidus des Médicaments Vétérinaires

**M.A.D.R** Ministère de l'Agriculture et du développement rural

**M.luteus** *Micrococcus luteus*

**mg** milligramme

**min** minute

**ml** millilitre

**mm** millimètre

**NAT** Nouveau Test d'Antibiotique

**NEO** Néomycine

**O.N.A.B** Office National d'Aliment de Bétail

**O.R.AVI** Office Régional de l'Aviculture

**OMC** Organisation mondiale du commerce

**OTC** Oxytétracycline

## Liste des abréviations

---

<b>P10</b>	pénicillin
<b>pH</b>	potentiel hydrique
<b>pKa</b>	Constante de dissociation ionique
<b>ppb</b>	parties par Billion
<b>ppm</b>	parties par million
<b>RIA</b>	Radio ImmunoAssay
<b>RRA</b>	Radio- RecepteurAssay
<b>S10</b>	Sterptomycine
<b>SM</b>	Spectrométrie de Masse
<b>STAR</b>	Screening Test of Antibiotic Residues
<b>SxT25</b>	Triméthoprim
<b>t</b>	tonne
<b>TE30</b>	Tétracycline
<b>THF</b>	Tétrahydrofurane
<b>TMP</b>	Triméthoprim
<b>TOB10</b>	Tobramycine
<b>Tpm</b>	Tour par minute
<b>UEMOA</b>	Union économique et monétaire ouest-africaine
<b>UI</b>	Unité internationale

## Liste des abréviations

---

**μ** : micro

## Table de matière

	<b>Remerciements</b>	
	<b>Dédicaces</b>	
	<b>Abstract</b>	
	<b>Résumé</b>	
	<b>ملخص</b>	
	<b>Liste des abréviations</b>	
	<b>Table des matières</b>	
	<b>Liste des figures</b>	
	<b>Liste des tableaux</b>	
	<b>Introduction</b>	1
	<b>CHAPITRE 1 : Généralité sur l'élevage.....</b>	<b>3</b>
1.1	Modes d'élevage du poulet en Algérie.....	3
1.1.1	L'élevage au sol.....	3
1.1.1.1	L'élevage intensif.....	3
1.1.1.2	L'élevage extensif.....	3
1.1.2	L'élevage en batterie.....	4
1.2	Évolution de l'élevage de poulet de chair.....	4
1.2.1	Dans le monde.....	4
1.2.2	En Algérie.....	5
1.3	Nutrition des volailles.....	6
1.3.1	Besoin énergétique .....	7
1.3.2	Besoin en protéines et en acides aminés essentiels.....	7
1.3.3	Besoins phosphocalciques .....	7
1.3.4	Besoins en oligo-éléments et vitamines.....	8
1.4	Normes D'élevage Avicole.....	8
1.4.1	Litière.....	8
1.4.2	Densité .....	8
1.4.3	Ventilation et contrôle de l'ambiance.....	8
1.4.4	Température.....	9
1.5	Présentation des principales pathologies aviaires .....	9
	<b>CHAPITRE 2 : Généralité sur les antibiotiques.....</b>	<b>13</b>
2.1	Aperçu général sur les antibiotiques.....	13

2.2	Classification .....	13
2.3	Spectre d'activité / Sensibilité.....	14
2.4	Pharmacocinétiques Des antibiotiques.....	15
2.4.1	Absorption et biodisponibilité.....	16
2.4.2	Distribution.....	16
2.4.3	Biotransformations.....	17
2.4.4	Élimination.....	18
2.5	Association Des Antibiotiques.....	18
2.5.1	L'élargissement du spectre d'activité.....	18
2.5.2	L'obtention d'un effet synergique.....	19
2.5.3	Diminution de l'émergence de souches bactériennes résistantes .....	19
2.5.4	Complémentarité des modes de diffusion tissulaires .....	19
2.5.5	Diminution de la toxicité .....	20
2.6	Les Antibiotiques En Élevages .....	20
2.6.1	À titre thérapeutique curatif.....	20
2.6.2	Métaphylaxie.....	21
2.6.3	Antibio-prévention.....	21
2.6.4	Additifs dans l'alimentation animale.....	21
	<b>CHAPITRE 3 : les Résidus des antibiotiques et la santé publique.....</b>	<b>23</b>
3.1	Les Résidus Des Antibiotiques.....	23
3.2	Nature et propriétés des résidus.....	23
3.2.1	Les résidus extractibles.....	24
3.2.2	Les résidus non-extractibles.....	24
3.3	Facteurs de persistance des résidus .....	24
3.4	Risques associés aux résidus des ATB sur La Sante Publique.....	24
3.4.1	Les réactions allergiques.....	26
3.4.2	Le risque cancérigène .....	26
3.4.3	L'acquisition des résistances aux antibiotiques .....	26
3.5	Paramètres fixés pour la protection du consommateur .....	27
3.5.1	LMR Des Antibiotiques.....	27
3.5.1.1	Fixation de LMR.....	28
3.5.2	Délai D'attente .....	29
3.5.2.1	Fixation délais D'attente .....	29

3.6	Méthodes De Détections (Dépistages).....	30
3.6.1	Méthodes De détections Biologique (Microbiologique).....	31
3.6.1.1	Méthodes Alternative (Premi® Test).....	31
3.6.1.2	La Méthode De Reference ( Méthode Des 4 Boites).....	31
3.6.1.3	La méthode STAR.....	31
3.6.1.4	La méthode de NAT.....	32
3.6.2	Méthodes Biochimiques.....	32
3.6.2.1	Méthode Enzymatique (Penzym-Test).....	32
3.6.2.2	Méthodes Immunologiques.....	32
3.6.2.3	Méthodes De Confirmation Et De Quantification.....	33
	<b>CHAPITRE 4 : Matériel &amp; Méthodes.....</b>	<b>34</b>
4.1	Rappel sur les objectifs .....	34
4.2	Matériels Animal.....	34
4.2.1	Sélection des animaux.....	34
4.2.2	Conduite des animaux .....	35
4.3	Matériel biologique .....	35
4.3.1	Caractéristiques des souches bactériennes .....	36
4.3.1.1	Préparation de pré-culture .....	36
4.3.1.2	Coloration de gram.....	36
4.3.1.3	Antibiogramme.....	36
4.4	Méthodes d'analyses .....	37
4.4.1	Mode de traitement des échantillons.....	37
4.4.2	La méthode des quatre boîtes.....	38
4.4.3	Méthode de Premi®Test .....	43
	<b>CHAPITRE 5 : RESULTATS ET DISCUSSION.....</b>	<b>46</b>
5.1	Résultats des tests de confirmation.....	46
5.1.1	Coloration de Gram .....	36
5.1.2	Coloration des spores.....	36
5.1.3	Antibiogramme.....	48
5.2	Résultats des quatre boites (Screening des résidus d'ATB) .....	50
5.2.1	Après 24h de la fin du traitement.....	50
5.2.2	Après 24h de la fin du délai d'attente.....	52
5.3	Premi®Test .....	53
5.3.1	Après 24h de la fin du traitement.....	53
5.3.2	Après 24h de la fin du traitement.....	54

## Table de matières

---

<b>Conclusion.....</b>	<b>56</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>58</b>
<b>Annexe</b>	

## Liste des figures

<b>Figure 2.1</b> : Circulation des médicaments dans l'organisme (Sophie ; 2014)	<b>17</b>
<b>Figure 2.2</b> : Pharmacocinétique des médicaments (Houda ; 2016)	<b>18</b>
<b>Figure 3.1</b> : La fixation de temps d'attente graphiquement (CIV, 2008)	<b>29</b>
<b>Figure 3.2</b> : Chromatographe HPLC (Hadeb Leila,2009)	<b>33</b>
<b>Figure 4.1</b> : Site d'étude(1) et le groupe des animaux sélectionnés (2)	<b>34</b>
<b>Figure 4.2</b> : Schéma représente le déroulement de traitement et le mode d'échantillonnage	<b>35</b>
<b>Figure 4.3</b> : Prélèvement des échantillons	<b>38</b>
<b>Figure 4.4</b> : Le kit de Premi®Test	<b>43</b>
<b>Figure 5.1</b> : Coloration de Gram des souches bactériennes testées,	<b>46</b>
<b>Figure 5.2</b> : Résultats de la Coloration des spores de Bacillus subtilis (a,b,c)	<b>47</b>
<b>Figure 5.3</b> : L'antibiogramme des souches bactériennes testées (a,b)	<b>48</b>
<b>Figure 5.4</b> : Histogramme des résultats des 6 échantillons après 24h de traitement	<b>51</b>
<b>Figure 5.5</b> : Histogramme des résultats des 6 échantillons après 24h de délai d'attente.	<b>52</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.1</b> : Viande de poulet de chair selon (F.A.O, 2002)	5
<b>Tableau 1.2</b> : Évolution des normes de chauffage en production de poulets de chair, (Jean Luc Guérin <i>et al.</i> , 2011).	9
<b>Tableau 1.3</b> : Les maladies bactériennes (NANA, 2000).	10
<b>Tableau 1.4</b> : Les maladies virales (NANA ,2000)	11
<b>Tableau 1.4</b> : Les maladies parasitaires et mycosiques (NANA ,2000)	12
<b>Tableau 2.1</b> : Les principales familles d'antibiotiques (Adel.R, 2009 & CIV ,2014)	14
<b>Tableau 3.1</b> : Exemple de Limites maximales résiduelles (LMR) des antibiotiques exprimées en µg/kg ou ppb ; (Puyt et Guérin-Faubleé, 2006).	27
<b>Tableau 4.1</b> : Codes des souches bactériennes de références utilisées	35
<b>Tableau 4.2</b> : Les familles d'antibiotiques détectés par chaque type de boîte	41
<b>Tableau 5.1</b> : Les diamètres critiques des antibiotiques utilisés (CASFM, 2016)	49
<b>Tableau 5.2</b> : Présentation des résultats de l'antibiogramme de confirmation	50
<b>Tableau 5.3</b> : Résultats de screening microbiologique des échantillons analysés 24h après le traitement.	50
<b>Tableau 5.4</b> : Résultats de screening microbiologique des échantillons analysés 24h après la fin du délai d'attente.	52
<b>Tableau 5.5</b> : Résultats des échantillons testés par le Premi®Test 24 h de la fin du traitement.	53
<b>Tableau 5.6</b> : Résultats des échantillons testés par le Premi®Test 24 h de la fin du délai d'attente.	54

## Introduction Générale

Durant les trois dernières décennies la filière avicole algérienne a connu l'essor le plus spectaculaire parmi les productions animales. L'engouement des algériens pour les viandes blanches et particulièrement le poulet de chair est devenu important ; l'offre en viandes blanches est passée de 95000 à près de 300,000 tonne entre 1980 et 2010, soit une progression de +212% en 30 ans (**MADR, 2011**).

La productivité des élevages avicoles ont obligé l'utilisation d'une alimentation industrielle de qualité qui puisse répondre à la couverture suffisante des animaux et un effet bénéfique sur la santé animale. Cet état de fait a contraint l'utilisation des antibiotiques comme facteur de croissance. Ces derniers, comptent parmi les additifs les plus utilisés pour améliorer l'indice de consommation, la vitesse de croissance et augmenter par conséquent la rentabilité des élevages, en effet, les cycles de production sont très courts de 45 à 60 jours (**Kaci, 2014**). Cependant, cette conduite a favorisé l'apparition des résidus d'antibiotiques dans la chaîne alimentaire, ce qui engendre un nombre important de souches bactériennes résistantes (**Ungemach et al., 2006**). Alors que, la viande du poulet de chair doit être avant tout un produit sain, c'est à dire exempt de germes pathogènes, mais aussi de résidus des médicaments et plus spécialement de résidus d'antibiotiques qui sont dangereux pour la santé humaine (**Zeghilet, 2009**).

La présence de résidus d'antibiotiques dans les aliments d'origine animale liée au non-respect des conditions d'utilisation (posologie et temps d'attente) ou à des erreurs dans la conduite de l'élevage peut avoir de graves conséquences sur la santé des consommateurs (**Fagabamila et al., 2010 ; Hsieh et al., 2011**).

Il admis que, les viandes ont consommé après cuisson, mais la relation entre les résidus et la température pas encore établie (**Lei et al., 2016**). En effet, l'ensemble des études qui ont été faite sur la recherche des résidus d'antibiotiques se réalisée sur des viande crues.

À cet égard, notre travail a comporté une première partie, correspondant à une synthèse bibliographique dans laquelle nous avons abordé des généralités sur l'élevage avicole destiné pour la production des viandes, ensuite un aperçu général sur les antibiotiques et leur usage, enfin les conséquences engendrées sur la santé publique suite aux non respects des conditions requis pour que leur utilisation raisonnée.

Dans la deuxième partie : la démarche a débuté par la sélection des animaux sains (poulet de chair) ensuite leur traitement par un médicament formé de deux antibiotiques. La première analyse a été effectuée 24h après la fin du traitement, tandis que la deuxième est faite 24h après la fin de délai d'attente dont l'objectif est de vérifier par l'utilisation de deux méthodes la présence ou l'absence de ce médicament dans la chair des poulets avant et après la cuisson.

# Chapitre 1

## Généralités sur l'élevage de poulet de chair

### 1.1. Modes d'élevage du poulet en Algérie

L'élevage avicole constitue une source non négligeable d'apport protéique dans les pays en voie de développement. La maîtrise des conditions d'élevage est pour la plupart des éleveurs chose facile, mais pour assurer une production économiquement bénéfique peu d'éleveurs arrivent à ce but. Cependant la maîtrise du risque sanitaire touchant la santé humaine et animale reste un problème posé même dans les pays modernes. Dans notre pays ce risque est de taille (**Ammar, 2010**)

#### 1.1.1. L'élevage au sol

Le type d'élevage de poulet de chair peut être intensif ou extensif.

##### 1.1.1.1. L'élevage intensif

Il se fait pour le poulet de chair soit pour les grands effectifs. Il a pris sa naissance en Algérie avec l'apparition des couvoirs au sein des structures de Ministère de l'Agriculture et du développement rural (M.A.D.R) qui a créé l'Office National d'Aliment de Bétail (O.N.A.B) et l'Office Régional de l'Aviculture (O.R.AVI) (**O.R.AVI.E, 2004**).

##### 1.1.1.2. L'élevage extensif

Cet élevage se pratique pour les poules pondeuses, il s'agit surtout des élevages familiaux de faibles effectifs, il s'opère en zone rurale. La production est basée sur l'exploitation de la poule locale, et les volailles issues sont la somme de rendement de chaque éleveur isolé.

C'est un élevage qui est livré à lui-même, généralement aux mains de femmes, l'effectif moyen de chaque élevage fermier est compris entre 15 et 20 sujets, les poules

sont alimentées par du seigle, de la criblure, de l'avoine, et des restes de cuisines. Elles sont élevées en liberté et complètent leur alimentation autour de la ferme. Les poules sont destinées à la consommation familiale ou élevées pour la production des œufs (Belaid, 1993)

### 1.1.2. L'élevage en batterie

Cet élevage qui a été introduit nouvellement en Algérie se fait pour les poules pondeuses. Il est beaucoup plus coûteux par rapport au premier.

L'élevage du poulet convient très bien au climat Algérien. L'état dans le cadre de sa politique de la relance économique encourage au maximum les éleveurs et les coopératives à pratiquer cet élevage, pour diminuer l'importation des œufs de consommation et des protéines animales.

L'élevage avicole prend de plus en plus d'extension ces dernières années. Les éleveurs au début sans aucune expérience, maîtrisent de plus en plus les techniques d'élevage. Malgré cela, beaucoup d'erreurs fatales sont encore commises aujourd'hui :

- pas de vide sanitaire suffisant ;
- densité trop importante ;
- température mal réglée ;
- local mal aéré donnant de mauvaises odeurs (ammoniacales) ;
- mauvaise ventilation ;
- longueurs des abreuvoirs et des mangeoires non adaptées ;
- lumière trop forte ;
- alimentation déséquilibrée ne couvrant pas tous les besoins des animaux;
- programme de prophylaxie non respecté entraînant beaucoup de maladies graves (Newcastle, etc.) (Belaid, 1993).

## 1.2. Évolution de l'élevage de poulet de chair

### 1.2.1. Dans le monde

L'élevage de poulet de chair a connu un essor phénoménal, et ceci par l'amélioration rapide des performances de production d'une part, et l'évolution de la consommation d'autre part. L'âge du poulet correspondant à 1,8 kg de poids vif a

passé de 38 jours 1994 à 33 jours en 2003 un indice de consommation de 1,62 et un pourcentage de 18,2 de viande de bréchet, pour 17 % en 1994 (**Gonzalez, 2003**).

L'évolution de l'investissement dans la filière poulet de chair est attirée par ses avantages de production et de consommation. Pour la première, il est à noter les remarques suivantes :

Une possibilité d'investir dans toutes les régions mondiales qui nécessitent de peu d'habiletés d'élevage et un faible coût de revient. Dans ce cas, le cycle de production est court permettant de pouvoir renouveler rapidement une bande et la transformation rapide de matière première en protéines animales grâce au métabolisme élevé de poulet de chair bien aussi un taux de fécondité élevé.

Il est important de noter que le poulet de chair a un bon goût, la viande est blanche ou colorée, elle a aussi une bonne valeur nutritive (**Gonzalez, 2003**). Pour donner un aperçu global sur la production et la consommation mondiale de la viande de poulet de chair, des statistiques de l'organisation de l'alimentation et de l'agriculture (F.A.O) en 2002 sont présentées dans le tableau suivant

*Tableau 1.1 : Viande de poulet de chair selon (F.A.O, 2002)*

	Production t×1 000 000	Consommation moyenne Kg/habitant/an
<b>Monde</b>	17,7	11,6
<b>Amérique centrale et du nord</b>	21,2	66,8
<b>Amérique du sud</b>	10,3	26,1
<b>Asie</b>	23,4	6,9
<b>Europe</b>	12,6	22,1
<b>Afrique</b>	3,3	4,3

### 1.2.2. En Algérie

L'aviculture en Algérie a connu une importante évolution au cours de ces dernières années et a tendance à faire disparaître son secteur traditionnel. Le démarrage de cet élevage intensif, qualifié d'industriel n'a commencé qu'à partir des années soixante-dix au sein de l'O.N.A.B, qui s'est chargé à la réalisation de l'autosuffisance de la population galopante en protéines animales.

En 1970 la M.A.D.R élargit la mission de l'O.N.A.B en le chargeant d'entreprendre toute action susceptible d'augmenter et de régulariser les productions des viandes blanches, ceci en créant au sein de chaque wilaya une coopérative agricole de wilaya chargée de l'agriculture (COP.A.WI.).

C'est au cours du deuxième plan quadriennal (1974 - 1977) que l'on a assisté à l'émergence d'une politique avicole axée essentiellement sur la filière chair intensive.

En 1981 ce fut la création de l'O.R.AVI dans les trois régions du pays : Est-Centre-Ouest, ce pour impulser une nouvelle dynamique au secteur avicole, et depuis on assiste à un véritable développement qualifié de secteur avicole industriel.

Durant la décennie (1980 - 1990), le nombre d'élevages avicoles en Algérie a enregistré un accroissement à la faveur des politiques avicoles initiées par l'état et particulièrement favorables au capital privé.

Les élevages du poulet de chair sont le fait d'une catégorie dominante d'ateliers dont la taille moyenne se situe entre 2000 et 5000 sujets. Les bâtiments avicoles sont, sauf rares exceptions, de type « clair » à ventilation statique faiblement isolé et sous équipés correspondants à des investissements n'excèdent guère 500000 DA (**Nouri et al., 1996**).

### 1.3. Nutrition des volailles

Au fur et à mesure que l'âge de l'animal augmente, ses besoins évoluent de façon continue avec une diminution des besoins en protéines et en énergie. Classiquement on utilise trois aliments différents, distribués à volonté :

- Un aliment de démarrage pendant la première semaine
- Un aliment de croissance jusqu'à 28 jours
- Un aliment de finition jusqu'à l'abattage (**Drogoul et al., 2004**)

Généralement pour obtenir des rations énergétiques, on fait appel aux céréales (maïs et blé) et à leur produits de substitution. Pour la couverture des besoins azotés on utilise les tourteaux, essentiellement le soja et pour équilibrer les acides aminés on ajoute les acides aminés de synthèse principalement la méthionine et la lysine (**Drogoul et al., 2004**).

### 1.3.1. Besoin énergétique

L'apport énergétique de l'aliment doit satisfaire les besoins d'entretien et de production du poulet (**Sanon, 2009**). Pour les volailles on se limite à l'estimation de la valeur de l'énergie métabolisable. Les recommandations varient de 2 800 à 3 200 kcal EM/kg (**Hornick et al., 2003**).

Chez la poule, la quantité d'aliments ingérée est étroitement liée à ses besoins énergétiques. L'animal cherche en priorité à ingérer la quantité d'aliment lui permettant de couvrir ses besoins énergétiques. Il utilise une partie de ces aliments pour son entretien et l'autre partie pour sa croissance (**Ngom, 2004**).

**Sanon** en (2009) a défini : « les besoins d'entretien comme étant la quantité d'énergie métabolisable à fournir à l'animal pour qu'il maintienne constante la quantité énergétique corporelle et le besoin de production se résume en besoin de croissance ».

Il est donc recommandé d'apporter dans l'aliment des volailles un minimum de graisse. L'incorporation des lipides dans l'aliment se traduit par une augmentation de l'ingéré énergétique et de la production. En effet, les graisses animales (acides gras saturés) présentent un meilleur rendement énergétique comparant à l'amidon et aux protéines (**Sanon, 2009**).

### 1.3.2. Besoin en protéines et en acides aminés essentiels

Concernant les besoins en acides aminés, il existe deux types d'acides aminés (AA): les AA essentiels (AAE), c'est-à-dire ceux dont le métabolisme des volailles est incapable de les synthétiser et les acides aminés non essentiels (AANE). Pour le poulet, la méthionine, la lysine, la thréonine, le tryptophane, la leucine, l'isoleucine, la valine, la serine, l'arginine, l'histidine et la phénylalanine sont les AA essentiels (**Quentin et al., 2004**).

### 1.3.3. Besoins phosphocalciques

Le calcium est le minéral le plus abondant dans l'organisme. En outre, les oiseaux en production dépensent des quantités importantes en cet élément (squelette et œuf). Le besoin en calcium comporte deux parties : le besoin d'entretien et le besoin de

production. Il faut apporter 50 mg de calcium par jour et par kg de poids vif chez le poulet (Larbier *et al.*, 1992).

### 1.3.4. Besoins en oligo-éléments et vitamines

Les vitamines et les oligo-éléments sont indispensables à faibles doses. Les oligo-éléments sont principalement le fer, le cuivre, le zinc. Les vitamines jouent souvent un rôle dans la synthèse enzymatique. Ils doivent aussi être présents dans l'alimentation pour éviter certaines carences qui peuvent affecter négativement la santé des animaux suite à un déséquilibre d'alimentation. Ce déséquilibre contribue même à des troubles sérieux (Sanon, 2009).

## 1.4. Normes D'élevage Avicole

### 1.4.1. Litière

Faite de paille hachée, de copeaux de bois blanc non traité, elle doit avoir 10 à 15 cm d'épaisseur, soit 6 kg/m<sup>2</sup>. Certaines espèces ont des besoins particuliers : en production de dindonneaux, on préférera les copeaux, seuls ou mélangés à de la paille broyée (Jean Luc Guérin *et al.*, 2011).

### 1.4.2. Densité

Au-delà du nombre de sujets au m<sup>2</sup>, c'est le poids d'animaux qu'il faut prendre en compte, car c'est lui qui déterminera la quantité de déjections sur la litière et le dégagement de vapeur d'eau et de CO<sub>2</sub>. Les normes de densité d'élevage au m<sup>2</sup> sont précisées, mais des travaux scientifiques récents ont montré la valeur toute relative de cette densité: la tenue de la litière et de la qualité de l'ambiance, C'est-à-dire l'adaptation des systèmes d'élevage, compte au moins autant que la densité proprement dite ! Cette densité en production de poulets de chair fait désormais l'objet d'une directive européenne qui définit un maximum de 33 à 42 kg/m<sup>2</sup> sous conditions (Jean Luc Guérin *et al.*, 2011).

### 1.4.3. Ventilation et contrôle de l'ambiance

Les normes sont les suivantes :

- Volume d'air moyen : 3,5 m<sup>3</sup>/kg de poids vif ;

- vitesse de l'air au niveau des animaux 0.1 à 0.3 m/s selon la température;
- Humidité de l'air : 55 à 75 % ;
- Humidité de la litière : 20 à 25 % ;
- Ammoniac : seuil maximal à 15 ppm ;
- Gaz carbonique : seuil maximal à 0.5% ;
- Oxygène : seuil minimal à 19 % (**Jean Luc Guérin et al., 2011**).

#### 1.4.4. Température

Les normes de chauffage présentées dans le *tableau 1.2* doivent être respectées.

*Tableau 1.2: Évolution des normes de chauffage en production de poulets de chair, à l'aide de chauffages d'ambiance ou de chauffages localisés (radiants) (Jean Luc Guérin et al., 2011).*

Age (jour)	Chauffage en ambiance : température ambiante (°C)	Chauffage localisé (radiants)		Évolution du plumage
		Température sous radiant (°C)	Température de l'aire de vie (°C)	
0-3	33-31	38	>28	Duvet
3-7	32-30	35	28	Duvet + ailes
7-14	30-28	32	28	Duvet + ailes
14-21	28-26	29	26	Ailes + dos
21-28	26-23	-	26-23	Aile+dos+bréchet
28-35	23-20	-	23-20	
>35	20-18	-	20-18	

### 1.5. Présentation des principales pathologies aviaires

En pathologie aviaire les maladies sont souvent plurifactorielles .Elle est le résultat de l'association simultanée ou de l'intervention de plusieurs paramètres néfastes (appelés « facteurs de risques ») a l'équilibre des animaux et dont l'action additive ou synergique conduite à l'expression d'une pathologie. Ces facteurs de risques sont liés :

- Au bâtiment : conception, qualité de l'ambiance.
- A la conduite d'élevage : application variable des normes d'élevage.

- À l'alimentation : déséquilibre nutritionnel, altération des matières premières.
- Aux animaux : adaptation des animaux a la chaleur.
- Au microbisme : nombre et type des germes pathogènes.
- À l'éleveur : compétence, disponibilité (**FEDIDA ,1996**).

Les principales maladies aviaires sont présentées dans les tableaux 3, 4, 5 il s'agit de maladie bactérienne, virale, parasitisme et mycosique. Les maladies qui y sont mentionnées sont les plus dangereuses sur le plan de l'impact sur des sujets .les principaux symptômes, lésions et les traitements préconisés sont également présentés.

**Tableau 1.3 :** Les maladies bactériennes (NANA, 2000).

Nom	Causes	Principaux symptômes	Lésions	Traitement
<b>Salmonellose.</b> (typhose-pullorose)	<i>Salmonella Pullorum</i>	*Adulte: Typhose -Septicémie · -Forte mortalité -Diarrhée	*Lésions hépatiques -Hypertrophie · -Tâches blanchâtres en surface	Furazolidone
	<i>Salmonella Gallinarum</i>	*Poussins: Pullorose -Abattement -Diarrhée blanchâtre plâtreuse	Ovaires: Congestion	
<b>Pasteurellose</b> (choléra aviaire)	<i>Pasteurella Multocida</i>	-Torpeur -Cyanose de la crête -Diarrhée -Mortalité importante -Mort foudroyante	-Septicémie pétéchies Séreuses et muqueuses -Congestion des viscères	Streptomycine Terramycine
<b>Colibacillose</b>	<i>Escherichia coli</i> Sérotypes OIKI 02K2 078K80	-Diarrhée banale - Râles -Toux et écoulements par les narines, jetage)	Existence de plusieurs formes chez les volailles, mais la forme la plus fréquente chez les poulets de chair est la septicémie	Antibiotiques à large spectre : -Spiramycine -Tylosine
<b>Maladie Respiratoire Chronique</b>	<i>Mycoplasma Gallisepticum</i>	Signes respiratoires Râles, étouffements	Trachée, bronches Présence de mucus ou un amas caséeux, sacs aériens épaissis	-Tétracycline -Spiramycine -Tylosine

Tableau 1.4: Les maladies virales (NANA ,2000)

Nom	Causes	Principaux symptômes	Lésions	Traitement
<b>La maladie de Gumboro</b>	Bimavirus	Poussins de 3 semaines à un mois -Atteinte grave de l'état général -Tremblements, élévation de la température -Légère diarrhée blanchâtre -15 à 30% de mortalité	Hémorragies intramusculaires -Hémorragies sur La muqueuse du proventricule. -Hypertrophie de la bourse de Fabricius	Néant  Lutte contre les surinfections par des anti-biotiques, Sulfamides et Furazolidone
<b>Maladie de Newcastle ou pseudopeste aviaire</b>	Paramyxovirus PMVI	-Extrême contagiosité Pneumoencéphalite -Symptômes respiratoires -Myoclonies, paralysies -Diarrhée profuse, verdâtre	-Signes de septicémie suffusions sanguines -viscères congestionnées - Pétéchies du cloaque et du ventricule succenturié	Néant
<b>Variole (ou diphtérie) aviaire</b>	Poxvirus	- Forme cutanée: éruption pustuleuse barbillons, paupières - Forme muqueuse fausses membranes bouche, narines, pharynx - Mortalité : 40% dans certains cas	Les lésions sont représentées par les vésicules et les papules	Antiseptiqu-es locaux
<b>Bronchite Infectieuse</b>	Coronavirus	-Poussins: Forte mortalité et troubles respiratoires -Adultes: arrêt de ponte	- Bronches - sacs aériens - ovaires	Néant
<b>Encéphalo myélite aviaire</b>	Picornavirus	Tremblement tête et cou - paralysies - forte mortalité	congestion cérébrale et méningée	Néant

Tableau 1.5 Les maladies parasitaires et mycosiques (NANA ,2000)

Nom	Causes	Principaux symptômes	Lésions	Traitement
<b>Coccidiose</b>	Multiplication dans l'intestin de protozoaires du genre <i>Eimeria</i> ( <i>nêcatrix maxima</i> , etc.	Diarrhée aqueuse et hémorragique Mortalité importante chez les jeunes de 10 jours à 3 mois	Lésions d'entérite hémorragique	Sulfadimérazine 2g/L d'eau de boisson Ou Sulfaquinoxaline 0,25g/1 d'eau, 2 fois/2 a 3 jours d'intervalle
<b>Aspergillose aviaire</b>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Aspergillose des adultes Attaque des voies - aérifères (poumons) Diarrhée blanchâtre ou verdâtre ;	Épithélium des sacs aériens : dépôt gris blancs, ces dépôts deviennent caséux	Nystatine : 100.000 µl/kg de poids administration dans l'eau de boisson
		Aspergillose des jeunes:  Difficulté respiratoire Diarrhée plus au moins verdâtre, jaunâtre, etc.	Ces lésions peuvent envahir les organes voisins : péritoine, foie, tube digestif, organes génitaux, etc.	Thiabendazole : Aerosol: 0,02-0,04 g/l per os

## Chapitre 2

### Généralités sur les antibiotiques

#### 2.1 Aperçu général sur les antibiotiques

Comme tout être vivant, les animaux sont sujets à des maladies qu'il est nécessaire de prévenir ou de traiter. La maîtrise de la santé animale garantit non seulement les performances économiques d'un troupeau (production de viande en quantité et de bonne qualité) mais aussi le bien-être des animaux. Seuls les animaux en bonne santé peuvent être abattus afin que les viandes mises sur le marché ne présentent aucun risque pour la santé du consommateur. Pour ces raisons, des médicaments vétérinaires sont administrés si nécessaire aux animaux d'élevage. C'est en particulier le cas des antibiotiques (CIV, 2014).

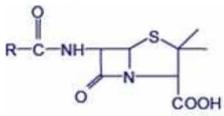
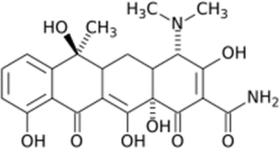
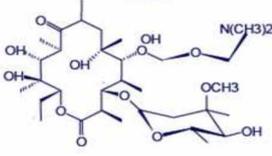
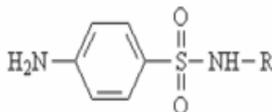
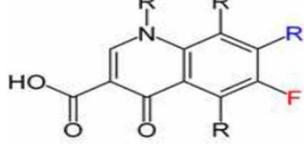
Un antibiotique est une substance antibactérienne d'origine biologique, c'est-à-dire produite par des microorganismes (champignons microscopiques et bactéries) ou de synthèse chimique et qui est capable d'inhiber spécifiquement la vitalité d'autres microorganismes par un mécanisme particulier jouant sur les mécanismes vitaux du germe (Gogny *et al.*, 2001 ; Morin *et al.*, 2005 ; Gauthier, 2006). Soit par un pouvoir de destruction (*effet bactéricide*) ou, d'inhibition de la multiplication (*effet bactériostatique*) de certaines bactéries (Duval & Soussy, 1990 ; Fontaine & Cadoré, 1995).

#### 2.2 Classification

En fonction de leur structure chimique, les antibiotiques sont classés en plusieurs familles. À l'intérieur d'une même famille, diverses particularités font l'originalité et l'intérêt des différents produits. Ces derniers peuvent avoir :

- Une structure chimique proche, plus ou moins homogène ;
- Des propriétés physico-chimiques voisines, à l'origine d'un devenir dans l'organisme généralement assez proche ;
- Une activité antibactérienne du même ordre (Fontaine & Cadoré, 1995).

Tableau 2.1 : Principales familles d'antibiotiques (Adel, 2009 ; CIV, 2014)

Famille	Structure	Mode d'action	Spectre	Exemples de principes actifs à usage vétérinaire
<b>Bêta lactamines</b>	Des antibiotiques bactériostatiques 	Action sur l'enveloppe cellulaire.	Large spectre d'action: Bactéries à Gram (+).	Pénicillines G, M et A Céphalosporines (1 <sup>ère</sup> , 2, 3, 4 générations) Ampicilline et Amoxicilline
<b>Tétracyclines</b>	Des antibiotiques bactériostatiques 	Inhibition des synthèses protéiques et la multiplication des bactéries pathogènes.	Large spectre d'activité : Bactéries à Gram (+) ; Gram(-) aérobies, anaérobies	Chlortétracycline, Oxytétracycline, Doxycycline
<b>Macrolides</b>	Des antibiotiques bactériostatiques 	Action sur la Synthèse des protéines.	Large spectre d'action : bactéries à Gram (+).	Érythromycine Spiramycine Clindamycine Tiamuline
<b>Sulfamides</b>	Des dérivés synthétiques de l'acide sulfonique : para-aminophényl sulfonamides 	Inhibition de l'enzyme bactérienne chargée de transformer l'acide folique en THF.	Large spectre d'action bactéries à Gram (+) et Gram (-).	Sulfadiazine Sulfadiméthoxine Sulfaméthoxazole + Triméthoprime
<b>Quinolones</b>	Des antibiotiques de synthèse 	Inhibition de la synthèse de l'ADN.	Large spectre d'action : bactéries Gram (+) et Gram (-).	Fluméquine Enofloxacin Marbofloxacin

### 2.3 Spectre d'activité / Sensibilité

Le spectre d'activité pour un antibiotique donné, est défini comme : « la liste des espèces microbiennes dont la majorité des souches s'avèrent sensibles in vitro ». plus que le nombre d'espèces bactériennes couvertes est important ou non, on dit que l'antibiotique possède un spectre large ou étroit. En dehors de n'importe quelle résistance acquise, toutes espèces non incluses dans ce spectre seraient naturellement résistantes (Duval & Soussy, 1990 ; Martel, 1996).

L'antibiogramme est la technique utilisée pour déterminer la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) qui représente la plus faible concentration d'antibiotique capable d'inhiber toute culture visible de la souche étudiée. L'évaluation de la sensibilité repose ensuite sur l'intégration des données bactériologiques et pharmacocinétiques, représentées par la CMI, conditionnant les taux d'antibiotique présents dans le foyer infectieux (**Fontaine & Cadoré, 1995**).

L'idéal pour évaluer le degré de sensibilité serait de comparer la CMI de la souche avec la concentration de l'antibiotique au sein du foyer infectieux. Faute de pouvoir connaître ce taux avec précision, on se réfère aux données pharmacocinétiques connues pour la molécule à tester (**Duval & Soussy, 1990**). Généralement, il y a trois catégories de souches bactériennes sont distinguées et délimitées chacune par deux valeurs : *la concentration critique supérieure (C)* et *inférieure (c)* qui sont spécifiques à chaque antibiotique :

- *Souches sensibles* ( $CMI \leq c$ ) : Les concentrations produites sont sensiblement plus élevées que la CMI. La probabilité de la réussite d'une telle thérapeutique étant assez importante ;
- *Souches intermédiaires* ( $c < CMI \leq C$ ) : Les concentrations produites sont proches de la CMI. L'issue thérapeutique est imprévisible ;
- *Souches résistantes* ( $CMI > C$ ) : Les concentrations produites ne peuvent pas atteindre la CMI, même aux doses élevées de l'antibiotique. Le risque d'échec est important (**Mogenet & Fedida, 1998**).

## 2.4 Pharmacocinétiques des antibiotiques

Le terme de métabolisme des antibiotiques désigne l'ensemble des phénomènes physico-chimiques et biochimiques qui régissent le cheminement de ces substances dans l'organisme (**Saux, 2006 ; Le chat, 2007**). Ce passage du lieu d'administration jusqu'au site(s) d'action se fait en différentes phases :

### 2.4.1 Absorption et biodisponibilité

Afin de pouvoir gagner les organes et les tissus où aura lieu l'action pharmacologique, le médicament doit dans un premier temps, être absorbé, c'est-à-dire pénétrer dans la circulation générale. Le recours se fait souvent à deux principales voies :

#### a. La voie orale

C'est la voie d'administration la plus rapide pour traiter un grand nombre d'animaux. Chez les oiseaux, l'absorption des médicaments comme des produits de la digestion s'effectue principalement dans le jabot et l'intestin. (**Brugere, 1992 ; Fontaine & Cadoré, 1995**). Certaines classes d'antibiotiques ont une bonne absorption digestive (macrolides, tétracyclines, sulfamides) mais cette absorption peut aussi être modifiée (en plus ou en moins) lorsqu'il existe chez un malade une pathologie du tube digestif. Généralement, il y a plusieurs facteurs peuvent interférer avec cette résorption comme le pH et pKa (constante de dissociation ionique): les antibiotiques de caractères acides sont résorbés principalement au niveau gastrique où la réaction acide inhibe leur dissociation ionique, tandis que les autres de caractère basique sont résorbés au niveau intestinal où le milieu est alcalin. L'état de la vacuité gastrique pourrait être influé la résorption digestive des antibiotiques est retardée par la présence des aliments (**Le chat, 2007**).

#### b. La voie parentérale

Cette voie représentée essentiellement par les injections par voie sous-cutanée et intramusculaire, cette voie permet l'utilisation avec plus d'efficacité (doses exactes, action rapide), de produits très actifs. Cependant, elle est souvent difficile à mettre en œuvre chez les volailles (**Fontaine et Cadoré, 1995**).

### 2.4.2 Distribution

Lorsque le passage de l'antibiotique du sang vers un site d'infection se fait par diffusion passive, il se fera d'autant mieux que le gradient des concentrations (de la forme libre, seule diffusible) entre le plasma et les tissus sera important. Dans ce but, on peut même chercher un mode d'administration qui procure des concentrations les

plus élevés possibles. Certains antibiotiques possèdent une très forte affinité pour certains tissus dans lesquels les concentrations atteignables sont souvent supérieures aux concentrations plasmatiques (affinité des macrolides aux tissus pulmonaire). D'autres, au contraire, ont une diffusion très difficile dans certains tissus (liquide synovial, humeur aqueuse) (Fontaine & Cadoré, 1995).

### 2.4.3 Biotransformations

Comme tous les médicaments, les antibiotiques peuvent subir des transformations, en métabolites actifs ou non sur les bactéries, toxiques ou non. Les substances actives peuvent être métabolisées par différents organes. Si toutes les cellules de l'organisme possèdent une capacité métabolique de base, certains organes ont une capacité métabolique importante (foie, rein, poumon) (Guillemot, 2006).

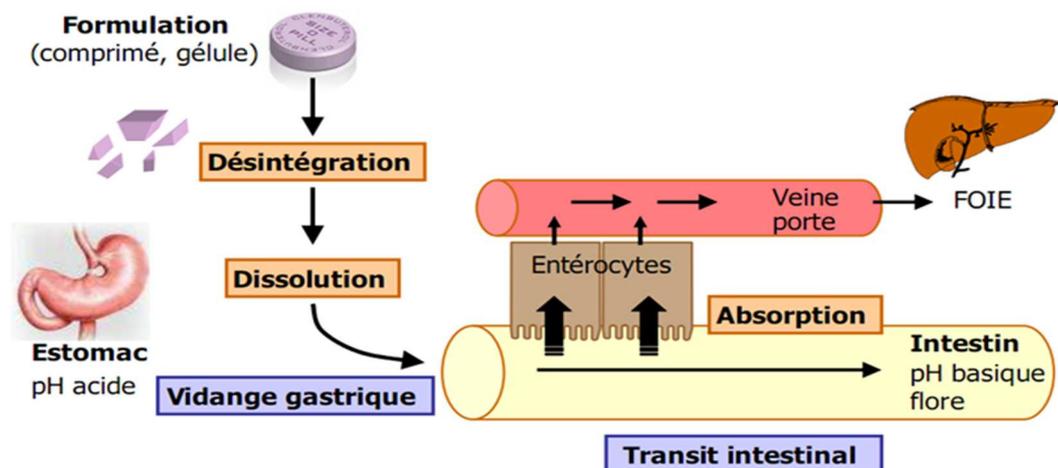


Figure 2.1 : la circulation des médicaments dans l'organisme (Sophie, 2014)

L'activité des réactions de biotransformation varie en fonction de l'âge alors l'élimination est plus rapide chez les jeunes sujets et de l'état sanitaire des oiseaux insuffisance hépatique, cachexie, etc. Les stress perturbent également cette activité (Brugere, 1992).

### 2.4.4 Élimination

Les deux principales voies d'élimination sont la voie rénale et la voie biliaire. L'élimination fait appel aux processus généraux de passage transmembranaire : diffusion passive, filtration, transport actif, etc. L'étude de la cinétique plasmatique d'une molécule après administration et la mesure des quantités émises sous forme de substance parentale et de métabolites, estimée sur la base des concentrations moyennes mesurées sur des quantités d'excrétas collectés au cours du temps, permet de mesurer la clairance totale et la part relative de la clairance métabolique et de la contribution des principaux organes d'élimination (Guillemot, 2006).

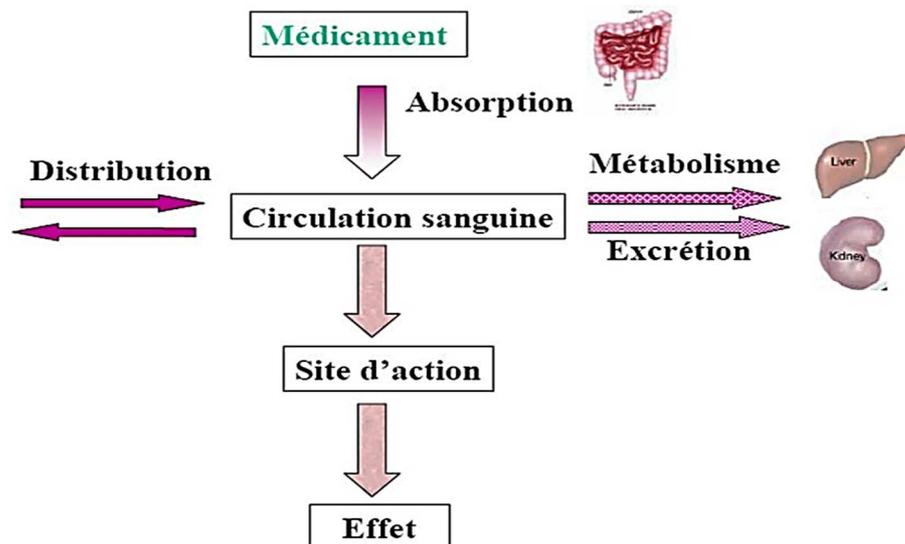


Figure 2.2 : la pharmacocinétique des médicaments (Houda, 2016)

## 2.5 Association des antibiotiques

Théoriquement, l'utilisation en thérapeutique d'une association d'antibiotiques peut renfermer plusieurs avantages :

### 2.5.1 L'élargissement du spectre d'activité

Réalisé en combinant deux antibiotiques avec des spectres complémentaires. Ceci est en particulier justifié :

- Dans le traitement des infections poly-microbiennes ;
- Dans le traitement des infections sévères, n'ayant pas été diagnostiquées avec précision ;
- Comme traitement de première intention en l'attente des résultats de l'antibiogramme (**Brudere, 1992**).

### 2.5.2 L'obtention d'un effet synergique

L'effet synergique résulte d'une interaction positive entre deux antibiotiques dont l'action antibactérienne conjointe est supérieure à la somme de l'action de chacun des deux antibiotiques pris isolément. Cet effet est justifié :

- Dans le traitement des infections dues aux germes bactériens peu sensibles et dont les valeurs des CMI se situent à la limite des concentrations critiques ;
- Dans le traitement des infections sévères affectant des animaux immunodéprimés ;
- Dans le traitement des infections dont le siège se situe à un endroit difficilement atteignable par les antibiotiques (**Duval & Soussy, 1990 ; Brudere, 1992**).

### 2.5.3 Diminution de l'émergence de souches bactériennes résistantes

La probabilité de deux mutations simultanées est égale au produit des deux taux de mutation : elle est très faible, donc statistiquement, il est très improbable qu'une bactérie acquière simultanément par mutation la résistance à deux antibiotiques, a fortiori à plusieurs. La prescription d'associations d'antibiotiques peut être légitime notamment pour les antibiotiques dont le risque de sélection de mutants est relativement élevé (Triméthoprim, Quinolones) (**Alfandari et al., 2002**).

### 2.5.4 Complémentarité des modes de diffusion tissulaires

Les difficultés de diffusion tissulaire d'un antibiotique peuvent être compensées par l'autre, ce qui permet d'atteindre l'agent infectieux dans les différents endroits de l'organisme. C'est le cas d'association d'un antibiotique faiblement absorbable par voie orale avec un autre diffusible par voie générale (**Mogenet & Fedida, 1998**).

### 2.5.5 Diminution de la toxicité

Pour réduire leur toxicité rénale, comme l'association de deux sulfamides, de solubilité et de vitesse d'éliminations différentes, s'avère moins dangereux que la dose double de l'un d'eux. Cette association prévient leur cristallisation dans les voies urinaires (Duval & Soussy, 1990 ; Martel, 1996).

## 2.6 Antibiotiques en élevage avicole

Les antibiotiques sont la principale classe de médicaments vétérinaires utilisés depuis les années 50 pour le traitement des maladies infectieuses d'origine bactérienne chez les animaux producteurs de denrées alimentaires et les animaux de compagnie. Les substances utilisées appartiennent aux mêmes familles que celles utilisées en médecine humaine (Sanders *et al*, 2011).

Ces médicaments sont utilisés pour prévenir et traiter des maladies infectieuses pouvant entraîner une morbidité importante et être associées à la mortalité. Les affections les plus souvent traitées sont digestives et respiratoires. Pour plusieurs types d'élevages intégrés où les animaux (volaille, veau et poisson) sont élevés en groupe dans des bâtiments, les conditions d'élevage amènent les vétérinaires à prescrire des traitements de groupe à des fins préventives et curatives (Cazeau *et al*, 2010). Les antibiotiques sont utilisés de quatre façons différentes chez les animaux de production, et avec des objectifs différents :

### 2.6.1 À titre thérapeutique curatif

Les antibiotiques peuvent être utilisés à titre thérapeutique curatif. L'objectif est d'obtenir la guérison des animaux cliniquement malades et d'éviter la mortalité. Le traitement a aussi pour effet de réduire la souffrance et de restaurer la production (lait, viande). Il réduit l'excrétion bactérienne, permettant dans certains cas d'obtenir une guérison bactériologique et, lors d'infection zoonotique, il peut éviter la contamination humaine (Zanditenas, 1999).

### 2.6.2 Métaphylaxie

Lorsqu'une infection collective et très contagieuse se déclare dans un élevage avec de grands effectifs et évolue sur un mode aigu, avec suffisamment d'éléments concordants pour incriminer une (des) bactérie(s), l'ensemble du groupe d'animaux est traité. Les sujets qui sont exposés mais ne présentent pas encore de signes cliniques (sains ou en incubation) font donc l'objet d'un traitement en même temps que ceux qui sont déjà malades. Cette pratique est qualifiée de métaphylaxie. Elle permet de traiter les animaux soumis à la pression infectieuse alors qu'ils sont encore en incubation ou lorsque les manifestations cliniques sont très discrètes. La métaphylaxie est généralement mise en œuvre à partir d'un seuil d'atteinte des animaux au sein du lot de 10 à 15 % de l'effectif (**Maillard, 2002**).

### 2.6.3 Antibio-prévention

Les antibiotiques peuvent être administrés à des périodes critiques de la vie, sur des animaux soumis à une pression de contamination régulière et bien connue. Cette modalité d'utilisation des antibiotiques est adaptée à une situation sanitaire donnée et doit être provisoire et ponctuelle donc l'antibioprophylaxie est également utilisée lors d'opérations chirurgicales pour prévenir les infections bactériennes (**Stoltz, 2008**).

### 2.6.4 Additifs dans l'alimentation animale

L'usage des antibiotiques dans l'aliment à titre d'additifs est très limité actuellement. Ces « antibiotiques régulateurs de flore » (ARF) ou « antibiotiques promoteurs de croissance » (AGP pour « Antibiotic Growth Promotors ») sont utilisés à des doses très faibles, non curatives et en vue d'améliorer la croissance des animaux par un effet régulateur au niveau de la flore intestinale.

La directive 70/254/CEE du Conseil de l'Union Européenne subordonnait l'utilisation des antibiotiques en tant qu'additifs à une autorisation des principes actifs dans des conditions d'utilisations définies pour chaque espèce de destination, à des doses faibles.

Dans son avis du 28 mai 1999, le comité scientifique directeur de la Direction Générale de la Commission Européenne, a déclaré que l'utilisation en tant que

facteurs de croissance d'antimicrobiens appartenant aux catégories utilisées en médecine humaine et animale, ou susceptible de l'être (c'est-à-dire lorsqu'il existe un risque de résistance croisée aux agents de traitement des infections bactériennes) devait être réduite le plus vite possible et à terme proscrite.

Selon le règlement 1831/2003 du 22/11/2003, entré en vigueur en octobre 2004, qui abrogeait et remplaçait la directive 70/254/CEE, aucune nouvelle autorisation d'antibiotiques, autre que les coccidiostatiques ou les histomonostatiques, ne pouvait être délivrée en tant qu'additif pour l'alimentation animale. Ceci devant être compensé par des progrès réalisés en matière d'élaboration de substances de remplacement et d'autres méthodes de gestion, d'alimentation des animaux et d'hygiène. Ce règlement 1831/2003 prévoyait aussi la suppression définitive de l'usage des antibiotiques comme additifs en alimentation animale. Dans ce contexte, l'utilisation des 4 antibiotiques (Monensin : E714, Salinomycine : E716, Avilamycine : E717 et Flavophospholipol : E712) a été supprimée fin 2005.

En Algérie, depuis Mai 2003, et selon une décision de la Ministère de l'Agriculture et du Développement rural portant sur l'utilisation des additifs dans l'alimentation animale, les substances autorisées étaient fixées suivant : Avilamycine (macrolide) et Flavophospholipol (glycopeptide).

## Chapitre 3

# Résidus des antibiotiques & Santé publique

### 3.1 Résidus des antibiotiques

Actuellement, avec le développement de l'économie de marché, une libéralisation de la profession vétérinaire est observée. Cependant, aucun contrôle n'est exercé sur le circuit de distribution des produits pharmaceutiques vétérinaires et phytosanitaires dans la plupart des pays africains (Messomo, 2006).

La présence des résidus de médicaments vétérinaires dans les denrées d'origine animale peut compromettre les échanges internationaux suite aux accords sur l'application des mesures sanitaires de l'organisation mondiale du commerce (OMC) instituant la globalisation des marchés et ceux de l'union économique et monétaire ouest-africaine (UEMOA) instituant le marché des états de l'ouest-africains. Le respect des normes fixées par le *Codex Alimentarius* en matière de résidus de produits vétérinaires devrait être un gage de qualité pour permettre aux éleveurs africains d'accéder à d'autres marchés (Mensah *et al.*, 2014).

Le JORADP N° 74 de 2014 définit les résidus des antibiotiques comme : « toute substance pharmacologiquement active, qu'il s'agisse de principes actifs, d'excipients ou de métabolites présents dans les liquides et tissus des animaux après l'administration de médicaments et susceptibles d'être retrouvés dans les denrées alimentaires produites par ces animaux aux quels le médicament vétérinaire en question a été administré ».

### 3.2 Nature et propriétés des résidus

La nature chimique des résidus est fortement conditionnée par les biotransformations et les méthodes de dosage et de l'identification ont permis de distinguer deux grands types de résidus : les résidus extractibles et les résidus non-

extractibles. Cette distinction est basée sur les possibilités de passage des composés étudiés dans les solvants d'extraction (Stoltz, 2008)

### 3.2.1 Les résidus extractibles

Les résidus extractibles ou « libres » représentent la fraction pouvant être extraite des tissus ou des liquides biologiques par divers solvants, avant et après dénaturation des macromolécules. Les composés concernés sont le principe actif initial et ses métabolites, en solution dans les liquides biologiques ou liés par des liaisons non covalentes, donc labiles, à des biomolécules. Ces résidus « précoces », qui prédominent dans les premiers jours suivant l'administration du médicament, mais ayant une demi-vie assez brève et dont le taux devient généralement négligeable trois à cinq jours après le traitement. Ils ne forment qu'une proportion faible des résidus totaux (Dziedzic, 1988).

### 3.2.2 Les résidus non-extractibles

Ils constituent la fraction des résidus qui persistent dans les échantillons de tissus analysés après isolement des résidus libres. Leur nature ne peut être déterminée qu'après destruction quasi-complète des protéines, par hydrolyse enzymatique ou acide par exemple. Ce type des résidus non-extractibles forment des complexes macromoléculaires avec des protéines par fixation du principe actif initial ou d'un de ses métabolites sur des protéines. Ces résidus liés ont une demi-vie assez longue et constituent la majeure partie des résidus tardifs (Dziedzic, 1988).

## 3.3 Facteurs de persistance des résidus

La persistance de résidus varie selon plusieurs facteurs: liée à l'antibiotique lui-même (forme pharmaceutique), mode d'administration (modalité d'injection, site d'injection, dose injectée) ou bien sur des facteurs liés à l'animal (Châtaigner & Stevens, 2005).

## 3.4 Risques associés aux résidus des ATB sur sante publique

La contamination des denrées alimentaires d'origine animale par les résidus présente des problèmes tant sanitaires qu'hygiéniques pouvant affecter la santé du

consommateur. Cela peut être dû par le non-respect des délais d'attente de médicaments vétérinaires administrés. Le danger des résidus se manifeste dans les effets cumulatifs ou chroniques qui résultent de l'ingestion régulière des faibles quantités de substances toxiques (**Benoît, 2012**).

La persistance des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires destinées à la consommation humaine est dangereuse, d'abord du point de vue sanitaire, mais aussi du point de vue économique. Pour le consommateur, deux types de risques peuvent exister :

a) **Risques directs** : représentés par les effets toxiques sur certains organes (aplasie médullaire due au chloramphénicol), les allergies alimentaires (effet des pénicillines), et les effets tératogènes, mutagènes et cancérogènes (furannes).

b) **Risques indirects** : liés à la sélection et le transfert de bactéries pathogènes résistantes, pouvant se transmettent à l'homme (salmonelles) et être difficilement contrôlables. Quatre situations potentielles, sont théoriquement possibles dans ce cadre :

- La sélection directe des bactéries résistantes chez l'homme par les résidus antibiotiques présents dans les denrées alimentaires ;
- Bouleversement de la flore intestinale par les résidus ;
- La sélection dans le tube digestif de l'animal de bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques, pouvant contaminer les denrées alimentaires, et les conséquences de leur ingestion par le consommateur (salmonelles résistantes aux quinolones)
- La sélection chez l'animal de bactéries résistantes non pathogènes, pouvant contaminer les denrées alimentaires, se transmettent aux consommateurs et conduire finalement à la transmission de leurs plasmides de résistance aux bactéries de la flore intestinales humaine (**Chaslus, 2003**)

Les résidus étant le plus souvent présents en quantités très faibles, de l'ordre du microgramme ( $\mu\text{g}$ ) comme l'indiquent les LMR, leur toxicité semble corrélée à une exposition chronique (consommation de denrées contaminées sur de longues périodes). Néanmoins, cette toxicité s'exprime, elle peut engendrer chez le consommateur des problèmes de santé d'ordre allergiques et cancérigènes d'une part,

et la possibilité de sélection de bactéries résistantes aux antibiotiques d'autre part. (Jeonet *al.*, 2008).

### 3.4.1 Réactions allergiques

Caractérisées par des réactions de type fièvre induite, un syndrome « maladie du sérum » ainsi que par la possibilité de rash érythémateux, sont les plus fréquentes dans les cas d'exposition aux résidus (Nisha, 2008) et ce sont surtout les résidus de pénicilline qui sont indexés (les acides pénicilloïque, pénicillinique, pénal Maldique, pénicillényles et les pénicillamines) (Demoly *et al.*, 2000).

### 3.4.2 Risque cancérigène

Quant à lui semble être associé aux résidus issus de deux familles d'antibiotiques principalement : Les nitrofurannes sont soupçonnés de foetotoxicité. Certains sulfamides sont foetotoxiques à forte dose. Ces molécules passent dans le lait maternel, et sont toxiques pour les nourrissons de moins. En effet, les résidus provenant des réactions de nitro-réduction de ces antibiotiques sont fortement électrophiles et donc capables de réagir avec l'ADN (Stoltz, 2008). D'où l'apparition des effets mutagènes et carcinogènes (tumeurs). Pour éviter ces risques, les nitrofurannes sont aujourd'hui interdits en production animale dans de nombreux pays, dont tous ceux de l'union européenne depuis 1993 (Règlement CEE 2901/93).

#### 3.4.2.1 Acquisition des résistances aux antibiotiques

La sélection de germes résistants aux antibiotiques constitue pour sa part un véritable problème de santé publique, car ce phénomène réduit considérablement les possibilités thérapeutiques. Les résidus d'antibiotiques entraîneraient une sélection des souches bactériennes résistantes dans le tractus gastro-intestinal des consommateurs (Cerniglia & Kotarski, 2005). La transmission par la voie alimentaire de souches présélectionnées chez l'animal et dans les denrées contenant les résidus a aussi été évoquée par certaines études, de même que la possibilité d'échange des plasmides de résistance entre les bactéries d'origine alimentaires et les bactéries du tube digestif de l'homme (Van Den Bogaard, 2002).

La présence des résidus d'antibiotiques dans les denrées pose donc un véritable problème de santé. D'où la nécessité d'instaurer des plans de surveillance et de

contrôle des denrées alimentaires d'origine animale (DAOA). Des méthodes de leur détection, en usage chez les professionnels (service d'inspections, industriels, chercheurs) existent à cet effet et sont sans cesse améliorées pour les rendre plus fiables (Kantati, 2011).

### 3.5 Paramètres fixés pour la protection du consommateur

La présence des résidus d'antibiotiques dans DAOA pose donc un véritable problème de santé. C'est pourquoi, certains paramètres sont mis en place pour protéger le consommateur.

#### 3.5.1 LMR des antibiotiques

Une LMR est la concentration maximale de résidus (exprimée en parties par million (ppm) ou parties par milliard (ppb) qui peut demeurer dans les tissus ou les produits alimentaires (lait, viande, œufs, etc.) issus d'un animal destiné à l'alimentation humaine à qui l'on a administré des médicaments vétérinaires et que les scientifiques et les autorités la considèrent sans risque sanitaire pour le consommateur et sans effet sur les processus de fabrication. Cette LMR ne doit pas être dépassée pour des aliments issus des productions animales (Pouliquen & Le Bris, 2001 ; Fabre *et al.*, 2006).

**Tableau 3.1** : Exemple de Limites maximales résiduelles (LMR) des antibiotiques exprimés en µg/kg ou ppb (Puyt e& Guérin, 2006).

Substances	Substances avec LMR définitives		
	Muscle	Foie	Rein
<i>Amoxicilline</i>	50	50	50
<i>Néomycine</i>	500	500	5000
<i>Streptomycine</i>	300	1000	5000
<i>Colistine</i>	150	150	200
<i>Tétracycline</i>	100	300	600
<i>Florfénicol</i>	100	2500	750
<i>Spiramycine</i>	200	400	-
<i>Tylosine</i>	100	100	100
<i>Sulfamides</i>	100	100	100
<i>Danofloxacin</i>	200	200	400
<i>Triméthoprime</i>	50	50	50

### 3.5.1.1 Fixation de LMR

La notion de LMR constitue une synthèse entre les attentes des consommateurs et les contraintes des producteurs permettant, sans interdire l'utilisation des médicaments, leur utilisation en toute sécurité. Cette LMR est calculée en prenant en compte d'une part le risque toxicologique et d'autre part, l'effet potentiel des résidus sur la flore digestive de l'homme.

La LMR toxicologique est définie pour assurer la sécurité du consommateur. Cette notion intègre tous les éléments liés à la toxicité de la molécule à court ou à long terme, quelle que soit la nature des effets observés sur l'individu ou sur sa descendance.

La LMR bactériologique est une limite qui vise, quant à elle, à garantir l'absence d'effet des résidus d'antibiotiques sur la flore digestive humaine. Elle est prise en compte indépendamment du fait que cette modification ait ou non un effet sur l'homme.

La LMR finale (officielle) prend la valeur la plus basse entre la LMR toxicologique et bactériologique, la fixation de la LMR s'appuie sur trois notions essentielles :

- Recherche de la Dose Sans Effet (DSE) sur l'animal par différents tests biologiques ;
- Partant de cette DSE et de facteurs de sécurité (100 ou 1000), calcul d'une Dose Journalière Admissible (DJA) : consommation inférieure à 1 pour 100 ou pour mille de la concentration qui entraîne un effet ;
- Partant de cette DJA, de la connaissance de la consommation alimentaire moyenne des habitants et de l'analyse de la répartition dans les différents tissus et organes, on calcule les LMR (lait, viande, etc.) (**Fabre et al., 2006**).
- La fixation des LMR de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale et le temps d'attente sont des conditions préalables, mais non suffisantes, pour l'obtention de l'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM). Les procédures de fixation des LMR sont établies par le règlement (CEE) n° 2377/90 (règlement LMR).

### 3.5.2 Délai d'attente

Selon l'article L. 617-2 du CSP de la CEE, le temps d'attente est défini comme étant : « le délai à observer entre la dernière administration du médicament à l'animal dans les conditions normales d'emploi et l'obtention des denrées alimentaires provenant de cet animal, afin de garantir qu'elles ne contiennent pas de résidus en quantités supérieures aux limites maximales établies par le règlement n° 90-2377 (CEE) ».

#### 3.5.2.1 Fixation délais d'attente

Pour un produit donné, le temps d'attente est calculé en prenant en compte son métabolisme chez l'animal vivant (absorption, diffusion, dégradation et élimination). De nombreuses formulations injectables de médicaments vétérinaires peuvent laisser des résidus au point d'injection intramusculaire. La diminution de la teneur en résidus en ce point constitue alors le facteur limitant pour la fixation du temps d'attente avant l'abattage des animaux. De ce fait, le respect du temps d'attente ne garantit pas l'absence totale de résidus dans les denrées, mais l'absence de résidus en quantité réglementairement considérée comme susceptible de présenter un risque pour le consommateur. Pour les médicaments, le temps d'attente doit être clairement mentionné sur les ordonnances rédigées par les vétérinaires au moment de la prescription. De plus, il figure sur les étiquetages et notices d'emploi de chaque produit commercial (CIV, 2008).

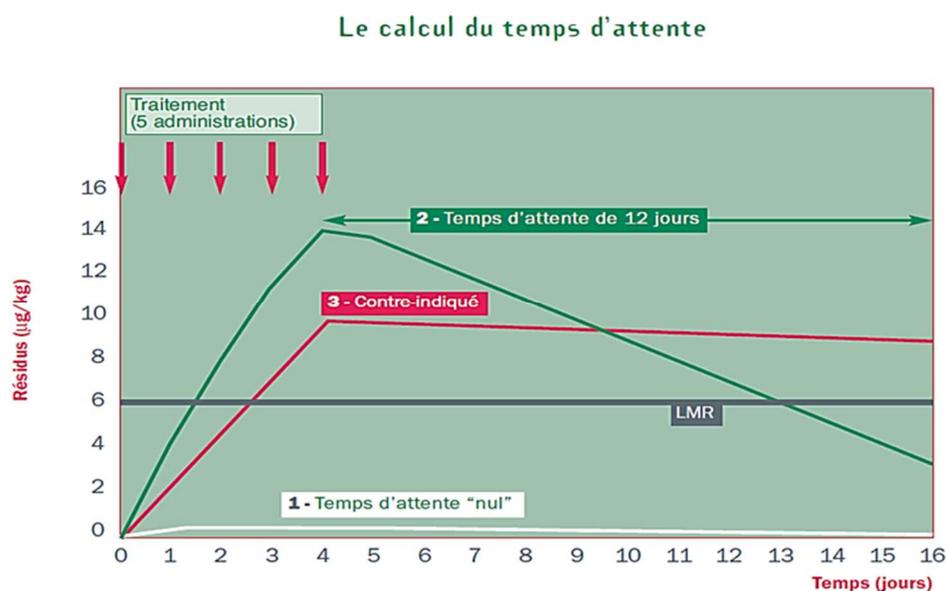


Figure 3.1: la fixation de temps d'attente graphiquement

Trois cas peuvent se présenter pour la fixation d'un temps d'attente :

1. Les résidus peuvent être en dessous de la LMR immédiatement après la dernière administration. Dans ce cas, le temps d'attente est théoriquement de zéro jour, mais, le plus souvent, il est fixe par précaution à 12 ou 24 heures pour éviter que l'animal puisse être abattu immédiatement après le traitement. Pour les médicaments qui ne contiennent pas de substances chimiques susceptibles de laisser des résidus, comme les vaccins par exemple, la détermination d'un temps d'attente est dite « sans objet » ;

2. Les résidus se retrouvent en quantités inférieures aux LMR après « x » jours. Le temps d'attente est alors au minimum de « x » jours, mais, par précaution, il est généralement allongé, de l'ordre de 30 %, ou en prenant en compte une approche statistique pour garantir que sur l'ensemble des animaux traités et abattus, le risque qu'une denrée présente des résidus en quantité supérieure à la LMR est minimal. Rappelons que le temps d'attente est toujours calculé après la dernière administration du produit. Pour cet exemple, le temps d'attente est de  $9 + 3 = 12$  jours.

3. Les résidus persistent trop longtemps au-dessus de la LMR pour être compatibles avec un bon respect des délais d'attente dans les conditions normales de productions animales. La substance est alors contre-indiquée dans cette production (CIV, 2008).

### 3.6 Méthodes de détections (Dépistages)

Les méthodes biologiques/biochimiques de dépistage des résidus des antibiotiques sont généralement rapides et peu coûteuses. Comme toute méthode de dépistage, elles ne doivent engendrer qu'un faible nombre de faux négatifs (échantillons faussement conformes) et un nombre limité de résultats faussement positifs pour rester attrayantes d'un point de vue économique, les résultats positifs enregistrés en pratiquant ces méthodes de dépistage devant être nécessairement confirmés par des méthodes chromatographiques plus fiables comme celles qui associent chromatographie (en phase gazeuse ou liquide) couplées à la spectrométrie de masse (SM) (Maghuin-Rogister, 2006).

### 3.6.1 Méthodes de détections biologiques (Microbiologiques)

Il y a plusieurs méthodes les plus connus sont :

#### 3.6.1.1 Méthodes Alternative (Premi® Test)

Le Premi®Test, permet de détecter les résidus d'antibiotiques présentes dans la viande fraîche, la charcuterie, les reins, le poisson et les œufs. C'est un test à large spectre, il détecte un grand nombre d'antibiotiques couramment utilisés pour la viande. Au bout de 4 heures, sur du jus de viande (extrait par pressage d'un morceau de viande) (Eloit, 2004).

Depuis 2006, elle est reconnue comme une méthode officielle dans de nombreux pays comme la France et est validée par l'Agence Française de Normalisation (AFNOR, 2006).

#### 3.6.1.2 Méthode de référence (Méthode des 4 Boites)

Lors de la 1<sup>ère</sup> certification NF VALIDATION obtenue en Juin 2006, la méthode des 4 Boites était la méthode de référence officielle en France. Cette dernière a pour objet, à l'aide de microorganismes sensibles, la mise en évidence de résidus de substances à activité antibiotique sans en déterminer leur identité. Elle est applicable aux muscles d'animaux de boucherie et volailles, aux muscles et foies de palmipèdes.

#### 3.6.1.3 Méthode STAR

La méthode STAR: Screening Test of Antibiotic Residues, cette méthode est validée par l'AFASSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments) et CRLs (Community Reference Laboratories for Residues) après une collaboration en 2002.

Cette nouvelle version de la méthode de quatre boites requiert l'utilisation des deux mêmes espèces : *Bacillus subtilis* cultivé à 2 pH différents (6 et 8) et *Micrococcus luteus* cultivé aussi à 2 pH différents (7,4 et 8). Cette méthode de diffusion réalisée avec *Micrococcus luteus* à pH 7,4, l'addition de triméthoprime permet la détection des sulfamides dans le muscle grâce à la synergie triméthoprime-sulfamides (NF 060601, 2011).

#### 3.6.1.4 La méthode de NAT

Cette méthode microbienne est améliorée pour le dépistage des résidus antimicrobiens chez les animaux d'abattage. Le Nouveau Teste d'Antibiotique (NAT) a été validée conformément à la norme (CE/657, 2002) pour l'analyse de routine dans le cadre du plan de surveillance des résidus des ATB au Pays-Bas.

Le NAT dépistage combine une stratégie de traitement d'échantillonnage et de l'échantillon simple et efficace avec une grande capacité de détection ; ce système détecte efficacement de grande famille des antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire au niveau ou au-dessous de leur niveau maximum de résidus dans les reins, elle est un test de diffusion basé sur l'analyse du bassinnet et comporte cinq plaques d'essai permettant l'identification spécifique un groupe d'antibiotiques. (Pikkemaat *et al.*, 2007).

### 3.6.2 Méthodes Biochimiques

Sont généralement des méthodes peu fiables qui basé sur des réactions chimiques.

#### 3.6.2.1 Méthode Enzymatique (Penzym Test)

Ce test qui sert pour la détection des résidus des antibiotiques de type Bêtalactamines (test qualitatif) à la mise en évidence de ces résidus dans la viande toute en tirant parti de la propriété de l'hydroxyapatite d'adsorber les protéines à faible force ionique et à pH neutre. C'est un test enzymatique colorimétrique, basé sur l'inhibition de l'enzyme peptidase par les Bêtalactames. L'application de ce test à la détermination des antibiotiques dans la viande est entravée par la présence des pigments rouges liés à des protéines (hémoglobine, myoglobine).

#### 3.6.2.2 Méthodes Immunologiques

Il existe plusieurs sortes de tests rapides immunologiques qui détectent les résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires. Sur le marché, les immuno-essais décrits pour l'analyse des antibiotiques sont répartis principalement en 2 groupes. Il y a les tests RIA (Radio Immuno Assay) et le RRA (Radio- Recepteur Assay) et les tests ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) (Maghuin-Rogister *al*, 2001).

### 3.6.2.3 Méthodes de confirmation et de Quantification

La procédure complète pour une analyse de confirmation est coûteuse en temps, en équipements et en produits réactifs. De plus, elle nécessite un personnel formé avec un bon degré d'expertise (Reig & Toldra, 2007).

Les méthodes de confirmation sont aujourd'hui des méthodes physico-chimiques, la confirmation des échantillons positifs se fait au moyen de méthodes analytiques (Delepine *et al.*, 2002 ; Laurentie *et al.*, 2002). Principalement :

#### a. La chromatographie liquide haute performance (HPLC)

La chromatographie liquide à haute performance consiste à exploiter les interactions des solutés avec deux phases l'une mobile et l'autre stationnaire sous haute pression.

Le mode de fonctionnement de la HPLC est largement décrit. Ainsi, à un instant donné, le mélange à séparer est injecté à l'entrée de la colonne, et se trouve entraîné par la phase mobile. Les constituants du mélange sont ensuite recueillis et identifiés en fonction de leurs vitesses d'adsorption et de désorption.

La chromatographie aboutit à un tracé représentatif de constituant (pic) en fonction de leur temps de rétention à la sortie de la colonne : c'est un chromatogramme (Panaiva, 2006).



Figure 3.2: Chromatographie HPLC (Hadeif, 2009).

## Chapitre 4

### Matériel & Méthodes

#### 4.1. Rappel sur les objectifs

Cette étude s'inscrit dans le cadre de contrôle de la qualité des aliments d'origine animale destinés à la consommation humaine. La démarche a débuté par le traitement des animaux sains (poulet de chair) par un médicament formé de deux antibiotiques (néomycine + oxytétracycline), ensuite, la première analyse a été effectuée 24h après la fin du traitement, tandis que la deuxième est faite 24h après la fin de délai d'attente (14 jours) dont l'objectif est de vérifier par deux méthodes (screening et Premi®Test) la présence ou l'absence de ce médicament dans la chair des poulets avant et après la cuisson.

#### 4.2. Matériels Animal

##### 4.2.1. Sélection des animaux

À partir d'un bâtiment d'élevage des poulets de chair, nous avons sélectionné 15 sujets sains avec un poids vif moyen de 15 kg et un âge moyen de 36 jours. Ces derniers sont ensuite séparés aux autres animaux mais dans le même bâtiment pour garder les mêmes conditions d'élevage. Les animaux ont été choisis aléatoirement sur la totalité d'un effectif de 2000 têtes.

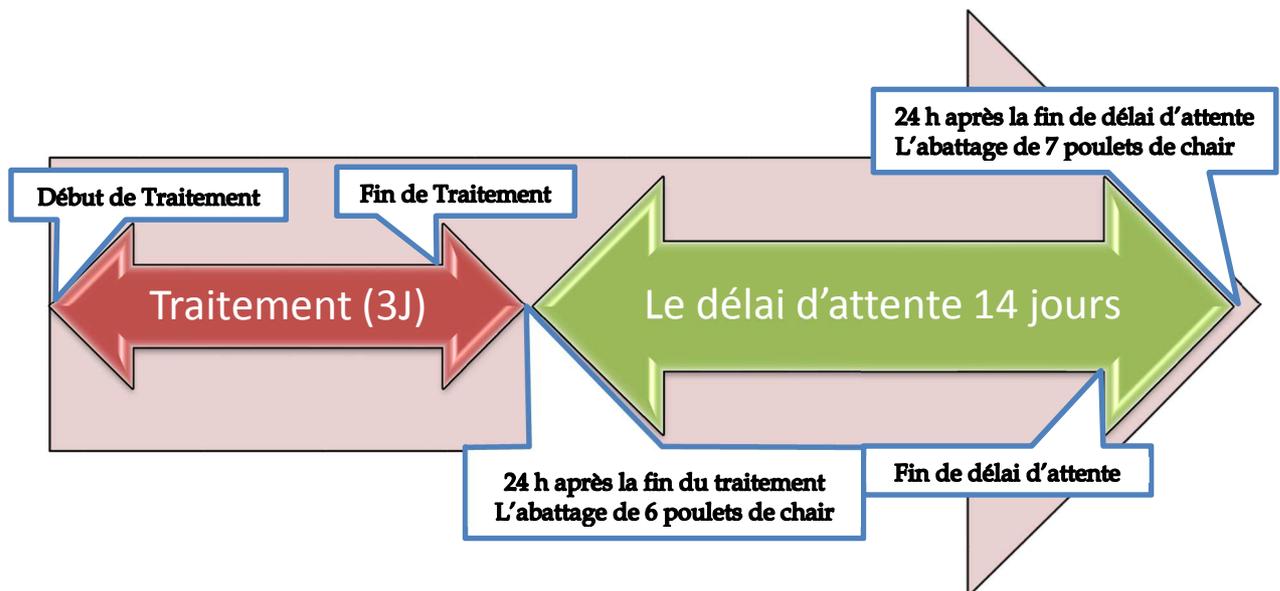


Figure 4.1 : Site d'étude (1) et le groupe des animaux sélectionnés (2)

### 4.2.2. Conduite des animaux

Pour vérifier notre hypothèse, nous avons choisi un médicament vétérinaire composé de deux molécules d'antibiotiques qui sont : l'Oxytétracycline et la Néomycine, et un complexe vitaminique (**Annexe A**).

Ce médicament a été administré pendant trois jours successifs avec une posologie de 0,4 g pour un kg de poids vif par voie orale selon le mode d'administration mentionné dans la notice.



*Figure 4.2 : Schéma représente le déroulement de traitement et le mode d'échantillonnage au début et en fin de l'étude.*

### 4.3. Matériel biologique

La vérification de la présence des résidus des antibiotiques dans la viande par la méthode de référence de la norme algérienne (NA 2821, 1992) qui utilise la technique de quatre boites a recommandé l'utilisation des souches des références American Type Culture Collection (ATCC) (**Tableau 4.1**).

**Tableau 4.1:** Codes des souches bactériennes de références utilisées.

Souche bactérienne	ATCC
<i>Bacillus subtilis</i>	6633
<i>Micrococcus luteus</i>	9341

### 4.3.1. Caractéristiques des souches bactériennes

#### 4.3.1.1. Préparation de pré-culture

À partir des tubes inclinés des souches bactériennes, nous avons préparé des cultures jeunes, les bactéries sont inoculées dans le bouillon nutritif et incubé à 37°C pendant 18 à 24h, ensuite, les boîtes de Pétri coulées avec de gélose nutritive sontensemencées avec l'inoculum des cultures jeunes et incubées à 37°C pendant 18 à 24h.

#### 4.3.1.2. Coloration de gram

La morphologie, l'arrangement des cellules et le type pariétal des isolats sont déterminés sur des cultures jeunes par la technique de coloration de Gram (1884) à l'aide d'un microscope optique. Le mode opératoire a consisté à :

- Réaliser un frottis et le fixer avec la chaleur à la proximité d'un bec bunsen ;
- Colorer avec violet de gentiane durant une minute ;
- Rincer à l'eau du robinet ;
- Recouvrir la lame par le Lugol 1 minute (réactif iodo-ioduré qui accentue la coloration) ;
- Rincer à nouveau avec l'eau du robinet
- Plonger 3 ou 4 fois à une demi-seconde dans un pot d'alcool puis rincer à l'eau du robinet immédiatement. Les bactéries Gram négative sont alcoolo-sensibles et sont donc décolorées. La paroi des Gram positive ne laisse pas passer l'alcool et sont dites alcoolo-résistantes et restent colorées en violet.
- Réaliser une contre coloration à l'aide de la Fuchsine ou de safranine pendant une minute. Toutes les bactéries prennent le colorant mais le violet masque la fuchsine. Les « Gram positives » apparaissent donc violettes, les « Gram négatives », recolorées par la fuchsine, apparaissent roses.
- Rincer à l'eau du robinet et sécher entre deux feuilles de papier absorbant. Observer à l'objectif 100 à immersion, à pleine lumière.

#### 4.3.1.3. Antibiogramme

L'antibiogramme a pour but de déterminer la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) d'une souche bactérienne vis-à-vis de divers antibiotiques. Il ya trois catégories

cliniques ont été retenues pour l'interprétation des résultats des tests de sensibilité in vitro : Sensible (S) Résistant (R) et Intermédiaire (I) (CASFM, 2016). Le protocole consisté à :

- Liquifier le milieu de Muller-Hinton dans le bain marie à 95°C ;
- Coller dans 4 boîtes Pétri après un refroidissement à 45°C ;
- Ensemencer séparément par la technique de l'inondation les deux souches bactériennes : *Bacillus subtilis* et *Micrococcus luteus*, à l'aide d'un écouvillon stérile ;
- Diposer les disques antibiotiques (**Annexe A**) maximum 6 dans chaque boîte ;
- Incuber les boîtes à 30°C pour *Bacillus subtilis* et à 37°C *Micrococcus luteus* pendant 24 h.

## 4.4. Méthodes d'analyses

### 4.4.1. Mode de traitement des échantillons

#### a. Prélèvement I (24 H après la fin du traitement)

À la fin de la prise du médicament par les animaux sélectionnés et après une durée de 24h, six animaux sont abattus et expédiés directement au laboratoire de microbiologie de l'université de Saida.

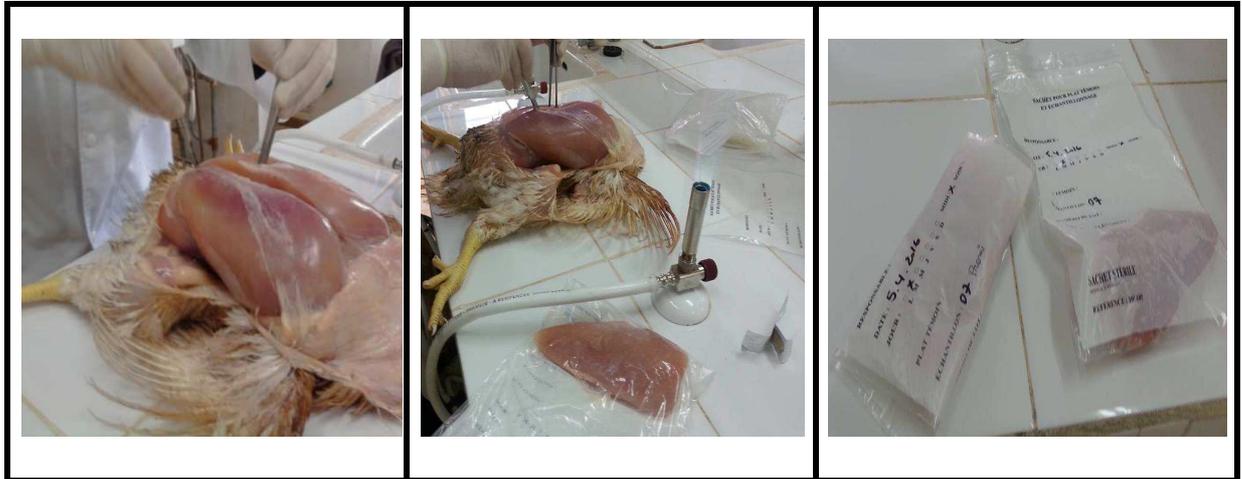
À l'aide d'un matériel propre et stérile et dans une zone d'asepsie, les cadavres ont subi un prétraitement qui a débuté par un nettoyage de la surface ventrale de l'animal, ensuite les plumes et la peau qui couvrent cette surface ont été éliminés.

La partie thoracique représente le site privilégié pour le prélèvement des muscles en vue la réalisation de cette étude. Après la dessiccation des muscles qui couvrent la cage thoracique à l'aide d'un bistouri stérile, nous avons prélevé deux échantillons : l'un sert à l'analyse par la technique de Premi®Test et l'autre pour la réalisation de la méthode de quatre boîtes (*Figure 4.3*).

Chaque échantillon est emballé dans un sachet stérile, étiqueté (numéro de l'échantillon, la date, traités ou après délai d'attente, etc.) et stocké dans congélateur réglé à -18°C jusqu'à le jour d'analyse.

### b. Prélèvement II (24h après la fin du délai d'attente)

Les mêmes mesures et les conditions qui ont été prises pour le premier prélèvement sont appliqués aussi pour les échantillons prélevés 24h après la fin du délai d'attente.



*Figure 4.3 : Prélèvement des échantillons (24 h après la fin de traitement et 24h de la fin du délai d'attente)*

### 4.4.2. La méthode des quatre boîtes

La technique employée dans la présente étude, est la méthode officielle de la norme Algérienne (NA 2821, 1992) pour la « détection des résidus de substances à activité antibiotiques dans le muscle ».

#### a. Principe

Une carotte de diamètre 8 mm et de longueur de 2 cm est extraite par un emporte pièces sur un échantillon déjà congelé. Chaque carotte est découpée en huit petits disques. Ces derniers ont déposé deux par deux (en opposition) sur quatre boîtes de Pétri contenant un milieu de culture et un germe. Si le disque de viande contient au préalable un ou des résidus d'antibiotiques, ces derniers vont migrer dans le milieu de cultures et inhibant la croissance du germe autour du disque de viande. Un disque d'antibiotique de contrôle est placé au milieu.

La combinaison germe-milieu de culture permet de détecter les quatre familles d'antibiotiques suivantes : les bêta-Lactamines et les macrolides ; les bêta-Lactamines et les tétracyclines ; Sulfamides et enfin les aminosides.

## b. Mode opératoire

### b.1. Préparation des milieux de culture

Les pH des milieux de culture « **Annexe B** » préparés, ont été ajusté à trois pH (6 ; 7,2 et 8) à l'aide d'une solution de HCl (0.1N) et NaOH (0.1N), ensuite, ils ont stérilisé par autoclavage pendant 20 minutes à 121°C.

### b.2. Préparation de culture sporale de *Bacillus subtilis*

#### ▪ Sporulation

La sporulation de *Bacillus subtilis* a consisté de remplir de 300 ml du milieu de sporulation (**Annexe B**) dans un Erlenmyer a bouchon puis l'autoclaver à 121°C pendant 20 min.

Le lendemain, 1 ml d'une culture jeune *Bacillus subtilis* a étéensemencé en striés sur la surface de milieu incline dans l'Erlenmyer puis fermer le et incubé à 30°C pendant 10 jours.

#### ▪ Récupération des spores

Les spores bactériennes de *Bacillus subtilis* ont été récupéré après un rinçage avec 25 ml d'une solution stérilise de chlorure du sodium (NaCl 0.8 %) à deux reprise. La suspension sporale récupérée après le rinçage est répartie en 5 tubes de 10ml puis centrifuger à 3000 tpm pendant 10 min. À la fin de cette centrifugation le surnagent est éliminé, ensuite, 10 ml de la même solution est rajouté aux tubes et recentrifuger (3000 tpm pendant 10 min).

Le surnagent obtenu de la deuxième centrifugation est éliminé. tandis que , le sédiment en suspension est remis dans solution de NaCl (0.8%) puis chauffé dans un bain marie à 70°C pendant 30 minutes.

La suspension sporale retenu a dilué afin d'obtenir une numération bactérienne sur une gélose nutritive de  $10^7$  spores par millilitre.

- **Test de confirmation des spores**

- **Par coloration**

Il existe plusieurs techniques de coloration des spores qui nous permis la confirmation de la récupération des spores. Nous avons choisi trois techniques afin de confirmer la présence des spores de *Bacillus subtilis* dans la culture récoltée.

- *1<sup>ère</sup> Technique*

1. Déposer une suspension sporale sur une lame contient une goutte d'eau distillée ;
2. Puis ajouter le vert de malachite (5%), et laisser le reposer pendant 45 min ;
3. Laver par l'ajout de mercurochrome pendant 2 min ;
4. Observer sous le microscope avec l'objectif (X100 par huile immersion).

- *2<sup>ème</sup> Technique*

Cette technique basée sur la combinaison de l'action de la chaleur et une forte concentration de colorant. Le protocole consistait à :

1. Réaliser un frottis et le fixer ;
2. *Coloration* : Recouvrir d'une solution de vert malachite à 5%. Chauffer jusqu'à émission de vapeurs. Laisser refroidir et chauffer à nouveau ;
3. Laver soigneusement ;
4. *Contre coloration* : Recouvrir la lame de safranine ou de mercurochrome à 5% pendant 1 minute ;
5. Laver puis sécher entre deux feuilles de papier absorbant ;
6. Observer à l'objectif 100 à immersion.

- *3<sup>ème</sup> Technique*

On peut plus simplement mettre en évidence les spores bactériennes dans les corps bactériens en faisant une coloration dite « négative ». En effet, cette fois la spore n'est pas colorée et reste donc incolore dans un corps bactérien coloré. La coloration la plus utilisée dans ce cas est la coloration au bleu de méthylène simple :

1. Réaliser un frottis et le fixer ;
2. Recouvrir la lame de bleu de méthylène phéniqué pendant 1 minute ;

3. Rincer à l'eau du robinet ;
4. Sécher entre deux feuilles de papier absorbant ;
5. Observer à l'objectif 100 à immersion.

### b.3. Préparation de culture jeune de *Micrococcus luteus*

La préparation de la suspension de *Micrococcus luteus* se fait par ensemencement sur un bouillon cerveau-cœur et incubation à 37°C pendant 24 heures. Des cultures fraîches ont été nécessaires pour chaque analyse.

### b.4. Préparation des quatre boîtes de Screening

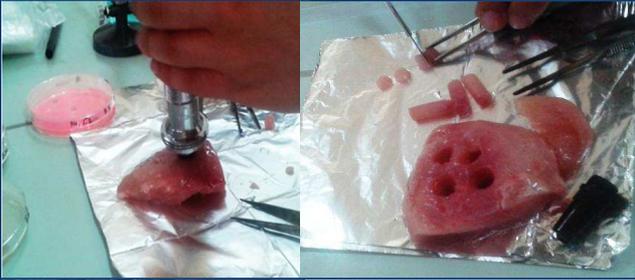
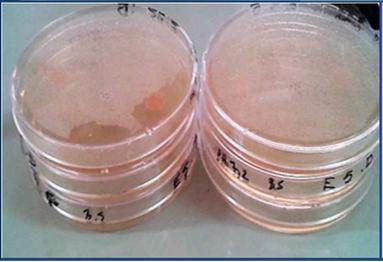
Nous avons ensemencé en masse les milieux de culture (b.1) avec la suspension de *Bacillus subtilis* pour les milieux à pH 6 ; 7.2 et 8, et de *Micrococcus luteus* pour le milieu à pH 8.

Tableau 4.2 : Les familles d'antibiotiques détecté par chaque type de boîte

Germe	<i>Bacillus subtilis</i>			<i>Micrococcus luteus</i>
N° de la boîte	01	02	03	04
Milieu	à pH 6	à pH 7,2	à pH 8	à pH 8
Orientation	Bêtalactamines ou tétracyclines	Sulfamides	Aminosides	Bêtalactamines et Macrolides

### c. Préparation des échantillons

Le jour de l'analyse, les échantillons ont subi une décongélation à la température ambiante. Le mode opératoire est recapitalisé dans le tableau suivant :

Figure	Démarche
	<p>L'emporte-pièce a été enfoncé dans la masse musculaire pour prélever une carotte cylindrique de 8 mm de diamètre et d'environ 2 cm de long.</p>
	<p>À l'aide d'un bistouri stérile, des rondelles de viande de 2 mm d'épaisseur ont été découpées.</p>
	<p>Placer 2 rondelles en positions diamétralement opposées sur chacune des 4 boîtes d'essai en utilisant des pinces stériles.</p>
	<p>Déposer au centre des boites de Pétri de <i>Bacillus subtilis</i> : Un disque de contrôle de l'Oxytétracycline à pH 6 et un disque de la Néomycine dans la boîte à pH 8.</p>
	<p>Incuber les trois boitesensemencées par <i>Bacillus subtilis</i> dans une étuve réglée à 30°C et à 37°C la boîte de <i>Micrococcus luteus</i> pendant 24h.</p>

**NB :** Deux répétitions ont été effectuées, pour le même échantillon de poulet.

➔ **Lecture des résultats**

Pour chacune des quatre boîtes, est considérée comme positive, les échantillons de viande donnant des zones d'inhibition dont la taille de la zone annulaire est au moins égale à 2 mm

Il est très important de recommencer l'essai chaque fois que le résultat semble douteux (pour un même échantillon une rondelle étant positive et l'autre négative, colonies éparses dans la zone d'inhibition, contaminations, etc.). Si le second résultat n'est pas considéré comme positif, le résultat douteux doit être considéré comme négatif.

#### 4.4.3. Méthode de Premi®Test

Le test Premi®Test (**R-Biopharm, France**) permet de détecter les substances antimicrobiennes présentes dans la viande fraîche, la charcuterie, les reins, le poisson et les œufs. C'est un test à large spectre, qui permet de détecter un grand nombre d'antibiotiques couramment utilisés pour la viande en moins de 4 heures, sur du jus de viande (extrait par pressage d'un morceau de viande).

Le kit Premi®Test est composé de 25 ampoules, une seringue de 0.1ml, des embouts stériles et un emballage adhésifs pour fermer les ampoules.



Figure 4.4 : Le kit de Premi®Test

##### a. Principe

Le Premi®Test est basé sur l'inhibition de la croissance du *Bacillus stearothermophilus*, bactérie très sensible à des nombreux antibiotiques et aux sulfamides. Des spores standardisées sont incluses dans une gélose qui contenait des nutriments pour leur croissance et un indicateur coloré, le pourpre de bromocrésol.

En l'absence d'antibiotiques, les spores germent et se développent, entraînant l'acidification du milieu et un changement de couleur. En présence d'antibiotiques, les spores ne se développent pas, elles sont inhibées par l'antibiotique.

## b. Mode opératoire

	a. <b>Décongélation</b> : les échantillons sont décongelés à la température ambiante pendant 20 min.
	b. Après la décongélation, l'échantillon est divisé en deux morceaux, l'un est analysé à l'état cru et l'autre est testé après une cuisson au bain marie à 80°C pendant 45 min.
	c. Chaque morceau cru est coupé en petits morceaux, environ de 2 à 3cm <sup>3</sup> , ensuite 250 µl de jus de viande expressible est récupéré. Pour les morceaux cuits, nous avons prélevés directement le jus relargué.
	d. Les ampoules ont été coupées, par une paire de ciseaux attentivement pour ne pas endommager l'emballage métallique.
	e. 100 µl de jus récupéré de viande ont été transvasés lentement à l'aide d'une seringue de 0.1ml dans l'ampoule.
	f. Laisser reposer à température ambiante pendant 20 minutes pour la prédiffusion.

	<p>g. Le jus de viande a été évacué, et les ampoules ont été lavé à deux reprise par l'eau déminéralisée.</p>
	<p>h. Les ampoules de test ont été fermé par l'emballage fourni pour éviter l'évaporation ;</p>
	<p>i. Les ampoules on été incubés dans un bain marie réglé à 64°C pendant 3h.</p>
	<p>j. Lecture des résultats</p>

### c. Lecture des résultats

La lecture des résultats obtenus « Positif/Négatif » a été réalisée à l'aide d'un modèle coloré livré avec le kit : Si la couleur de l'échantillon a viré nettement du violet au jaune, cela signifie que la quantité de composés antimicrobiens se situe au-delà de la limite de détection du Premi®Test. Inversement, en présence d'un antibiotique, une couleur violette indique un taux d'antibiotiques supérieur ou égal à la limite de détection du test.

- **Analyse statistique**

Dans cette étude, le calcul des moyennes est réalisé à l'aide d'un logiciel SPSS, 22.

## Chapitre 05

### Résultats & Discussion

#### 5.1. Résultats des tests de confirmation

##### 5.1.1. Coloration de Gram

La (figure 5.1 (a)) a montré les formes bacilles avec les extrémités arrondies et une coloration violettes, ces cellules sont disposées en amas et en chaînettes caractérisant les *Bacillus subtilis* a Gram positifs. Dans la même figure et à droite (b), les *Micrococcus luteus* ont paru après une coloration de Gram sous forme sphériques (des coques) avec une coloration violettes, ces cellules ont associé en 2 ou 4, et en grappes ce qui confirme leur coloration de Gram positif (+) et leurs aspects microscopiques.

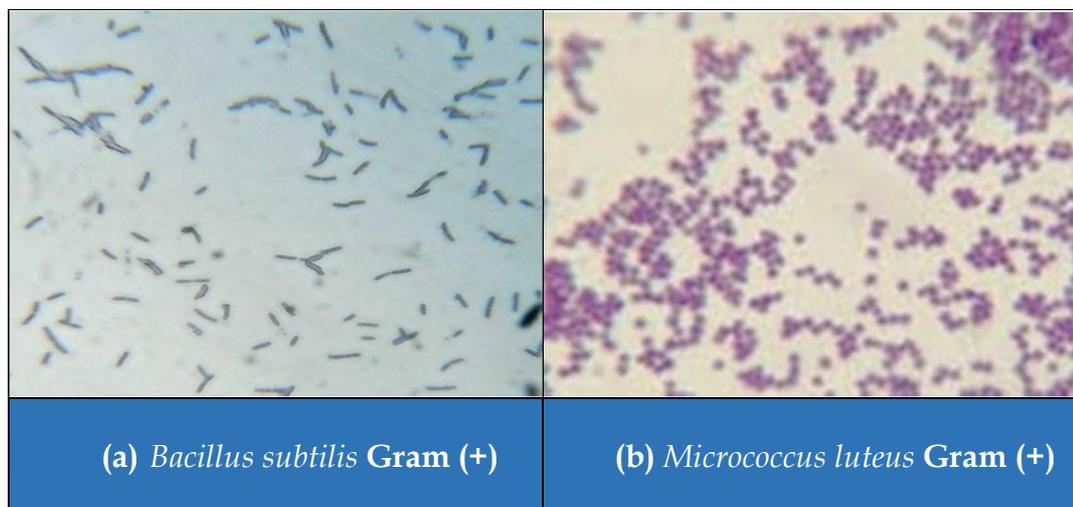
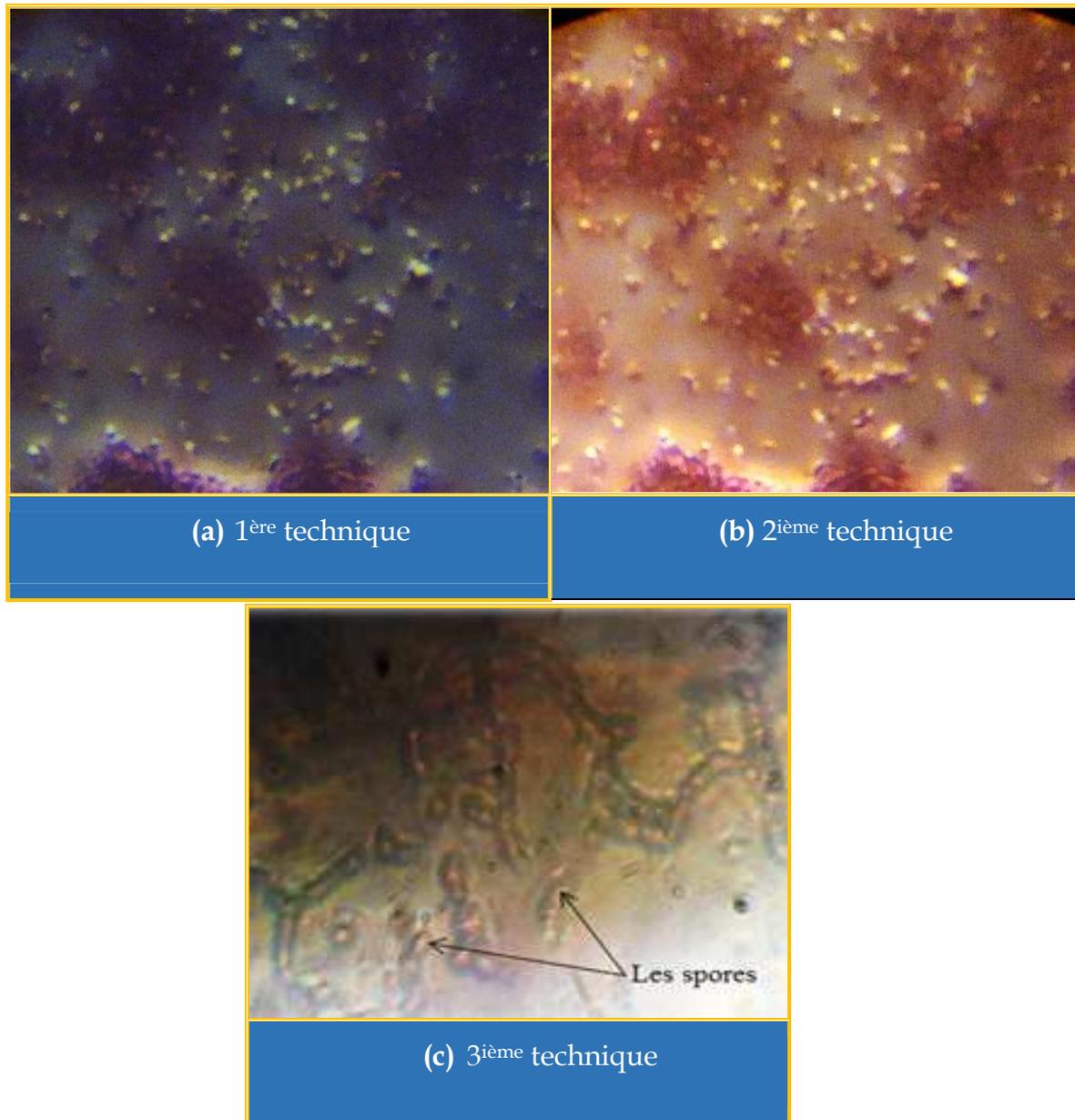


Figure 5.1 : Coloration de Gram des souches bactériennes testées, observés à grossissement (X100).

##### 5.1.2. Coloration des spores

Les figures ci-dessous ont présenté les résultats de la coloration des spores de *Bacillus subtilis*. Les deux premières techniques (a & b) utilisées ont montré les spores sous forme des corps ronds avec une coloration verte fluorescente, selon (Fritze, 2004 ; Pauline, 2013) ces résultats caractérisant les spores de *B. Subtilis*.

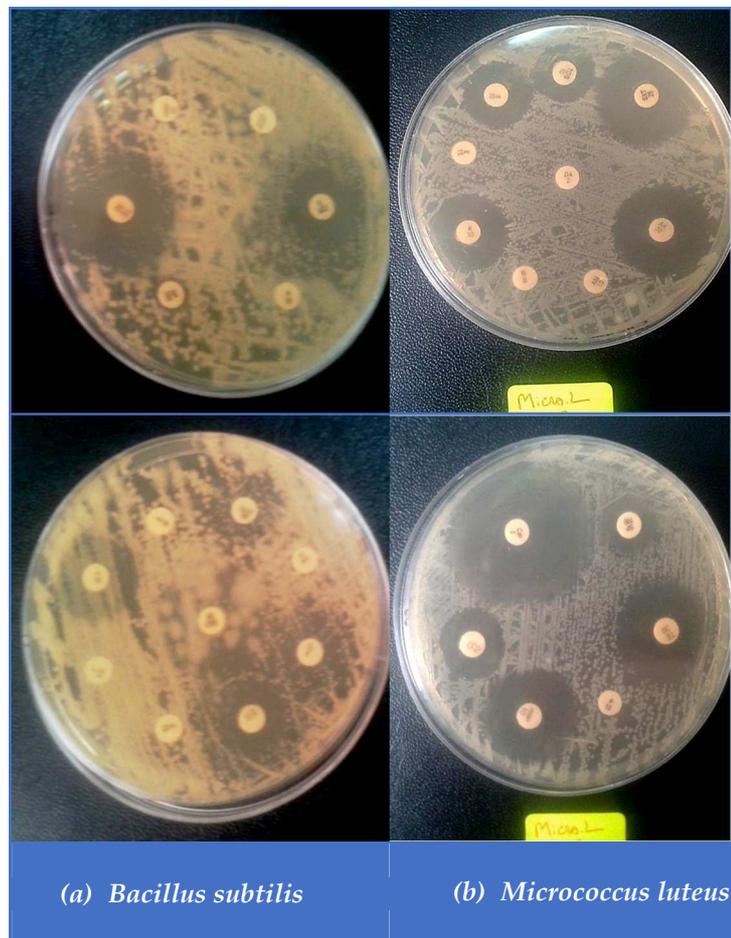
Pour la 3<sup>ème</sup> technique (c) les spores apparaissent se forme des formes rondes dans les bacilles, selon (Ralph & Ernest, 2006). Ces formes présentent les spores de *B. Subtilis* et donc les résultats confirment que nous avons récupérés les spores et confirment aussi la pureté de la souche *B. Subtilis* utilisée.



*Figure 5.2 : Résultats de la Coloration des spores de Bacillus subtilis*

### 5.1.3. Antibiogramme

Les résultats de la sensibilité ou de la résistance des souches bactériennes de références testés vis-à-vis une nombreuse famille d'antibiotiques ont présenté dans la **figure 5.3** et dans le **tableau 5.1**.



**Figure 5.3 :** L'antibiogramme des souches bactériennes testées.

Ce test nous permettant de connaître la capacité de réponse des bactéries aux antibiotiques. Cette réponse est variée d'une bactérie à une autre, en effet, la Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM, 2016) a classé les bactéries selon leur sensibilité ou résistance aux antibiotiques en souche sensible (S), intermédiaire (I) et résistante (R) par rapport à la zone de l'inhibition. Le tableau suivant montre cette classification en détail :

Tableau 5.1 : Diamètres critiques des antibiotiques utilisés (CASFM, 2016)

Antibiotiques	Diamètres critiques (mm)	
	S	R
<b>Ciproflaxine</b>	≥ 25	< 22
<b>Colistine</b>	≥ 15	< 15
<b>Ampicilline</b>	≥ 21	< 16
<b>Pénicilline</b>	≥ 29	< 18
<b>Tétracycline</b>	≥ 19	< 17
<b>Amikacine</b>	≥ 17	< 15
<b>Kanamycine</b>	≥ 17	< 15
<b>Érythromycine</b>	≥ 22	< 17
<b>Streptomycine</b>	≥ 15	< 13
<b>Tobramycine</b>	≥ 18	< 16
<b>Triméthoprim</b>	≥ 16	< 12
<b>Bacitracine</b>	≥ 15	< 15
<b>Clindamycine</b>	≥ 15	< 15

La souche *Bacillus subtilis* a présenté une sensibilité marquée aux : Tétracycline (TE30), Amikacine (AK30), Kanamycine (K30) et au Triméthoprim (SXT25), et intermédiaire à la Ciprofloxacine (CIP5), Cependant, elles ont résisté aux restes des antibiotiques utilisés notamment la Pénicilline G (P10), la Colistine (CL10) et l'Érythromycine (E15). Ces résultats et en parfaite concordance avec les communiqués de (CASFM, 2016) concernant la résistance naturelle de cette bactérie aux (P10), (CL10), et à la (E15),

Les travaux publiés de (Ezeduka & Ekene, 2014) pour leur sensibilité aux : (TE30), (AK30), (SXT25) et au (k30). Ce qui nous a permis de dire que la souche en question, c'est une souche pure et génétiquement stable (souche de référence).

Pour la *Micrococcus luteus*, et comme le montre le tableau suivant ; cette souche est très sensible aux (CIP5), (AK30), (TE30), (B8), (SXT25), (AMP10), (E15), (CL10) et à la (K30), et a résisté à l'effet antibactérien de la (P10), (DA2) et la (TOB10). Cette souche pourrait être différenciée au *Staphylococcus aureus* par leur sensibilité à la bacitracine à l'inverse des *S. aureus* qui ont naturellement résistants à ce médicament (Greenblat et al., 2004).

Selon (ANSES, 2011 ; CASFM, 2016) ce germe bactérien est très sensible au (CL10), (AMP10) et à la (E15) ce qui confirme l'ensemble des résultats que nous avons retenus.

Tableau 5.2: Présentation des résultats de l'antibiogramme de confirmation.

Disque d'ATB	<i>Bacillus subtilis</i>		<i>Micrococcus luteus</i>	
	Zone d'inhibition (mm)	Présentation	Zone d'inhibition (mm)	Présentation
CIP5	22	I	42	S
CL10	0	R	20	S
AMP10	0	R	25	S
P10	0	R	0	R
TE30	32	S	28	S
DA2	0	R	0	R
AK30	19	S	38	S
K30	20	S	24	S
E15	0	R	16	S
S10	0	R	18	S
TOB10	15	R	0	R
SXT25	18	S	28	S
B8	0	R	19	S

S : Sensible      I : Intermédiaire      R : Résistante

## 5.2. Résultats des quatre boîtes (Screening des résidus d'ATB)

### 5.2.1. Après 24h de la fin du traitement

Le tableau 5.3 montre que la totalité (100%) des échantillons de viandes testés, après 24h du traitement, pour évaluer la présence des résidus d'antibiotiques possédant des résultats positifs exprimés par des zones d'inhibitions.

Tableau 5.3 : Résultats de screening microbiologique des échantillons analysés 24h après le traitement.

Échantillon	24h Après le traitement				Disque d'ATB	
	<i>B. Subtilis</i>			<i>M. Luteus</i>	NEO 30 UI/D*	OTC 30 Mcg/D**
	pH 6	pH 7,2	pH 8	pH 8		
$\bar{X} \pm E.S$ (mm)	19,75±0,50	--	20,00±0,62	20,46±0,73	21,5±1,31	20,33±0,33

$\bar{X} \pm E.S$  : Moyenne ± l'erreur standard

\*UI/D : Unité international par disque

\*\*Mcg/D : Microgramme par disque

Les boîtes à pH 6 de *B.subtilis*, ont révélé des zones d'inhibitions de diamètre moyenne (19,75±0,50mm) et (Min-Max : 17,50 - 21,25), cette valeur est comparable au diamètre observé (20,33±0,33 mm) pour les disques témoins de l'Oxytétracycline (OTC) dans les mêmes biotes. Selon la norme algérienne (NA 2821, 1992) tous les échantillons possédant un diamètre supérieure ou égale à 2 mm sont considérés

contaminés d'un point de vue hygiénique et impropre à la consommation. Ce résultat est paru logique, puisque les échantillons ont été prélevé 24h après le traitement.

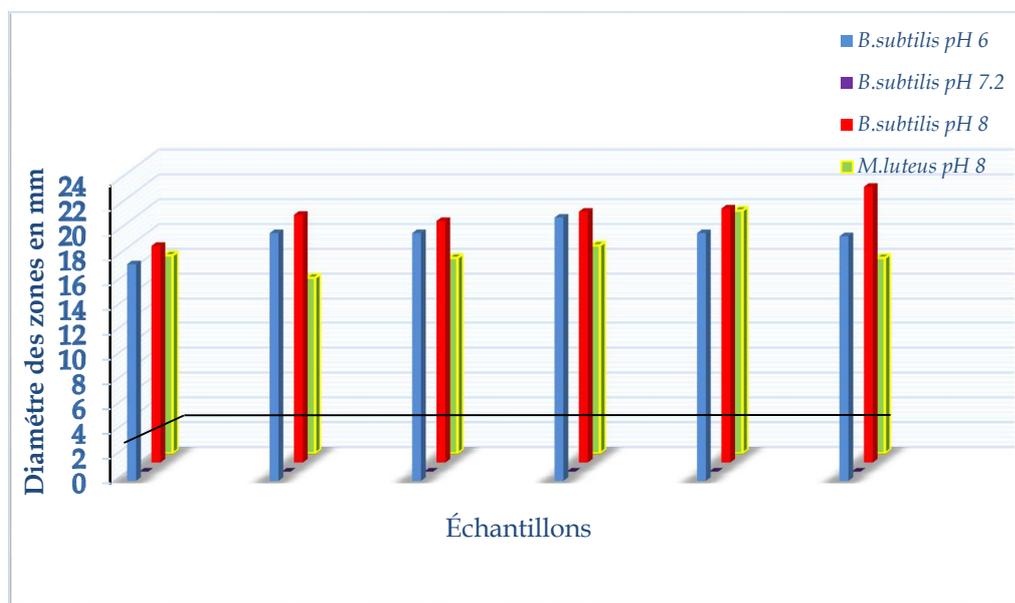


Figure 5.4 : Histogramme des résultats des 6 échantillons après 24 H de traitement.

Pour les boîtes à pH 7,2 de *B. subtilis* aucune zone d'inhibition n'a été observée pour tous les échantillons analysés. L'usage de cette bactérie à ce pH a pour objectif de révéler la présence des sulfamides. Donc, ce résultat confirme l'absence de contamination de nos échantillons des viandes par ces médicaments.

La croissance de *B. subtilis* à pH8, est inhibée autour des disques des viandes disposés dans les boites (20,00±0,62). Dans la même analyse les disques témoins de la Néomycine (NEO) ont présenté des zones d'inhibition de (21,5±1,31mm). L'effet antibactérien qui était observé dans ces boites témoignant de la présence préalable des aminosides (Néomycine) dans la viande analysé.

Nous avons surpris par l'observation des zones d'inhibition (20,46±0,73mm) autour des disques des viandes dans la boite à pH8 de *M. luteus*, cette dernière est utilisée dans la recherche des résidus des antibiotiques pour révéler la présence des macrolides et/ou Bêtalactamines selon la NA 2821, (1992) et les études de (Pikkemaat et al., 2009 ; Pikkemaat et al., 2010 ; Ezeduka & Ekene, 2014).

Cette présence inattendue pourrait-être expliquée par l'incorporation des antibiotiques dans l'alimentation autant que promoteurs de croissance.

### 5.2.2. Après 24h de la fin du délai d'attente

Nous avons enregistré la présence des résidus des antibiotiques dans nos échantillons (**tableau 5.4 & figure 5.5**) testés même après 24h de la fin du délai d'attente. Il faut rappeler que les tests de screening microbiologiques, ce sont des techniques qualitatives (présence ou absence) et n'ont permettant pas de juger d'une façon réglementaire la salubrité d'une viande. En effet, l'élimination d'une viande contaminée de la consommation est faite appel à la LMRs, cette dernière est fixée par le JORADP, N°74, 2014.

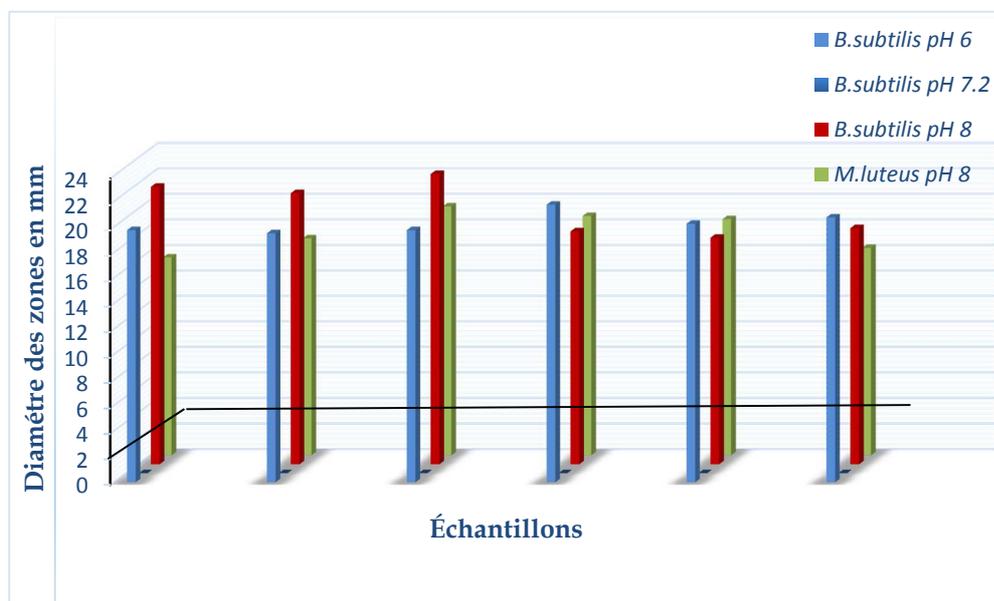
*Tableau 5.4 : Résultats de screening microbiologique des échantillons analysés 24h après la fin du délai d'attente.*

Échantillon	24h Après la fin du délai d'attente				Disques d'ATB	
	<i>B. Subtilis</i>			<i>M. Luteus</i>	NEO 30 UI/D	OTC 30 Mcg/D
	pH 6	pH7, 2	pH 8	pH 8		
$\bar{X} \pm E.S$	20,29±0,34	--	20,04±0,86	17,58±0,64	19,5	19

$\bar{X} \pm E.S$  : Moyenne±l'erreur standard.

\*UI /D Unité international par disque

\*\*Mcg /D : Microgramme par disque.



*Figure 5.5 : Histogramme des résultats des 6 échantillons après 24 H de délai d'attente.*

D'après les deux histogrammes présentés dans la **Figure 5.4** et la **Figure 5.5**, les échantillons analysés soit avant ou après la fin de délai d'attente ont montré des diamètres des zones d'inhibitions presque similaires. En effet, les différences

enregistrés entre les boîtes de *B.subtilis* à pH 6 et à pH 8 est de (0,54 ; 0,04mm respectivement). Selon l'étude de **Kilinc et al. (2007)**, il y a une forte corrélation entre le diamètre d'une zone d'inhibition et la concentration d'un antibiotique dans l'aliment ce qui permet aussi d'estimer le niveau de la contamination.

### 5.3. Résultats du Premi®Test

#### 5.3.1. Après 24h de la fin du traitement

Le **tableau 5.5** montre que tous les échantillons après 24H de traitement ont présenté des résultats positifs avant et après cuisson.

*Tableau 5.5 : Résultats des échantillons testés par le Premi®Test 24 h de la fin du traitement.*

Analyse		Échantillons						%
		1	2	3	4	5	6	
Après 24 h de la fin du traitement	Avant cuisson	+	+	+	+	+	+	100
	Après cuisson	+	+	+	+	+	+	100

Les résultats positifs par ce test sont exprimés par l'inhibition de la croissance du *Bacillus stearothermophilus*, témoignant que les échantillons analysés 24h après le traitement soient avant ou après la cuisson (80 °C pendant 40min) ont toujours contient des résidus des antibiotiques. Selon le fabricant de ce kit **R-Biopharm, (2011)**, un résultat positif a indiqué que les viandes possédant une concentration égale ou supérieur LMRs décrites par l'OMS.

L'effet de la température de cuisson sur les antibiotiques utilisés dans cette expérimentation (Oxytétracycline & Néomycine) a paru nul. De ce fait, ce résultat est en parfaite concordance avec les travaux de **(Ibrahim & Moats, 1994 ; Moats, 1999)** qui ont révélé que les méthodes de cuisson ordinaires ne sont pas capables de dégradés complètement les résidus de l'OTC. En plus, une cuisson ordinaire même si elle est bien faite, elle reste incapable réellement d'inactiver même pas les antibiotiques thermosensibles comme la Pénicilline. À un traitement thermal à 121°C

(Traub & Leonhard, 1995) n’ont observé qu’un léger changement dans la bio-activité tous les aminoglycosides (néomycine).

Selon (Hsieh *et al.*, 2011 ; Abou *et al.*, 2013) les résidus de l’OTC sont instables durant la cuisson dans la viande des poulets. En effet, la dégradation de ces molécules dans la viande dépend du type de matrice de viande et la méthode de cuisson, la présence des graisses dans la composition de la matrice peut augmenter la réduction des résidus pendant le traitement thermal, beaucoup plus chez les porcs que dans les volailles, et plus important si en utilisant la microonde que par la cuisson dans l’eau bouillante (Gratacos *et al.*, 2007 ; Nguyen *et al.*, 2015). Il évidant de dire que la température de cuisson dans les matrices solides ne reflète pas la température actuelle exposé sur les antibiotiques parce qu’elle n’est pas homogène sur toute la matrice cuite (Lei *et al.*, 2016), les mêmes auteurs ont montré aussi que la matrice, le pH, le temps et la température de cuisson agissent d’une façon significative sur la dégradation des résidus d’antibiotiques dans la viande cuite.

### 5.3.2. Après 24h de la fin du délai d’attente

Le **tableau 5.6** montre des résultats négatifs pour la recherche des résidus des antibiotiques dans les échantillons des viandes crues analysés 24h après la fin du délai d’attente. À l’inverse, nous avons noté des résultats positifs pour les mêmes échantillons analysés mais après la cuisson.

*Tableau 5.6 : Résultats des échantillons testés par le Premi®Test 24 h de la fin du délai d’attente.*

Analyse		Échantillons						%
		1	2	3	4	5	6	
Après 24 h de la fin du délai d’attente	Avant cuisson	-	-	-	-	-	-	0
	Après cuisson	+	+	+	+	+	+	100

L’absence des résidus de l’Oxytétracycline et de la Néomycine dans la chair crue du poulet analysée 24h après de la fin du délai d’attente est justifiable. En effet, le fabricant de ce médicament, indique sur leur notice un délai d’attente de 14jours, donc

il est légitime d'observer des résultats négatifs suite à l'analyse de ces échantillons dans le 15<sup>ième</sup> jour après le traitement. Néanmoins, nous avons étonné par des résultats entièrement positifs (100%), après l'analyse des viandes cuites atteintes leurs délai d'attente et un jour en plus, cette présence de ces résidus pourrait être expliquer par l'effet de la chaleur sur la stabilité de la structure cellulaire de la matrice, car selon les travaux de **Boucher *et al.*, (2009)**, presque similaire à notre étude, qui a observé des résultats différentes entre les mêmes échantillons analysés en utilisant des jus de viande extraite à l'effet de la température ambiante et après passage au bain marie, ces dernières ont marqué par la présence des résidus, tandis que les premiers ont montré des résultats négatifs.

## Conclusion & Perspectives

Les traitements par les antibiotiques en médecine vétérinaire sont souvent mis en œuvre de manière probabiliste en dehors de toute documentation bactériologique (loin des laboratoires de diagnostic), ce qui impose de déclencher la sonnette d'alarme, notamment si l'on considère qu'un usage mal raisonné de ces molécules peut constituer un risque pour la santé humaine.

Les résidus d'antibiotiques dans les aliments d'origine animale est préoccupante en raison des risques toxicologiques pour le consommateur et du risque de non-conformité aux exigences réglementaires lors d'échanges commerciaux.

À la lumière des principaux résultats retenus de notre étude expérimentale, l'usage de la méthode algérienne de référence (méthode de quatre boîtes) pour la détection des résidus d'antibiotiques dans la chair du poulet a révélé que l'ensemble des échantillons qui ont été analysés avant et après le délai d'attente sont contaminés par les résidus des deux antibiotiques (Oxytétracycline et Néomycine) qui ont utilisé au départ pour traiter les animaux utilisés dans cette enquête. Néanmoins, cette technique qualitative reste insuffisante pour juger la viande propre ou non à la consommation. De ce fait, le recours à une autre méthode quantitative est inéluctable, c'est pour cette raison que nous avons vérifié cette analyse par une méthode semi-quantitative Premi®Test, ce test a normalisé d'une façon de montrer des résultats positifs seulement dès que la quantité d'un résidu d'antibiotique dépasse le LMRs indiqué par L'OMS, donc chaque échantillon dessus cette valeur est obligatoirement exclue de la chaîne alimentaire.

L'estimation de contamination des produits alimentaires par les résidus des antibiotiques est faite dans la plupart du temps sur la viande crue, alors que, cette dernière ne pourra être consommée qu'après une cuisson adéquate. Donc il est impérieux d'évaluer la présence ou l'absence de ces substances toxiques sur des aliments prêts à consommer. En effet, les modes des préparations culinaires des produits alimentaires peuvent être changés l'équation. La cuisson domestique induit une désintégration de la structure myofibrillaires causée par l'effet de la chaleur ce

qui traduit par la libération des résidus emprisonnés dans le contenu intracellulaire au milieu extérieur et augmente leurs concentrations dans le jus experssible.

Nous percevons ce travail comme une étude préliminaire sur la qualité hygiénique des viandes blanches et nous envisagerons de :

- Compléter par des analyse plus pertinentes (HPLC/SM) ;
- Revérifier le délai d'attente de certains médicaments vétérinaires commercialisés ;
- Sensibiliser les opérateurs sur les doses à administrer et les délais d'attente avant l'abattage paraît indispensable. Pour ce faire, il semble possible de s'inspirer de la filière aviaire.
- Mettre en place un plan de surveillance permanent de la qualité des viandes.
- Limiter le recours aux antibiotiques, Cela est possible si en respectant les normes générales d'hygiène dans les établissements d'élevage et par l'installation des programmes de prophylaxie adéquats (vaccination, par exemple.).
- Rappeler les vétérinaires de ne prescrire des traitements antimicrobiens que sur la base des résultats de l'antibiogramme ;

Enfin, les consommateurs doivent être informés, exiger des contrôles et des produits de qualité et refuser toute pratique suspecte.

## Références bibliographiques

### A

**Abou-Raya S., S. A. R., Salama1 N.A., Emam W.H., Mehaya F.M (2013).** Effect of ordinary cooking procedures on tetracycline residues in chicken meat. *Journal of Food and Drug Analysis*. 21: 80-86.

**ADAM Y., BOUDET-DALBIN R., BRION J. D., BUXERAUD J., CASTEL J. (1992).** Traité de chimie thérapeutique. Volume 2 : Médicaments antibiotiques – Edition Médicales Internationales.

**AFNOR. (2006).** Rapport d'étude préliminaire pour la validation AFNOR du Premi Test. Code d'étude : VV. 86p.

**AFSSA. (2006).** Usage vétérinaire des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, 214p

**ALFANDARI S., BEAUCAIRE G., GUERY B., ROUSSEL-DELVALLEZ M ET LEMAITRE N. (2002).** Prescription et surveillance des antibiotiques. Edition : CSCTU: enseignements dirigés année 2002-2003.

**AMMAR AYACHI. (2010).** Épidémiologie de *Salmonella typhimurium* et *Salmonella enteritidis* dans la filière avicole Th : MédVét : Batna.

### B

**BELAID B. (1993).** Notion de zootechnie générale. Office des publications universitaires. Alger.

**BENOIT NIYIBIZI. (2012).** Etude préliminaire sur l'utilisation des antibiotiques dans les élevages de poules pondeuses de la région de Dakar et la présence de résidus d'antibiotiques dans les œufs .Thèse : Méd. Vêt., Dakar, n°21

**Berna Kilinc., Carsten Meyer., Volker Hilge. (2007).** Evaluation of the EEC four-plate test and Premi test for screening, antibiotic residues in trout (*Salmo trutta*) international *Journal of Food Science and Technology* , 42, 625–628.

**BERTHE. T, MOISAN. A, CARRIE. J. (2007).** Résidus d'antibiotiques dans les aliments, page 2-33. 1ères rencontres des Laboratoires Publics de l'Ouest.

**BOURIN. M, LIEVRE. M, ALLAIN. H. (1993).** Cours de pharmacologie, 3ème édition, chapitre médicaments anti-infectieux, page 291-307.

**C**

**CASFM. (2016).** Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, recommandations.

**CAZEAU G., CHAZEL M., JARRIGE N., SALA C., CALAVAS D ET GAY E. (2010).** Utilisation des antibiotiques par les éleveurs en filière bovine en France. In 17e Journées Rencontres Recherche Ruminants, 71–74.

**Centre d'Information des Viandes. (2014).** Tour Mattei. N°75012.

**Centre d'Information des Viandes. (2008).** N°75009.

**CERNIGLIA.E, KOTARSKIS. (2005).** Approaches in the safety evaluations of veterinary antimicrobial agents in food to determine the effects on the human intestinal micro flora. Journal of veterinary Pharmacology and Therapeutics. 28, (1), p3-20.

**CHASLUS-DANCLA E. (2003).** Les antibiotiques en élevage : état des lieux et problèmes posés. Source : INRA.

**CHATAIGNER. B ET STEVENS. A. (2005).** Investigation sur la présence de résidus d'antibiotiques dans les viandes commercialisées à Dakar (Institut Pasteur de Dakar), page 3–7, 51.

**D**

**DEHAUMONT P., MOULIN G. (2005).** Evolution du marché des médicaments vétérinaires et de leur encadrement réglementaire : conséquences sur leur disponibilité. Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France, 158, n°2, 125-136.

**DEMOLY.P, BOUSQUET.J, GODARD.P, MICHEL.B. (2000).** Actualité des allergies médicamenteuses issues des antibiotiques et médicaments antirétroviraux. Bull. Acad. Nationale Méd. 184 (4) : p761-774.

**DROGOUL C, GADOUD R, JOSEPH M, JUSSIAU R, LISBERNEY M, MANGEOL B, MONTEMAS L et TARRIT A. (2004).** Nutrition et alimentation des animaux d'élevage. Tome 2. Educagri éditions, Dijon : « 26-45»

**DUVAL J., SOUSSY C.J. (1990).** Antibiothérapie. Masson, 4ème édition.

**DZIEDZIC E. (1988).** Les résidus de médicaments vétérinaires anthelminthiques Thèse de Doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, n°99, 192pEdition DCEM, p307.

**E**

**ELOIT. M (2004).** Plan de contrôle des résidus d'antibiotiques dans les viandes d'animaux de boucherie, de volailles, de gibiers, de lapins et de poissons d'élevage, page 2.

**ENRIQUEZ B.J., BOULOUIS H.J. (1990).** Pharmacocinétique des anti-infectieux *Rec. Méd. Vét.*, 166, (3), p205-223.

**EZENDUKA, EKENE VIVIENNE. (2014).** Occurrence Of Antimicrobial Residues In Broilers in Enugu Metropolis And The Effect Of Temperature On The Concentration Of Oxytetracycline Residue. P 255. *Vet.Med .University Of Nigeria, Nsukka.*

**F**

**FABRE. J-M, PETIT. C, BOSQUET. G (2006).** Comprendre et prévenir les risques de résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale, édition 2006, page 4.

**Fagbamila I., Kabir J., Abdu P., Omeiza G., Ankeli P., Ngulukun S., Muhammad M. Umoh J. (2010).** Antimicrobial screening of commercial eggs and determination of tetracycline residue using two microbiological methods. *Int. J. Poult. Sci.*, 9 (10), 959–962.

**FEDIDA D. (1996).** Guide de l'aviculture tropicale. La Ballastière; Sanofi Santé Nutrition Animale. 117 p.

**FISCUS-MOUGEL F. (1993).** Les résidus d'antibiotiques à usage vétérinaire dans le lait et la viande Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université Claude Bernard, Lyon, n°53, 84

**FONTAINE M., CADORE J.L. (1995).** Vade-mecum du vétérinaire. Vigot, 16ème édition.

**G**

**GAUDIN V., MARIS P., FUSELIER R., RIBOUCHON J-L., CADIEU N., RAULT A. (2004).** Validation of a microbiological method: The STAR protocol, a five-plate test, for the screening of antibiotic residues in milk. *Food additif. Contamination.* 21, 422-433.

**GAUDIN. V, FABRE. J-M, RAULT. A (2006).** Validation AFNOR des méthodes alternatives d'analyse – Application à la détection des résidus d'antibiotiques et autres molécules à effet antibactérien dans les produits agroalimentaires, page 5-9. Rapport d'étude préliminaire pour la validation AFNOR du Premi Test.

**GAUTHIER. E. (2006).** Les antibiotiques : l'envers du miracle, page 1-3.

**GOGNY. M, PUYT. J-D. (2001).** Classification des Principes actifs, page 2-6. Editions le point vétérinaire.

**GONZALEZ MATEOS G. (2003).** Energy and protein requirement for poultry under heat stress. Zaragoza (Spain), 26 – 30 May 2003.

**Gratacós-Cubarsí, M., Fernandez-García, A., Picouet, P., Valero-Pamplona, A., García-Regueiro, J. A., Castellari, M. (2007).** Formation of tetracycline degradation products in chicken and pig meat under different thermal processing conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55: 4610-4616.

**GUILLEMOT. D (2006).** Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine, page 10-214.

## **H**

**HADEF LEILA. (2009).** Mémoire de magister : Optimisation Des Parametres De Detection Et De Quantification Par Chromatographie Liquide Haute Performance (Hplc) Residus D'antibiotiques Dans La Viande . Departement Des Sciences Vétérinaires El Khroub N° : 034/MAG/2009

**HORNICK J., AKOUTEY A., ISTASSE L. (2003).** Nutrition animale et bromatologie tropicales. Availablefrom INTERNET.

**HOUDA FILALI. (2016).** Laboratoire De Biochimie-Pharmacologie Chu Ibn Rochd Service De Pharmacologie-Toxicologie Fmpc.

**Hsieh M.K., Shyu C.L., Liao J.W., Franje C.A., Huang Y.J., Chang S.K., Shih P.Y. & Chou C.C. (2011).** Correlation analysis of heat stability of veterinary antibiotics by structural degradation, changes in antimicrobial activity and genotoxicity. *Vet. Med.*, 56 (6), 274–285.

**Hsieh, M. K., Shyu, C. L., Liao, J. W., Franje, C. A., Huang, Y. J., Chang, S. K., ... and Chou, C. (2011).** Correlation analysis of heat stability of veterinary antibiotics by structural degradation, changes in antimicrobial activity and genotoxicity. *Veterinarni Medicina*. 56: 274-285.

## **I**

**Ibrahim A, Moats WA. (1994).** Effect of cooking procedures on oxytetracycline residues in lab muscle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42: 2561–2563.

## **J**

**JEAN LUC GUERIN, Dominique Balloy, Didier Villate. (2011).** Maladies des volailles. Edition France Agricole GFA Éditions, pp : 71-97.

**JEON.M, KIM.J, PAENG.J, PARK.S, PAENG.R, (2008).** Biotin-avidin-mediated competitive enzyme-linked immunosorbent assay to detect residues of tetracyclines in milk. *Microchemical Journal*. 88 (1) : p26-31.

**K**

**KANTATI YENDUBE TOUGUELIGHAN. (2011).** Détection des résidus d'antibiotiques dans les viandes de bovins prélevées aux abattoirs de Dakar. Thèse : Méd. Vét., Dakar, n°15

**KLOTINS. K. (2006).** Utilisation des antibiotiques comme stimulateurs de croissance: controverse et solutions.

**KÖLBENER. P. Diserens J M, Käznig A, Jaus A, Hochstrasser K, Kaufmann A (2005).** Résidus de médicaments vétérinaires, 1ère édition, page 1-2. Manuel suisse des denrées alimentaires.

**L**

**LARBIER M. et LECLERCQ B. (1992).** Nutrition et alimentation des volailles. INRA éditions, Paris.

**LAURENTIE M., SANDERS P. (2002).** Résidus de médicaments vétérinaires et temps d'attente dans le lait *Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires*, 15, p197-201.

**LE CHAT .P (2007)** .Pharmacologie, Service de pharmacologie Université Paris-VI.p310.

**Lei Tian, Salma Khalil & Stéphane Bayen. (2016).** Effect of thermal treatments on the degradation of antibiotic residues in food, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.

**M**

**MAGHUIN-ROGISTER. G, JANOSI. A, HELBO. V, VAN PETEGHEM. C, SANDERS. E, VAN EECKHOUT. N, CORNELIS. M, JOURET. M. (2001).** Stratégie intégrée d'analyse qualitative et quantitative des résidus de substances antimicrobiennes dans les denrées alimentaires 63 -112. Rapport Final SSTC 1998-2001.

**MAILLARD R. (2002).** Antibiothérapie respiratoire .*La Dépêche Vétérinaire*, 80, p15-17

**MARIE`L G. PIKKEMAAT, SABRINA OOSTRA-VAN DIJK, JAN SCHOUTEN, MICHEL RAPALLINI, HARRY J. (2007).** Institute of Food Safety, Wageningen University and Research Centre, P.O. Box 230, 6700 AE Wageningen, The Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority, Region East, P.O Box 144, 6700 AC ,1 February 2007.

**MARTEL J.L. (1996).** Critères de choix d'un antibiotique. Epidémiologie et surveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes chez l'animal. *EPIDEM. SANTE. ANIM.*, 29, 107-120.

**MESSOMO NDJANA F. (2006).** Étude de la distribution et de la qualité des médicaments vétérinaires au Cameroun. Thèse de doctorat de l'École inter-États des sciences et médecine vétérinaires de Dakar (EISMV), Sénégal, 114 pp.

**Moats, W. A. (1999).** The effect of processing on veterinary residues in foods. In: Impact of processing on Food Safety, pp. 233-241. Springer, US.

**MOGENET L., FEDIDA D. (1998).** Rational antibiotherapy in poultryfarming. Edition : CEVA.

**MORIN. R, UHLAND. C, LEVESQUE. G. (2005).** L'utilisation des antibiotiques en pisciculture au Québec, page 6. L'AQUICOLE Vol. 9 no – 130 .

## **N**

**N'KAYA .TOBI, (2004).** Etude comparative de la présence des résidus d'antibiotiques dans les muscles de la cuisse et du bréchet du poulet de chair dans la région de Dakar. Thèse : Méd. Vét., Dakar, n°21.

**NANA G. (2000).** Les points à risque de la contamination microbiologique de la viande de poulets de chair dans la région de Dakar. Th. Méd. Vét.: Dakar; 8

**Nguyen, V., Li, C., Zhou, G. (2015).** The degradation of oxytetracycline during thermal treatments of chicken and pig meat and the toxic effects of degradation products of oxytetracycline on rats. *Journal of food science and technology.* 52: 2842-2850.

**NISHA.R. (2008).** Antibiotic residues – A global health hazard. *Vet World.* 1(12):375-7.

**Norme algérienne, NA (2821). (1992).** Viandes fraîches - Recherche des résidus de substances antimicrobiennes. Première édition : 1992 Edition et Diffusion 5.

**NOURI., (1996).** Essai d'approche des performances zootechniques de poulet de chair en Algérie (1987 – 1992). ITPE.

## **O**

**O.R.AVI.E. (Office Régional d'Aviculture de l'Est). (2004).** Contrôle sanitaire en aviculture du 11 août 2004. 25 p.

**OXOBY. M. (2002).** Etudes sur la synthèse totale des antibiotiques naturels de la famille des angucyclinones, page 3-12. Thèse de docteur en chimie organique de l'université Bordeaux I, école doctorale des sciences chimiques.

## **P**

**PANAIVA, L. (2006).** Les techniques chromatographiques orientées sur les matériaux composites. Conférence Eurocopter, pp 2-24.

**Pauline Loison. (2013).** Etude de la spore de *Bacillus subtilis* : caractérisation des structures impliquées dans sa résistance. Biotechnology. Université de Bourgogne. French.

**Pikkemaat, Mariël G., Rapallini, Michel L.B.A., Oostra-van Dijkstra Sabrina, Alexander Elferinka J.W. (2009).** Comparison of three microbial screening methods for antibiotics using routine monitoring samples. *Analytical chemical acta* 637: 298–304.

**Pikkemaat.Mariël G. (2009).** Microbial screening methods for detection of antibiotic residues in slaughter animals. *Analytical Bioanalytical Chemistry*. 395(4): 893–905.

**POULIQUEN. H ET LE BRIS. H. (2002).** Residues of antibacterial drugs in foodstuff of fish origin: risk assessment, page 676-677. *Revue Méd. Vét.*, 153, 10, 675-678.

**PUYT. J-D, GUERIN-FAUBLEE. V. (2006).** Médicaments anti-infectieux en médecine vétérinaire. Bases de l'antibiothérapie. Edition 2006, page 1-27.

## **R**

**RALPH A. SLEPECKY H., ERNEST HEMPHILL. (2006).** the Genus *Bacillus* Nonmedical, *Prokaryotes*. 4:530–562

**RAPPORT DE SYNTHESE DE L'ETUDE DE VALIDATION DU PREMI® TEST (R-BIOPHARM). (2011).** test de détection des résidus d'antibiotiques dans le muscle version 3 du 16 février 2011.

**REIG M., TOLDRA F. (2008).** Veterinary drug residues in meat: Concerns and rapid methods for detection *Meat Science*, 78, (1-2), p60-67.

**Rod D-C, Bu. L, Bédéchian . F. (2001).** La politique de santé de l'union européenne. Lettre d'information n° 2 décembre 2001, page 3-5.

## **S**

**S.BOUCHER, E.BOUSQUET, B.B.ANANAGE, J.M.FABRE, (2009).** utilisation de la Premi®Test pour la détection des résidus d'antibiotiques de la viande de lapins : choix du muscle, étude de l'effet de temps et température, comparaison des méthodes d'extraction des jus à température ambiante ou après passage au bain marie, LABOVET. France.

**S.E.P. MENSAH, O.D. KOUDANDE, P. SANDERS, M. LAURENTIE , G.A. MENSAH & F.A. (2014).** Article Résidus d'antibiotiques et denrées d'origine animale en Afrique : risques de santé publique (n° 10062014-00034-FR), volume 33 de la *Revue scientifique et technique*.

**SANDERS P. (2005).** L'antibiorésistance en médecine vétérinaire : enjeux de santé publique et de santé animale. Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France, 158, n°2, 139-145.

**SANDERS P., BOUSQUET-MELOU A., CHAUVIN C. & TOUTAIN P.L.(2011).** Utilisation des antibiotiques en élevages et enjeux de santé publique. *INRA Prod. anim.*24 (2), 199–204.

**SANON P. (2009).** Etude comparée de la valeur nutritive du maïs et du sorgho dans l'alimentation des poulets de chair. Mémoire de PFE de l'institut du développement rural, Burkina Faso : pp : 15-25.

**SAUX.MC. (2006).** Pharmacocinétique et modalité d'administration des antibiotiques. Laboratoire de Pharmacocinétique et de Pharmacie Clinique EA 525 Université V. Segalen Bordeaux 2 et Pharmacie centrale hôpital Haut -L'évêque CHU de Bordeaux. 7èmes JNI 08.06.06, p3.

**SCHWARZ S., KEHRENBURG C. (2001).** Use of antimicrobial agents in veterinary medicine and food animal production International Journal of Antimicrobial Agents, 17, (6), p431-437 3.

**SCIPPO, MAGHUIN.REGISTRER G. (2006).** Résidus et contaminants des denrées alimentaires : méthodes biologiques de dépistage, Méd.vét, pages 150-125- 130.

**STOLTZ REMI. (2008).** Les résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale évaluation et maîtrise de ce danger, Thèse pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire, n° 97,p 22-23.

**STOLTZ.B, BEHENNA.D, STOCKDILL.J. (2008).** the Biology and Chemistry of the ZoanthamineAlkaloids. Angew. Chem. Int. Ed. 47 : 2365 .

## **T**

**Traub, W. H., and Leonhard, B. (1995).** Heat stability of the antimicrobial activity of sixty-two antibacterial agents. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 35: 149-154.

## **V**

**VAN DEN BOGAARD.A, WILLEMS.R. (2002).** «Antibioticresistance of faecalenterococci in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers.» J AntimicrobChemother 49(3): 497-505.

**VELGE P., CLOECKAERT A ET BARROW P. (2005).** Emergence of *Salmonella* epidemics : the problem related to *Salmonella entericasero* type Enteritidis and multiple antibiotic resistance in other major serotypes Veterinary Research, 36 (3), 267-288.

**Z**

**ZANDITENAS M. (1999).** L'usage des antibiotiques par les vétérinaires praticiens : enjeu sanitaire et socioéconomique, conséquences pour la santé publique et évolution prévisible de la profession vétérinaire Thèse de Doctorat vétérinaire, Créteil, n°88, 124p.

**ZEGHILET NOUREDDINE. (2009)** Optimisation Des Paramètres De Détection Et De Quantification Des Résidus D'antibiotiques Dans La Viande Blanche Par Chromatographie Liquide Haute Performance (Hplc) Med. Vêt. (p) 130, Thèse de magister, Université Mentouri De Constantine.

# Les annexes

---

## Annexe A

La composition de médicament « **Néo tenaline Vitaminée** » pour 100 g :

- Oxytétracycline (s/f chlohydrate (g) )..... 5
- Néomycine (s/f sulfate (g) ).....5
- Vitamine A UI) .....1100 000
- Vitamine D3 (UI).....110 000
- Vitamine E (UI).....60
- Vitamine B2 (mg).....240
- Vitamine B12 (mg).....0.2
- Vitamine pp (mg).....800
- Calcium panthénate (mg).....400
- Vitamine k3 (mg).....70
- Exipient (g).....100

- Délais D'attente : 14 jours
- Posologie : 0.4 g/ kg de poids vif     $15 \times 0.4 \text{ g} = 6 \text{ g} / 1.5\text{l}$
- Durée de traitement : 3 jours
- Mode D'administration : on à deux voix soit par l'eau ou par l'alimentation, dans notre cas par l'eau

## Les annexes

---

- Tableau représente les 15 types des disques des antibiotique qu'on a les utilisées

Les Antibiotiques	Symboles
Ciprofloxacine	CIP5
Colistin	CL10
Ampicillin	AMP10
Pénicillin	P10
Tétracyclin	TE30
Clindamycin	DA2
Amikacin	AK30
Kanamycin	K30
Erythromycin	E15
Trimethprim	SxT25
Tobramycin	TOB10
Bacitracine	B8
Sterptomycin	S10
Néomycine	NEO
Oxytétracycline	OTC

# Les annexes

---

## Annexe B

➤ La composition de milieu culture de **sporulation** :

- Peptone pepsique de viande : 3 g
- Peptone pancréatique de caséine (tryptone) : 2, 5 g
- Extrait de levure déshydraté : 4 g
- Extrait de viande déshydraté : 2, 5 g
- Monohydrogène phosphate de potassium ( $K_2HPO_4$ ) : 2 g
- Sulfate de manganèse ( $MnSO_4 \cdot H_2O$ ) : 10 mg
- Agar-agar en poudre (selon les propriétés gélifiantes) 12 à 18 g
- Eau : 1000 ml

➤ la composition des milieux de culture a différent pH:

### **Antibiotic assay n°08**

- Peptic digest of animal tissue.....6.00 g/l
- Yeast extract.....3.00 g/l
- Beef extract.....1.50 g/l
- Agar.....15.00 g/l
- pH.....5.9 ( $\pm 0.2$ )

## **Antibiotic assay n°09**

- Casein enzymic hydrolysate.....17.00 g/l
- Peptic digest soyabean meal.....3.00 g/l
- Dextrose.....2.50 g/l
- Sodium chloride.....5.00 g/l
- Dipotassium phosphate.....2.50 g/l
- Agar.....20.00 g/l
- pH.....7.2 ( $\pm 0.2$ )

## **Antibiotic assay n°11**

- Peptic digest of animal tissue.....6.00 g/l
- Casein enzymic hydrolysate .....4.00 g/l
- Yeast extract.....3.00 g/l
- Beef extract.....1.50 g/l
- Dextrose.....1.00 g/l
- Agar .....15.00 g/l
- pH .....8.3 ( $\pm 0.2$ )