

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Saad Dahlab BLIDA I
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de
MASTER en Sciences de la Nature et de la Vie
Filière Sciences Biologiques
Option : Microbiologie et Toxicologie Alimentaire

Dont le thème est :

**« RECHERCHE DES RESIDUS DE L'ANTIBIOTIQUE
"OXYTETRACYCLINE CHLORHYDRATE" DANS
LE POULET FRAIS ET CUIT ET L'ETUDE DE LA
CINETIQUE DE LA MOLECULE »**

Présenté par : SLAMA Houssam Eddine

Soutenu le : 15 septembre 2015

Devant le jury composé de :

Nom	Grade	Lieu	Qualité
Mme. HAMZI W.	MAB	USD BLIDA I	Présidente
M. MOHAMED SAID R.	MAA	USD BLIDA I	Promoteur
Mme. BELMESKINE H.	MAA	USD BLIDA I	Examinatrice

Promotion : 2014-2015

Remerciements

C'est toujours un moment délicat que celui de l'écriture de ce petit paragraphe. Car comment exprimer avec exactitude toute la gratitude que l'on éprouve envers chacun des intervenants ayant, de près ou de loin, pris part à ce projet? Je tiens donc, auparavant, à exprimer mes profondes excuses à toutes celles et ceux que je n'aurais pas cités, par manque de clairvoyance (parfois) et de mémoire (souvent).

En tout premier lieu, je tiens à remercier mon encadrement scientifique, **M. MOHAMED SAID R.**, avec lequel j'ai pu interagir de multiples manières et grâce auquel j'ai eu des expériences très enrichissantes ;

En second lieu, merci aux membres du jury, **Mme HMAZI W.** et **Mme BELMESKINE H.** pour avoir accepté de juger ce travail. Merci pour votre patience vis-à-vis de la date de soutenance. Et enfin, merci pour vos remarques et commentaires et pour l'échange constructif que nous avons eu lors de ma soutenance.

Ensuite, je tiens à remercier l'ensemble de **personnel scientifique du complexe SAIDAL ANTIBIOTICAL de Médéa** qui ont contribué, directement ou indirectement, à ce projet pour qu'il évolue jusqu'à sa forme finale ;

Enfin, Je remercie chaleureusement **mes parents** puisque c'est grâce à eux que tout a pu commencer.

Dédicace

Ce travail est l'aboutissement d'une longue route universitaire parsemée d'embûches mais aussi de victoires : principalement sur moi-même et, malheureusement, aussi sur d'autres. Je souhaite donc rendre hommage à Taki Eddine, Kahina, Khaled, Fayçal, Fadela et à toutes les personnes, de la plus vile à la plus admirable, qui ont contribué à ce que je suis devenu ainsi qu'à ce que j'ai produit.

Résumé

L'usage abusif des antibiotiques dans la production de volaille entraîne la présence de leurs résidus dans les tissus comestibles destinés à la consommation humaine, provoquant une menace pour la santé. La présente étude vise à évaluer l'effet de la cuisson ménagère sur la stabilité et la cinétique de l'antibiotique « oxytétracycline chlorhydrate », fréquemment utilisé en élevage de poulet, par trois procédés analytiques : la turbidimétrie, la CLHP, et la diffusion sur Agar.

Les résultats d'analyse par turbidimétrie montrent un trouble clair avec une valeur d'absorbance minimale pour l'échantillon positif non cuit. Pour les échantillons positifs cuits, les troubles remarqués sont moins clairs et ont des valeurs d'absorbance qui changent au fur et à mesure que la température de la cuisson change.

L'analyse des échantillons par CLHP dévoile une diminution de la quantité initiale de résidus de 49,40% pour l'échantillon cuit à 115 °C pendant 35 minutes et de 54,86% pour l'échantillon cuit à 145 °C pendant 20 minutes.

L'étude de la cinétique de l'antibiotique objet d'étude par la méthode de diffusion sur agar montre que l'inhibition de la molécule diminue quand elle est chauffée au-delà de 60 °C. Un chauffage à 85 °C pendant 50 minutes entraîne la réduction de l'effet inhibiteur de la molécule de 57% et de 66% à 120 °C pendant 30 minutes.

Mots clés : antibiotiques, cinétique, cuisson, oxytétracycline chlorhydrate, poulet, résidus.

Abstract

Frequent misuse of antibiotics in poultry production results in the presence of their residues in edible tissues, intended for human consumption, causing a health threat. This study aims to evaluate the effect of household cooking on the stability of the antibiotic "oxytetracycline hydrochloride" frequently used in chicken farming by three analytical procedures: turbidimetry, HPLC, and gel diffusion method.

Turbidimetry analysis demonstrates a non turbid aspect with minimal absorbance value for uncooked positive sample. For cooked positive samples, the noticed turbidity is less clear and has absorbance values that change steadily as the temperature of the cooking changes.

Analysis of the samples by HPLC reveals a decrease of the initial amount of residues by 49% for the sample cooked at 115 ° C for 35 minutes, and near 55% for the sample cooked at 145 ° C for 20 minutes.

The kinetic study of the antibiotic object of evaluation with gel diffusion method shows that the inhibition of the molecule decreases when heated at a temperature beyond 60 °. Heating at 85 ° C for 50 minutes causes the reduction of the inhibitory effect by 57% and also by 66% when heated at 120 ° C for 30 minutes.

Keywords: antibiotics, chicken, cooking, kinetics, oxytetracycline hydrochloride, residues.

ملخص

سوء الاستخدام المتكرر للمضادات الحيوية في مزارع الدواجن يسبب رسوخ بقايا مضرّة في الأنسجة العضلية والأنسجة الأخرى الموجهة للاستهلاك البشري. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم آثار الطهي المنزلي على استقرار البنية الكيميائية للمضاد الحيوي "هيدروكلوريد أوكسيتتراسيكلين" الذي تزايد استخدامه في إنتاج لحم الدجاج وذلك بإجراء ثلاث تحاليل: قياس العكورة، التحليل بالفصل الطيفي عالي الأداء وطريقة الانتشار الهلامي.

يوضح تحليل قياس العكورة عكورة غير ملحوظة تقريباً في محلول العينة الإيجابية مع قيمة دنيا للامتصاص الطيفي. بالنسبة للعينات المطهّوة، المحاليل توضح عكورة واضحة وقيم الامتصاص المسجلة بهاته العينات تتغير مع تغير درجات حرارة الطهي.

التحليل بالفصل الطيفي عالي الأداء يكشف عن تناقص في الكمية الأولية للبقايا بـ 49% بالنسبة للعينة المطهّوة في 115° مئوية لمدة 35 دقيقة، وتناقصت بنسبة 55% تقريباً في العينة المطهّوة في 145° مئوية مدة 20 دقيقة.

تظهر دراسة حركيات جزيء المضاد الحيوي موضوع الدراسة بطريقة الانتشار الهلامي انخفاض في التأثير المثبط للمضاد الحيوي عند تسخينه في درجة حرارة أعلى من 60° مئوية. التسخين في 85° مئوية لمدة 50 دقيقة يؤدي إلى الحد من التأثير المثبط بنسبة 57% وبنسبة 66% في حالة التسخين في درجة حرارة 120° مئوية لمدة 30 دقيقة.

الكلمات الدالة: بقايا، الحركيات، الطهي، لحم الدجاج، المضادات الحيوية، هيدروكلوريد أوكسيتتراسيكلين.

Liste des tableaux

N°	Titre de tableau	Page
Tableau 1	Taux de Croissance de la population au niveau des pays du Maghreb (% annuel)	5
Tableau 2	Revenu pécuniaire par habitant aux pays maghrébins (\$US/habitant)	6
Tableau 3	Situation de la production avicole aux pays maghrébins	6
Tableau 4	Consommation par habitant des produits avicoles aux pays du Maghreb (kg/personne/an)	6
Tableau 5	Composition chimique moyenne du muscle squelettique	8
Tableau 6	Valeurs nutritives pour une portion de 100 g de volaille cuite	9
Tableau 7	Mode d'élimination principal des antibiotiques couramment utilisés	18
Tableau 8	Les principales molécules d'antibiotiques utilisées en aviculture et leurs indications	20
Tableau 9	Limites maximales résiduelles (LMR) des antibiotiques et leurs doses journalières admises (DJA) ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	22
Tableau 10	Délai d'attente chez les animaux de boucherie de quelques antibiotiques	23
Tableau 11	Echantillonnage	30
Tableau 12	Propriétés chimiques et structurales de l'HCL OTC	31
Tableau 13	Températures et durées de chauffage des solutions HCL OTC	39
Tableau 14	Résultats de turbidimétrie (1 ^{er} essai)	41
Tableau 15	Résultats de turbidimétrie (2 ^{ème} essai)	42
Tableau 16	Données recueillies pour effectuer le calcul des concentrations de résidus (aires, pesées et volumes)	45
Tableau 17	Résultats de quantification des résidus l'HCL OTC dans les échantillons	46
Tableau 18	Variations des diamètres des zones d'inhibition en fonction de la température et de la durée de l'exposition à la chaleur	50

Liste des figures

N°	Titre de figure	Page
Figure 1	Les principales cibles de l'action antibactérienne	13
Figure 2	Les différentes familles des antibiotiques et leurs usages cliniques	15
Figure 3	Les dilutions de HCL OTC standard	33
Figure 4	Représentation schématique d'un appareil CLHP	35
Figure 5	Structure de la colonne C ₁₈	35
Figure 6	Cuves de spectrophotomètre contenant les échantillons à analyser après incubation	41
Figure 7	Chromatogramme HCL OTC Standard	42
Figure 8	Chromatogramme H.OTC (-)	43
Figure 9	Chromatogramme H.OTC (+)	43
Figure 10	Chromatogramme H.OTC (+) ₁₁₅	44
Figure 11	Chromatogramme H.OTC (+) ₁₄₅	44
Figure 12	Changement de couleur de la solution d'HCL OTC standard (0,6 mg.ml ⁻¹) après traitement thermique	47
Figure 13	Zone d'inhibition « Témoin »	48
Figure 14	Zone d'inhibition « 45 °C »	48
Figure 15	Zone d'inhibition « 60 °C »	48
Figure 16	Zone d'inhibition « 85 °C »	49
Figure 17	Zone d'inhibition « 100 °C »	49
Figure 18	Zone d'inhibition « 120 °C »	49

Abréviations

ACN : acétonitrile

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

AFNOR : Association Française de Normalisation

ARN : Acide Ribonucléique

CEE : Communauté Economique Européenne

CL/SM : chromatographie en phase liquide couplée à un spectrophotomètre de masse

CLHP : chromatographie en phase liquide à haute performance

CMB : concentration minimale bactéricide

CMI : concentration minimale inhibitrice

DA : délai d'attente

DJA : dose journalière admise

DSE : dose sans effet

ELISA : Enzyme-Linked-ImmunoSorbent-Assay

FAO: Food and Agriculture Organization

GN : gélose nutritive

HCL OTC : oxytétracycline chlorhydrate

HCL : acide chlorhydrique

LMR : limite maximal de résidus

MeOH : méthanol

OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Economique

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

OTC : oxytétracycline

TTC : tétracycline

UE : Union Européen

UV : rayonnement ultraviolet

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Résumé en français

Résumé en anglais

Résumé en arabe

Liste des tableaux

Liste des figures

Abbreviations

Sommaire

Introduction	1
Données bibliographiques	4
I. Filière avicole	5
I.1. Profil économique de pays du Maghreb	5
I.2. Situation du secteur avicole en Algérie	6
I.3. Consommation de la volaille	7
II. La viande blanche	7
II.1. Définition de la viande	7
II.2. Définition de la viande blanche	8
II.3. Importance	8
II.4. Composition chimique de la viande	8
II.5. Valeur nutritionnelle de la viande blanche	8
III. Les antibiotiques	9
III.1. Définition d'un antibiotique	11
III.2. Effets bactériostatiques et bactéricides des antibiotiques	11
III.3. Mode d'action des antibiotiques	12
III.4. Spectre d'activité d'un antibiotique	13
III.5. Classification des antibiotiques	13
III.6. Pharmacocinétique des antibiotiques	16
III.7. Usages des antibiotiques en élevage avicole	18
I.V. Les résidus d'antibiotiques dans la viande et le risque pour le consommateur	21
IV.1. Définition du résidu de médicaments vétérinaires	21
IV.2. Limite maximale des résidus (LMR) et le délai d'attente (DA)	21

IV.3. Les causes de la présence des résidus d'antibiotiques dans la viande des animaux de production	23
IV.4. Les risques présentés par les résidus d'antibiotiques pour la santé des consommateurs	23
V. Méthodes de détection et de quantification des résidus d'antibiotiques présents dans la viande	25
V.1. Méthodes de détection	25
V.2. Méthodes de quantification	27
Matériel et méthodes	28
I. Plan d'échantillonnage	29
I.1. La sélection des animaux	29
I.2. Abattage et éviscération	29
I.3. Découpage	29
I.4. Cuisson	29
I.5. Echantillonnage	29
I.6. Entreposage des échantillons	30
II. Le choix de la molécule d'antibiotique	30
III. Matériel et méthodes	31
III.1. Détection des résidus d' HCL OTC dans le poulet frais et cuit par turbidimétrie	31
III.2. Quantification de la teneur des résidus d' HCL OTC dans le poulet frais et cuit par CLHP en phase inverse	34
III.3. Etude de la stabilité de la molécule d'HCL OTC après traitement thermique par la méthode de diffusion sur Agar	37
Résultats	40
I. Résultats de détection par turbidimétrie	41
II. Résultats de quantification par CLHP en phase inverse	42
III. Résultats de l'étude de la stabilité d' HCL OTC après traitement thermique par la méthode de diffusion sur Agar	47
Discussion des résultats	51
Conclusion	55
Références bibliographiques	
Annexes	

INTRODUCTION

Dans le domaine de l'alimentation humaine face à la demande croissante en protéines animales des populations urbaines du monde, l'élevage intensif des volailles s'est développé ces dernières années dans plusieurs pays. C'est le cas en Algérie, où la filière poulet de chair permet de mettre à la disposition du consommateur de la viande en 40 à 50 jours (Benyounes A. *et al.*, 2013). C'est pour respecter ces délais pour des raisons économiques que les aviculteurs utilisent divers produits comme les anabolisants, les tranquillisants et surtout les antibiotiques (Rianatou B. *et al.*, 2004), objet de la présente étude.

Outre les qualités nutritionnelles et organoleptiques, et pour être propre à la consommation humaine, 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.

Les antibiotiques utilisés dans ce cadre peuvent en effet, si leur délai d'attente n'est pas respecté, demeurer dans les aliments d'origine animale sous forme de résidus dangereux pour le consommateur et capables d'entraîner des accidents d'hypersensibilité ou des intoxications, tout en favorisant une antibiorésistance de certaines bactéries à des traitements ultérieurs (Rianatou B. *et al.*, 2004).

La plupart des aliments d'origine animale subissent des transformations avant la consommation dans le but d'augmenter la palatabilité et la durée de stockage du produit. Pour ce faire de nombreux chercheurs ont voulu évaluer le devenir de ces résidus d'antibiotiques après cuisson. Certains auteurs font valoir que ces résidus d'antibiotiques dans les tissus animaux sont plus ou moins stables sous le traitement thermique et ne sont pas totalement inactivés par les conditions de cuisson (Moats W. A. 1988 et Van Egmond H. *et al.* 2000). Par contre, d'autres ont montré que les résidus dans les tissus sont plus sensibles au traitement thermique et complètement détruits à 100°C pendant 30 min ou à une température plus élevée pendant des durées plus courtes (Ibrahim, A. et Moats W.A., 1994). En revanche, Kuhne M. *et al.* (2001) ont constaté que l'effet d'un antibiotique peut s'accroître après chauffage.

Donc au vu des explications contradictoires des uns et des autres nous avons opté pour effectuer une étude de cinétique pour évaluer les effets des différentes

températures de la cuisson ordinaire sur les résidus d'antibiotiques dans la viande de poulet de chair.

L'acuité et l'importance de ce problème de santé publique nous interpelle en tant que problématique pour tenter de trouver une réponse sans équivoque.

La présente étude s'articule sur deux parties:

- La première partie est un bref récapitulatif des principales données bibliographiques relatives au thème abordé « résidus d'antibiotiques dans la viande de volaille ».
- La deuxième partie est expérimentale qui a pour objet la détection des résidus d'antibiotique présents dans la viande de poulet de chair fraîche et cuite par la méthode microbiologique turbidimétrique d'une part et leur quantification par la méthode chromatographique à haute performance d'autre part. On termine cette partie par l'étude de la cinétique de la molécule d'antibiotique vis-à-vis de la température, pour l'évaluation de l'action de cette dernière sous l'effet de la chaleur.

DONNÉES
BIBLIOGRAPHIQUES

I. Filière avicole

Depuis les années 1990, le secteur de la volaille a fait partie de la «révolution de l'élevage» ; la demande a pris une ampleur croissante, poussée par l'urbanisation, l'évolution démographique, le commerce et les élasticités élevés de dépenses pour les produits de l'élevage tels que le poulet. L'offre a réussi à satisfaire la demande, grâce aux développements technologiques en matière d'élevage et de la nutrition, soutenues par des sources d'alimentation relativement peu coûteuses. L'offre et la demande sont passées de pays de l'organisation de coopération et de développement économique (OCDE) vers les pays émergents et en voie de développement, où la viande de volaille et les œufs ont connu une énorme expansion de consommation et de production. La consommation de produits de la volaille dans ces économies croît plus rapidement que celle de toutes les autres viandes. La Chine étant le plus grand importateur de produits de volaille alors que le petit groupe de pays exportateurs qui fournissent la majeure partie du commerce international des produits de la volaille comprend le Brésil et la Thaïlande (McLeod A. *et al.*, 2009).

I.1. Profil économique de pays du Maghreb

L'Algérie se caractérise par rapport aux pays du Maghreb par un taux de croissance démographique des plus élevés de l'Afrique du Nord, d'un revenu pécuniaire par habitant moyen, d'une production avicole en deuxième position après le Maroc et d'une consommation des viandes avicoles en déclin. (Tableaux: 1, 2, 3 et 4).

Tableau 1: Taux de Croissance de la population au niveau des pays du Maghreb (% annuel) (Les données ouvertes de la Banque mondiale, 2015).

Pays	2000	2005	2010	2013
Algérie	1,4	1,5	1,9	1,9
Libye	1,6	1,6	1,3	0,8
Mauritanie	3,0	2,9	2,6	2,4
Maroc	1,2	0,9	1,2	1,5
Tunisie	1,0	1,0	1,0	1,0

Tableau 2: Revenu pécuniaire par habitant aux pays maghrébins (\$ US/habitant).
(Les données ouvertes de la Banque mondiale, 2015)

Pays	2000	2005	2010	2013
Algérie	1540	2660	4350	5330
Libye	4520	6660	13400	12029
Mauritanie	450	560	940	1060
Maroc	1320	1980	2870	3020
Tunisie	2310	3190	4160	4200

Tableau 3: Situation de la production avicole aux pays maghrébins (FAOSTAT, 2013)

Pays	Poulet de chair *	Production d'œufs **	Poussins ***
Algérie	287 525 (2 ^{ème})	5,9	271
Libye	125 000	1,09	104
Mauritanie	4640	0,14	58
Maroc	657 000 (1 ^{er})	5,2	521
Tunisie	207 000	1,9	110

* : produit en tonnage/an

** : milliards d'œufs/an

*** : (de ponte + de chair) millions de têtes/an

Tableau 4: Consommation par habitant des produits avicoles aux pays du Maghreb (kg/personne/an) (FAOSTAT, 2013)

Pays	2000		2005		2010		2013	
	Viande	Œufs	Viande	Œufs	Viande	Œufs	Viande	Œufs
Algérie	7,7	2,66	8,03	4,5	7,43	6,28	7,42	8,06
Libye	--	--	--	--	--	--	--	--
Mauritanie	2,54	1,48	2,76	1,59	3,25	1,39	3,60	--
Maroc	9,35	6,93	12,96	6,44	19,45	6,07	20,19	--
Tunisie	12,19	7,33	11,85	7,26	15,16	7,43	--	--

I.2. Situation du secteur avicole en Algérie

L'aviculture algérienne produit près de 330 000 de tonnes de viande blanche (soit environ 270 millions de poulets par an) et plus de 5 milliards d'œufs de consommation par an (FAOSTAT, 2015). Elle est constituée de 20 000 éleveurs, et emploie environ 500 000 personnes et fait vivre environ 2 millions de personnes.

Enfin elle importe 80% des 2.5 millions tonnes d'aliment (maïs ; tourteaux de soja), des produits vétérinaires et des équipements (Alloui N., 2011).

Le modèle d'élevage adopté par notre pays est un modèle d'élevage intensif basé sur la technologie moderne et une organisation de la production et une planification rigoureuse (Ammar A., 2010). Cette situation résulte de la politique de développement lancée par l'état depuis les années 1980 ; ceci a permis d'améliorer la ration alimentaire du point de vue protéique (Alloui N., 2011).

I.3. Consommation de la volaille

A l'échelle mondiale, la consommation de viande blanche diffère fortement dans les pays occidentaux et les pays en voie de développement. Dans le monde industrialisé (Union européenne, Australie, Amérique du nord, Japon...), la consommation moyenne a augmenté au cours du temps ; elle est passée de 12 kg par personne et par an en 1964 à 39 kg par personne et par an en 2011. Dans les pays en voie de développement, la consommation de viande a aussi augmenté mais dans des proportions moindres. Elle est passée d'une moyenne de 1 kg par personne et par an en 1964 à 4 kg par personne et par an en 2011 et la consommation moyenne au niveau mondial est de 14 kg par personne (FAOSTAT, 2011).

Aujourd'hui, le prix de la viande avicole qui est relativement moins élevé que celui des viandes rouges, est en fait devenu un produit attractif pour la ménagère algérienne. A l'échelle nationale, la consommation de viande blanche était de 7 kg par habitant/an en 2013 (FAOSTAT, 2013).

II. La viande blanche

La viande et ses dérivés occupent une place de choix dans notre alimentation tant pour des raisons nutritionnelles que pour des raisons socioculturelles. Les êtres humains sont omnivores, et ont chassé et tué des animaux pour la viande depuis la préhistoire (McArdle J., 1991). L'avènement de la civilisation a permis la domestication des animaux comme les poulets, les moutons, les porcins et les bovins, et éventuellement leur utilisation dans la production de viande à l'échelle industrielle (Lawrie R.A et Ledward D.A, 2006).

II.1. Définition de la viande

La viande est toute partie comestible d'un animal abattu en élevage ou à la chasse. Dans ce vocabulaire on inclut la chair des mammifères, des oiseaux, et des poissons (Lawrie R.A et Ledward D.A, 2006).

II.2. Définition de la viande blanche

La viande blanche se réfère à la viande de couleur claire de volailles par opposition à la viande brune. Dans un sens plus général, la viande blanche peut également se référer à toute viande de couleur claire (volaille, lapin, *etc.*) (Andress L.E., 2004).

II.3. Importance

L'aviculture prend une place de choix dans les plans de développement de nombreuses nations tant pour des raisons nutritionnelles et économiques que de goût. Parmi les nutriments indispensables à la vie figure les matières azotées et plus particulièrement celles d'origine animale (Zeghilet N., 2009).

II.4. Composition chimique de la viande

Les aspects de la composition biochimique de la viande varient d'une façon complexe ; selon l'espèce, la race, le sexe, l'âge, le plan de la nutrition, ainsi que sur la localisation anatomique de la musculature impliqués (Lawrie R.A et Ledward D.A, 2006). On peut toutefois retenir comme composition moyenne les chiffres indiqués dans le tableau 5.

**Tableau 5 : Composition chimique moyenne du muscle squelettique
(Lawrie R.A et Ledward D.A, 2006)**

Constituants	Pourcentage (%)
Eau	75
Protéines	19
Graisses	2,5
Glucides	2,3
Substances non protéiques solubles (Composés azotés, Minéraux...)	2,3

II.5. Valeur nutritionnelle de la viande blanche

Les viandes de volailles constituent la source de protéines, de vitamines, de minéraux et d'oligo-éléments les moins chers qui existent sur le marché (Ait Boulahsen A., 2015).

Les viandes de volailles (Poulet et dinde) sont des viandes plus maigres que le bœuf ou l'agneau et qui représentent les viandes santé par excellence. Elles arrivent en tête des viandes maigres avec 1 g de gras saturé par portion de 100 g des viandes de volailles cuites, sans la peau. De plus, elles sont une excellente source de protéines et de vitamines du groupe B (Ait Boulahsen A., 2015).

**Tableau 6: Valeurs nutritives pour une portion de 100 g de volaille cuite
(SelfNutrition Data, 2015)**

Valeur nutritive	Quantité/100 grammes	Valeur quotidienne (%)
Calories	165	8%
Protéines	31,0 g	62%
Glucides	0 g	--
Vitamines :		
- vitamine B6	0,6 mg	30%
- B3 (niacine)	13,7 mg	69%
- vitamine B12	0,3 mcg	6%
- B2 (riboflavine)	0,1 mg	7%
- B5 (panthothénate)	1,0 mg	10%
- B1 (thiamine)	0,1 mg	5%
Acides gras :	3,6 g (total)	5%
- saturés	1,0 g	
- monoinsaturés	1,2g	
- polyinsaturés	0,8 g	
Minéraux :		
- calcium	15,0 mg	1%
- magnésium	29,0 mg	7%
- phosphore	228 mg	23%
- potassium	256 mg	7%
- sodium	74 mg	3%

III. Les antibiotiques

Contrairement à une idée communément admise, les antibiotiques ne sont pas sortis un beau jour du laboratoire d'Alexander Fleming. Bien au contraire, la découverte de la pénicilline s'inscrit dans un ensemble de travaux scientifiques

intenses, qui culminent au XXe siècle, et visant à combattre les maladies infectieuses. Auparavant, d'anciennes préparations de pâtes moisies destinées à soigner les plaies infectées étaient connues en Egypte et en Grèce (Wainwright M., 1989). Au XIXe siècle, plusieurs scientifiques (Pasteur, Joubert, Vuillemin) avaient déjà remarqué que certains micro-organismes étaient capables d'en inhiber d'autres ou de combattre certaines maladies (Foster W. et Raoult A., 1974). Mais c'est à partir des années 1900, en même temps que le développement de la vaccination, que les scientifiques s'attaquent au problème majeur des maladies infectieuses ; à cette époque, la syphilis, la tuberculose et la typhoïde font des ravages, sans que l'on dispose de traitements efficaces. La microbiologie, la médecine et la chimie organique font d'immenses progrès, ce qui permet d'enchaîner les découvertes scientifiques (VIDAL, 2009).

Les effets de certains types de moisissures sur l'infection avaient été remarqués à plusieurs reprises au cours de l'histoire. En 1928, Alexander Fleming a remarqué le même effet dans une boîte de Pétri, où un certain nombre de bactéries pathogènes ont été tués par un champignon du genre *Penicillium*. Fleming a postulé que l'effet est médiatisé par un composé antibactérien qu'il nomma la pénicilline, et que ses propriétés antibactériennes pourraient être exploitées comme mesures curatives (Fleming A., 1980).

Parallèlement sont préparés en 1935, les sulfamides, le premier groupe d'antibactériens artificiels (Otten, 1986). Par la suite de nombreux autres antibiotiques ont été isolés à partir de champignons inférieurs, mais aussi et surtout des bactéries telluriques (genre *Actinomycès*, *Bacillus* ...) les plus productrices d'antibiotiques. Les tétracyclines sont découvertes dans les années 1950 (Jukes T.H., 1985).

La recherche de nouveaux antibiotiques et leur utilisation en médecine humaine et vétérinaire constituent une avancée scientifique majeure au XXe siècle. De nombreuses maladies infectieuses bactériennes, fléaux pour l'Homme et les animaux d'élevage, ont ainsi pu être combattues (Chardon H. et Brugère H., 2014) .

L'évolution de la société et des systèmes agricoles et industriels ont conduit, dès les années cinquante, à un usage de plus en plus important, voire parfois excessif, des antibiotiques dans les élevages. Les problèmes liés à cet usage sont apparus très tôt : dès les années 1960, des résistances bactériennes ont été décrites dans le cadre d'épidémies hospitalières (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*), ainsi que des

passages possibles de bactéries multirésistantes entre l'animal et l'Homme (*Salmonella enterica*) (Anderson E.S., 1968) (Chabbert Y. et Le Minor A.L., 1966). Dès lors, des discussions sur l'usage raisonné des antibiotiques chez l'Homme comme chez l'animal ont été engagées. Mais compte tenu de leur intérêt thérapeutique, l'utilisation des antibiotiques a poursuivi sa courbe exponentielle au plan mondial jusqu'à la fin des années 1990 (Chardon H. et Brugère H., 2014).

III.1. Définition d'un antibiotique

On appelle antibiotique «tout composé chimique, élaboré par un organisme vivant ou produit par synthèse, à coefficient chimiothérapeutique élevé dont l'activité thérapeutique se manifeste à très faible dose, d'une manière spécifique, par l'inhibition de certains processus vitaux, à l'égard des virus, des micro-organismes ou même de certaines cellules des êtres pluricellulaires» (Cohen C. et Jacquot Y., 2008).

III.2. Effets bactériostatiques et bactéricides des antibiotiques

Les antibiotiques sont soit bactériostatiques, soit bactéricides, en fonction de leur concentration dans le milieu intérieur, ou expérimentalement, dans le milieu de culture (Cohen C. et Jacquot Y., 2008).

- Bactériostase : La bactériostase est le phénomène de ralentissement ou d'inhibition de la multiplication des germes dans un milieu donné. Au bout d'un temps donné, en présence d'antibiotique, le nombre de germes bactériens vivants est inférieur au nombre de germes qui seraient vivants dans un milieu et des conditions de culture identiques mais en absence d'antibiotiques. On l'a définit comme étant la concentration minimale inhibitrice (CMI) (Cohen C. et Jacquot Y., 2008).
- Action bactéricide : Certains antibiotiques manifestent une action bactéricide. Ils tuent les germes dans le milieu de culture. Au bout d'un certain temps, le nombre de germes viables a diminué par rapport à leur nombre avant incubation. On l'a définit comme étant la concentration minimale bactéricide (CMB) (Cohen C. et Jacquot Y., 2008).

Lorsqu'un antibiotique a une CMB proche de la CMI on dit qu'il est bactéricide. Lorsque la CMB est beaucoup plus élevée que la CMI on dit qu'il est bactériostatique (Cohen C. et Jacquot Y., 2008).

III.3. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent en général de façon très spécifique sur certaines structures de la cellule bactérienne; cette grande spécificité d'action explique pourquoi les antibiotiques sont actifs à très faible concentration. Cette action s'exerce selon les molécules sur des sites variés (Figure 1) (Cohen C. et Jacquot Y., 2008) (Walsh C., 2003) (Zeghilet N., 2009):

- sur la paroi : en inhibant la synthèse de la paroi cellulaire, en particulier de la synthèse du peptidoglycane, ce qui modifie la rigidité de la structure et la forme de la bactérie. L'enveloppe externe est alors fortement fragilisée. La bactérie devient très sensible aux stress extérieurs (pression osmotique, température, stress mécanique) provoquant la lyse cellulaire ;
- sur la membrane cellulaire : certains antibiotiques perturbent la structure de la membrane plasmique, en s'insérant parmi les phospholipides externes, ce qui désorganise son intégrité. La perméabilité n'est alors plus assurée. Des métabolites et ions fuient en dehors de la cellule, provoquant la mort de la bactérie ;
- sur la synthèse protéique : en agissant sur les ribosomes et donc en bloquant leur action de synthèse des protéines. Cela empêche la formation de nouvelles protéines, donc la multiplication des bactéries ;
- sur l'ADN : en se fixant sur des enzymes majeures de régulation : la topoisomérase et l'ADN gyrase, ce qui empêche la réplication ;
- sur l'ARN messager : en se fixant sur les sous-unités ribosomales 30S et 50S les mécanismes de traduction de l'ARN messager sont troublés ;
- autres : en agissant en tant qu'anti-métabolites bactériens (c'est à dire au niveau des étapes du métabolisme intermédiaire des bactéries).

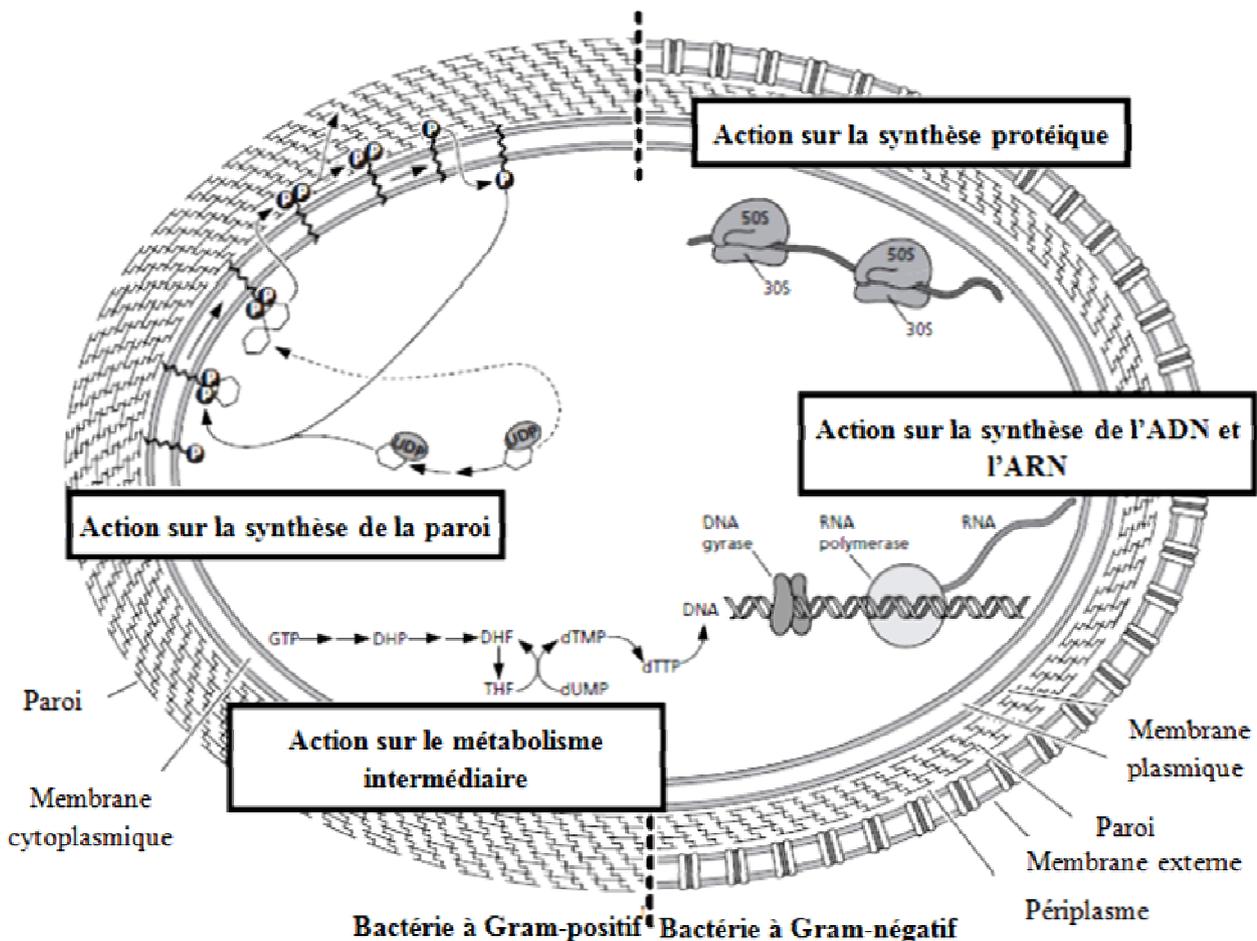


Figure 1 : Les principales cibles de l'action antibactérienne (Walsh C., 2003)

III.4. Spectre d'activité d'un antibiotique

Chaque antibiotique est caractérisé par un spectre qui correspond à l'éventail des germes qu'il peut toucher, à dose plus ou moins élevée. Il est différent pour chaque famille d'antibiotiques, bien qu'il puisse se recouper, en partie ou en totalité, avec celui d'autres antibiotiques, c'est à dire que les mêmes germes peuvent être sensibles à plusieurs antibiotiques à la fois. On a ainsi des antibiotiques à spectre large, moyen, ou étroit (Zeghilet N., 2009).

III.5. Classification des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être classés en se basant sur différents critères tels que leurs origines, leur spectre d'activité, leurs mécanismes d'action et leurs structures chimiques (Walsh C., 2003) (Cohen C. et Jacquot Y., 2008) (Zeghilet N., 2009) (Chardon H. et Brugère H., 2014).

III.5.1. Classification en fonction de leur origine

- Les antibiotiques produit par des microorganismes : d'origine fongique (la Pénicilline, Céphalosporine, *etc.*), et bactérienne (Streptomycine, Chloramphénicol, *etc.*) ;
- Les antibiotiques synthétiques ou obtenu entièrement par voie chimique : Sulfamides, quinolones, *etc.* ;
- Les antibiotiques semi-synthétiques obtenus à partir d'une fraction moléculaire naturelle sur laquelle a été greffé un radical chimique : Ampicilline, Amoxicilline, *etc.*

III.5.2. Classification en fonction de leur spectre d'activité

- large spectre : Amoxicilline, Ampicilline, *etc.* ;
- spectre moyen : Erythromycine.
- spectre étroit : Pénicilline G et V.

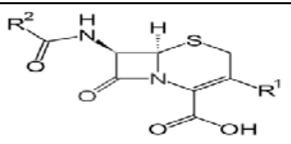
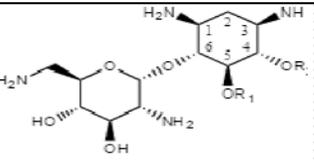
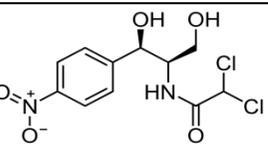
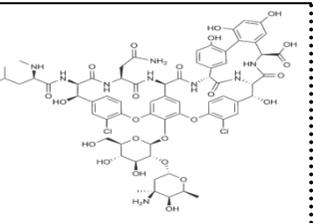
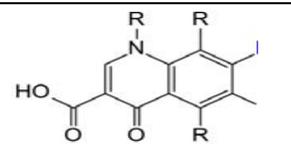
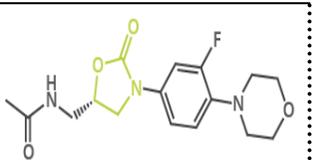
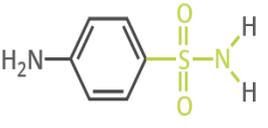
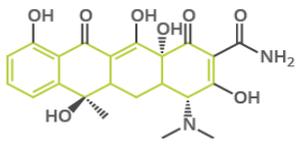
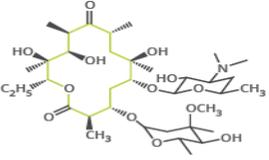
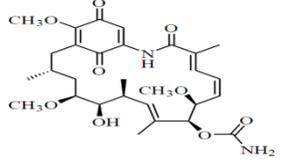
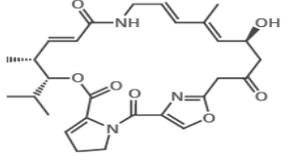
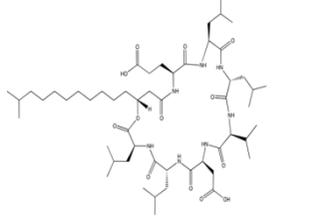
III.5.3. Classification en fonction de leur mode d'action

- inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire : Pénicilline G, M et A, Céphalosporines, *etc.* ;
- perturbation de la structure membranaire : Colistine, Polymyxine, *etc.* ;
- inhibition de la synthèse protéique : Gentamicine, Erythromycine, *etc.* ;
- perturbation de la synthèse de l'ADN et de l'ARN : Enrofloxacin, Fluméquine, *etc.*

III.5.4. Classification en fonction de leurs structures chimiques

C'est la classification la plus répandu dans la littérature. Les nombreux antibiotiques peuvent être regroupés en familles. Une famille d'antibiotique comprend des composés ayant des analogies de structure et des mécanismes d'action comparable (Figure 2) (Andy B., 2015).

Figure 2 : Les différentes familles d'antibiotiques et leurs usages cliniques (Cohen C. et Jacquot Y., 2008) (Andy B., 2015) (Chardon H. et Brugère H., 2014)

<p>β-Lactamines</p>  <p><i>Comprennent un noyau β-Lactame</i></p> <p>Exemples : Pénicillines, Céphalosporines</p> <p>Agissent sur la synthèse de la paroi</p> <p>Le traitement de référence des pneumocoques</p>	<p>Aminoglycosides</p>  <p><i>Comprennent des sous-classes aminosides</i></p> <p>Exemples : Streptomycines, Néomycine</p> <p>Inhibent la synthèse protéique</p> <p>Utiles dans les infections impliquant les gram-négatives aérobies</p>	<p>Chloramphénicol</p>  <p><i>Le seul antibiotique possédant un groupement nitro.</i></p> <p>Inhibe la synthèse protéique</p> <p>Utile dans les infections oculaires</p>	<p>Glycopeptides</p>  <p><i>Constitués de glucides liés à un peptide</i></p> <p>Exemples : Vancomycine, Theicoplanine</p> <p>Inhibent la synthèse de la paroi</p> <p>Efficaces contre les colites et les diarrhées</p>	<p>Quinolones</p>  <p><i>Comprennent deux noyaux aromatiques fusionnés</i></p> <p>Exemples : Ciprofloxacine, levofloxacine</p> <p>Agissent sur la transcription de l'ADN</p> <p>Souvent utilisés dans le cas de pneumonie nosocomiale</p>	<p>Oxazolidinones</p>  <p><i>Comprennent un cycle « 2-Oxazolidone »</i></p> <p>Exemples : Linézolide, tédizolide</p> <p>Inhibent la synthèse protéique</p> <p>Utilisés en cas d'infections cutanées</p>
<p>Sulfamidés</p>  <p><i>Contiennent un groupement sulfamide</i></p> <p>Exemples : Prontosil, sulfadiazine</p> <p>Inhibent la synthèse de l'ADN</p> <p>Utilisés dans le traitement des inflammations chroniques intestinales</p>	<p>Tétracyclines</p>  <p><i>Comprennent quatre noyaux benzéniques</i></p> <p>Exemples : Tétracycline, oxytétracycline</p> <p>Inhibent la synthèse protéique</p> <p>Traitement de première ligne pour la fièvre pourprée des montagnes rocheuses</p>	<p>Macrolides</p>  <p><i>Comprennent un noyau macrolide</i></p> <p>Exemples : Erythromycine, azithromycine</p> <p>Inhibent la synthèse protéique</p> <p>Utiles dans les infections impliquant les gram-positives</p>	<p>Ansamycines</p>  <p><i>Comprennent un noyau aromatique lié à une chaîne aliphatique</i></p> <p>Exemples : rifampicine</p> <p>Inhibent la synthèse de l'ARN</p> <p>Utilisé comme traitement de la tuberculose</p>	<p>Streptogramines</p>  <p><i>Combinaison de deux structures différentes A et B</i></p> <p>Exemples : Pristinamycine IIA</p> <p>Inhibent la synthèse protéique</p> <p>Actifs contre les <i>S.auréus</i> résistants à la mécitiline.</p>	<p>Lipopeptides</p>  <p><i>Constitués d'un lipide lié à un peptide</i></p> <p>Exemples : Surfactin</p> <p>Inhibent la synthèse de l'ARN</p> <p>Perturbent les fonctions de la membrane plasmique</p>

III.6. Pharmacocinétique des antibiotiques

L'ensemble des caractéristiques portant sur l'absorption, sur la diffusion dans l'organisme et sur l'élimination des médicaments est désigné par le terme de « pharmacocinétique ».

Pour éradiquer une infection, l'antibiotique doit parvenir à son site d'action, c'est-à-dire atteindre les germes situés dans une structure donnée d'un organe, dans une cellule ou dans des liquides extra/péri-cellulaires, à des concentrations adéquates, et cela, pendant le temps nécessaire. Ce passage du lieu d'administration jusqu'au site(s) d'action se fait en quatre phases différentes (Zghilet N., 2009).

III.6.1. Absorption

L'absorption d'une molécule, c'est-à-dire son passage du site d'administration à la circulation sanguine est en fonction à la fois des propriétés de la molécule et des modalités d'administration notamment de la voie (orale, parentérale) et de la formulation du médicament (Guillemot M.D., 2006). Elle doit permettre le passage du médicament du site d'administration vers la circulation générale, pour que l'antibiotique puisse ensuite parvenir au site de l'infection (Lechat P., 2007).

Dans certaines classes d'antibiotiques (béta-Lactamines), certaines molécules sont bien absorbées, ce qui permet l'administration orale alors que d'autres devront être injectées (aminosides, polypeptides) (Lechat P., 2007).

III.6.2. Distribution

A partir de la circulation générale les molécules d'antibiotique se distribuent dans l'organisme et parviennent au site de l'infection (Flandrois J.P., 1998). Les germes peuvent être situés dans le sang ou dans les espaces extracellulaires, ou à l'intérieur de cellules qui les ont phagocytés (Lechat P., 2007).

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 (Lechat P., 2007).

Si les bactéries se développent à l'intérieur de cellules, il faudra que les antibiotiques puissent y parvenir, sous une forme active ; un pH intra cellulaire plus ou moins acide ou basique modifie la vitesse de traversée des membranes des

molécules, plus ou moins ionisées. Les quinolones et la rifamycine pénètrent particulièrement bien (Lechat P., 2007).

L'administration d'une molécule à une dose et à un rythme donné peut donc être efficace sur une infection causée par un germe donné si elle est située dans un organe, et pas efficace si elle est située dans un autre. Le tube digestif, les méninges, la prostate, l'os ou les cavités urinaires par exemple posent des problèmes d'accès très différents (Lechat P., 2007).

III.6.3. Métabolisme

Comme tout les médicaments, les antibiotiques peuvent subir des transformations, en métabolites, actifs ou non sur les bactéries, toxiques ou non (c'est à dire induisant des effets indésirables) (Lechat P., 2007). 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). La transformation d'une molécule par le métabolisme dépend de la structure de la molécule et des voies métaboliques exprimées chez l'animal (Flandrois J.P., 1998).

Certaines molécules sont rapidement dégradées en métabolites inactifs au plan de l'activité antimicrobienne tandis que d'autres sont peu métabolisées ou que le métabolisme conduit à des métabolites actifs au plan microbiologique (Guillemot M.D., 2006).

III.6.4 Elimination

A la suite des réactions métaboliques, les molécules médicamenteuses sont conduites vers les sites d'élimination. L'élimination, ou clairance, des antibiotiques se fait essentiellement par deux voies: hépatobiliaire ou rénale. Un antibiotique peut être éliminé en partie par voie hépatique et en partie par voie rénale, ou de façon exclusive par l'une ou l'autre voie (Bouvet E., 2010). Le mode d'élimination préférentiel des antibiotiques est indiqué dans le tableau 7.

**Tableau 7 : Mode d'élimination principal des antibiotiques couramment utilisés
(Bouvet E., 2010)**

Hépatobiliaire
Macrolides
Tétracyclines
Rifampicine
Rénal
Pénicille G, M et A
Quinolones
Aminosides

III.7. Usages des antibiotiques en élevage avicole

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, conduite d'élevage simplifiée) mais aussi le bien-être des animaux. Seuls des animaux en bonne santé peuvent être abattus afin que les viandes mises sur le marché ne présentent aucun risque pour la santé du consommateur (AMI, 2015). Pour ces raisons, des médicaments vétérinaires sont administrés aux animaux d'élevage. C'est en particulier le cas des antibiotiques. En 2001, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a estimé qu'au moins 50 % des antibiotiques produits dans le monde étaient destinés aux animaux d'élevage (OMS, 2001).

En élevage, les antibiotiques peuvent être administrés selon quatre modes (AMI, 2015) (Chardon H. et Brugère H., 2014):

- Le traitement thérapeutique (curatif) : les animaux sont cliniquement malades, l'objectif est de les guérir et d'éviter leur mort. Le traitement curatif a également pour effet de réduire la souffrance des animaux et de restaurer leur production (lait, viande, *etc.*) ;
- Le traitement métaphylactique : dans un élevage avec de grands effectifs, si une infection très contagieuse se déclare et que suffisamment d'éléments sont concordants pour incriminer une (des) bactérie(s), l'ensemble des animaux sera traité dans un même temps pour une plus grande efficacité de traitement, qu'ils soient ou non cliniquement malades à ce moment. La métaphylaxie est

généralement mise en œuvre à partir du moment où 10 à 15 % des animaux du lot sont malades. On parle aussi de traitement de contrôle ;

- Le traitement préventif (prophylactique) : les animaux ne sont pas cliniquement malades mais exposés à un facteur de risque (sevrage, transport, *etc.*), ils ont alors une forte probabilité de développer une maladie à très court terme. Un traitement préventif permet d'éviter l'expression de la maladie ;
- La promotion de la croissance : les antibiotiques peuvent être utilisés comme additifs alimentaires, c'est-à-dire administrés dans l'alimentation animale, pour modifier la composition de la microflore intestinale entraînant alors une meilleure assimilation des aliments par les animaux et une augmentation de leur vitesse de croissance.

Le tableau 8 indique les principales molécules d'antibiotiques utilisées en élevage avicole :

Tableau 8 : les principales molécules d'antibiotiques utilisées en aviculture et leurs indications (Zeghilet N., 2009)

Famille	Exemples	Indications
β -Lactamines	Pénicillines : Ampicilline et Amoxicilline Céphalosporines : Cefotiofur	- Salmonellose - Arthrite staphylococcique - Rouget - Trichomonose
Aminoglycosides et apparentés	Dihydrostreptomycine (DHS), Gentamycine, Néomycine, Spectinomycine, Framycétine	- Mycoplasmes aviaire - Colibacillose - Arthrite staphylococcique
Quinolones	Acide oxolinique, Fluméquine, Enrofloxacin, Difloxacin, <i>etc.</i>	- Mycoplasmes aviaire - Colibacillose - Salmonellose
Tétracyclines	Chlortétracycline, Oxytétracycline, Doxycycline	- Mycoplasmes aviaire - Colibacillose - Arthrite staphylococcique - Hémophilose aviaire - Listériose - Streptococcie
Polypeptides	Colistine (polymyxine E)	- Colibacillose
Macrolides et apparentés	Erythromycine, Josamycine, Lincomycine, Spiramycine, Tylosine, Tilmicosine, Tiamuline (pleuromutiline)	- Mycoplasmes aviaire - Hémophilose aviaire - Rouget
Sulfamides	Sulfadiazine, Sulfadimidine, Sulfadiméthoxine, Sulfaquinoxaline	- Colibacillose - Arthrite staphylococcique - Coccidiose
Molécules utilisées comme promoteurs de croissance		
Avilamycine Flavophospholipol Virginiamycine Lincomycine		

IV. Les résidus d'antibiotiques dans la viande et le risque pour le consommateur

Les animaux sont traités régulièrement avec des antibiotiques pour prévenir, (à titre préventif) ou traiter la maladie (à titre thérapeutique). Même dans les meilleures conditions de la gestion agricole, le surpeuplement et le stress peuvent entraîner des maladies. Bien qu'historiquement il y a également eu des utilisations non-thérapeutiques des antibiotiques, typiquement comme outils de production pour améliorer l'efficacité alimentaire et stimuler la croissance, il y a un appel pour diminuer ces utilisations dans le monde entier, et l'inquiétude concernant l'apparition de la résistance aux antibiotiques utilisés dans la médecine humaine en raison de leur utilisation dans les élevages a mené à des efforts internationaux pour évaluer ce risque (Wang J. et *al.*,2012).

Les résultats des utilisations thérapeutiques sont des animaux sains qui contribuent à des approvisionnements alimentaires salubres et abondants. Cependant, une des conséquences de l'utilisation des antibiotiques chez les animaux destinés à l'alimentation est la présence de résidus dans les tissus comestibles de l'animal traité. C'est résidus peuvent être systématiquement nocifs pour le consommateur (Wang J. et *al.*, 2012).

IV.1. Définition du résidu de médicaments vétérinaires

Selon le Règlement (CEE) N° 2377/90, on entend par résidus de médicaments vétérinaires «toutes les substances pharmacologiquement actives, qu'ils s'agissent de principes actifs, d'excipients ou de produits de dégradation, ainsi que leurs métabolites restants dans des denrées alimentaires obtenues à partir d'animaux auxquels le médicament vétérinaire en question a été administré ».

IV.2. Limite maximale des résidus (LMR) et le délai d'attente (DA)

On désigne par limite maximale de résidus « la teneur maximale en résidus, résultant de l'utilisation d'un médicament vétérinaire (exprimé en mg/kg ou en µg/kg sur la base du poids frais), que la communauté peut accepter comme légalement autorisée ou qui est reconnue comme acceptable dans ou sur des denrées alimentaires» (Règlement CEE 2377 /90).

Cette limite se base sur des études scientifiques permettant de définir le type et la quantité de résidus considérés comme ne présentant pas de risques d'ordre toxicologique pour la santé humaine (Doses Sans Effets ou DSE), et les possibilités d'élimination par l'organisme humain (Doses Journalière Admises notées DJA). C'est donc la concentration maximale en résidus ne présentant aucun risque sanitaire pour le consommateur et qui ne doit pas être dépassée dans ou sur les denrées alimentaires (Règlement CEE 396/2005).

Il existe une LMR pour la plupart des antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire, pour chaque denrée d'origine animale et pour chaque espèce (Règlement UE 37/2010). Il est à noter que les résidus présentent des taux de toxicité variables et le classement des médicaments dont ils dérivent va des substances ne nécessitant pas de LMR (Bacitracine, Alfacalcidol, 2-Pyrolidone) aux substances interdites en production animale (Chloramphénicol, Dimétridazole, Métronidazole, Nitrofuranes, Daspone) (Zeghilet N., 2009). Les LMR fixées pour la viande blanche des principaux antibiotiques et leur DJA sont indiqués dans le tableau 9.

Tableau 9 : limites maximales résiduelles (LMR) et les doses journalières admises (DJA) des antibiotiques (Règlement UE 37/2010)

Antibiotique	LMR ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	DJA ($\mu\text{g}/\text{kgPV}$)
Ampicilline	50	200
Amoxicilline	50	0,7
Ceftiofur	1000	50
Gentamycine	50	0,05
Streptomycine	500	50
Fluméquine	400	30
Oxytétracycline	100	3
Erythromycine	200	0,7
Sulfadiazine	100	0,02

Cependant, bien que très importants, les LMR ne sont pas directement utilisables sur le terrain par les professionnels (vétérinaires et éleveurs). On a donc défini un temps au bout duquel la quantité de résidus présents dans les tissus d'un animal, par suite des processus d'élimination physiologiques, devient inférieure à la LMR après la dernière administration du médicament. Ce temps est appelé «délai d'attente (DA)» ou « délai avant abattage » et définit la « durée pendant laquelle

l'animal traité ne doit pas être abattu ou les denrées alimentaires produites par l'animal traité (lait, œufs, miel) ne peuvent être commercialisées en vue de la consommation humaine » (CEE 81 /851). Le délai d'attente de quelques antibiotiques chez les animaux de boucherie est résumé dans le tableau 10.

Tableau 10 : délai d'attente chez les animaux de boucherie de quelques antibiotiques (Zeghilet N., 2009)

Antibiotique	Délai d'attente
Oxytétracycline	2 semaines
Spiramycine	3 semaines
Oléandomycine	5 jours
Tylosine	3 semaines
Polymyxine B	3 jours

IV.3. Les causes de la présence des résidus d'antibiotiques dans la viande des animaux de production

La cause la plus probable de la présence des résidus médicamenteux dans la viande est le non-respect des délais d'attente. Un entretien inadéquat des dossiers de traitement et ne pas identifier les animaux traités de manière correcte peut conduire à leur omission. Le recyclage des matières fécales, où le médicament excrété dans les excréments des animaux traités contamine l'alimentation des animaux non traités, peut être la cause de résidus de certains groupes antimicrobiens. Les résidus de médicaments peuvent également survenir à la suite d'une mauvaise utilisation d'un produit autorisé ou par l'utilisation illégale d'une substance non autorisée (Myllyniemi A.L., 2004).

IV.4. Les risques présentés par les résidus d'antibiotiques pour la santé des consommateurs

Les résidus étant le plus souvent présents en quantités très faibles, de l'ordre du microgramme (μg) comme l'indiquent les LMR, leur toxicité semble corrélée à une exposition chronique (consommation de denrées contaminées sur de longues périodes). Et lorsque cette toxicité s'exprime, elle peut engendrer chez le consommateur des problèmes de santé d'ordre allergiques, cytotoxiques et cancérigènes d'une part, et la possibilité de la sélection de bactéries résistantes aux antibiotiques d'autre part (Zeghilet N., 2004).

IV.4.1. Risques allergiques

Les résidus d'antibiotiques sont parfois évoqués comme cause dans les réactions allergiques observées chez l'homme suite à la consommation de denrées d'origine animale. Dans la grande majorité des cas, les réactions allergiques ont pour origine les composants même de la nourriture et non d'éventuels résidus (Stoltz R., 2008).

Les réactions allergiques de type III 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. Et ceux sont surtout les résidus de pénicilline qui sont impliqués (les acides pénicilloïque, pénicillénique, pénalmaldique, pénicillényles et les pénicillamines) (Stoltz R., 2008).

IV.4.2. Risques cytotoxiques

Les résidus de certains antibiotiques utilisés dans les élevages peuvent induire une cytotoxicité chez le consommateur.

La ciprofloxacine a un effet négatif sur le taux de réplication des chromosomes de lymphocytes humains (Ambulkar P.S. et al, 2009). Il a été prouvé aussi que la tétracycline détruit les chromosomes et endommagent l'enveloppe nucléaire des lymphocytes (Çelik A. et Dilek E., 2011). Une autre étude plus récente révèle que l'oxytétracycline provoque la mort cellulaire (l'apoptose) des cellules hématopoïétique (Odore R. et al, 2015).

IV.4.3. Risques cancérigènes

Certains antibiotiques ont des propriétés carcinogènes connues. Les résidus de ces antibiotiques peuvent avoir un effet carcinogène sur le long terme, suite à une consommation régulière d'aliments contenant ces résidus. Ces antibiotiques ou composés utilisés comme antibiotiques sont alors interdits d'utilisation chez les animaux de production. C'est le cas des nitrofuranes et des nitroimidazoles.

Les nitrofuranes, incluant la nitrofurazone, sont des antibiotiques qui sont utilisés en médecine humaine pendant une courte durée chez les patients. Ces molécules sont bien connues comme carcinogènes génotoxiques. L'expérimentation animale a montré que leur utilisation prolongée pouvait être à l'origine de

modifications du matériel génétique et de l'apparition de tumeurs. Le pouvoir mutagène et le pouvoir carcinogène potentiels de ces composés proviennent de la nitro-réduction du médicament, conduisant à la formation de métabolites électrophiles et à leur fixation à l'ADN (Stoltz R., 2008).

IV.4.4. Risques de développement et de dissémination de résistances bactériennes 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.

Des études menées à l'aide de systèmes de cultures bactériennes continues *in vitro*, imitant les conditions dans le tractus gastro-intestinal humain, avec des doses croissantes de tétracyclines ont ainsi montré qu'à la dose équivalente de 2.5mg/kg de poids corporel, la proportion d'*E.coli* résistants passait de 20 à plus de 50% dans les 24 heures suivant l'exposition et à plus de 60% dans les 48 heures. 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 (Stoltz R., 2008).

V. Les méthodes de détection et de quantification des résidus d'antibiotiques présents dans la viande

Les résidus d'antibiotiques présentent maintes risques pour la santé à savoir les allergies, la toxicité, la résistance bactérienne. Leur détection sera d'un grand apport pour l'homme, une clé de sa sécurité sanitaire. Le contrôle des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale s'effectue en deux étapes : la détection et la quantification.

V.1. Méthodes de détection

Elles ont pour objet, à l'aide de microorganismes sensibles, la mise en évidence de résidus de substances à activité antibiotique sans en déterminer leur identité.

V.1.1. Technique des 4 boîtes : elle est applicable aux animaux de boucherie et volailles (muscles et foies). Elle est basée sur l'inhibition de la croissance de bactéries du genre *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*. Elle est réalisée au moyen de boîtes de Pétri contenant une géloseensemencée avec la souche *Micrococcus luteus* ou la souche *Bacillus subtilis*. Les zones d'inhibition dépourvues de colonies bactériennes autour des points de dépôts des échantillons (morceau de rein ou papier filtre imbibé d'exsudat de cortex rénal) sont révélatrices de la présence potentielle d'antibiotiques (AFNOR 2011).

V.1.2. Technique Premi[®]Test : le Premi[®]Test 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) (AFNOR 2011).

V.1.3. Technique Enzyme-Linked-ImmunoSorbent-Assay (ELISA) : basée sur l'interaction antigène-anticorps, qui est très spécifique pour un résidu particulier. Ce système de détection peut être basé sur des réactifs à enzymes marquées. Il y a différentes méthodes pour la quantification des antigènes, comme la méthode «double anticorps» encore appelée ELISA-sandwich et le test de compétition directe ELISA. Aujourd'hui, il existe de nombreux kits ELISA de différent type utilisables pour un grand nombre de substances et notamment de nombreux antibiotiques. Ils sont disponibles pour un résidu spécifique ou pour un groupe de composés apparentés comme par exemple le groupe des fluoroquinolones. Dans certains cas, il faut tenir compte de la possibilité de réactions croisées. Les kits ELISA ont montré une bonne performance pour l'analyse des résidus d'antibiotiques dans la viande comme la tylosine, les tétracyclines, le chloramphénicol, les nitroimidazoles et les sulphonamides (Stoltz R., 2008).

V.1.4. Technique turbidimétrique : elle consiste à incuber des tubes calibrés contenant à la fois le milieu de culture inoculé avec une bactérie sensible et une solution d'antibiotique. Après la période d'incubation, l'effet de

l'antibiotique sur la croissance bactérienne est mesuré par le changement de l'absorbance mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre (Jorgensen H.L. et Schulz E. 1985).

V.2. Méthodes de quantification

Comme l'indique leur nom, ce sont des méthodes qui quantifient la concentration de résidus détectés dans la denrée.

V.2.1. Technique chromatographique en phase liquide à haute performance (CLHP ou HPLC) : une technique analytique de résidus présents dans le jus de viande basée sur la séparation par chromatographie des molécules suivi de la quantification spectroscopique comme l'UV, la fluorescence et la spectrométrie de masse. Elle est généralement très spécifique et quantitative mais prend de temps si l'identité du résidu n'est pas connue (Cooper W.T., 2006) .Cette technique est de plus en plus couplée à une analyse par spectrométrie de masse avec des détecteurs de masse de type quadripolaire (CL-SM). Ceci permet simultanément le dépistage et la confirmation des échantillons dépistés non conformes. Malgré le coût très élevé de ces instruments, le gain de temps réalisé permet de les rentabiliser lorsque le nombre d'échantillons testés est grand (Stoltz R., 2008).

MATÉRIELS

&

MÉTHODES

L'objectif de ce travail est la détection et la quantification des résidus de l'antibiotique «Oxytétracycline Chlorhydrate» (l'oxytétracycline sous forme chlorhydrate) dans le poulet frais et cuit à des températures de cuisson ordinaire ; ainsi l'étude de l'effet de la chaleur sur la stabilité de la molécule.

Les analyses ont été effectuées au service de microbiologie et au service physicochimique du complexe ANTIBIOTICAL du groupe SAIDAL à Médéa sur une période de 3 mois.

I. Plan d'échantillonnage

I.1. La sélection des animaux : 20 poulets de chair femelles âgées de 35 jours sont prélevés à partir d'un élevage à Médéa. 15 parmi les 20 sujets sont isolés et mis dans une cage et reçu de l'oxytétracycline chlorhydrate introduit dans leur alimentation intentionnellement à doses élevées pendant 5 jours.

I.2. Abattage et éviscération : le délai d'attente n'a pas été respecté afin d'assurer la présence de résidus dans le muscle. Les conditions de l'abattage et les conditions d'hygiène sont respectées dans le but d'éviter, sinon diminuer tout risque de contamination.

I.3. Découpage : la partie de poulet d'intérêt est le bréchet. Le découpage est effectué avec un couteau désinfecté.

I.4. Cuisson : 10 bréchets des animaux traités sont cuits : 5 dans une cocotte minute à une température de 115 °C pendant 35 minutes, les 5 autres dans le four à 145 °C pendant 20 minutes. Les 5 qui restent sont considérés comme un témoin positif non cuit.

I.5. Echantillonnage : des portions de 50 grammes de chaque bréchet sont hachées dans des conditions stériles. Les échantillons sont répartis dans le tableau 11 comme suit :

Tableau 11 : Echantillonnage

Echantillon	Quantité (g)	Température de la cuisson (°C)	Durée (minutes)
H. OTC (-)	250 (5 portions)	--	--
H. OTC (+)	250	--	--
H. OTC (+) ₁₁₅	250	115 (Cocotte)	35
H. OTC (+) ₁₄₅	250	145 (Four)	20

Les échantillons sont mis en conserve à 4°C dans des boîtes stériles.

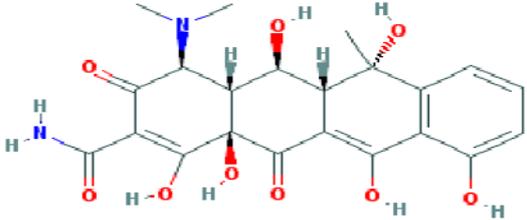
I.6. Entreposage des échantillons : les échantillons sont transportés dans une glacière conforme (sur une distance de 20 kilomètres parcourue en 15 minutes) et mis dans un réfrigérateur (4°C) dès l'arrivée au laboratoire.

II. Le choix de la molécule d'antibiotique

L'Oxytétracycline Chlorhydrate (HCL OTC) est couramment utilisé en élevage de volaille pour la prévention et le traitement de diverses maladies et aussi pour promouvoir la croissance. Cependant, l'utilisation de ce composé peut entraîner la présence de résidus dans les produits alimentaires d'origine animale, en particulier si les délais d'attente ne sont pas respectés. Ces résidus peuvent constituer une menace pour la santé des consommateurs, selon le type de nourriture et de la quantité de résidus. La LMR de l'oxytétracycline (OTC) est de 100 µg/kg pour le muscle de poulet (Règlement UE 37/2010). La concentration des résidus qui dépasse le niveau autorisé peut présenter une préoccupation toxicologique et causer des problèmes de santé humaine qui peuvent comprendre des troubles gastro-intestinaux, un risque tératogène pour le fœtus, des réactions allergiques et le développement de pathogènes résistants pour les humains et les animaux (Shahid M.A. et al., 2007).

L'OTC est un analogue de la tétracycline isolé à partir de *Streptomyces rimosus* (PubChem NCBI, 2015). Les caractéristiques de la molécule sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 12 : propriétés chimiques et structurales de l'HCL OTC
(PubChem NCBI)

Structure 2D	
Formule moléculaire	Cl-H $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{ClN}_2\text{O}_9$
Poids moléculaire	496.8949 g / mol
Puissance	1011,58 $\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$
Solubilité	Très soluble dans l'eau / légèrement soluble en alcool
Aspect	Poudre cristalline de couleur jaune claire

III. Matériel et méthodes

III.1. Détection des résidus d' HCL OTC dans le poulet frais et cuit par turbidimétrie

III.1.1 Principe : la croissance de micro-organismes dans un milieu liquide clair contenant une concentration constante de résidus d'antibiotiques se traduira par un «changement dans la turbidité du milieu». La variation de la turbidité ou l'absorbance est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre. L'absorbance enregistrée est déterminé par le nombre de micro-organismes; par conséquent, la diminution de l'absorbance reflète l'effet de la substance antimicrobienne sur la population bactérienne présente dans l'échantillon. Le temps nécessaire pour atteindre une certaine absorbance dans des conditions bien définies peut être proportionnel à la charge initiale de micro-organismes inoculés dans le milieu. L'absorbance est mesurée à 530 nm (Jorgensen H.L. et Schulz E. 1985). La technique de turbidimétrie nécessite une étape de base : l'extraction de l'antibiotique contenu dans la viande, avant de faire la lecture avec le spectrophotomètre.

III.1.2. Matériel biologique

III.1.2.1. Viandes : H. OTC (-), H. OTC (+), H. OTC (+)₁₁₅, H. OTC (+)₁₄₅.

III.1.2.2. Souches : suspension de *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538 P) (European Pharmacopoeia Commission, 2005) fournie par le laboratoire.

III.1.3. Matériel non biologique

III.1.3.1. Ustensiles et verreries :

- ✓ Mortier pour le broyage ;
- ✓ béchers : 50 ml ;
- ✓ fioles : 25 ml, 50 ml, 100 ml ;
- ✓ pipettes de : 1 ml ,5 ml, 10 ml ;
- ✓ pipettes pasteurs stériles ;
- ✓ pipettes stériles : 20 ml ;
- ✓ micropipettes : 50µl, 1000µl ;
- ✓ tubes gradués de : 10ml, 20ml ;
- ✓ ampoule à décanter ;
- ✓ filtre entonnoir : filtre en vers fritté ;
- ✓ fiole à vide et le vide. ;
- ✓ bec benzène ;
- ✓ tubes à essais stériles ;
- ✓ les cuves qui seront placées dans le spectrophotomètre.

III.1.3.2. Appareils :

- ✓ Spectrophotomètre ;
- ✓ bain marie de 37°C ;
- ✓ haute ;
- ✓ agitateur ;
- ✓ balance électronique.

III.1.3.3. Réactifs et milieux :

- ✓ Acétonitrile (ACN) ;
- ✓ 2-methyl-2-propanol ;
- ✓ acide chlorhydrique (HCL 1N) ;
- ✓ chlorure de méthylène ;
- ✓ éther de pétrole ;
- ✓ formaldéhyde ;

- ✓ milieu 3 (0,1%) convenable à la croissance de *S.aureus*, sa préparation nécessite 300 ml de milieu 3 liquide qui va être ensemencé par 0,1 ml de l'inoculum ;
- ✓ des dilutions de chlorhydrate d'oxytétracycline (HCL OTC) standard ($100 \mu\text{g.ml}^{-1}$, $10 \mu\text{g.ml}^{-1}$) sont préparées comme suit (Figure 3) :

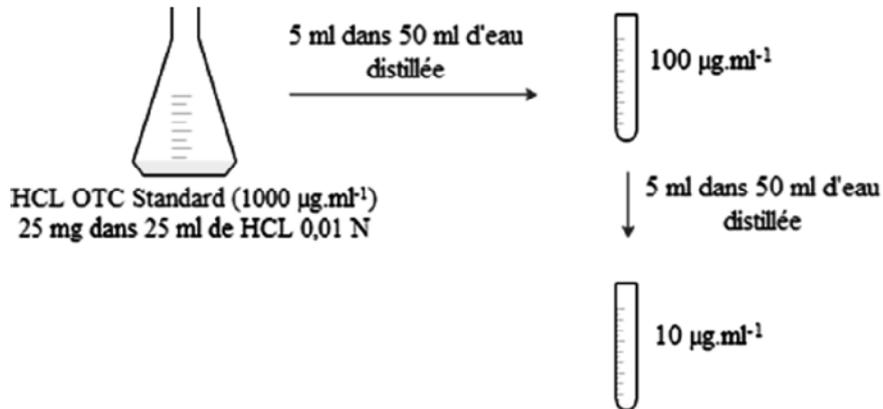


Figure 3 : les dilutions de HCL OTC standard (European Pharmacopoeia Commission, 2005)

III.1.4. Méthodes

III.1.4.1. Extraction (Van Wambeke et *al.*, 1999) : sous la haute

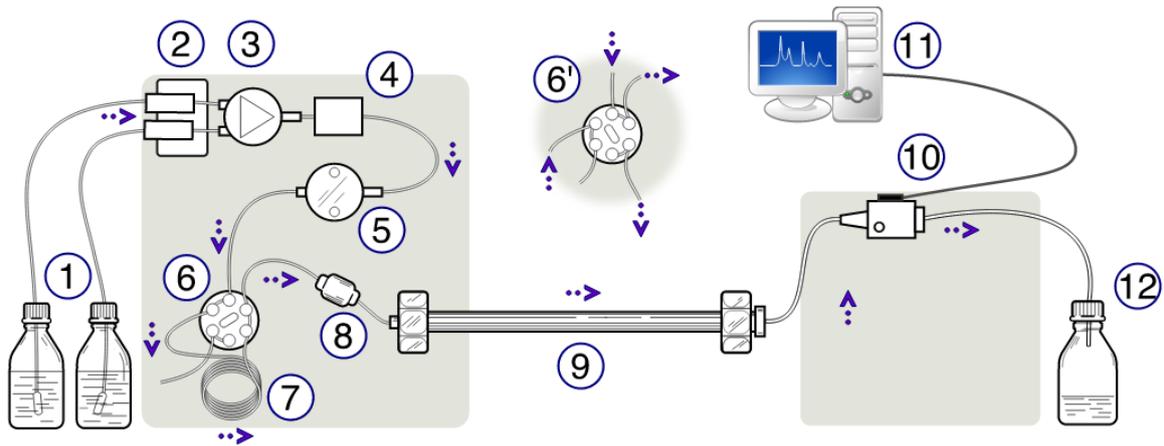
- on met 2,5 g du viande hachée dans un mortier ;
- on ajoute 7,5ml d'eau distillé ;
- on écume par l'ajout de 62,5 μl de 2-methyl-2-propanol ;
- on laisse le mélange reposer 5 minutes ;
- on agite le mélange pendant 5 minutes ;
- on met 5ml de mélange + 0,6 ml du HCL (1N) + 20 ml d'ACN ;
- on laisse reposer pendant 10 minutes ;
- on filtre sous vide avec un filtre à plaque en verre fritté,
- on ajoute 20 ml de chlorure de méthylène + 20 ml de l'éther de pétrole ;
- on secoue le mélange vigoureusement ;
- on laisse reposer pendant 10 minutes ;
- on récupère la phase inférieure;
- on ajuste le volume avec 20% d'HCL (0,01N).

III.1.4.2. La détection de résidus d' HCL OTC par turbidimétrie (European Pharmacopoeia Commission, 2005)

- On met 1 ml de chacune des solutions obtenus après extraction y compris les dilutions d'HCL OTC standard dans 6 cuves ;
- on ajoute à chaque cuve 9 ml de milieu inoculé (milieu 3) ;
- on agite les cuves ;
- on incube tous les cuves dans un bain marie 3 heures à 37°C ;
- après incubation, on ajoute 0,5 ml de formaldéhyde à chaque cuve pour arrêter la croissance microbienne ;
- on agite les cuves et on les place dans le spectrophotomètre ;
- on lit l'absorbance à une longueur d'onde 530 nm.

III.2. Quantification de la teneur des résidus d' HCL OTC dans le poulet frais et cuit par CLHP en phase inverse

III.2.1. Principe : l'échantillon à analyser est associé à un solvant qui traverse sous pression une colonne contenant ce que l'on appelle la phase stationnaire, un gel qui a la propriété de retenir les molécules qui le traversent. En fonction de l'affinité qu'il y'a entre les composés de l'échantillon à analyser et la phase stationnaire, ces composés seront retenus plus ou moins longtemps dans la colonne avant d'en sortir et d'être mesurés. Un détecteur suit en continu le liquide à la sortie de la colonne afin de détecter la présence des composés. Différents types de détecteurs peuvent être utilisés, le plus courant étant un spectrophotomètre UV-visible, qui mesure l'absorption de la lumière par le produit. Le détecteur est lié à un ordinateur qui permet de visualiser un graph de quantification en fonction du temps. Chaque type de molécule véhiculé par la phase mobile apparaîtra sous forme de pic dans le graph, et c'est avec l'aire des pics qu'on peut calculer la quantité des ces molécules (Meyer V., 2010). La figure 4 est une représentation du système CLHP.



(1) solvants « phase mobile » (2) dégazeur (3) soupape de gradient (4) récipient mélangeur de la phase mobile (5) pompe haute pression (6) soupape d'inversion en position d'injection (6') soupape d'inversion en position de chargement (7) boucle d'injection de l'échantillon (8) pré-colonne (9) colonne d'analyse « phase stationnaire » (10) détecteur (11) acquisition de données (12) collecte de déchets.

Figure 4 : Représentation schématique d'un appareil CLHP (Meyer V., 2010)

La CLHP en phase inverse est un type de CLHP qui nécessite une colonne composée majoritairement de silices greffées par des chaînes linéaires de 18 atomes de carbones (C_{18}) (Figure 5) (MicroSolv). Cette phase est apolaire (hydrophobe) et nécessite donc un solvant polaire pour véhiculer l'échantillon (acétonitrile, méthanol, eau). Dans ce cas, ce sont les composés polaires qui seront élués en premier et les composés apolaires (hydrophobes) seront retenus (Meyer V., 2010). L'HCL OTC fera un bon exemple de ces composés (Aggarwal S. et *al*, 2015). Une extraction de résidus à partir de la viande est nécessaire également dans l'analyse par CLHP.

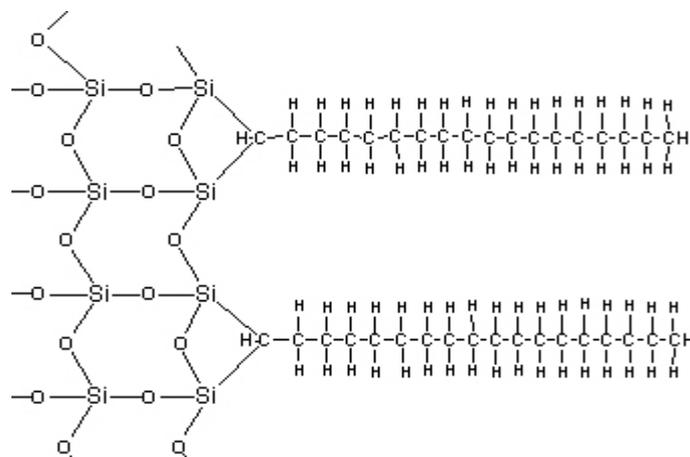


Figure 5 : Structure de la colonne C_{18} (MicroSolv)

III.2.2. Matériel biologique

III.2.2.1. Viandes : H. OTC (-), H. OTC (+), H. OTC (+)₁₁₅, H. OTC (+)₁₄₅.

III.2.3. Matériel non biologique

III.2.3.1. Ustensiles et verreries :

- ✓ Mortier pour le broyage ;
- ✓ béchers: 50 ml ;
- ✓ fioles : 25 ml ,50 ml, 100 ml ;
- ✓ pipettes de : 1 ml ,5 ml, 10 ml ;
- ✓ pipettes stériles : 20 ml ;
- ✓ tubes gradués de : 10ml, 20ml ;
- ✓ tubes à essais stériles ;
- ✓ tubes à centrifugation ;
- ✓ colonne analytique de type C₁₈ ;
- ✓ tissu filtrant en nylon (45 µm) ;
- ✓ seringue pour injecter l'échantillon (20 µl) .

III.2.3.2. Appareils :

- ✓ Appareil CLHP (SHIMADZU LC-10A Series);
- ✓ centrifugeuse;
- ✓ agitateur ;
- ✓ bain ultrasonique ;
- ✓ balance électronique.

III.2.3.3. Réactifs:

- ✓ Eau distillée ;
- ✓ ACN ;
- ✓ MeOH (Méthanol) ;
- ✓ acide citrique (30%);
- ✓ acide nitrique ;
- ✓ Solution de HCL OTC standard dans le MeOH (0,4 mg.ml⁻¹).

III.2.4. Méthodes

III.2.4.1. Extraction (Senyuva H. et al, 2000)

- On met 2 g du viande hachée dans un mortier ;

- on ajoute 0,1 g d'acide citrique ;
- on ajoute 1 ml d'acide nitrique (30%) ;
- on ajoute 4 ml de MeOH et 1 ml de l'eau distillée respectivement ;
- on agite bien le mélange;
- on met le mélange dans un tube de centrifugation ;
- on met le tube dans un bain ultrasonique pendant 15 minutes;
- on centrifuge le mélange pendant 10 minutes à 5300 rpm;
- on filtre et on récupère la phase supérieure dans un tube ;

III.2.4.2. La recherche de résidus d' HCL OTC par CLHP en phase inverse (Zeghilet N., 2009)

Selon Zeghilet N. (2009), les paramètres optimums pour analyser et quantifier l'HCL OTC dans le muscle de poulet de chair sont :

- une phase stationnaire en phase inverse C_{18} ;
- une phase mobile composée de 100% d'acétonitrile ;
- une longueur d'onde de 325 nm et 344 nm ;
- un débit de 1,5 ml/minute ;
- un volume injecté de 20 μ l ;
- une durée d'analyse de 5 minutes.

Après avoir placé la colonne et réglé l'appareil CLHP selon les paramètres cités ci-dessous, on injecte un volume 20 μ l de solution HCL OTC standard et de chaque échantillon. L'intervalle de temps dont l'apparition de pic de l'HCL OTC est probable: $t = [1,843 ; 2,124]$ minutes.

III.3. Etude de la stabilité de la molécule d'HCL OTC après traitement thermique par la méthode de diffusion sur Agar

III.3.1. Principe : un disque de papier filtre contenant des quantités d'antibiotique est placé sur un milieu solide qu'on a largementensemencé d'organisme de test. Après incubation, le diamètre de la zone d'inhibition claire entourant le disque sert à mesurer la puissance d'inhibition de l'antibiotique contre l'organisme de test (Jawetz E. et *al.* 1999). Dans cette expérimentation, on vise à étudier l'effet de la chaleur sur l'activité inhibitrice de la molécule d' HCL OTC par chauffage à

différentes températures pendant des durées déterminées, cela se traduit par des variations dans les diamètres des zones d'inhibition.

III.3.2. Matériel biologique

III.3.2.1. Souche : suspension d'*Escherichia coli* (ATCC 4157) (European Pharmacopoeia Commission, 2005), fournie par le laboratoire.

III.3.3. Matériel non biologique

III.3.3.1. Ustensiles et verreries :

- ✓ béciers : 50 ml ;
- ✓ fioles : 100 ml, 150 ml ;
- ✓ pipettes stériles : 1 ml, 20 ml ;
- ✓ marmite ;
- ✓ tubes à essais stériles ;
- ✓ thermomètre ;
- ✓ boîtes de Pétri ;
- ✓ disques de papier filtre
- ✓ pince ;
- ✓ bec benzène ;
- ✓ râteau stérile.

III.3.3.2. Appareils :

- ✓ haute ;
- ✓ bain marie ;
- ✓ agitateur ;
- ✓ balance électronique.

III.3.3.3. Réactifs et milieux :

- ✓ solution d'HCL OTC standard ($0,6 \text{ mg.ml}^{-1}$) ;
- ✓ eau distillée ;
- ✓ gélose nutritive (GN) (pH 7.2) (European Pharmacopoeia Commission, 2005), fournie par le laboratoire ;

III.3.4. Méthodes

III.3.4.1. Chauffage de l' HCL OTC : on verse un volume de 50 ml de l'HCL OTC ($0,6 \text{ mg.ml}^{-1}$) dans 5 tubes à essaie. On met chaque tube dans un

bain marie préchauffé à une température déterminée. Les températures et les durées de chauffage sont indiquées dans le tableau 12.

Tableau 13 : températures et durées de chauffage des solutions HCL OTC

Tubes	Volume (ml)	Températures de chauffage (°C)	Durées (minutes)
Témoin	--	--	--
1		45	60
2		60	55
3	10	85	50
4		100	40
5		120	30

III.3.4.2. Diffusion sur Agar (European Pharmacopoeia Commission, 2005)

- On fond la GN dans l'eau bouillante ;
- on écoule la gélose dans 6 boîtes de Pétri sous la haute ;
- on laisse la gélose solidifier 30 minutes ;
- on ensemence la gélose avec 1 ml de la suspension d'*E. coli* ;
- on étale la suspension d'*E. coli* à l'aide d'un râteau du centre vers les bords ;
- on laisse sécher de 3 à 5 minutes ;
- on imprègne 6 disques de papier filtre dans les solutions d' HCL OTC, chacun dans un tube ;
- on dépose un disque au centre de chaque boîte de Pétri ;
- on incube les boîtes pendant 24 heures.

RÉSULTATS

I. Résultats de détection par turbidimétrie

L'aspect visuel des solutions à analyser après incubation est présenté dans la figure 6. Les tableaux 13 et 14 donnent les valeurs d'absorbance des échantillons et des solutions HCL OTC standard.

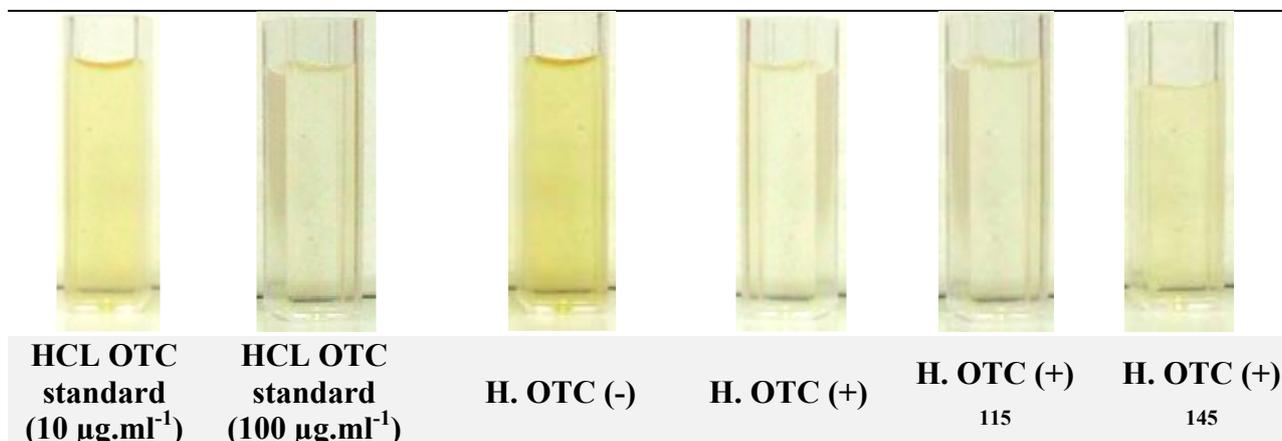


Figure 6 : cuvettes de spectrophotomètre contenant les échantillons à analyser après incubation

La figure 6 montre une différence de turbidité des solutions qui s'intensifie lorsque la concentration d'antibiotique dans le mélange est faible. Le trouble presque inaperçue dans les solutions H.OTC (+) et H. OTC (+)₁₁₅ montre la présence des résidus dans la viande des animaux traités en grande quantité.

I.1. Résultats du premier essai :

Les valeurs d'absorbance des solutions enregistrées en premier essai sont présentées dans le tableau 13.

Tableau 13 : résultats de turbidimétrie (1^{er} essai)

	HCL OTC standard (10 µg.ml ⁻¹)	HCL OTC standard (100 µg.ml ⁻¹)	H. OTC (-)	H. OTC (+)	H. OTC (+) ₁₁₅	H. OTC (+) ₁₄₅
Absorbance	0,104	0,033	0,372	0,023	0,052	0,071

La valeur la plus faible d'absorbance de la solution H.OTC (+) confirme la présence d'une concentration élevée d'antibiotique dans l'échantillon positif. La comparaison de l'absorbance des solutions H. OTC (+)₁₁₅, H. OTC (+)₁₄₅ et H.OTC (+) montrent que la chaleur a un effet sur la concentration d'antibiotique présente dans le muscle. En effet la concentration de cet antibiotique versus absorbance diminue quand la température de la cuisson augmente. La concentration dans ces deux derniers échantillons est moins de 100 µg.ml⁻¹ puisque leur absorbance

est relativement élevé par rapport à l'absorbance de la solution HCL OTC standard (100 µg.ml⁻¹).

I.2. Résultats du deuxième essai :

Les valeurs d'absorbance des solutions enregistrées en deuxième essai sont présentées dans le tableau 14.

Tableau 14 : résultats de turbidimétrie (2^{ème} essai)

	HCL OTC standard (10 µg.ml ⁻¹)	HCL OTC standard (100 µg.ml ⁻¹)	H. OTC (-)	H. OTC (+)	H. OTC (+) ₁₁₅	H. OTC (+) ₁₄₅
Absorbance	0,092	0,029	0,376	0,017	0,046	0,063

Les valeurs d'absorbance des échantillons H .OTC (+), (+)₁₁₅ ,(+)₁₄₅ et les solutions HCL OTC standard ont diminué à cause de l'action inhibitrice continue des antibiotique vis-à-vis des germes dans ces solutions. Par contre pour l'échantillon négatif, la valeur d'absorbance a augmenté donc les germes peuvent toujours se multiplier en absence d'antibiotique.

II. Résultats de quantification par CLHP en phase inverse

Les courbes des figures 7, 8, 9, 10 et 11 sont les pics obtenus après l'injection de la solution l'HCL OTC standard et des solutions contenant les échantillons positifs et l'échantillon négatif à analyser.

II.1. Chromatogramme obtenu après l'injection de l' HCL OTC Standard (0,4 mg.ml⁻¹) :

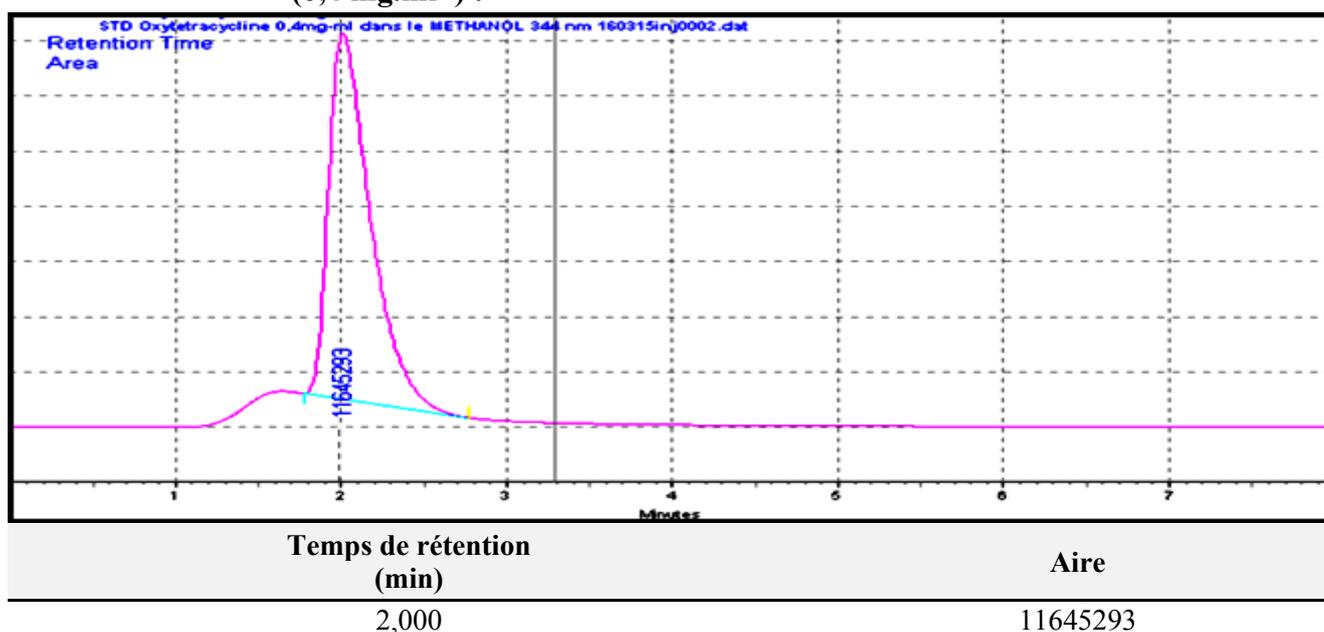


Figure 7 : Chromatogramme HCL OTC Standard

L'injection de la solution de standard (0,4 mg.ml⁻¹) donne un pic après 2 minutes d'analyse ce qui concorde avec les paramètres d'analyse de l'HCL OTC mentionnés dans la partie matériel et méthodes. L'aire de ce pic est de 11645293.

II.2. Chromatogramme obtenu après l'injection de l'H.OTC (-) :

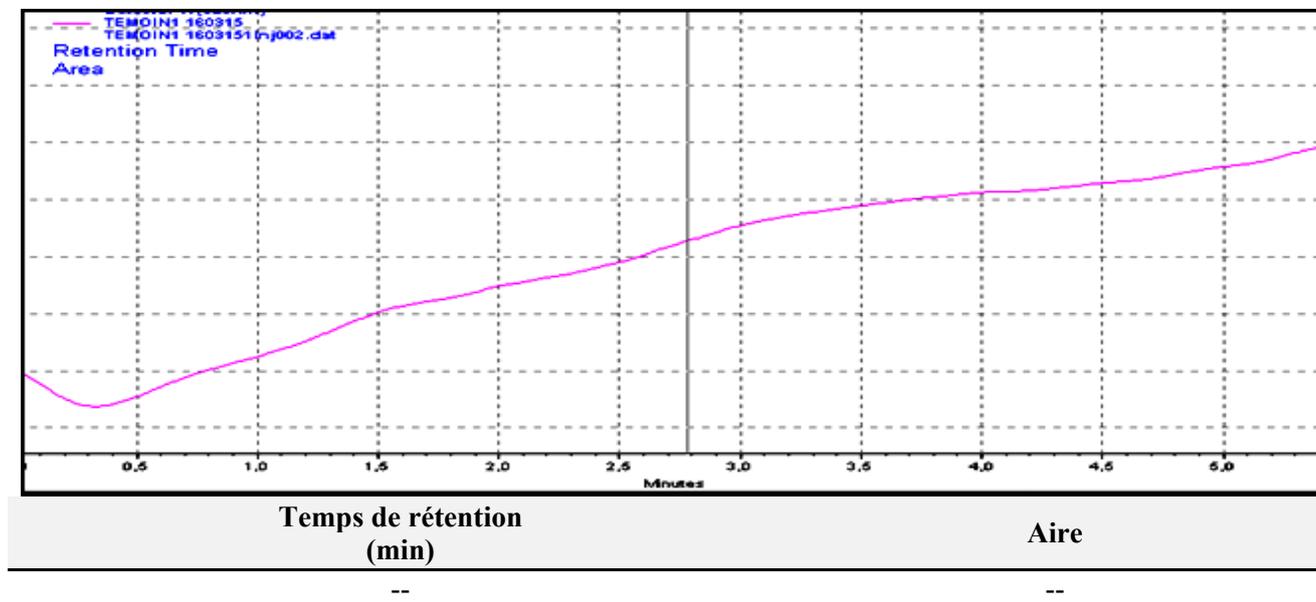


Figure 8 : Chromatogramme H.OTC (-)

Aucun pic n'est enregistré en injectant la solution H.OTC (-) ce qui confirme l'absence de l'antibiotique dans l'échantillon négatif.

II.3. Chromatogramme obtenu après l'injection de l'H.OTC (+) :

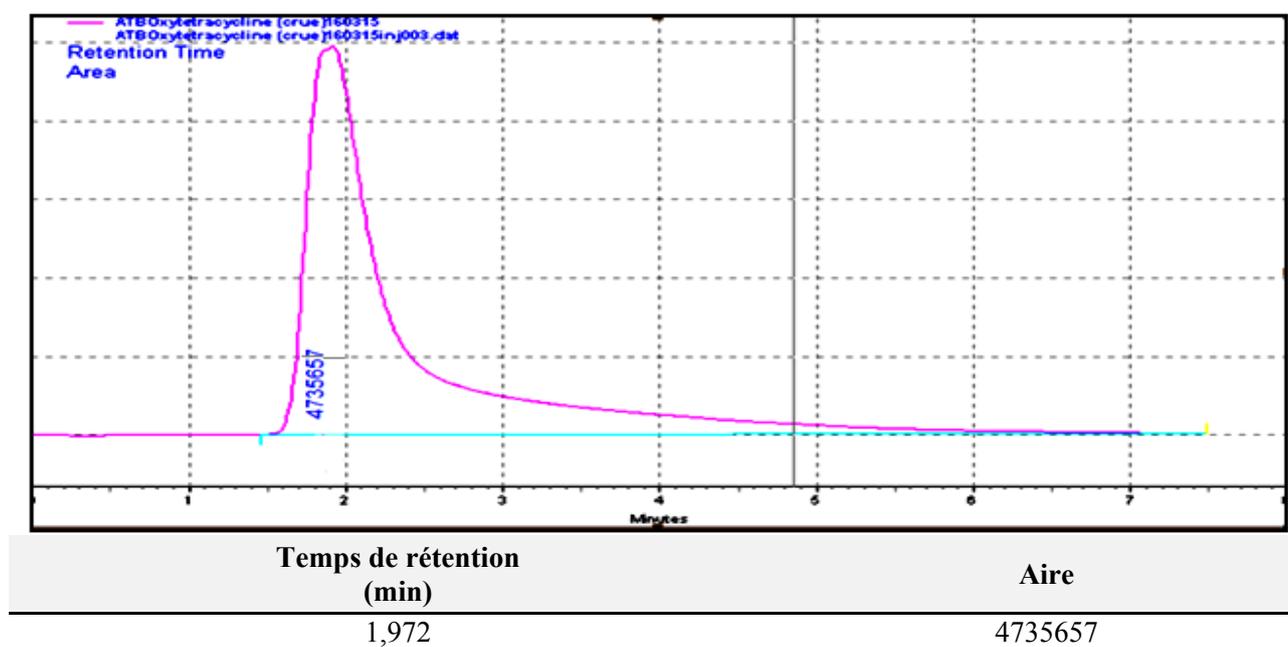
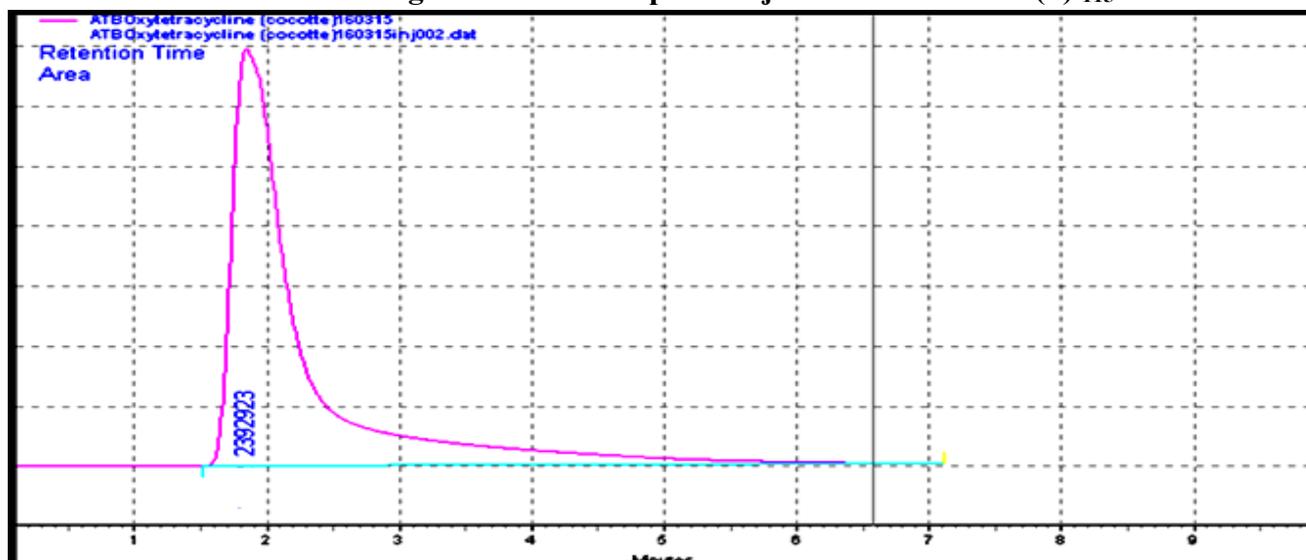


Figure 9 : Chromatogramme H.OTC (+)

La solution H.OTC (+) donne un pic de 4735657 après 1,97 minute d'analyse. Cela est conforme avec les paramètres d'analyse de l'HCL OTC et confirme la présence de l'antibiotique dans l'échantillon analysé.

II.4. Chromatogramme obtenu après l'injection de l'H.OTC (+) ₁₁₅ :

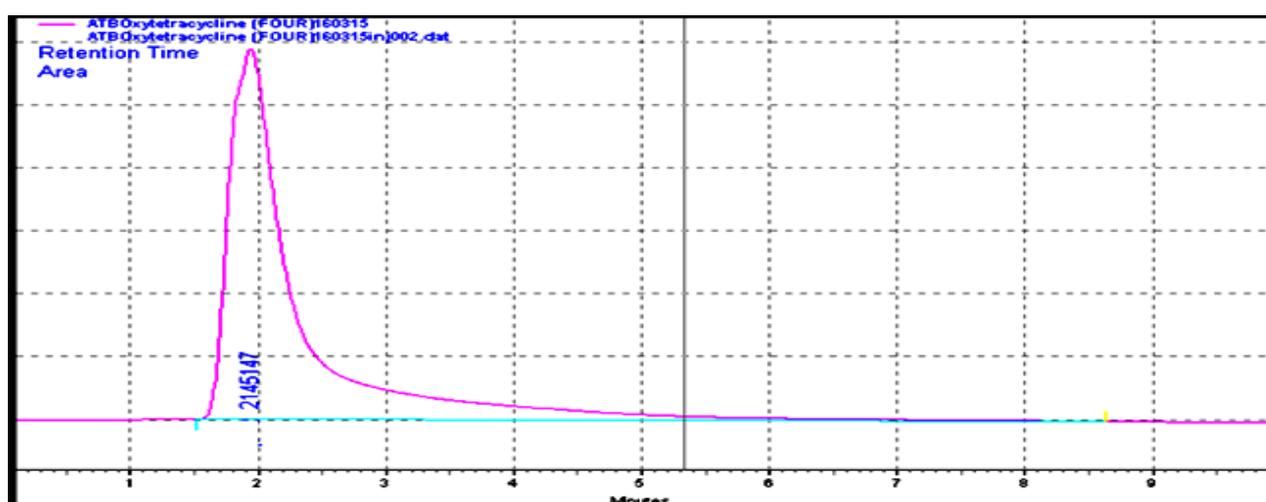


Temps de rétention (min)	Aire
1,932	2392923

Figure 10 : Chromatogramme H.OTC (+) ₁₁₅

La solution H.OTC (+) ₁₁₅ contient une quantité de HCL OTC qui donne un pic de 2392923 après 1,93 minute d'analyse.

II.5. Chromatogramme obtenu après l'injection de l'H.OTC (+) ₁₄₅ :



Temps de rétention (min)	Aire
1,979	2145147

Figure 11 : Chromatogramme H.OTC (+) ₁₄₅

La solution H.OTC (+) ₁₄₅ contient une quantité de HCL OTC qui donne un pic de 2145147 après 1,97 minute d'analyse.

II.6. Quantification des concentrations des résidus l'HCL OTC présents dans les échantillons :

On calcule la quantité de résidus présents dans les échantillons selon la formule suivante (Pananookooln S., 2007):

$$C_r (\mu g . mg^{-1}) = \frac{A_{Ech} \times V_{Ech} \times C_{Std} \times P_{Std}}{A_{Std} \times M_{Ech}}$$

C_r : la quantité de résidus dans l'échantillon ($\mu g . mg^{-1}$);

A_{Ech} : l'aire de pic de la solution d'échantillon injectée ;

V_{Ech} : le volume de la solution d'échantillon injectée (ml) ;

C_{Std} : la concentration de la solution standard HCL OTC injectée ($mg . ml^{-1}$) ;

P_{Std} : la puissance de standard HCL OTC ($\mu g . mg^{-1}$);

A_{Std} : l'aire de pic de la solution de standard HCL OTC injectée ;

M_{Ech} : la masse de la solution d'échantillon.

$$C_{Std} = 0,409 \text{ mg} . \text{ml}^{-1} ;$$

$$A_{Std} = 11645293;$$

$$P_{Std} = 1011,58 \mu g . \text{mg}^{-1} .$$

Tableau 15 : données recueillies pour effectuer le calcul des concentrations de résidus (aires, pesées et volumes)

	H. OTC (-)	H. OTC (+)	H. OTC (+) ₁₁₅	H. OTC (+) ₁₄₅
A_{Ech}	--	4735657	2392923	2145147
V_{Ech} (ml)	6	6	6	6
M_{Ech} (mg)*	6934	6926	6917	6922

* la masse de la solution d'échantillon = la masse de la viande hachée pesée + la masse totale de réactifs solides pesée + la masse du volume totale des solvants (masse volumique du solvant \times le volume de solvant)

Les résultats de calcul des concentrations de résidus figurent dans le tableau suivant :

Tableau 16 : résultats de quantification des résidus l'HCL OTC dans les échantillons

	H. OTC (-)	H. OTC (+)	H. OTC (+) ₁₁₅	H. OTC (+) ₁₄₅
Température de la cuisson (°C)	--	--	115	145
Durée (min)	--	--	35	20
Quantité (µg.mg ⁻¹)	--	0,14569375	0,0737147	0,06603415
Quantité (µg. g ⁻¹)	--	145,69	73,71	66,03
% de résidus détruits par la cuisson	--	--	49,40	54,68

L'aire de pic enregistrée en injectant la solution H.OTC (+) justifie l'existence d'une concentration très élevée de résidus de HCL OTC dans le poulet cru (plus de 140 µg.g⁻¹), cela est expliqué par les fortes doses de médicament données aux animaux avant l'abattage. Les quantités calculées de résidus dans les échantillons H. OTC (+)₁₁₅ et H. OTC (+)₁₄₅ appuient le résultat de l'étape de détection vu que la régression de la quantité de résidus est parfaitement notable et aussi inférieur de 100 µg. g⁻¹ (une diminution de 49,40% pour l'échantillon H. OTC (+)₁₁₅ et de 54,68% pour l'échantillon H. OTC (+)₁₄₅). Les chiffres dans le tableau 16 affirment qu'une cuisson à 145 °C pendant 20 minutes du poulet contenant des quantités de résidus au-delà de la LMR (plus de 100 µg.kg⁻¹), peut ne pas présenter de danger pour le consommateur par ces résidus d'HCL OTC.

III. Résultats de l'étude de la stabilité d' HCL OTC après traitement thermique par la méthode de diffusion sur Agar

Les figures numéro 12 à 18 montrent le changement de couleur de la solution d'antibiotique et de diamètres des zones d'inhibition après un chauffage à des différentes températures.

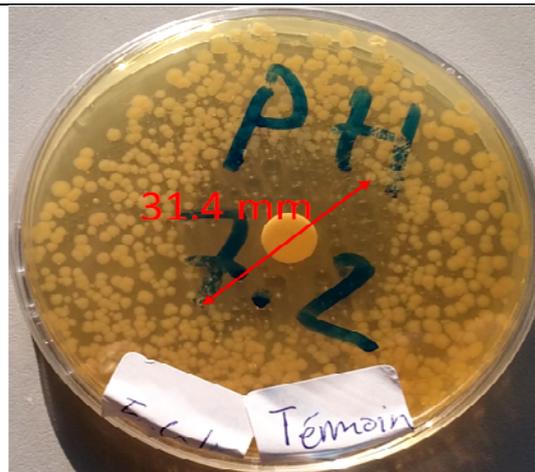
III.1. Changement du couleur de la solution d'HCL OTC

	Témoin	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4	Tube 5
T (°C)	--	45	60	85	100	120
Durée (min)	--	60	55	50	40	30

Figure 12 : changement de couleur de la solution d'HCL OTC standard ($0,6 \text{ mg.ml}^{-1}$) après traitement thermique

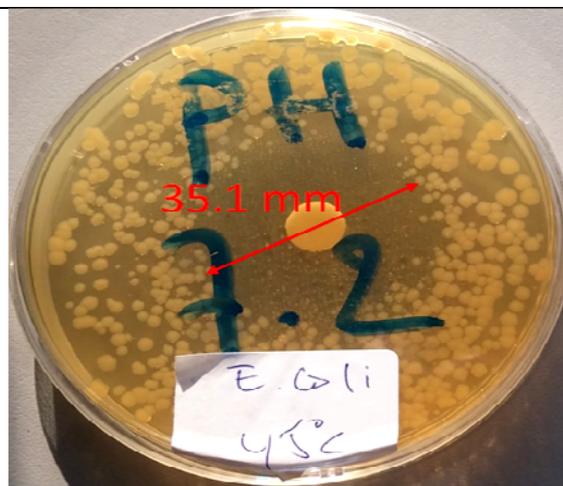
Dans la figure 12, le changement progressif de couleur du jaune pâle au saumon (rouge-orangé) en augmentant la température et en diminuant la durée de chauffage, décrit l'impact de la chaleur sur la molécule objet d'étude.

III.2. Mesures des diamètres des zones d'inhibition après incubation



Ø = 31,4 mm

Figure 13 : zone d'inhibition « Témoïn »



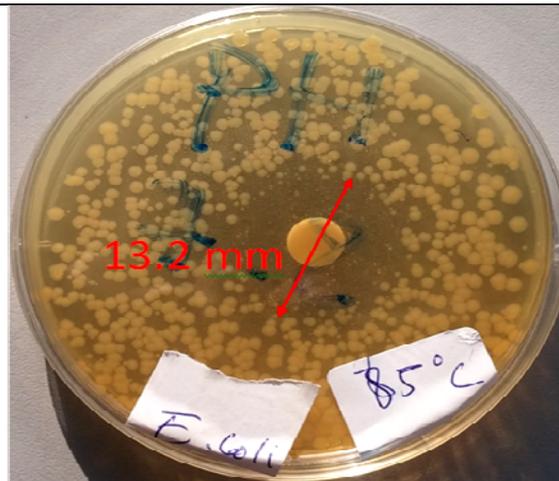
Ø = 35,1 mm

Figure 14 : zone d'inhibition « 45 °C »



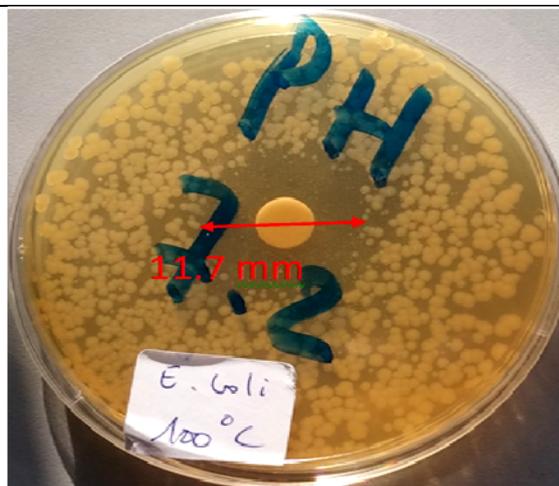
Ø = 21,8 mm

Figure 15 : zone d'inhibition « 60 °C »



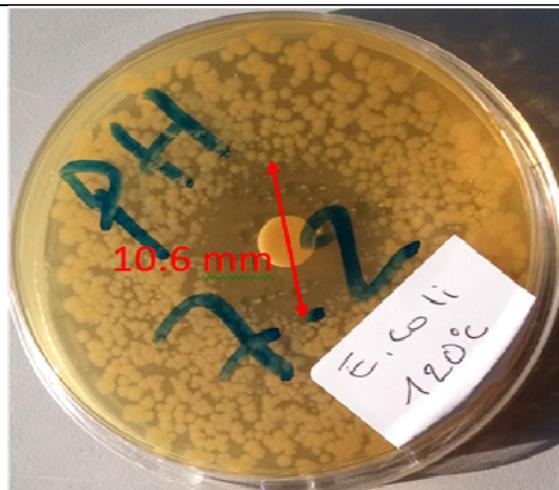
$\text{Ø} = 13,2 \text{ mm}$

Figure 16 : zone d'inhibition « 85 °C »



$\text{Ø} = 11,7 \text{ mm}$

Figure 17 : zone d'inhibition « 100 °C »



$\text{Ø} = 10,6 \text{ mm}$

Figure 18 : zone d'inhibition « 120 °C »

Les pourcentages de variation des diamètres sont indiqués dans le tableau 18.

Tableau 18 : variations des diamètres des zones d'inhibition en fonction de la température et de la durée de l'exposition à la chaleur

	Témoin	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4	Tube 5
T (°C)	--	45	60	85	100	120
Durée (min)	--	60	55	50	40	30
Ø (mm)	31,4	35,1	21,8	13,2	11,7	10,6
Variation (%)	--	+ 11,78	-30,57	-57,69	-62,73	-66,24

Les zones d'inhibition dont le diamètre est au moins égale à 2 mm sont considérées comme positives (AFNOR, 2011). La zone d'inhibition de la solution du témoin donne un diamètre de 31,4 mm. Le chauffage de l'HCL OTC à 45 °C pendant une heure donne un diamètre plus grand que le diamètre de la solution témoin, ce qui indique qu'une augmentation de la température ambiante peut maximiser l'effet inhibiteur de cet antibiotique. Par contre, un chauffage à des températures au-delà de 60 °C pendant des durées qui dépassent 30 minutes a permis de réduire le diamètre, en conséquence l'effet inhibiteur, de plus de 65%. À la suite des résultats du tableau 18 est les zones d'inhibitions illustrées dans les figures précédentes, il est facile de constater que l'HCL OTC est thermo-dégradable et un traitement à 85°C pendant 50 minutes est suffisant pour détruire plus que la moitié de sa quantité initiale.

DISCUSSION
DES
RÉSULTATS

I. Résultats de la détection par turbidimétrie

Le trouble de la solution contenant l'échantillon négatif est dense et sa valeur d'absorbance est la plus grande ce qui signifie qu'il ne contient pas de résidus d'antibiotique. Par contre à l'échantillon positif non cuit qui contient une quantité importante d'antibiotique, montre un léger trouble plus ou moins clair de la solution contenant l'extrait de cet échantillon et sa valeur d'absorbance est inférieure à la valeur de la solution HCL OTC standard ($100 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). Pour les échantillons H. OTC (+)₁₄₅ et H. OTC (+)₁₁₅, les troubles sont beaucoup moins obscurs que celui de l'échantillon négatif et leur valeurs d'absorbance sont supérieures à la valeur de la solution HCL OTC standard ($100 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) donc une quantité inférieure à $100 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, L'explication qu'on peut donner c'est que la cuisson donc la chaleur a affecté la teneur initiale de ces échantillons en antibiotique donc l'effet inhibiteur diminue par destruction ou transformation de la molécule d'OTC .

Il n'y a pas d'études antérieures similaires qui ont utilisé la technique de turbidimétrie pour y comparer nos résultats.

II. Résultats de la confirmation par CLHP en phase inverse

L'injection des échantillons positifs de viande a donné des pics conformes aux paramètres de détection de l'antibiotique HCL OTC. Aucun pic n'a été enregistré en injectant l'échantillon négatif ce qui confirme qu'il est exempt de résidus. La concentration de résidus dans l'échantillon positif non cuit H. OTC (+) est de $145,69 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$. Pour les échantillons de la viande cuite H. OTC (+)₁₄₅ et H. OTC (+)₁₁₅, la concentration calculée est de $73,71 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ pour la viande cuite à 115°C pendant 35 minutes, soit une réduction de 49,4% ; et de $66,03 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ pour la viande cuite à 145°C pendant 20 minutes, soit une réduction de 54,68% de la quantité initial des résidus dans H. OTC (+). Cela décrit l'effet notable de la cuisson sur la molécule HCL OTC.

D'après **Ibrahim A. et Moats W.A. (1994)**, la cuisson pendant plus de 30 minutes à 100°C dégrade les résidus d'OTC totalement. Quant aux résultats trouvés dans ce travail, une cuisson à 115°C pendant 35 minutes détruit presque 50% des résidus, et cela est appuyé par le résultat de **Van Egmond H. et al. (2000)** qui ont trouvé que la destruction des résidus n'est pas totale (53%) et les résidus sont plus ou

moins stables même s'ils subissent une procédure de cuisson à 130° C pendant 20 minutes.

Nguyen V.H. et al. (2014) ont trouvé que la cuisson à 100 °C durant 15 minutes réduit la teneur de la viande en OTC de 43% et donne un produit de dégradation (**α -apo-OTC**). Cette même étude indique que l' **α -apo-OTC** est inactif et ne présente aucun danger pour l'organisme.

Selon **Abou-Raya S. et al. (2013)**, les résidus d'OTC sont thermiquement instables et une cuisson convenable de la viande (à plus de 140 °C pendant 20 minutes) peut écarter le danger. Ce constat est similaire aux résultats de ce travail ; une cuisson à 145°C pendant 20 minutes peut diminuer la quantité de résidus initiale de plus de 54%.

III. Résultats de l'étude de la stabilité d' HCL OTC après traitement thermique par la méthode de diffusion sur Agar

Un changement de couleurs graduel du jaune pâle au rouge-orangé a été remarqué en augmentant la température de chauffage de la solution de l'HCL OTC (de 45 °C à 120 °C pendant des durées allant de 30 à 60 minutes). Ce changement indique probablement un changement de la molécule dans sa structure tridimensionnelle ou un fractionnement en d'autres composés ce qui est effectivement avancé par **Kuhne M. et al. en 2001**.

La zone d'inhibition produite par la solution chauffée à 45 °C a un diamètre supérieur à celui de la zone produite par la solution témoin (31,4 mm) soit une hausse de 11,78%, donc l'effet inhibiteur à cette température est plus important. Les zones se rétrécissent et l'effet inhibiteur diminue quand la température est de plus de 60°C. On note une réduction de 57% du diamètre quand la molécule est chauffée à 85 °C pendant 50 minutes. Un chauffage à 100 °C pendant 40 minutes a engendré une zone d'inhibition de 11,7mm, soit une réduction de plus de 62% par rapport à celle du témoin, et à 120°C ce diamètre est réduit de plus de 65%. Ces variations des diamètres d'inhibition indiquent que l'activité inhibitrice de l'HTC OTC diminue quand la température augmente.

Hassani M. et al. (2008) affirment qu'un chauffage à plus de 100°C pendant des durées assez longues (30 à 40 minutes) diminue la concentration initiale mais

avec des pourcentages négligeables (≥ 2 %), et suggèrent que les traitements à hautes températures (UHT) sont plus efficaces que les procédures de la cuisson ménagère pour éliminer le risque présenté par les résidus d'antibiotiques dans la viande. En revanche, **Hsieh M.K. et al. (2011)** ont trouvé qu'un chauffage à la même température pendant 35 minutes réduit 60,5% de l'effet inhibiteur de la molécule d'OTC. Le pourcentage trouvé dans notre travail est très comparable à celui de **Hsieh M.K. et al.**, avec 63% de la concentration initiale détruite après un chauffage à 100 °C pendant 40 minutes.

Kuhne M. et al. (2001) trouvent que l'effet de la tétracycline (TTC) peut s'accroître après un traitement thermique à 100 °C, et c'est dû à l'apparition d'un produit de dégradation (l'anhydro-TTC) qui est plus toxique que la molécule mère, mais qui se dégradent aussi en des composés inactifs (l'épianhydro-TTC) quand la température est au-delà de 120 °C. Ceci a été remarqué au cours de ce travail, quand l'HCL OTC a été chauffé à 45 °C ; son effet inhibiteur s'est augmenté de plus de 10% et à commencer à diminuer à 60 °C.

Nos résultats s'accordent avec ceux de **Van Egmond H. et al. (2000)**, **Abou-Raya S. et al. (2013)**, **Nguyen V.H. et al. (2014)** et de **Hsieh M.K. et al. (2011)**, et confirment que l'HCL OTC subit une dégradation importante mais pas totale lorsqu'il est chauffé, mais contredisent ceux de **Ibrahim A. et Moats W.A. (1994)**.

Au vu des résultats de la cinétique et ceux de la méthode en diffusion sur agar, il est à noter que la chaleur agit sur la molécule à des niveaux de température positivement au début ensuite négativement au fur et à mesure que la température augmente. En effet la température agit positivement sur l'effet inhibiteur correspondant à une température convenable au développement des germes. Ensuite l'effet inhibiteur diminue quand la température augmente et au delà de 100°C l'effet est largement réduit à cause de la destruction de la molécule de l'OTC en éléments apparemment plus toxique; mais le devenir de la molécule et les effets de sa transformation doivent faire l'objet d'une étude plus approfondie afin d'apporter des éléments de réponses à beaucoup de questions.

CONCLUSION

Les antibiotiques, utilisés en clinique depuis les années 1940, constituent une étape importante dans l'histoire de la médecine. Leur usage en médecine humaine et vétérinaire dans un but thérapeutique a constitué pendant longtemps une arme efficace contre de nombreux germes pathogènes. Cependant, l'usage généralisé, voire abusif de certains antibiotiques, en traitement curatif, préventif ou en complémentation dans l'alimentation animale a conduit à l'apparition de dangers qui touchent la santé humaine. Mais compte tenu de leur intérêt thérapeutique, l'utilisation des antibiotiques a poursuivi sa courbe exponentielle au plan mondial.

Les antibiotiques utilisés dans les élevages de poulet peuvent laisser des résidus dans le muscle et dans d'autres tissus comestibles si le temps pour que ces résidus se dissipent avant l'abattage n'est pas respecté. L'existence de résidus des antibiotiques dans la viande de poulet et leur transfert aux consommateurs sont la cause de certains risques sanitaires tels que la résistance bactérienne, des réactions allergiques, des effets cancérogènes et une perturbation de la microflore intestinale naturelle. Par conséquent les limites maximales de résidus (LMR) pour les antibiotiques ont été fixées par de nombreux organismes (WHO/FAO, UE, FDA, *etc.*) mais ces LMR sont fixées pour la viande fraîche. Les quantités de résidus sont habituellement mesurées sur des viandes non cuites. Dans le cadre de ce travail il est question d'évaluer si les températures de la cuisson ordinaire ont un effet détruisant sur les résidus de l'antibiotique HCL OTC, fréquemment utilisé en élevage de poulet.

La présente étude a montré que les résidus d'HCL OTC sont des composants instables qui se dégradent lors de la cuisson, ceci nous donne la confirmation de l'idée que les résidus des antibiotiques sont thermo-dégradables ; en effet un chauffage de la molécule d'HCL OTC à 85°C pendant 50 minutes diminue son effet inhibiteur de 57%, et une cuisson à 145°C pendant 20 minutes est suffisante pour détruire presque 55% de la quantité de résidus contenue dans le poulet traité avec l'HCL OTC. Ces traitements thermiques ont le potentiel pour rendre la viande de poulet qui contient une quantité de résidus importante dépassant la LMR probablement sans danger pour la consommation humaine.

De cette étude on peut conclure qu'une température et une durée de cuisson convenable peuvent avoir un grand effet sur les pertes résiduelles et offre une marge

de sécurité additionnelle pour le consommateur pour éviter tout risque présenté par les résidus de l'antibiotique HCL OTC.

Nos résultats représentent une mise au point pour les transformateurs et les agents de contrôle de qualité pour évaluer la présence des antibiotiques dans les produits traités par la chaleur plutôt que de la matière première (viande fraîche).

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- **Abou-rya S., Shalaby A., Salama N., Emam W., et Mehaya F. (2013)**, *Effect of Ordinary Cooking Procedures on Tetracycline Residues in Chicken Meat*, Journal of Food and Drug Analysis, Vol. 21, p 80-86.
- **AFNOR (2011)**. *Rapport de synthèse de l'étude de validation du Premi® Test (r-biopharm): test de détection des résidus d'antibiotiques dans le muscle*.
- **Aggarwal S., Rajput Y.S., Singh G., et Sharma R. (2015)**. *Synthesis and characterization of oxytétracycline imprinted magnetic polymer for application in food*. Springer. Sans pagination.
- **Ait Boulahsen A. (2015)**. *Intérêt. composition et valeurs nutritionnelles des viandes de volaille*. Conférence de presse sous le thème : « Les viandes de volaille au service d'une alimentation saine ». Association Nationale des Producteur des Viandes de Volaille (APV). Maroc. Le 20 février 2015.
- **Alloui N. (2011)**. *Situation Actuelle et Perspectives de Modernisation de la Filière Avicole en Algérie*. Neuvièmes Journées de la Recherche Avicole. 29 et 30 mars 2011 à Tours. France.
- **Ambulkar P.S., Gosh S.K. et Ingole I.V. (2009)**. *Genotoxic and cytotoxic effects of antibacterial drug, ciprofloxacin, on human lymphocytes in vitro*. Nepal Med Coll J. Vol 11. p 147-151.
- **American Meat institute (AMI) (2015)**. *The fact about antibiotics in Livestock and poultry production*. <https://www.meatinstitute.org/index.php?ht=a/GetDocumentAction/i/99943>.
- **Ammar A. (2010)**. *Epidémiologie de Salmonella Typhimurium et Salmonella Enteritidis dans la filière avicole*. thèse pour l'obtention du doctorat en sciences option pathologie des animaux domestiques. université de Batna. Algérie. 133 pages.
- **Anderson E.S. (1968)**. *Drug resistance in Salmonella Typhimurium and its implications*. Br Med J. p 333-339.
- **Andress L.E. (2004)**. *What gives meat its color?*. Accidental Scientist: Science of cooking web site. <https://www.exploratorium.edu/cooking/meat/INT-what-meat-color.html>. Page consultée le 12 mars 2015.
- **Benyounes A., Djeddi B. et Lamrani L. (2013)**. Influence du mode d'éclaircissement-alimentation sur les performances zootechniques du poulet de chair Hubbard-ISA 15 élevé en Algérie. Revue Agriculture 06. p 35-40.
- **Bouvet E. (2010)**. *Guide d'antibiothérapie pratique*. Médecine-Sciences Flammarion. Paris. 287 pages.
- **Brunning A. (2015)**. *A Brief Overview of Classes of Antibiotics*. Compound Intrest. <http://www.compoundchem.com/wp-content/uploads/2014/09/A-Guide-to-Different-Classes-of-Antibiotics.png>. Page consultée le 04/04/2015.
- **Çelik A. et Dilek E. (2011)**. *The Assessment of Cytotoxicity and Genotoxicity of Tetracycline Antibiotic in Human Blood Lymphocytes Using CBMN and SCE Analysis, in Vitro*. Int J Hum. Vol 11. p 23-29.

- **Chabbert Y.A. et Le Minor L. (1966).** *Transmission de la résistance à plusieurs antibiotiques chez les Enterobacteriaceae.* II Bactériologie générale de la résistance (suite)-Rôle clinique. Presse Méd. p 2472-2479.
- **Chardon H. et Brugère H. (2014).** *Usage des antibiotiques en élevage et filières viandes.* Centre d'information de viandes (CIV). Paris. Sans pagination.
- **Cohen C. et Jacquot Y. (2008).** *Pharmacologie (6^{ème} édition).* Elsevier Masson. 487 pages.
- **Cooper W.T. (2006).** *Normal Phase Liquid Chromatography.* Encyclopedia of Analytical Chemistry. Sans pagination.
- **Directive 81/851/CEE** du Conseil du 28 septembre 1981 concernant le rapprochement des législations des états membres relatives aux médicaments vétérinaire.
- **European Pharmacopoeia Commission (2005),** *European Pharmacopoeia 5.0.* 2677 pages.
- **FAOSTAT (2015).** <https://faostat.fao.org>.
- **Flandrois J.P. (1998).** *Bactériologie Médicale.* Presse Universitaire de Lyon. Sans pagination.
- **Fleming A. (1980).** *"Classics in infectious diseases: on the antibacterial action of cultures of penicillium with special reference to their use in the isolation of B. influenzae by Alexander Fleming. Reprinted from the British Journal of Experimental Pathology. 1929".* Rev. Infect. Dis. p 780-79.
- **Foster W. Raoult A. (1974).** *Early descriptions of antibiosis.* J R Coll Gen Pract. p 889-894.
- **Guillemot M.D. (2006).** *Usages vétérinaires des antibiotiques. résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine.* Agence française de sécurité des aliments. 214 pages.
- **Hassani M., Lazaro R., Condon S. et Pagan R. (2008).** *Thermostability of Oxytetracycline, Tetracycline, and Doxycycline at Ultrahigh Temperatures.* J. Agric. Food Chem (23). p 2676-2680.
- **Hsieh M.K., Shyu C.L., Liao J.W., Franje C.A. et Huang W.J. (2011).** *Correlation analysis of heat stability of veterinary antibiotics by structural degradation, changes in antimicrobial activity and genotoxicity.* Veterinarni Medicina (56). p 274-285.
- **Ibrahim. A. et Moats. W.A. (1994).** *Effect of cooking procedures on oxytetracycline residues in lamb muscle.* J. Agric. Food Chem (42). p 2561-2563.
- **Jawetz E., Melnick J.L. et Adelberg E.A. (1999).** *Microbiologie médicale.* Librairie Maloine. Paris. 461 pages.
- **Jorgensen H.L. et Schulz E. (1985).** *Turbidimetric measurement as a rapid method for the determination of the bacteriological quality of minced meat.* International Journal of Food Microbiology 2. p 177-183.

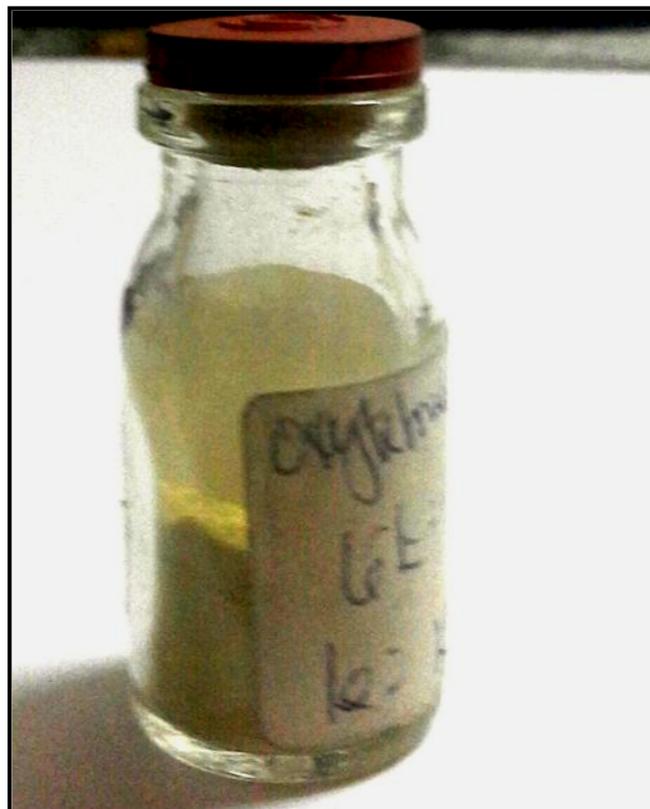
- **Jukes. T.H. (1985).** *Some historical notes on chlortetracycline.* Reviews of Infectious Diseases. p 702-707.
- **Kuhne M., Hamscher G., Ute K., et Dagmar S. (2001).** *Formation of anhydrotetracycline during a high-temperature treatment of animal-derived feed contaminated with tetracycline.* Food Chem. Vol 75. p 423-429.
- **La banque mondiale : données.** <https://Donnees.banquemondiale.org>
- **Lawrie. R.A.; Ledward. D.A. (2006).** *Lawrie's meat science (7th ed).* Cambridge: Woodhead Publishing Limited. 461 pages.
- **Lechat P. (2007).** *Pharmacologie.* Faculté de médecine Pierre et Marie Curie. Paris. Sans pagination.
- **McArdle J. (1991).** *Humans Are Omnivores.* May/June 1991 edition of Vegetarian Journal. p 412-424.
- **McLeod A., Thieme O. et Mack S.D. (2009).** *Structural changes in the poultry sector: will there be small holder poultry development in 2030?.* World's Poultry Science Journal. Vol. 65. p 191-200.
- **Meyer V. (2010).** *Practical High Performance Liquid Chromatography.* 5th edition. John Wiley & Sons. 428 pages.
- **MicroSolv (2013).** *C₁₈ column silica structure.* http://mtc-usa.com/images/cogent_bidentate_structure.gif
- **Moats. W. A. (1988).** *Inactivation of antibiotics by heating in foods and other substrates: a review.* J. Food Prot. p 491- 497.
- **Myllyniemi A. (2004).** *Development of microbiological methods for the detection and identification of antimicrobial residues in meat.* Helsinki. 87 pages.
- **Nguyen V.H., Nguyen V.T., Li C. et Zhou G.H. (2014).** *The degradation of oxytetracycline during therma-treatments of chicken and pig meat and the toxic effects of degradation products of oxytetracycline on rats.* J food Sci Technol. Sans pagination.
- **Odore R., De Marco M., Gasco L., Rotolo L., Meucci V., Palatucci A.T., Rubino V., Canello S., Guidetti G., Centenaro S., Quarentelli A., Terrazano G. et Shrivone A. (2015).** *Cytotoxic effects of oxytetracycline residues in the bones of broiler chickens following therapeutic oral administration of a water formulation.* 2015 Poultry Science. Vol 00. p 1-7.
- **OMS (2001).** *WHO's Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance.* 105 pages.
- **Otten H. (1986).** *"Domagk and the development of the sulphonamides".* Journal of Antimicrobial Chemotherapy. p 689-690.
- **Pananookooln S. (2007).** *Determination of Potency of Drugs by HPLC.* Bureau of Drug and Narcotic. Department of Medical Sciences. Thailand. Sans pagination.
- **PubChem NCBI (2015).** *Compound Summary for CID 54680782.* http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/oxytetracycline_hydrochloride#section=Top. Page consultée le 22 avril 2015.

- **Règlement (CEE) No 2377/90 (1990).** *une procédure communautaire pour la fixation des limites maximales de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale.*
- **Règlement (UE) No 37/2010 (2010).** *substances pharmacologiquement actives et à leur classification en ce qui concerne les limites maximales de résidus dans les aliments d'origine animale.*
- **Rianatou B., Cardinal E., Biagui C. et Akakpo A.J. (2004).** *recherche de résidus de substances à activité antibactérienne dans la chair de poulet consommée dans la région de Dakar (Sénégal).* Bull. Acad. Vét. France - Tome 157 - N°2. 93: (67-70).
- **SelfNutrition Data (2014),** Nutrition Facts and Analysis for Chicken, broilers or fryers. <http://nutritiondata.self.com/facts/poultry-products/703/2>. Page consultée le 13 mars 2015.
- **Senyuva H., Ozden T. et Sarica D.Y. (2000).** *High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Oxytetracycline Residue in Cured Meat Products.* Turk J Chem 24. p 395-400.
- **Shahid M.A., Siddique M., Abubakar M., Asif M. et Arfan A. (2007).** *Status of Oxytetracycline Residues in Chicken Meat in Rawalpindi/Islamabad Area of Pakistan.* Asian Journal of Poultry Science. p 8-15.
- **Stoltz R. (2008).** *les résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale : évaluation et maîtrise de ce danger.* Thèse soutenue publiquement le 17 décembre 2008 pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire. Lyon. 142 pages.
- **Van Egmond. H., Nouws J.F. et Schilt R. (2000).** *Stability of antibiotics in meat during a simulated high temperature destruction process.* EuroResidue 4. p 430-437.
- **Van Wambeke F., Rucky H. et Ridder H. (1999).** *Validation of HPLC method of analysis of tetracycline residues in eggs and broiler meat and its application to a feeding trial.* Food Additives & Contaminants. Vol 16. p 47-56.
- **VIDAL (2009),** EurekaSanté : l'histoire des antibiotiques. <http://www.eurekasante.fr/medicaments/antibiotiques/antibiotiques-c-est-quoi.html?pb=histoire>. Page consultée le 12 avril 2015
- **Wainwright M. (1989).** *Moulds in ancient and more recent medicine.* Mycologist. p 21-23.
- **Walsh C. (2003).** *Antibiotics: actions, origins. resistance.* ASM Press. USA. 336 pages.
- **Wang J., MacNeil J.D et Kay J. (2012).** *Chemical Analysis of Antibiotic residues in Food.* Wiley & Sons. 366 pages.
- **Zeghilet N. (2009).** *Optimisation des paramètres de détection et de quantification des résidus d'antibiotiques dans la viande blanche par chromatographie liquide haute performance (HPLC).* Mémoire Présenté pour l'obtention du diplôme de Magister en médecine vétérinaire. Université Mentouri de Constantine. 181 pages.

ANNEXES



Annexe I : poudre orale soluble de l'HCL OTC



Annexe II : HCL OTC standard



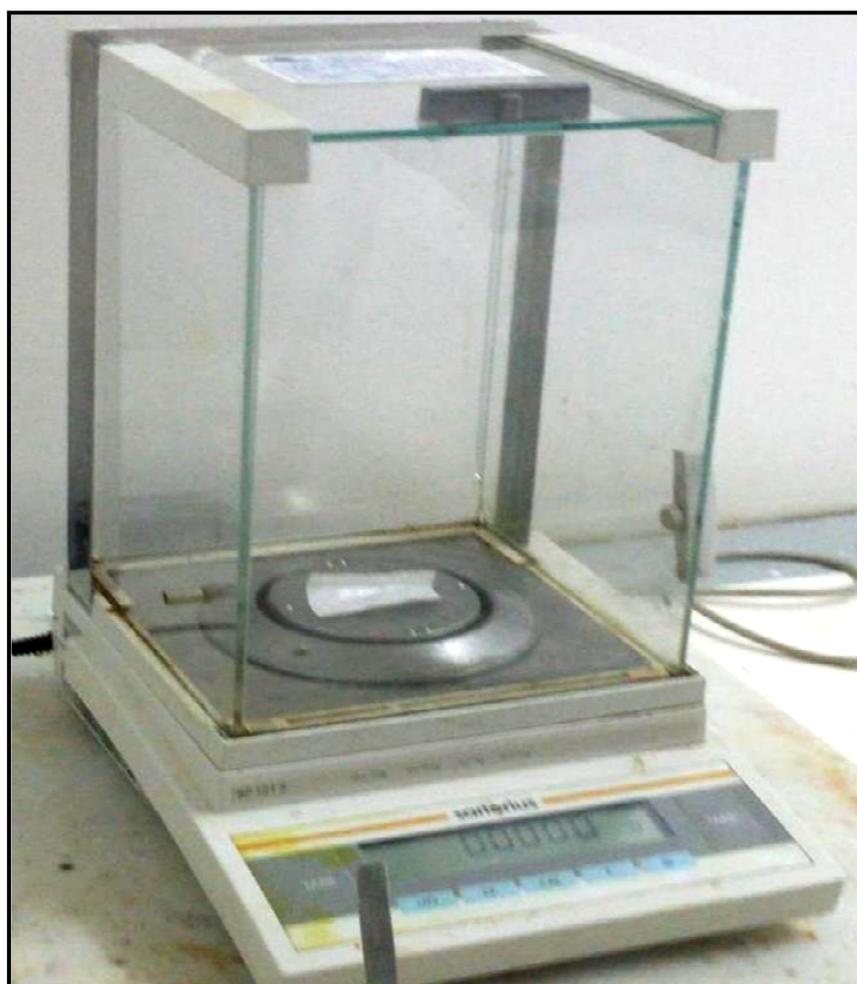
Annexe III : spectrophotomètre



Annexe VI : bain marie



Annexe V : agitateur



Annexe VI : balance électronique



Annexe VII : appareil CLHP



Annexe VIII : centrifugeuse



Annexe IX : bain ultrasonique



Annexe X : colonne analytique C₁₈