



Université de Blida -1-
Institut de sciences vétérinaires

*Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de
Docteur vétérinaire.*



THEME :

*La recherche des résidus d'antibiotiques
dans le foie du poulet de chair
dans la wilaya de Médéa*

Présenté par :

Mr KIROUANI Mahdi

&

Mr KECHIDA Ahmed

Devant le jury :

M^{me} GHOURLI, Maitre Assistant ISV. BLIDA

Président

Mr DAHMANI.H, Maitre Assistant ISV. BLIDA

Examineur

M^{elle} TARZAALI Dalila, Maitre assistante B, ISV. Blida

Promotrice

Mr BENAMIAR Mourad, Chef de service, SAIDAL Médéa

Co-promoteur

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Blida -1-
Institut de sciences vétérinaires

*Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de
Docteur vétérinaire.*



THEME :

*La recherche des résidus d'antibiotiques
dans le foie du poulet de chair
dans la wilaya de Médéa*

Présenté par :

Mr KIROUANI Mahdi

&

Mr KECHIDA Ahmed

Devant le jury :

M^{me} GHOURLI, Maitre Assistant ISV. BLIDA

Président

Mr DAHMANI.H, Maitre Assistant ISV. BLIDA

Examineur

M^{elle} TARZAALI Dalila, Maitre assistante B, ISV. Blida

Promotrice

Mr BENAMIAR Mourad, Chef de service, SAIDAL Médéa

Co-promoteur

*** Promotion 2014 / 2015 ***

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir aidé et de nous avoir donné la foi et la force pour achever ce modeste travail.

En premier lieu, nous exprimons toute notre gratitude à notre promotrice M^{elle} **TARZAALI Dalila**, maitre assistante à l'université de Blida, pour avoir accepté de diriger notre travail pour son dévouement, ses précieux conseils, ses encouragements et sa patience.

Nous remercions également notre Co-promoteur Mr **BENAMIAR Mourad** chef service de microbiologie du groupe **SAIDAL** de nous avoir aidé à réaliser se travail.

Nous exprimons nos remerciements aux membres du jury :

- ✓pour avoir bien voulu présider notre jury.
- ✓pour avoir bien voulu examiner ce travail.

Nous sommes très reconnaissants envers toute l'équipe de service de microbiologie du groupe **SAIDAL** de MEDEA : Mme Souaad, Mr Othmane et Mr Khaled, de nous avoir aidé.

Un grande merci est adressé à Mr **LAAFRLM** directeur de l'institut des sciences vétérinaires de Blida et à tous nos enseignants pour tout ce qu'ils nous ont donné comme savoir et savoir faire.

Nos remerciements vont également à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail en témoignage de ma reconnaissance, de mon amour et de mon profond respect à :

Mon très chère père « El-hadj mustapha », qui peut être fière et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie, puisse dieu faire en sorte que ce travail port son fruit, merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi, je te souhaite une bonne santé et de bonheur.

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur; ma mère « El-hadja hourrya » ; je souhaite que dieu te protège.

Je dédie aussi ce travail :

A mes très chères frères : Kamel, Abd- elhafid, Hassan.

A mes très chères sœurs : Barkahoum, Ghania, Amel, Farida, Fatiha, Fahima.

A tous les membres de ma famille, petits et grands.

A mon frère Bendjidel Mohamed belkacem pour ton soutien et encouragement, tu occupes une place particulière dans mon cœur, je te souhaite du succès dans ta vie et tous les membres de ta famille.

Je dédie ce modeste travail à ma promotrice, M^{lle} Tarzaali dalila, Pour l'intérêt qu'elle a porté à ce travail, pour les très précieux conseils et l'encouragement qu'elle n'a cessé de prodiguer tout au long de ce travail.

A mon binôme Ahmed.

A tous mes chères amies.

A tous mes enseignants depuis mon premier pas à l'école jusqu' aujourd'hui.

A toute la promotion de cinquième année vétérinaire 2014 /2015.



Mahdi



DEDECACES

Je dédie ce mémoire à :

Mes parents :

- *Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.*
- *Mon père qui ma toujours soutenu et qui aurait été fier de voir l'accomplissement de mes études, sa présence m'accompagne tous les jours et me rend plus forte. Reçois tout mon amour.*

*Mon grand père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ;
Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.*

Ma sœur Noura qui n'a cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.

A tous mes beaux frères et mes belles sœurs.

A toute ma grande famille.

Mes amis Lakhdar, Amar, Brahim, Oussama, Ismail, Nadir, Abd elnasser, Boudjemaa, Toufik....

A tous mes enseignants depuis mon premier pas à l'école jusqu'à aujourd'hui.

A mon binôme Mahdi.

A toute la promotion de cinquième année vétérinaire 2014/2015.



Ahmed

SOMMAIRE

Remerciements	
Dédicaces	
Résumé en français	
Résumé en anglais	
Résumé en arabe	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE 1: LE FOIE	
1.1. Définition	2
1.2. Anatomie du foie	2
1.3. Physiologie du foie	2
1.4. Valeur nutritive du foie de poulet	3
1.4.1. Teneur en protéines, glucides, lipides et eau	3
1.4.2. Teneur en vitamines	3
1.4.3. Apports en minéraux	4
CHAPITRE 2 : LES ANTIBIOTIQUES	
2.1. Définition	5
2.2. Historique	5
2.3. Classification	5
2.3.1. Origine	5
2.3.2. Spectre d'action	6
2.3.3. Mécanisme d'action	6
2.3.4. Modes d'action	6
2.3.5. Propriétés physico-chimiques	7
2.3.6. Structure chimique	7
2.4. Usages des antibiotiques en médecine vétérinaire	12
2.5. Les Antibiotiques utilisées en Elevage Avicole	13
2.6. Associations des antibiotiques	13
2.7. Réglementation	14
2.7.1. Réglementation Européenne	14

2.7.2. Réglementation Algérienne	14
2.8. Pharmacocinétique des Antibiotiques	14
2.8.1. L'absorption	15
2.8.2. La Distribution	15
2.8.3. Les Transformations	15
2.8.4. Excrétion	16
CHAPITRE 3 : EFFET DES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES	
3.1 Définition des résidus	17
3.2. Impact des résidus d'antibiotiques sur la santé du consommateur	17
3.2.1. Le délai d'attente	17
3.2.2. La limite maximale de résidus(LMR)	17
3.2.2.1. La LMR toxicologique	18
3.2.2.2. La LMR bactériologique	18
3.3. Facteurs de persistance des résidus	18
3.4. Conséquences négatives de l'utilisation des antibiotiques chez les animaux	18
3.5. Les problème de santé publique liés à la présence des résidus d'antibiotique	18
3.5.1. Risques toxiques	19
3.5.2. Risques allergique	19
3.5.3. Risques microbiens	19
CHAPITRE 4 : METHODES DE DETECTION DES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES	
4.1. Introduction	20
4.2. Méthodes de détection (dépistage)	20
4.2.1. Méthodes microbiologiques	20
4.2.1.1. Méthodes des quatre boites	20
4.2.1.2. PREMITEST	21
4.2.2. Méthodes immunologiques	22
4.2.2.1. Les méthodes radio immunologiques (RIA)	22
4.2.2.2. Test ELISA	22
4.2.3. Méthodes physico-chimiques	22
4.2.3.1. Chromatographie liquide haute performance (HPLC)	22
4.2.3.2. Chromatographie sur couche mince CCM	24
PARTIE EXPERIMENTALE	
1. Lieu et période de travail	25
2. Matériel et méthodes	25
2.1. Matériel	25

2.1.1. L'enquête	25
2.1.2. Recherche des résidus d'antibiotiques	25
2.2. Méthodes	26
2.2.1. L'enquête	26
2.2.2. Recherche des résidus d'antibiotiques	26
3. Résultat et discussion	34
3.1. Résultat de l'enquête	34
3.2. Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le foie	36
Conclusion	42
Recommandation	43
Références bibliographiques	
Annexe	

RESUME

Le foie du poulet de chair constitue la source en protéine la plus sollicitée dans notre pays à cause de son prix abordable et de sa richesse alimentaire. Nous nous sommes intéressés à l'analyse de cette denrée alimentaire vis-à-vis de la présence des résidus d'antibiotiques en raison de leur effet indésirable sur la santé du consommateur.

Cette étude est basée sur deux volets, une enquête réalisée auprès des vétérinaires praticiens autour de l'utilisation des antibiotiques en élevages avicoles et la recherche des résidus d'antibiotiques dans le foie du poulet de chair au niveau de la wilaya de Médéa.

- L'analyse du questionnaire remplie par 40 vétérinaires praticiens répartis sur les communes de la wilaya de Médéa a montré que les antibiotiques les plus utilisés sur le terrain avicole sont les Bétalactamines (72,5%) et les Aminosides (47,5%), 52,5% des vétérinaires ne respectent pas les doses d'antibiotiques et que 56% des éleveurs ne respectant pas le délai d'attente.
- Les résultats d'analyse microbiologique par la méthode des quatre boîtes de 48 échantillons de foie du poulet de chair ont montré une contamination de 58,33% des échantillons, 58,33% pour les Bétalactamines, 50% pour les Aminosides et 31,25% pour les Sulfamides.

Mots clés : Foie, Résidus d'antibiotiques, Méthode des quatre boîtes, Médéa.

SUMMARY

The liver constitutes the source of protein the most applied in our country because of its price affordable and nourishing richness. We interested in the analysis of these goods opposite the antibiotic residues presence. Because these latters have an undesirable effect on the consumer's health.

This study is based on two parts, a search realised by practitioner veterinarians about the antibiotic use in chicken's breeding, the research of antibiotic residues in the chicken' s liver at wilaya of Médéa.

- The analysis on the questionnaire filled by 40 veterinarians split into the communités of Médéa, showed that an antibiotic most used is « the Betalactamines » (72,5%) and « the Aminosides » (47,5%), 52,5% of practitioner veterinarians don't respect the antibiotic doses and 56% of farmers don't respect the waiting time.
- The microbiologic analysis results by methods of the four boxes of 48 samples of chicken livers showed a contamination of 58,33% of samples, 58,33% for the Betalactamines, 50% for the Aminosides and 31,25% for the Sulfamides.

Key words : Liver, Antibiotic residues, Four boxes method, Médéa.

الملخص

يحتوي الكبد على مصدر البروتين الأكثر طلبا في بلدنا، لسعره المعقول و لأهميته الغذائية، لقد أعطينا أهمية كبيرة لتحليل هذه المواد الغذائية بالمقارنة مع وجود بقايا المضادات الحيوية، لأن هذه الأخيرة لها تأثيرات غير مرغوب فيها على صحة المستهلك.

هذه الدراسة تركز على قسمين؛ استبيان منجز لدى أطباء بيطريين حول طريقة استعمال المضادات الحيوية في تربية الدواجن، البحث على بقايا المضادات الحيوية في كبد الدجاج اللحم في ولاية المدية.

- تحليل الاستبيان المملوء من طرف 40 بيطري الموزعين في بلديات ولاية المدية بين أن المضادات الحيوية الأكثر استعمالا هي البييتالاكتمين (72,5%) و الأمينوزيد (47,5%)، علم أن 52,5% من البيطريين لا يحترمون الجرعات الملائمة للمضادات الحيوية و 56% من المربين لا يحترمون مهلة الإنتظار.
- نتائج التحليل الميكروبيولوجي بطريقة العطب الأربعة ل 48 عينة من كبد الدجاج اللحم تبين تلوث 58,33% من العينات، 58,33% بالنسبة للبييتالاكتمين، 50% بالنسبة للأمينوزيد أما 31,25% بالنسبة للسيلفاميد.

الكلمات المفتاحية: الكبد، بقايا المضادات الحيوية، طريقة العطب الأربعة، المدية.

LISTE DES ABREVIATIONS

μg : Microgramme.

μL : Microlitre.

Ac : Anticorps.

AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments.

Ag : Antigène.

Ag* : Antigène marqué.

CCM : Chromatographie sur couche mince.

CEE : Communauté Economique Européenne.

DHS : Dihydrostreptomycine.

ELISA : Enzyme- linked ImmunoSorbent Assay.

FAO : Food and Agriculture Organisation

HPLC : Chromatographie liquide haute performance.

LMR : Limite Maximale des Résidus.

MRC : Maladies Respiratoires Chroniques.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

RIA : Radio Immuno Assay.

SM : Spectrométrie de Masse.

TA : Temps d'attente.

T_R : Temps de rétention.

LA LISTE DES FIGURES

Figure 1: Modes d'action des antibiotiques	7
Figure 2: Méthode des quatre boites	21
Figure 3: Equation de base des dosages immuno-chimiques par compétition	22
Figure 4 : Principe d'un chromatographe en phase liquide	23
Figure 5 : Schéma général de la détection des résidus d'antibiotique par la méthode des quatre boites	28
Figure 6: Hacher l'échantillon du foie	32
Figure 7 : Agiter le tube à essai contenant le jus	32
Figure 8: Mise en place les disques de jus du foie	32
Figure 9: Observation e lecture des zones d'inhibition	32
Figure 10 : Représentation des résultats globaux	36
Figure 11 : Résultats globaux de la recherche des Résidus des Bétalactamines	37
Figure 12 : Résultats de la recherche des Bétalactamines par rapport à chaque région	37
Figure 13: Résultats globaux de la recherche des Résidus des aminosides	38
Figure 14 : Résultats de la recherche des résidus des aminosides par apport à chaque région	38
Figure 15: Résultats globaux de la recherche des Résidus des sulfamides	39
Figure 16 : Résultats de la recherche des résidus des sulfamides par apport à chaque région	39
Figure 17 : Résultat global de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le foie du poulet de chair par rapport à chaque antibiotique	40

LA LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : La teneur en protéines, glucides et lipides	3
Tableau II : La teneur en vitamines	4
Tableau III: L'apport en minéraux	4
Tableau IV: Les principales familles d'antibiotique	8
Tableau V: Types d'utilisation d'antimicrobiens chez les animaux destinés à l'alimentation humaine	12
Tableau VI : Principaux antibiotiques utilisés en aviculture	13
Tableau VII : Présentation de la méthode des 4 plaques utilisée pour le contrôle officiel	21
Tableau VIII : Les diamètres d'inhibition des antibiotiques témoins	33
Tableau IX : Résultats de L'enquête par questionnaire	34
Tableau X: Les résultats globaux de la recherche des résidus	35
Tableau XI : Résultats da la recherche des résidus de Bétalactamines	37
Tableau XII : Résultat de la recherche des résidus des aminosides	38
Tableau XIII : Résultat de la recherche des résidus des sulfamides	39
Tableau XIV: Résultat global de la recherche des résidus d'antibiotiques dans les échantillons analysés par rapport à chaque antibiotique	40

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION

En Algérie le développement de l'aviculture constitue le meilleur recours pour répondre à un besoin galopant des consommateurs en protéines animales. Elle est indéniablement la branche de productions animales qui a enregistré le plus remarquable essor au cours de ces dernières années. En fait, les abats du poulet de chair notamment le foie ont aussi un pourcentage de consommation élevé à cause de leur prix abordables et leur richesse en fer et en vitamines. Il est conseillé pour le traitement de l'anémie.

L'intensification des élevages aviaires a recours inévitablement à l'utilisation massive des antibiotiques aussi bien dans un but thérapeutique que prophylactique, et ceci ne va pas sans conséquences, en effet l'efficacité des antibiotiques est entrain de décroître suite à l'apparition des bactéries résistantes, aussi les produits issus de ces élevages ne sont pas exempt de résidus des traitements utilisés [16] qui peuvent être une source de nuisance pour la santé du consommateur provoquant des antibio-résistances, des allergies ou des effets de toxicité.

C'est pourquoi, il est essentiel que des mesures appropriées de protection de la santé publique soient établies, afin de minimiser les risques de cette crise, et garantir un niveau élevé de protection des consommateurs par l'adoption de nouvelles stratégies thérapeutiques et des programmes de surveillance des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires notamment le foie de poulet de chair.

Notre travail est basé sur la recherche des résidus d'antibiotiques dans le foie du poulet de chair. Pour cela nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

- Une enquête sur terrain effectuée à l'intention des vétérinaires praticiens afin d'avoir une idée sur les différentes familles et molécules d'antibiotiques utilisées dans l'élevage aviaire à Médéa, et le respect de délai d'attente par les éleveurs.
- Une recherche des familles d'antibiotiques: les bêta-lactamines, les sulfamides, les macrolides, les aminosides et les tétracyclines par une méthode microbiologique de référence, méthode des quatre boites.

CHAPITRE 1

CHAPITRE 1 : LE FOIE

1.1. Définition

Le foie est un abat dit "rouge". Il fait aussi partie des abats dits "nobles" mais il y a de grandes différences de qualité et de taille selon l'animal dont il provient. Il est issu des animaux de boucherie : veau, génisse, porc, agneau mais aussi des volailles : le plus banal est celui du poulet [46]. C'est la glande la plus massive de tous les viscères (33 gr environ chez la poule) [4]. On les trouve facilement en vrac chez les bouchers ou dans la grande distribution, conditionnés en barquette, sous vide. Le foie est toujours un aliment fragile qui doit être consommé rapidement [46].

1.2. Anatomie du foie

Le foie repose sur le sternum, il est séparé des parois thorco-abdominales par les sacs aériens. Il est soutenu par quatre ligaments (falciforme, coronaire, gastrohépatique et hépatoduodénal). Sa face ventro-médiale porte les impressions splénique, stomacale et intestinale. Le foie est constitué de deux lobes réunis par un isthme transversal qui renferme partiellement la veine cave caudale. Le lobe gauche plus petit que le lobe droit, il est généralement marqué d'un sillon longitudinal qui délimite le lobe accessoire du lobe gauche. Dans leur portion crâniale, les deux lobes entourent complètement les ventricules du coeur. Les deux lobes déversent la bile, par deux conduits séparés. Le canal du lobe gauche (canal hépatique gauche) s'abouche directement dans l'intestin. Le canal du lobe droit (canal hépatique droit) se renfle d'abord en vésicule biliaire (sauf chez le Pigeon, certains Perroquets et l'Autriche) avant de se jeter dans le duodénum. Il porte le nom de canal cholédoque [4].

1.3. Physiologie du foie

En effet, le foie présente des fonctions digestives qui sont la formation et excrétion des sels biliaires, excrétion des pigments biliaires et des fonctions métaboliques essentielles qui sont la maintenance de la glycémie à partir du glycogène, néoglucogenèse, métabolisation du butyrate, formation de protéines plasmatiques et des fonctions sanguines dont la formation de prothrombine et des fonctions d'épurations et de détoxifications qui sont la synthèse de l'urée, détoxification et excrétion de substances toxiques, ect . L'ensemble de ces fonctions fait du foie un organe absolument indispensable à la vie [5].

1.4. Valeur nutritive du foie de poulet

100 grammes de ce aliment représentent une valeur énergétique de 160 calories ou kilocalories (ou 671 kilojoules). En moyenne, les produits de la catégorie abats apportent une valeur énergétique équivalente à 139 kilocalories [15].

1.4.1. Teneur en protéines, glucides, lipides et eau

Le foie est riche en protéines et en eau, le tableau I montre la teneur du foie en protéines, glucides, lipides et eau en détaille.

Tableau I : La teneur en protéines, glucides, lipides et l'eau [15].

Nutriments	teneur pour 100 g
Protéines	24,5 g
Glucides	0,8 g
- dont sucres	0,0 g
- dont amidon	0,0 g
- dont fibres alimentaires	0 g
Lipides	6,5 g
- dont cholestérol	563,0 mg
- dont acides gras saturés	2,1 g
- dont acides gras mono insaturés	1,4 g
- dont acides gras polyinsaturés	2,0 g
Eau	67 g

1.4.2. Teneur en vitamines

Le foie est riche en vitamines C et B3, le tableau II détaille la teneur du foie en vitamines.

Tableau II : La teneur en vitamines [15].

Vitamines	Teneur pour 100 g
Vitamine A (rétinol)	3 980,0 µg
Bêta-carotène (provitamine A)	30,0 µg
Vitamine C	27,9 mg
Vitamine D (cholécalférol)	0,0 µg
Vitamine E (tocophérol)	
Vitamine K1	0,0 µg
Vitamine K2	
Vitamine B1 (thiamine)	0,3 mg
Vitamine B2 (riboflavine)	2,0 mg
Vitamine B3 (niacine)	11,0 mg
Vitamine B5 (acide panthoénique)	6,7 mg
Vitamine B6	0,8 mg
Vitamine B9 (acide folique)	578,0 µg
Vitamine B12 (cobalamine)	16,8 µg

1.4.3. Apports en minéraux

Le foie est riche en phosphore et en potassium, le tableau III montre l'apport en minéraux du foie.

Tableau III: L'apport en minéraux [15].

Minéraux	teneur pour 100 g
Calcium	11,0 mg
Phosphore	405,0 mg
Magnésium	25,0 mg
Potassium	263,0 mg
Sodium (sel)	76,0 mg
Fer	10,6 mg
Cuivre	0,5 mg
Zinc	4,0 mg
Manganèse	0,4 mg

CHAPITRE 2

CHAPITRE 2 : LES ANTIBIOTIQUES

2.1. Définition

Un antibiotique est une substance élaborée par des microorganismes vivants (champignons ou bactéries) ou une substance analogue, élaborée de façon synthétique ou semi- synthétique, capable d'inhiber même à dose très faible, le développement de microorganismes pathogènes (substance bactériostatique) et parfois de les détruire (substance bactéricide) [3, 34, 58].

Les antibiotiques sont dotés d'une toxicité sélective envers les micro-organismes visés, et au contraire d'une toxicité suffisamment faible vis-à-vis de l'hôte (humain et animal) [57].

2.2. Historique

La découverte des antibiotiques revient à sir FLEMING Alexander en 1929. Au cours d'examen de routine de cultures de staphylocoques en boîtes de Pétri au Saint Mary's Hospital de Londres, il découvre le développement accidentel de certaines moisissures de *Penicillium notatum* autour desquelles les colonies bactériennes ne cultivaient pas. Il émet l'hypothèse que ce champignon devait sécréter une substance nuisible à la croissance des staphylocoques et il a démontré que le bouillon filtré de ce champignon permet de reproduire ce phénomène. Il a donné à ce produit qui a pu empêcher la croissance de ces bactéries le nom pénicilline qui est introduit en thérapeutique pendant la deuxième guerre mondiale (1941).

Parallèlement sont préparés en 1935, les sulfamides, le premier groupe d'antibactériens artificiels. Par la suite de nombreux autres antibiotiques ont été isolés à partir de champignons inférieurs, mais aussi et surtout des bactéries telluriques (genre *Actinomycètes*, *Bacillus* ...) les plus productrices d'antibiotiques. Les tétracyclines sont découvertes dans les années 1950 [24, 47].

2.3. Classification

Il existe actuellement plus de 10 familles d'antibiotiques. Ces familles se distinguent par les propriétés physico-chimiques communes des molécules qu'elles contiennent. Chaque molécule dispose d'un mode d'action et d'un spectre bien à elle (**voir tableau IV**). Leur classification actuelle suit plusieurs critères.

2.3.1. Origine

Les antibiotiques naturels peuvent provenir de plusieurs sources, comme : les bactéries (exemple les actinomycètes), les champignons, les lichens, les végétaux supérieurs et les

animaux. Ils peuvent être aussi semi-synthétiques ou synthétiques [55].

2.3.2. Spectre d'action

Les antibiotiques peuvent posséder [55]:

- ✓ un spectre très large,
- ✓ un spectre moyen à prédominance sur les bactéries gram-positif,
- ✓ un spectre étroit, sur les bactéries gram-négatif.

2.3.3. Mécanisme d'action

Nous avons [55]:

- ✓ **Les antibiotiques bactériostatiques** : ce sont les antibiotiques qui bloquent la croissance bactérienne.
- ✓ **Les antibiotiques bactéricides** : ce sont les antibiotiques qui tuent les bactéries.

2.3.4. Modes d'action

Les antibiotiques peuvent agir comme suit (**voir Figure 1**) [29]:

- ✓ Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne,
- ✓ Antibiotiques entraînant la destruction de la membrane cytoplasmique,
- ✓ Antibiotiques inhibant la synthèse des protéines,
- ✓ Antibiotiques inhibant le fonctionnement de l'acide désoxyribonucléique.

Classification selon la cible

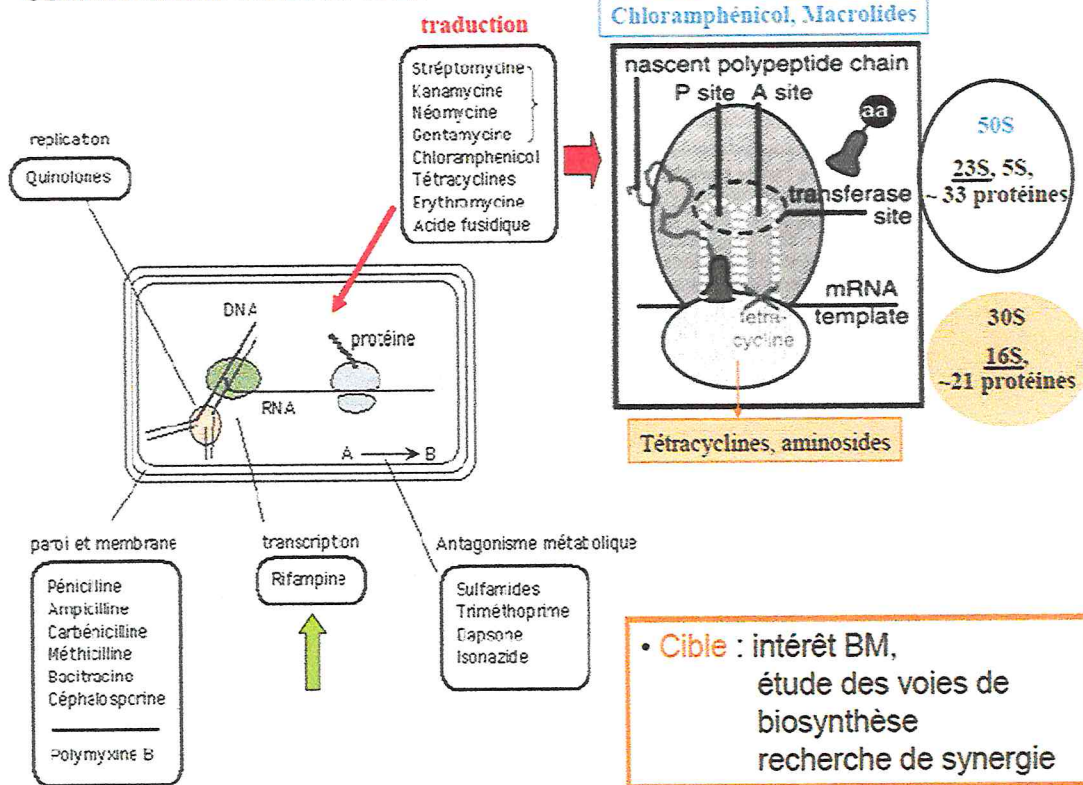


Figure 1: Modes d'action des antibiotiques [14].

2.3.5. Propriétés physico-chimiques

Nous avons [55]:

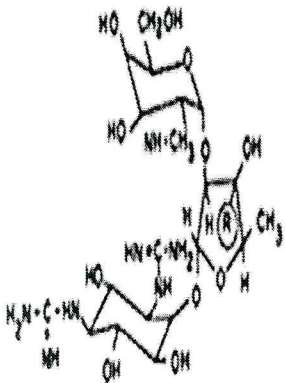
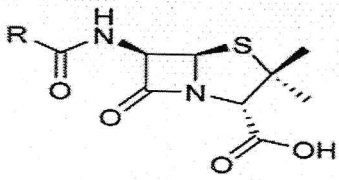
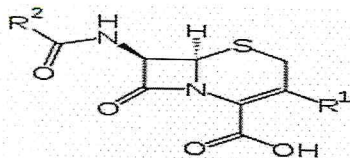
- ✓ Les antibiotiques à caractère acide ;
- ✓ Les antibiotiques à caractère basique ;
- ✓ Les antibiotiques à caractère amphotère.

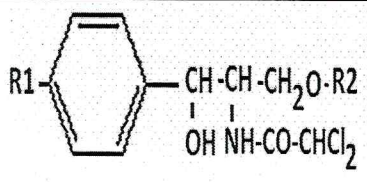
2.3.6. Structure chimique

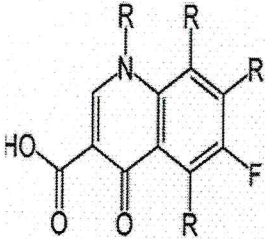
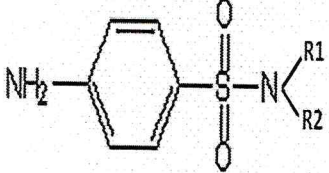
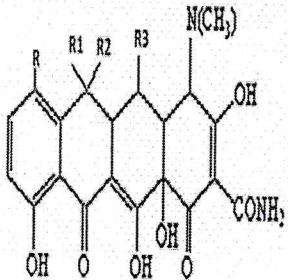
Les antibiotiques sont classés en plusieurs familles. Chaque famille regroupe les molécules ayant une structure de base commune (Voir tableau IV).

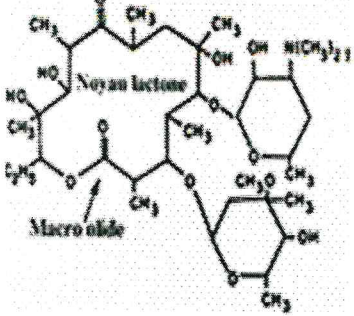
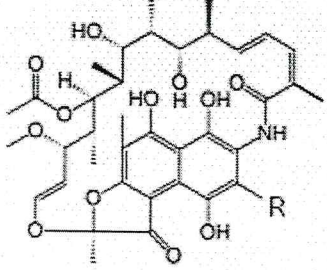
Le **Tableau IV** résume les familles des antibiotiques, leurs modes d'action, leurs origines et leurs spectres d'action [45].

Tableau IV: Les principales familles d'antibiotique [45]

Famille	Structure de base	Mode et Mécanisme d'action	Principaux groupe ou antibiotiques (Origine)	Spectre
Aminosides		<p>Inhibition de la synthèse des protéines/ Fortement et rapidement bactéricides.</p>	<p>Streptomycine (<i>Streptomyces griseus</i>) Néomycine (<i>Streptomyces fradiae</i>) Kanamycine (<i>Streptomyces kanamyceticus</i>) Gentamycine (genre <i>Micromonospora</i>) Amykacine (semi-synthèse)</p>	Étroit
Bêta-lactamines	<p>Pénicillin ex :</p>  <p>Céphalosporines :</p> 	<p>Inhibition de la synthèse de la paroi/ Bactéricides.</p>	<p>Groupe de pénicilline G (<i>Penicillium notatum</i>) Groupe de pénicilline M (Meticilline) (Semi-synthèse) Groupe de pénicilline A (Ampicilline) (Semi-synthèse) Céphalosporine C</p>	Étroit

			<p>(<i>Cephalosporium acremonium</i>)</p> <p>Céphalosporine de 1^{ère} génération (céfalotine),</p> <p>2^{ème} génération (céfamandole),</p> <p>3^{ème} génération (céfotaxime), 4^{ème} génération</p> <p>(<i>Par semi-synthèse</i>)</p>	
<i>Polypeptides</i>	Nature polypeptidique	Action sur la membrane externe des Gram ⁻ /Bactéricides.	Polymyxine (<i>Bacillus polymyxa</i>), Bacitracine (<i>Bacillus licheniformis</i>), Colistine, Tyrocidine.	Etroit
<i>Nitrofuranes</i>	A base de Noyau furane	Inhibition de la synthèse de l'ADN.	Furaltadone, Furazolidone	Large
<i>Phénicolés</i>		Inhibition de la synthèse des protéines.	Chloramphénicol (<i>Streptomyces venezuelae</i>)	Large

<p><i>Quinolones et fluoroquinolones</i></p>		<p>Inhibition de la synthèse de l'ADN/ bactériides rapides sur les Gram-.</p>	<p>Acide nalidixique, Acide oxolinique, Ciprofloxacine, Acide piromidique, ofloxacine, enrofloxacine.</p>	<p>Etroit.</p>
<p><i>Sulfamides</i></p>		<p>Blocage de la synthèse de l'acide dihydrofolique.</p> <p>Bactériostatiques</p>	<p>Sulfadiazine, Sulfadoxine, Sulfaméthoxydiazine, Sulfaméthoxazole (<i>Synthèse</i>).</p>	<p>Etroit</p>
<p><i>Tétracyclines</i></p>		<p>Inhibition de la synthèse des protéines.</p>	<p>Tétracycline (<i>Streptomyces texasi</i>), Chlortétracycline (<i>Streptomyces aureofaciens</i>), Oxytétracycline (<i>Streptomyces rimosus</i>).</p> <p>Doxycycline, Minocycline (<i>semi-synthèse</i>)</p>	<p>Large</p>

<p><i>Macrolides</i></p>		<p>Inhibition de la synthèse des protéines.</p>	<p>Erythromycine (<i>Streptomyces erythreus</i>), Spiramycine (<i>Streptomyces ambofaciens</i>).</p>	<p>Étroit</p>
<p><i>Rifamycines</i></p>		<p>Blocage de la synthèse des ARN messagers.</p>	<p>Rifamycine SV (<i>Streptomyces mediterranea</i>). Rifaximine, Rifampicine.</p>	<p>Large</p>

2.4. Usages des antibiotiques en médecine vétérinaire

Le tableau V résume les principaux types d'utilisation d'antimicrobiens chez les animaux destinés à la consommation humaine.

Tableau V: Types d'utilisation d'antimicrobiens chez les animaux destinés à l'alimentation humaine [39].

Type d'utilisation d'antimicrobiens	But	Voie ou mode d'administration	Administration individuelle ou par groupe	Animaux malades
Thérapeutique	Thérapie	Injection, aliments, eau	Individuelle ou par groupe	Animaux malades ou certains animaux dans des groupes
Métaphylactique	Prophylaxie de la maladie thérape	Injection (veaux en parc d'engraissement)	Groupe	Certains
Prophylaxie	Prévention de la maladie	Aliments	Groupe	Rien d'évident, bien que certaines infections puissent être subcliniques
Stimulateur de Croissance	Stimulation de la croissance	Aliments	Groupe	Aucun
	Indice de Consommation	Aliments	Groupe	Aucun

2.5. Les Antibiotiques utilisés en Elevage Avicole

Le tableau VI indique les principaux antibiotiques utilisés en élevage avicole.

Tableau VI : Principaux antibiotiques utilisés en aviculture [43].

Familles	Exemples
Bêta-lactamines	Aminopénicillines: Ampicilline et Amoxicilline
	Céphalosporines : Cefotiofur
Aminosides et apparentés	Dihydrostreptomycine (DHS), Gentamycine, Néomycine.
Quinolones	Acide oxolinique, Fluméquine, Enrofloxacin.
Tétracyclines	Chlortétracycline, Oxytétracycline, Doxycycline.
Polypeptides	Colistine (polymyxine E)
Macrolides et apparentés	Érythromycine, Josamycine, Lincomycine, Spiramycine, Tylosine.
Sulfamides	Sulfadiazine, Sulfadimidine, Sulfadiméthoxine.
Diaminopyrim-idines	Triméthoprime

2.6. Associations d'antibiotiques

Selon Cohen et Jacquot; Puyt, Anonyme 2 a et Guérin-Faublée [6, 21, 31, 47], les antibiotiques doivent autant que possible être utilisés seuls, c'est la règle générale de la mono-antibiothérapie. Toutefois on est souvent conduit en thérapeutique anti-infectieuse à associer plusieurs antibiotiques soit :

- pour retarder l'apparition d'une antibiorésistance microbienne, mais uniquement chromosomique.
- pour assurer une couverture antibiotique en urgence (c'est-à-dire pour élargir le spectre d'activité) devant une infection à germes inconnus lors d'infection poly-bactériennes ou lorsque l'on ignore la nature du germe en cause, c'est la principale raison en médecine vétérinaire.
- afin de rechercher une synergie.
- et afin de limiter les effets indésirables, notamment la toxicité de certains antibiotiques en réduisant les doses de chacun.

2.7. Réglementation

2.7.1. Réglementation Européenne

Dans les années 40-50, l'industrie agro-alimentaire s'est mise à utiliser régulièrement des antibiotiques dans l'alimentation animale comme facteur de croissance pour accroître sa productivité. En élevage de rente l'usage des antibiotiques était autorisé sous deux types de statuts.

- en tant qu'additifs dans un aliment supplémenté pour un effet facteur de croissance, ou en vue d'une prophylaxie anti-coccidienne chez certains groupes d'animaux (catégorie coccidiostatiques).
- en tant que médicaments vétérinaire dans un aliment, pour un traitement préventif ou curatif.

Dans certains pays, notamment aux Etats-Unis, le terme additif antibiotique vise toutes les utilisations, que ce soit à titre curatif, préventif, ou en tant que facteur de croissance [22].

D'autre part, le règlement (CEE) n° 237 /90 du Conseil fixe une procédure communautaire pour déterminer les limites maximales de résidus (LMR) dans les denrées alimentaires d'origine animale [42], afin d'assurer l'innocuité des antibiotiques pour le consommateur et l'animal.

Il existe quatre possibilités de classement de LMR [27].

- Les substances ayant une LMR fixée définitivement.
- Les substances non soumises à une LMR, réputées non ou peu toxiques.
- LMR fixées provisoirement (substances présentent des lacunes ne permettant pas de fixer des LMR définitives et le fabricant dispos d'un délai (inférieur à 5 ans) pour combler ces lacunes [13].

2.7.2. Réglementation Algérienne

La demande en produits vétérinaires n'a pas cessé de croître depuis 1997 en relation avec l'essor notable de la production et la surmédicalisation des élevages avicoles en Algérie. Légalement, seuls les vétérinaires et les techniciens vétérinaires l'accès aux médicaments vétérinaires sont autorisés à délivrer les médicaments. Cependant, il semble qu'en Algérie l'accès aux médicaments vétérinaires est facile et leurs disponibilités dans les marchés noirs, seraient à l'origine de leurs usages anarchiques et de l'automédication.

2.8. Pharmacocinétique des Antibiotiques

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 [9] :

2.8.1. L'absorption

L'absorption d'une molécule, c'est-à-dire son passage du site d'administration à la circulation sanguine est 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 [30]. 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. Certaines classes d'antibiotiques ont une bonne absorption digestive (macrolides, tétracyclines, sulfamides). Pour d'autres classes, l'absorption est nulle (aminoside, polypeptide), et la voie injectable est nécessaire pour obtenir un effet systémique. Enfin, 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 [8].

2.8.2. La Distribution

L'antibiotique parvient au site de l'infection plus ou moins bien : certains organes sont mieux irrigués que d'autres ; le site même de l'infection peut être mal irrigué (amas fibrino-leucocytaire de végétations valvulaires cardiaques abcès entouré d'une coque). Les germes peuvent être situés dans le sang ou dans les espaces extracellulaires, ou à l'intérieur de cellules qui les ont phagocytés. Lorsque le passage de l'antibiotique du sang vers un site d'infection se fait par diffusion passive.

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 [8].

2.8.3. Les Transformations

Comme tous 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). 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. 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 [30].

2.8.4. Excrétion

Les concentrations dans un certain nombre de sécrétions ou excréta de l'organisme (bile, urine, lait, salive, mucus pulmonaire, sécrétion intestinale, sueur, etc.) varient au cours du temps en fonction des modalités d'excrétion passive ou active de la molécule et de ses métabolites. L'étude de la cinétique plasmatique d'une molécule après administration intraveineuse et la mesure des quantités émises sous forme de substance parentale et de métabolites, estimée sur la base des concentrations moyennes mesurées sur des quantités d'excréta collectés au cours du temps, permet de mesurer la clairance totale et la part relative de la clairance métabolique et de la contribution des principaux organes d'élimination. La capacité d'élimination d'un principe actif, est exprimée par la clairance totale (ou clairance plasmatique) qui est la somme des différentes clairances (clairance métabolique du foie, clairance d'excrétion biliaire, clairance d'excrétion rénale...). Ces clairances peuvent présenter de grandes variabilités inter spécifique [30].

CHAPITRE 3

CHAPITRE 3 : EFFET DES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES

3.1 Définition des résidus

Selon le règlement 2377 /90/CEE, on entend par résidus de médicaments vétérinaire toutes les substances pharmacologiquement actives, qu'il s'agisse de principe actifs, d'excipients ou de métabolite présents dans les liquides et tissus des animaux après d'administration de médicaments et susceptibles d'être retrouvés dans les denrées alimentaires produites par ces animaux [54].

3.2. Impact des résidus d'antibiotiques sur la santé du consommateur

D'après Laurentie et Sanders [40], les réflexions sur les résidus et les soucis de protéger la santé des consommateurs ont abouti au développement de deux concepts complémentaires :

- Le temps d'Attente, ou TA.
- Les limites maximales de résidus, ou LMR.

3.2.1. Le délai d'attente

Le délai d'attente ou période de retrait représente le temps nécessaire à l'excrétion complète d'un médicament après sa dernière prise, Selon l'étude de Delatour, on entend par temps d'attente, le délai minimal à observer entre l'administration du médicament à l'animal, dans les conditions normal d'emploi et l'utilisation des denrées alimentaires provenant de cet animal [44].

Cette notion de temps d'attente apparemment simple dans son principe, présente de nombreuses difficultés d'application. Cependant le temps d'attente retenu dépend du seuil de sensibilité de la méthode de détection employée. Une méthode peu sensible entraîne un temps d'attente court et inversement.

Le temps d'attente est établi par les laboratoires pharmaceutiques de manière à garantir qu'à la première livraison de viande, la concentration en résidus est inférieure à la LMR de la molécule administrée [25].

3.2.2. La limite maximale de résidus(LMR)

La Limite Maximale de Résidus (LMR) est la concentration maximale en résidus dans un produit (Abat, viande, œuf, lait...) que les scientifiques et les autorités considèrent sans risque sanitaire pour le consommateur et sans effet sur les processus de fabrication. Cette LMR ne doit pas être dépassée pour des aliments issus des productions animales.

La notion de LMR constitue une synthèse entre les attentes des consommateurs et les contraintes des producteurs permettant, sans interdire l'utilisation des médicaments, leur utilisation en toute sécurité. Cette LMR est calculée en prenant en compte d'une part le risque toxicologique et, d'autre part, l'effet potentiel des résidus sur la flore digestive de l'homme [10].

3.2.2.1. La LMR toxicologique

Est définie pour assurer la sécurité du consommateur. Cette notion intègre tous les éléments liés à la toxicité de la molécule à court ou à long terme, quelle que soit la nature des effets observés sur l'individu ou sur sa descendance [25].

3.2.2.2. La LMR bactériologique

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

La LMR finale (officielle) prend la valeur la plus basse entre la LMR toxicologique et bactériologique [25].

3.3. Facteurs de persistance des résidus

Selon Châtaigner et Stevens [20], la persistance de résidus varie selon plusieurs facteurs :

- l'antibiotique lui-même
- la forme pharmaceutique
- les modalités d'injection
- le site d'injection
- la dose injectée
- la sévérité de l'irritation locale
- facteurs liés à l'animal

3.4. Conséquences négatives de l'utilisation des antibiotiques chez les animaux

Les conséquences négatives de l'utilisation des antibiotiques chez les animaux sont :

- présence de résidus dans les produits alimentaires d'origine animale (si les délais d'attente avant l'abattage ne sont pas respectés) [35]
- contamination de l'environnement (excrétion des antibiotiques par les fèces, urines...) [35]

Selon Scippo [51], ces conséquences sont surtout dues aux mauvaises pratiques:

- produits du marché noir.
- administration sans prescription vétérinaire.
- non respect des doses et des délais d'attente.

3.5. Les problèmes de santé publique liés à la présence des résidus d'antibiotique

Les problèmes et les risques pour le consommateur et la Santé Publique liés à la présence de résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires sont [49] :

- Risque de toxicité directe (nitrofuranes),
- Risque allergique (pénicillines, streptomycine),
- Risque cancérigène (nitrofuranes),

Les effets des résidus d'antibiotiques sur l'organisme humain dépendent de deux facteurs [56] :

- de la transformation in vivo de la molécule d'origine, conduisant à la formation d'un métabolite ayant perdu ses propriétés antibactériennes mais possédant un pouvoir allergène résiduel. La toxicité de ce résidu peut être augmentée ou diminuée par rapport à celle de la molécule d'origine.
- de la « toxico disponibilité » qui correspond à la forme sous laquelle le résidu se trouve dans l'organisme. Il peut être libre ou lié à des molécules. Il est alors plus ou moins accessible à la réponse immune de l'organisme, plus ou moins prédisposé à s'accumuler au niveau de certains organes ou bien à être éliminé.

3.5.1. Risques toxiques

Les risques toxiques dans ce cas résultant de l'absorption répétée de résidus d'antibiotiques retrouvés dans les aliments et leurs accumulation dans l'organisme humain, c'est pourquoi, la dose ingérée et la nature de l'antibiotique administré jouent un rôle très important.

Des expérimentations sur des animaux ont montré que l'administration pendant un temps plus au moins prolongé d'un antibiotique peut être à l'origine de trouble généraux divers tels que des réactions neurotoxiques ou des lésions organiques localisées en particulier aux niveaux des reins ou du foie [2, 20].

3.5.2. Risques allergique

Les résidus des médicaments vétérinaires sont incriminés en allergie humaine et peuvent être mis en cause dans certains accidents d'hypersensibilité chez les personnes allergiques en entraînant soit un effet sensibilisant soit un effet déclenchant (effet des pénicillines) [23].

Sur propositions de COOMBS et GELL, le comité mixte FAO/OMS (1990) reconnaît qu'en général la sensibilisation initiale d'un sujet réceptif a lieu après administration d'une dose assez importante de substance ayant un pouvoir allergique et qu'un contact ultérieur, souvent avec une dose beaucoup plus faible, peut provoquer une réponse allergique [26].

3.5.3. Risques microbiens

Parmi tous les risques encourus par le consommateur suite à l'ingestion d'aliments contaminés par les résidus d'antibiotiques, le risque microbien semble être, de très loin, le plus important et le plus dangereux par la même occasion, en fait, ce dernier se matérialise par deux problèmes d'ordre sanitaire à savoir la modification de la flore intestinale de l'homme et l'émergence de résistances bactériennes [20].

CHAPITRE 4

CHAPITRE 4 : METHODES DE DETECTION DES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES

4.1. Introduction

Selon Scippo [51], le contrôle des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires est un processus complexe et coûteux. Mais il est indispensable pour garantir:

- La protection de la santé publique.
- Le respect des règles qui régissent le commerce.
- La production de matières premières de qualité pour l'industrie agroalimentaire.

4.2. Méthodes de détection (dépistage)

Les méthodes biologiques/biochimiques de dépistage des résidus des antibiotiques sont généralement rapides et peu coûteuses. Elles permettent de traiter un grand nombre d'échantillons. Elles doivent avoir des limites de détection suffisamment basses (inférieures aux LMR ou aux niveaux minimum de performance requise). Comme toute méthode de dépistage, elles ne doivent engendrer qu'un faible nombre de faux négatifs (échantillons faussement conformes) et un nombre limité de résultats faussement positifs pour rester attrayantes d'un point de vue économique, les résultats positifs enregistrés en pratiquant ces méthodes de dépistage devant être nécessairement confirmés par des méthodes chromatographiques plus fiables comme celles qui associent chromatographie (en phase gazeuse ou liquide) couplées à la spectrométrie de masse (SM) [52].

4.2.1. Méthodes microbiologiques

4.2.1.1. Méthodes des quatre boîtes

Repose sur l'utilisation des boîtes de Pétri sur lesquelles sont déposés des disques de la viande à tester (figure 2). Ces boîtes contiennent différents milieux de culture, sont ensemencées avec différentes bactéries sensibles à des familles d'antibiotiques différents (tableau VII). La présence d'antibiotique dans la viande se traduit, après 24 heures de culture, par une zone d'inhibition autour du disque de viande. Si le diamètre d'inhibition est supérieur à 2mm, le morceau de viande est considéré comme positif [42].

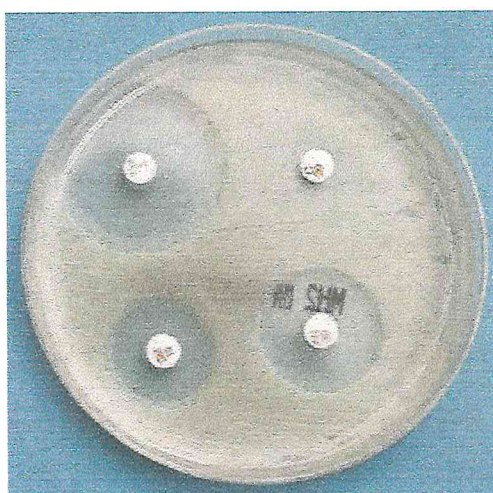


Figure 2: Méthode des quatre boites [5].

Tableau VII : Présentation de la méthode des quatre boites utilisée pour le contrôle officiel [11]

Boite	1	2	3	4
Souche	Bacillus subtilis	Bacillus subtilis	Bacillus subtilis	Micrococcus Luteus
Ph	6	7.4	8	8
Observation		Ajout Trimethoprime		
Molécule cible	Bétalactames + Tétracyclines	Sulfamides	Aminosides	Bétalactames + Macrolides

4.2.1.2. PREMITEST

Est un test à large spectre, il détecte un grand nombre d'antibiotiques couramment utilisés pour la viande. Au bout de 4 heures et donne un résultat fiable.

Le PremiTest est d'une utilisation simple [12, 36]:

Verser un peu de jus de viande dans le tube à essai.

- Préchauffer l'incubateur pendant 20 minutes.
- Incuber l'échantillon à 64 °C pendant trois heures environ et vérifier la couleur.

Si l'échantillon vire nettement du violet au jaune, cela signifie que la quantité de composés antimicrobiens se situe en dessous des limites de détection du Premi®Test. Une couleur violette indique un taux d'antibiotiques supérieur ou égal à la limite de détection du test [12, 36].

4.2.2. Méthodes immunologiques

4.2.2.1. Les méthodes radio immunologiques (RIA)

Dans les années 80, on a vu se développer des méthodes radio immunologiques (RIA) pour le dépistage de résidus d'antibiotiques dans des échantillons. Ici c'est la reconnaissance d'une molécule par un anticorps qui est détectée. Une compétition est organisée pour une liaison à des anticorps entre l'antigène non marqué, à savoir la molécule à rechercher dans l'échantillon, et un antigène de nature similaire mais marqué par un isotope radioactif (tritium, carbone 14) (figure 3) [52]

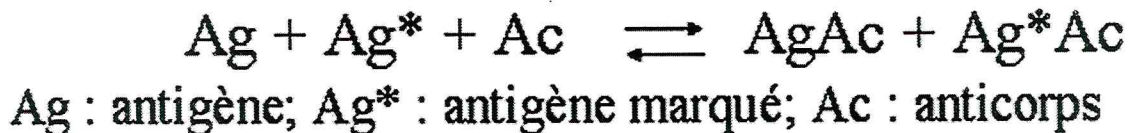


Figure 3: Equation de base des dosages immuno-chimiques par compétition [52].

Dans cette technique, on mesure la radioactivité liée aux anticorps après avoir éliminé la radioactivité libre. Grâce à une courbe de calibration, on peut déterminer la concentration de la substance dans l'échantillon.

Ces méthodes permettent de détecter des concentrations en résidus de l'ordre du ppb microgramme par kg) [52]. Les anticorps sont généralement très spécifiques.

Dans certains cas, par exemple pour le bêta agoniste ou certains antibiotiques comme les tétracyclines, il existe des anticorps capables de réactions croisées avec plusieurs substances différentes d'une même famille. Dans ce cas, un dépistage multianalyte est possible. Ces méthodes sont moins utilisées actuellement, mais plusieurs kits sont encore disponibles commercialement.

4.2.2.2. Test ELISA

L'ELISA (Enzyme- linked ImmunoSorbent Assay) est analogue au RIA.

Cette fois l'antigène est marqué par une enzyme dont l'activité liée aux anticorps peut être mesurée grâce à une coloration correspondant à la transformation du substrat de l'enzyme en produit.

La réponse est inversement proportionnelle à la concentration en analyte dans l'échantillon.

De nombreux kits de dosage Elisa pour les résidus d'antibiotiques ont été développés [12, 33]. Elle est cependant dépourvue des inconvénients liés à l'utilisation de la radioactivité.

4.2.3. Méthodes physico-chimiques

4.2.3.1. Chromatographie liquide haute performance (HPLC)

Couplé à un système d'injection des échantillons à analyser et à un système de détection en continu au sein d'un chromatographe, un tel système de séparation permet des analyses fines d'une grande qualité dans la mesure où les différents constituants des mélanges sont séparés avant d'être déterminés quantitativement (Figure 4). Les techniques de chromatographie liquide sont en plein

essor pour le contrôle en laboratoire grâce à la possibilité d'automatisation (injection, élution, nettoyage de la colonne, détection) (Figure4). L'utilisation assistée par ordinateur pour le traitement des données réduit le temps nécessaire pour le traitement d'un échantillon [17]

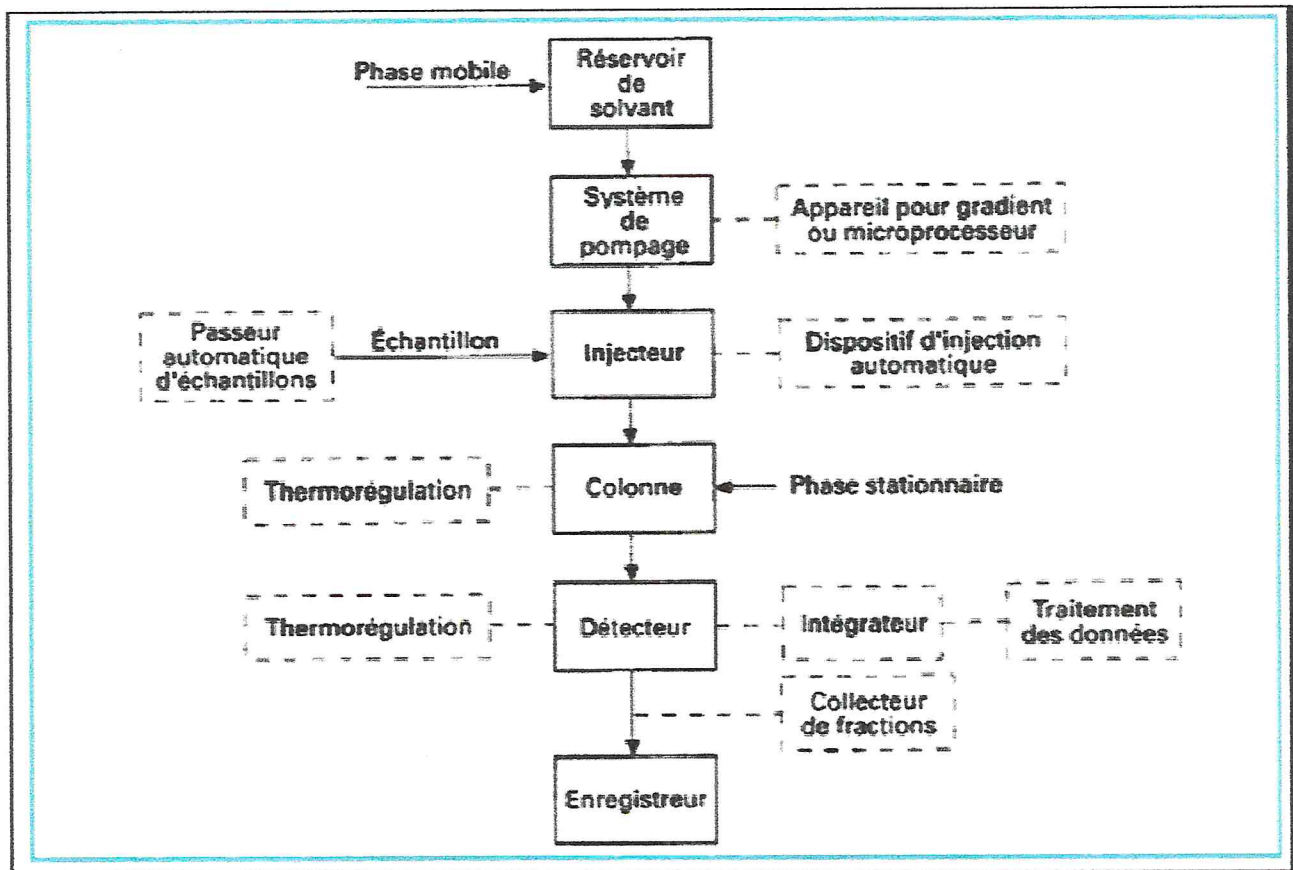


Figure 4 : Principe d'un chromatographe en phase liquide [18].

L'utilisation des étalons de concentrations connus permet d'identifier et de quantifier les composants d'un échantillon [19] :

- L'identification est basée sur la comparaison des temps de rétentions obtenus pour l'échantillon et pour les étalons. Le temps de rétention (t_R) est le temps d'élution au sommet du pic, mesuré à partir de l'injection.
- Le dosage s'effectue grâce à la mesure puis la comparaison de l'aire du pic d'élution de la substance de référence (étalon) à celle du produit à analyser.

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) a été choisie comme méthode analytique pour confirmer la présence d'antibiotiques appartenant à plusieurs familles dans divers échantillons (viandes blanche et rouge, foie, rein...). Abiola et al [1], ont utilisé cette méthode pour confirmer la présence de tétracycline, de sulfamides, de nitrofuranes et de chloramphénicols dans le gésier et le foie de poulet. Laurentie et Sanders [40], ont ciblé les molécules suivantes dans divers matrices: ampicilline, les tétracyclines (Chlorotétracycline, oxytétracycline, tétracycline), les macrolides

(Tyrosine, érythromycine, spiramycine), Chloramphenicol et hygromycine. Le traitement des échantillons passe par une phase d'extraction dont le protocole diffère d'une famille à une autre [41]. L'HPLC peut être couplée à la spectrométrie de masse (CL/SM-SM) pour détecter et quantifier les résidus d'antibiotiques dans divers matrices [28, 37, 38].

4.2.3.2. Chromatographie sur couche mince CCM

Dans la CCM classique, la solution d'échantillon à analyser est déposée à l'aide d'un capillaire ou d'une seringue à une petite distance (1 cm en général) de l'extrémité de la couche. On peut donc parler d'une injection latérale à la différence de l'injection centrale réalisée sur colonne. Le volume déposé est très faible (1 à 5 μL). La tache (ou spot) ainsi obtenue doit être aussi circulaire et petite que possible. La plaque est ensuite placée dans une cuve à développement contenant le solvant (ou le mélange de solvants) constituant la phase mobile et saturée par ses vapeurs. La phase mobile monte par ascension capillaire entraînant ainsi l'échantillon déposé. Chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse derrière le front du solvant. Cette vitesse dépend d'une part, des interactions retenant le composant sur la plaque stationnaire et, d'autre part, de sa solubilité dans la phase mobile. La détection des substances est une opération distincte de la chromatographie et elle s'effectue sur une couche séchée et débarrassée du solvant de développement par pulvérisation d'un réactif révélateur donnant des dérivés colorés avec les composants du mélange. L'identification s'effectue grâce à la comparaison des distances de migration obtenues pour les composants du produit à analyser et pour des étalons Co-migrés dans les mêmes conditions [53].

PARTIE
EXPREMENTALE

PARTIE EXPERIMENTALE

1. Lieu et période de travail

- L'enquête relative à l'utilisation des antibiotiques dans les élevages avicoles par les vétérinaires praticiens a été réalisée au niveau de certaines communes de la wilaya de Médéa (Médéa, Beni slimane, El-omaria, Tablat, Elgalb-elkbir, Sidi-naamane, Azzizya, Souaghi, Berrouaghia, Oulad-brahim et Chevalet-eladhaoura) durant la période s'étalant du mois d'octobre 2014 au mois de janvier 2015.
- La mise au point, d'une méthode microbiologique permettant la détection des résidus d'antibiotiques dans le foie du poulet de chair, prélevés à partir des différents points de vente de la wilaya de Médéa (Médéa, Beni slimane, El-omaria, Berrouaghia, Ksar Elboukhari, Tablate), réalisée au niveau du laboratoire des services microbiologiques du complexe SAIDAL de Médéa durant trois mois (janvier à mars 2015).

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel

2.1.1. L'enquête

Les informations ont été recueillies par le biais d'un questionnaire (**voir Annexe 1**), tirés à 40 exemplaires pour les vétérinaires praticiens.

2.1.2. Recherche des résidus d'antibiotiques

2.1.2.1. Matériel biologique

- 48 échantillons de foie du poulet de chair.
- Souches bactériennes (*Bacillus subtilis* et *Micrococcus luteus*).

2.1.2.2. Matériel non biologique

Le matériel utilisé est le suivant :

- Agitateur électrique.
- Autoclave.
- Bain marie.
- Bec benzène.

- Flacons.
- Fioles.
- Tubes.
- Boîtes pétries.
- Pipette pasteur.
- Disque antibiotique.
- Papier filtre.
- Anse palatine.
- Mortier.
- TSA milieu de culture (Trypticaséine soja agar).

2.1.2.3. Milieux et produits

➤ **Milieux**

- Soja agar,
- Milieux à pH6, pH7.4, pH8, sont présentés en annexe 2

➤ **Produits chimiques et réactifs**

- Solutions Standards des antibiotiques sont présentées en annexe 3.

2.2. Méthodes

2.2.1. L'enquête

Les exemplaires du questionnaire ont été distribués par nous même suite à des déplacements sur place et par l'intermédiaire de quelques étudiants.

L'ensemble des informations recueillies ont été stockées dans un fichier Microsoft excel et le traitement des données a été restreint à une analyse statistiques descriptive sans réalisation de teste statistiques.

2.2.2. Recherche des résidus d'antibiotiques

2.2.2.1. Prélèvement du foie

Les échantillons du foie étaient prélevés directement auprès des points de vente, mises dans des sacs en plastiques stériles et identifiés par un numéro puis sont transportés dans une glacière à +4°C. Une fois au laboratoire, les échantillons sont stockés au congélateur jusqu'au moment de leur analyse.

2.2.2.2. Analyse par la méthode microbiologique

La méthode utilisée est une méthode microbiologique pour la détection des résidus d'antibiotiques, dite « méthode des quatre boîtes » (**figure 5**), c'est une technique de détection qualitative qui permet la mise en évidence de quatre groupes d'antibiotiques, le premier groupe comprend deux familles d'antibiotiques (Bétalactamines/Tétracyclines), le deuxième et troisième comprennent respectivement les familles des Sulfamides et des Aminocyclitolides et le quatrième en comprend deux (Macrolides/Bétalactamines).

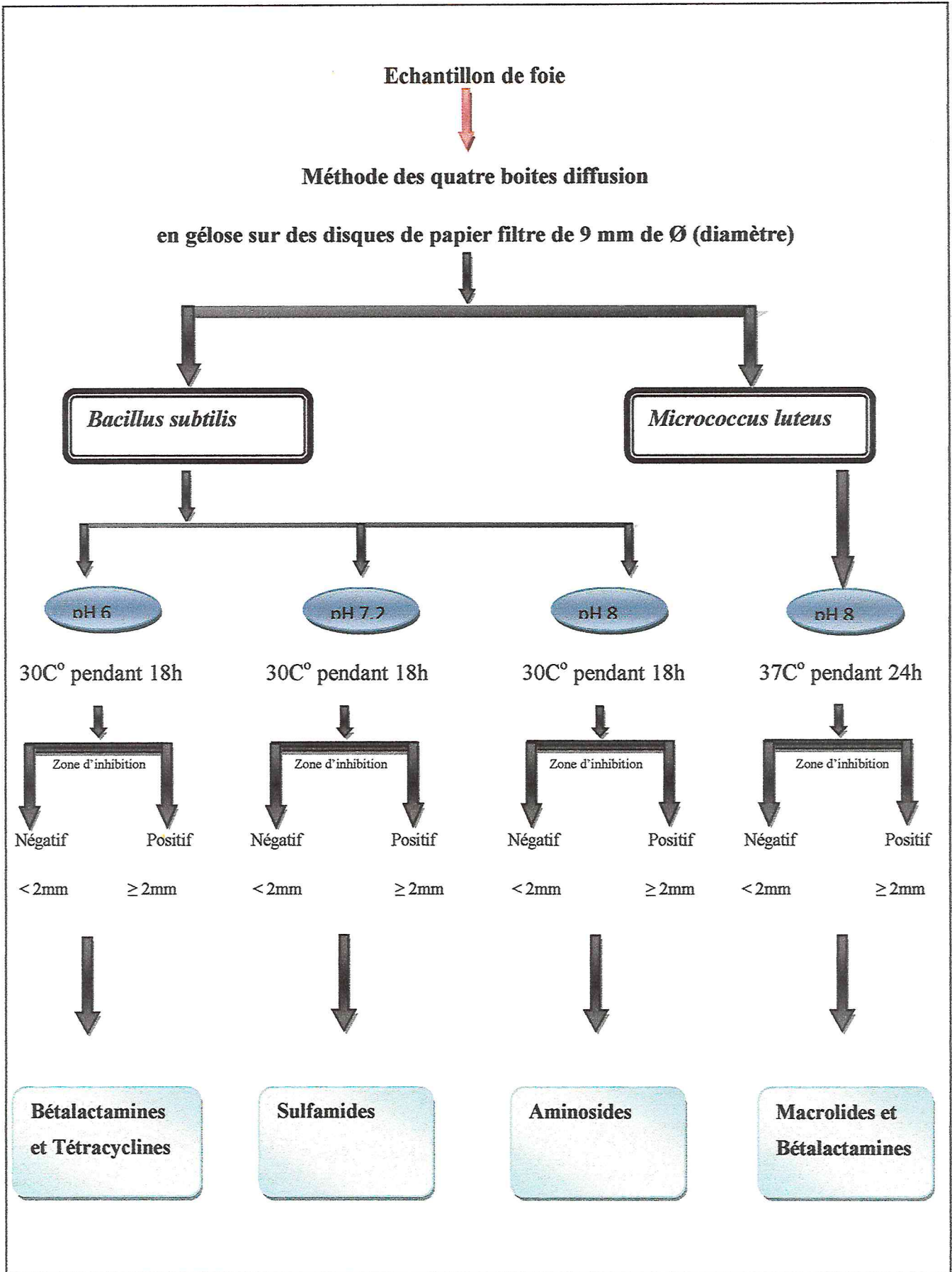


Figure 5 : Schéma général de la détection des résidus d'antibiotiques par la méthode des quatre boîtes.

Basée sur la diffusion en gélose, cette méthode est réalisée comme suit :

2.2.2.2.1. Préparation des milieux

La préparation des milieux est détaillée en **Annexe 2**.

2.2.2.2.2. Préparation de l'inoculum

➤ Réactivation des souches

Nous avons effectué la réactivation des souches prélevées à partir de la culture stockée sur gélose inclinée. Ce repiquage nous a permis d'obtenir des souches jeunes.

❖ Mode opératoire

- Introduire une anse de platine stérile dans le tube de conservation des souches bactériennes jusqu'à la gélose inclinée en évitant de toucher les parois puis prélever une parcelle de la culture qui se trouve à la surface. Ensemencer dans une boîte de pétrie de soja agar.
- Incuber à une température de 30 à 37°C pendant 24h à 48h.

✓ *Bacillus subtilis*

- A partir des cultures obtenues après incubation, réaliser une suspension dans l'eau physiologique stérile.
- Introduire stérilement la suspension dans une bouteille de Roux contenant un milieu solide incliné (Soja Agar).
- Incuber à 30°C pendant 24h à 48h.
- Introduire 75 ml d'eau physiologique stérile dans la bouteille de Roux et récupérer la souche en raclant avec billes en verres stériles.
- Récupérer la suspension riche en *Bacillus subtilis* dans une fiole de 100ml stérile qui constitue la solution mère.

Vu que *Bacillus subtilis* est une bactérie sporulante, la suspension obtenue est viable pendant une longue durée (1mois). Elle peut être donc utilisée pour l'ensemencement des milieux de culture. Il suffit donc de déterminer sa charge en spores afin de calculer la dilution nécessaire à l'ensemencement.

✓ *Micrococcus luteus*

- A partir de la souche test *Micrococcus luteus*, ensemencer en stries deux boîtes de gélose pour isolement et confirmation d'identification.
- Incube à 37°C pendant 24h.
- A partir de quelques colonies prélevées sur l'une des boîtes, ensemencer plusieurs tubes de bouillon de culture servant pour la congélation des souches et incuber pendant 3 à 6 h à 37°C.

- Récupérer la suspension riche en *Micrococcus luteus* dans une fiole 100 ml stérile qui constitue la solution mère.

Pour ces deux souches, la viabilité cellulaire pose un problème pratique, c'est la raison pour laquelle nous avons préféré d'utiliser pour l'ensemencement des suspensions réalisées à partir de cultures jeunes. Afin de déterminer la charge de l'inoculum utilisé pour l'ensemencement, nous avons établis une courbe d'étalonnage exprimant la densité optique (à 600nm) en fonction du nombre en UFC/ml.

2.2.2.2.3. Dénombrement

❖ Dilutions

Afin de déterminer la concentration de la suspension des bactéries, il faut effectuer un dénombrement et ce après la réalisation de dilutions convenable jusqu'à 10^{-10} .

➤ *Bacillus subtilis*

- En opérant de façon stérile, 10 ml de la solution de spores sont incorporés dans 90 ml d'eau physiologique dans un flacon stérilisé, nous obtenons ainsi la dilution 10^{-1} .
- A partir de la dilution 10^{-1} bien mélangée, 1 ml est ajouté à l'aide d'une pipette stérile à 9 ml d'eau physiologique dans un tube à essai et nous aurons ainsi la dilution 10^{-2} .
- A partir de la dilution 10^{-2} bien mélangée, 1 ml est ajouté à l'aide d'une pipette stérile à 9 ml d'eau physiologique dans un tube à essai et nous aurons ainsi la dilution 10^{-3} .
- De manière identique, répéter l'opération jusqu'à l'obtention de la dilution 10^{-10} .

➤ *Micrococcus luteus*

- A partir de culture jeune, réaliser une dilution dans 9ml d'eau physiologique stérile.
- Procéder à la dilution au $\frac{1}{2}$, au $\frac{1}{4}$, $1/10$ jusqu'à 10^{-7} .

❖ Ensemencement

- Utiliser 2 boites de pétri pour chaque dilution.
- Introduire dans chaque boite 0.1 ml de chaque dilution (de la 10^{-1} jusqu'à 10^{-10}).
- Introduire 15 à 20ml de milieu soja agar maintenu en surfusion à 45°C .
- Mélanger l'inoculum et le milieu de culture, en faisant des mouvements en huit.
- Incuber à 37°C pendant 24h à 48h pour les bactéries (*Micrococcus luteus*).
- Incuber à 30°C pendant 24h à 48h pour la bactérie (*Basilus subtilis*).

❖ Comptage des colonies

- Après incubation, sélectionner les boîtes présentant un nombre de colonies compris entre 30 -300 UFC (les colonies sont dénombrées en surface des boîtes de pétri).
- Prendre la moyenne arithmétique des dénombrements entre les deux essais pratiqués avec la même dilution.
- Calculer le nombre d'unité formant les colonies par ml de la dilution.
- Multiplier par l'inverse de cette dilution pour avoir le nombre de bactérie pour 1ml de l'inoculum.
- La charge de la solution mère en UFC/ml est estimée en faisant la moyenne des concentrations obtenues pour les différentes dilutions.

2.2.2.2.4. Préparation des solutions bactériennes

- Après avoir réactivé les souches, nous prenons 2 tubes à essais stériles, contenant de l'eau physiologique 0.9%, à l'aide d'une anse platine, prendre une petite quantité de la souche précédemment incubée dans une boîte de pétri, et la mettre dans le tube à essai déjà identifié. Utiliser le vortex pour agiter la solution.
- Ensemencer avec un écouvillon les boîtes qui vont être utilisées par les solutions préparées. Toujours travailler au près du bec benzène.

2.2.2.2.5. Préparation des solutions d'antibiotiques témoins

- Préparer 3 solutions de pénicilline-G, érythromycine et de streptomycine nécessaire pour contrôler les conditions de développement et de sensibilité de la bactérie (**voir Annexe 3**).

2.2.2.2.6. Analyse des échantillons

La méthode microbiologique utilisée est la méthode officielle de détection des résidus d'antibiotique utilisée dans les laboratoires BELGES DE FOUGERES.

Au cours de cette méthode nous avons analysé le jus du foie pour avoir des zones d'inhibitions régulières.

- Pour extraire le jus des échantillons il faut tout d'abord les décongeler, puis :
 - Hacher 10g de l'échantillon en utilisant un mortier (figure 6).
 - Verser en dessus 25ml de méthanol.

- Homogénéiser pendant 1 minute.
- Mettre le surnageant dans un tube à essai, identifier le tube et agiter par le vortex (figure 7).
- Plonger les disques d'antibiotiques dans le tube qui contient le jus du foie.
- Placer les disques dans les boîtes de pétri déjàensemencées par la souche qui convient au pH du milieu de culture (4 disques par boîte) (figure 8)
- Incuber selon les conditions appropriées au microorganisme (30°C pendant 18h pour *Bacillus subtilis* et 37°C pendant 24h pour *Micrococcus luteus*).
- Sortir les boîtes de l'incubateur.
- Lire les zones d'inhibition pour les échantillons positifs (figure 9).



Figure 6: Hacher l'échantillon du foie

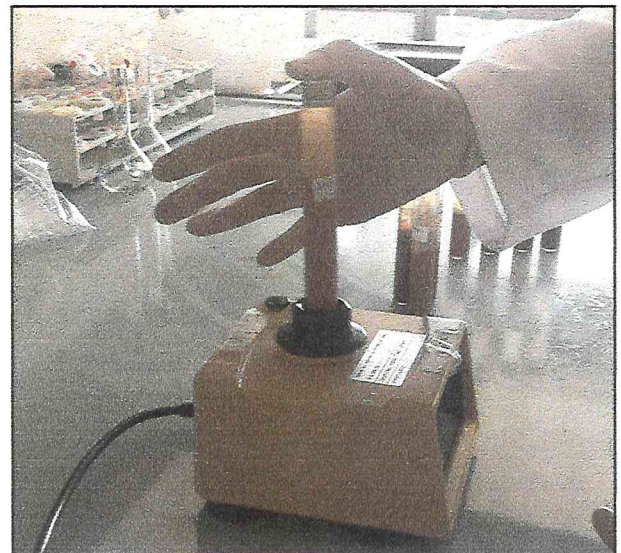


Figure 7 : Agiter le tube à essai contenant le jus

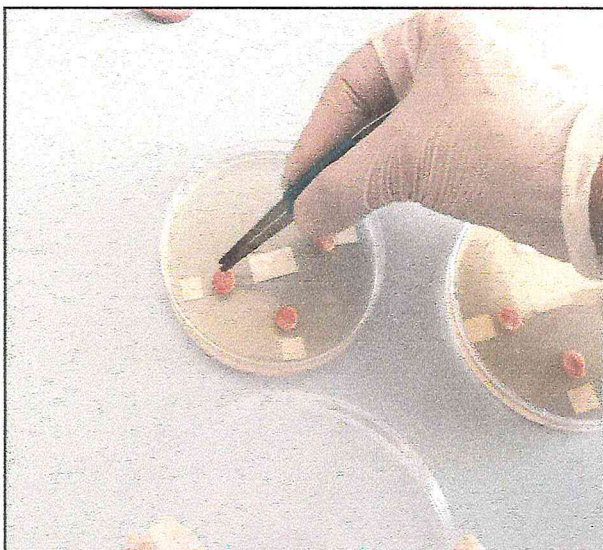


Figure 8: Mise en place les disques de jus du foie

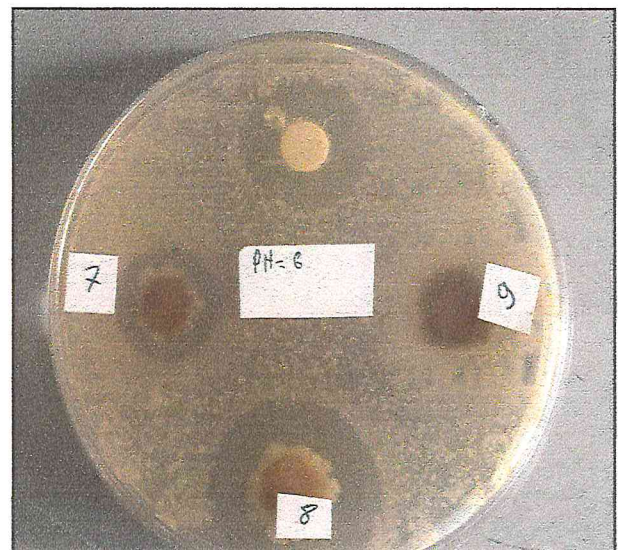


Figure 9: Observation e lecture des zones d'inhibition

2.2.3. Interprétation des zones d'inhibition

A l'issue de l'incubation, les disques imprégnés des solutions témoins doivent présenter une zone d'inhibition nette dont la taille minimale de la zone annulaire est 6mm (la zone annulaire est la distance comprise entre le bord du disque et la limite externe de la zone d'inhibition).

Pour chacune des quatre boîtes, sont considérés comme positifs, les échantillons de viande donnant des zones d'inhibition dont la taille de la zone annulaire est au moins égale à 2mm. Avant de commencer la lecture des zones d'inhibition des échantillons analysés, nous commençons par la lecture des disques témoins, afin de vérifier la conformité des souches test utilisées.

Selon AFSSA (2000). Les résultats de la lecture figurent dans le tableau suivant.

Tableau VIII : Les diamètres d'inhibition des antibiotiques témoins

Espèce	pH	Antibiotique	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)
<i>Bacillus subtilis</i>	6,0	Pénicilline G	27
	7,2	Sulfathiazole	20
	8,0	Streptomycine	23
<i>Micrococcus luteus</i>	8,0	Erythromycine	25

Les échantillons analysés sont considérés comme positifs si la zone annulaire est supérieure ou égale à 2 mm.

3. Résultats et discussion

3.1. Résultat de l'enquête

Le tableau (IX) présent les résultats de l'enquête réalisée auprès des vétérinaires praticiens:

Tableau IX : Résultats de l'enquête par questionnaire

Questions	Réponses des vétérinaires
Activité avicole	Activité principale : 62,5 %
L'affection les plus rencontrées	La majorité : Mixte (digestive et respiratoire)
Le taux approximatif d'utilisation des antibiotiques	Taux : 70 %
Fréquence d'utilisation des antibiotiques	Dans tous les cas : 65 % Selon le diagnostic : 35 %
Antibiotiques les plus utilisés	Bétalactamines : 72,5 % Aminosides : 47,5 % Sulfamides : 30 % Macrolides : 8,75 %
Respect de la posologie	Oui : 47,5 %
Augmenter la dose	Oui : 52,5 %
Signalement des délais d'attente	Oui : 82,5 %
Pathologies les plus rencontrées sur le terrain	MRC : 88%. Bronchite infectieuses : 75%. Colibacillose : 70%. Coccidiose : 62,5%.
Respect des délais d'attentes par les éleveurs	Oui : 56 %
Traitement réalisé par l'éleveur	Oui : 100 %
Critères de choix des antibiotiques	Efficacité : 71,8 % Délai d'attente : 71,8 %
Suspicion d'existence des résidus	Oui : 91 %

- L'activité avicole est une activité principale pour 62,5% des vétérinaires questionnés.
- La majorité des vétérinaires questionnés ont révélé que les affections les plus rencontrées sont les affections mixtes (respiratoires et digestives).
- D'après les résultats du questionnaire, le taux approximatif d'utilisation des antibiotiques est de 70%, ce qui explique bien, que 65% des vétérinaires interrogés utilisent les antibiotiques dans tous les cas.

- Selon les vétérinaires interrogés, nous remarquons que les antibiotiques les plus utilisés sont les Bétalactamines (72,5 %) et les Sulfamides (47,5%). Cette variation dans le choix de l'utilisation des antibiotiques peut s'expliquer par plusieurs raisons. L'efficacité et le délai d'attente des produits restent des critères très importants pour le choix des antibiotiques, soit 71,8%.
- Pour la posologie, il a été signalé que 52,5% des vétérinaires interrogés augmentent la dose pour avoir une meilleure réponse aux traitements.
- 52,5% des vétérinaires questionnés confirment que la plupart des éleveurs respectent le délai d'attente. Cette constatation est proche de celle rapportée par l'étude réalisée par Saadaoui et Boufassa [50], qui ont confirmé que 48,84% de leurs éleveurs respectaient les délais d'attentes. Ce non respect du délai d'attente par les éleveurs est justifié par les pertes économiques, par le manque d'informations et par leur inattention.
- Selon les vétérinaires questionnés, les pathologies les plus rencontrées sur le terrain, sont les maladies respiratoires chroniques (MRC) (88%) suivies de la bronchite infectieuse (75%), les colibacilloses (70%) et les coccidioses (62,5%).

Notre enquête a été réalisée en hiver ce qui explique l'augmentation des maladies respiratoires chroniques (MRC) et bronchite infectieuse enregistrées au cours de cette enquête.

- Un fait important est à signaler d'après les vétérinaires interrogés, 100% confirment que les éleveurs réalisent les traitements par eux même.
- Selon les résultats, nous remarquons que tous les vétérinaires questionnés font des efforts pour lutter contre l'abattage des volailles au cours des traitements mais ces actions restent incomplètes par ce que :
 - ✓ Le traitement par des antibiotiques parfois anarchique réalisé par certains vétérinaires notamment le non respect de la dose prescrite dans la notice contribue à l'augmentation de la présence des résidus d'antibiotiques dans le foie de poulet de chair.
 - ✓ La plupart des éleveurs sont au courant du délai d'attente, cependant ils ne le respectent pas, ce qui montre un manque de conscience concernant l'utilisation des antibiotiques en élevages du poulet de chair.

3.2. Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le foie

3.2.1. Résultats globaux de la recherche des résidus

L'analyse des 48 échantillons de foie de poulet de chair a révélé les résultats représentés dans le tableau X. Sont considérés comme positifs, les échantillons présentant des zones d'inhibitions dans au moins l'une des boîtes testées.

Tableau X: Les résultats globaux de la recherche des résidus

Résultat	Nombre des échantillons	%
Positifs	28	58,33
Négatifs	20	41,67
Total	48	100

Les résultats ont montré que 28 échantillons ont présenté des zones d'inhibitions annulaires supérieures à 2 mm, donc considérés comme positifs, soit 58,33% et 20 échantillons, sont considérés comme négatifs, soit 41,67%. Ces résultats importants reviennent à plusieurs origines, telles que le non respect du délai d'attente par les éleveurs et l'augmentation de la dose d'utilisation par les vétérinaires.

Ces résultats sont représentés dans la figure ci-dessous.

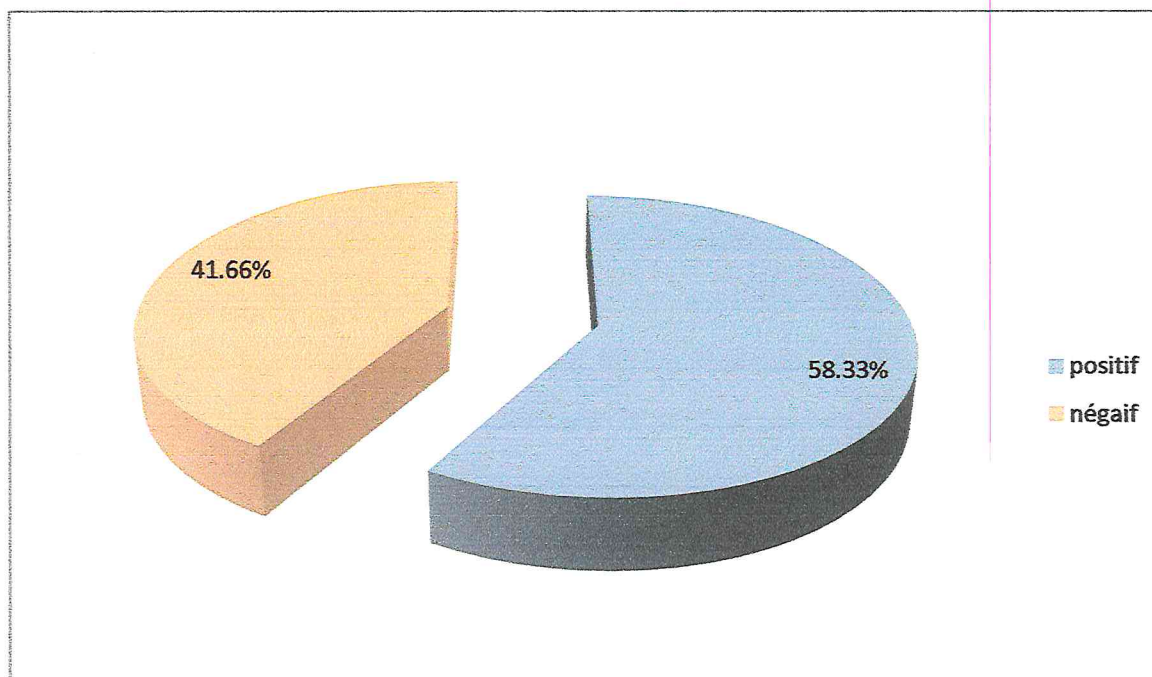


Figure 10 : Représentation des résultats globaux

3.2.2. Résultats par rapport à chaque antibiotique

Les résultats d'analyse des 48 échantillons de foie par rapport à chaque groupe d'antibiotique testé à donné les résultats suivants :

❖ Bétalactamines

Les résultats de la recherche des résidus de Bétalactamines sont représentés dans le tableau et les figures suivant

Tableau XI : Résultats da la recherche des résidus de Bétalactamines.

Localité	Nombre de prélèvement	Résultats			
		Positifs	%	Négatifs	%
Tablat	8	3	6.25	5	10.41
Beni-slimane	8	8	16.66	0	0
El-omaria	8	1	2.08	7	14.58
Berroughia	8	5	10.41	3	6.25
Ksar-elboukhari	8	5	10.41	3	6.25
Médéa	8	6	12.5	2	4.16
Total	48	28	58.33	20	41.67

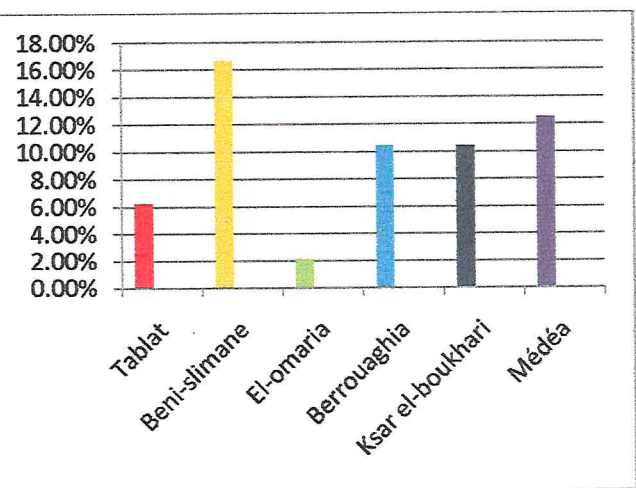
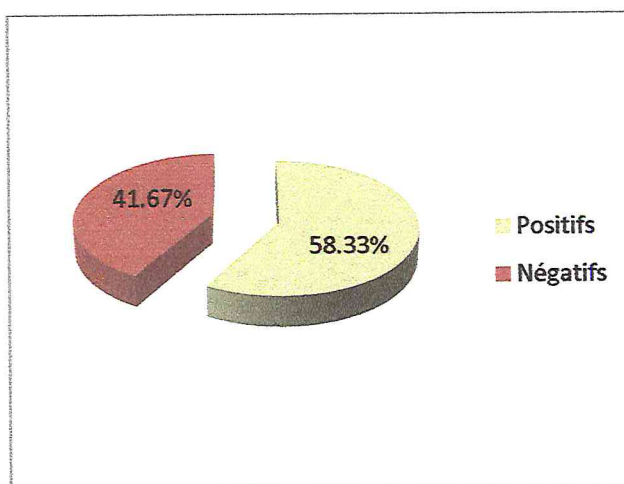


Figure 11 : Résultats globaux de la recherche des Résidus de Bétalactamines

Figure 12: Résultats de la recherche des résidus de Bétalactamines par rapport à chaque région

Sur un nombre total de 48 échantillons analysés, 28 échantillons ont révélé une positivité (contiennent la pénicilline-G) soit 58,33%, Beni Slimane présente le taux de contamination le plus élevé, soit 16,66%.

Cette valeur importante s'exprime par l'orientation du choix des vétérinaires questionnés vers la disponibilité et l'efficacité du produit. Elles représentent encore les antibiotiques les plus actifs, les moins toxiques et les plus utilisés en clinique, ce qui explique un taux élevé des résidus de ces molécules dans le foie.

❖ Les aminosides

Les résultats de la recherche des résidus des Aminosides sont présentés dans le tableau et les figures suivants :

Tableau XII : Résultat de la recherche des résidus des aminosides

Localité	Nombre de prélèvement	Résultat			
		positifs	%	négatifs	%
Tablat	8	3	6.25	5	10.41
Beni-slimane	8	7	14.58	1	2.08
El-omaria	8	2	4.16	6	12.5
Berrouaghia	8	4	8.33	4	8.33
Ksar El-boukhari	8	3	6.25	5	10.41
Médéa	8	5	10.41	3	6.25
Total	48	24	50	24	50

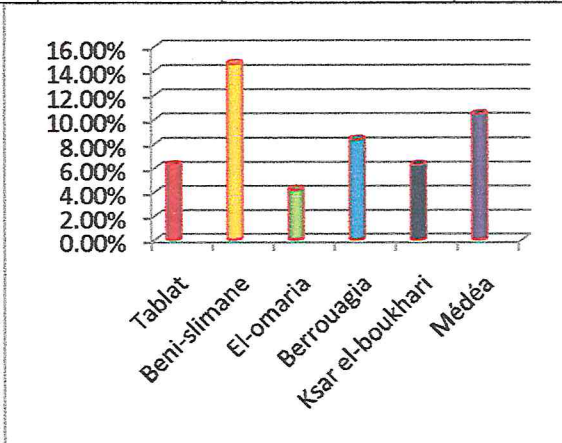
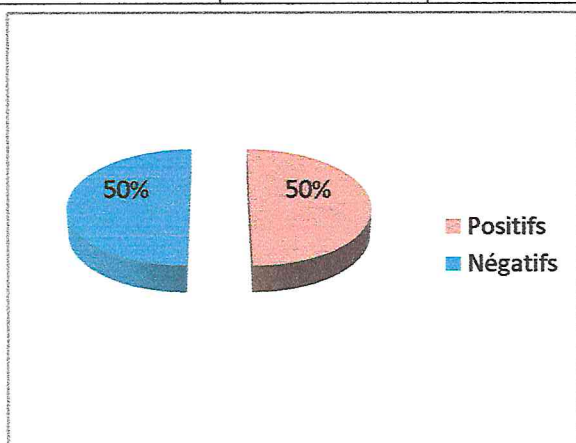


Figure 13: Résultats globaux de la recherche des Résidus des aminosides.

Figure 14 : Résultats de la recherche des résidus des aminosides par apport à chaque région.

Selon nos résultats, le nombre des prélèvements positifs des aminosides était de 24 échantillons, soit 50%, les échantillons les plus contaminés sont localisés au niveau de beni-slimane soit 14.58%.

Selon l'enquête destinée aux vétérinaires praticiens, les antibiotiques du 1^{er} groupe (streptomycine) sont largement utilisés pour leur efficacité et leur cout économique intéressant.

❖ Sulfamides

Les résultats de la recherche des résidus de sulfamides sont représentés dans le tableau et les figures suivants :

Tableau XIII : Résultat de la recherche des résidus des sulfamides.

Localité	Nombre de prélèvement	Résultat			
		positifs	%	négatifs	%
Tablat	8	2	4.16	6	12.5
Beni-slimane	8	5	10.41	3	6.25
El-omaria	8	0	0	8	16.66
Berrouaghia	8	4	8.33	4	8.33
Ksar El-boukhari	8	3	6.25	5	10.41
Médéa	8	1	2.08	7	14.58
Total	48	15	31.25	33	68.75

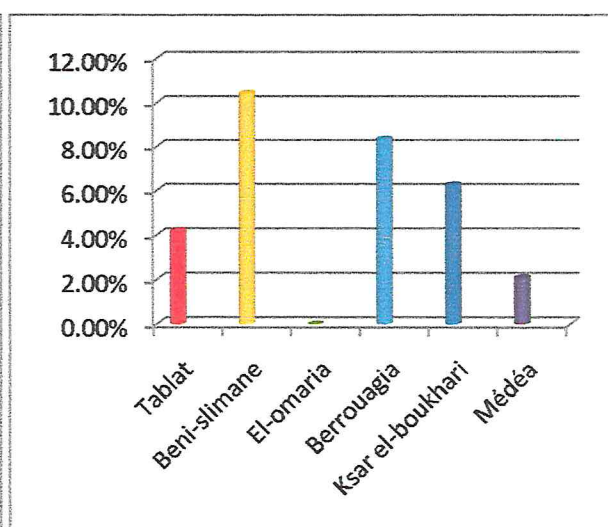
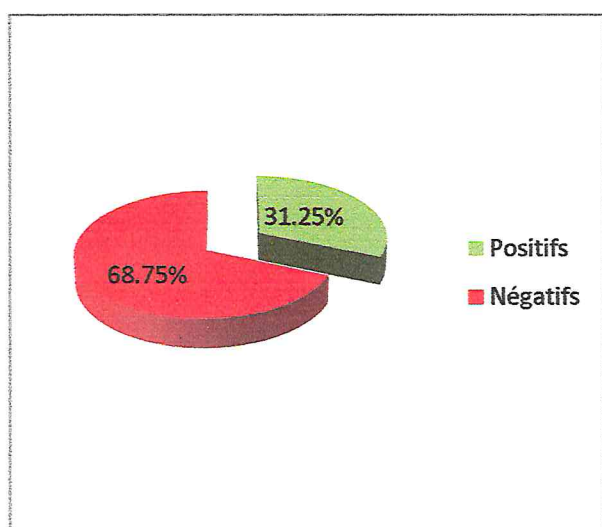


Figure 15: Résultats globaux de la recherche des résidus des sulfamides

Figure 16 : Résultats de la recherche des résidus des sulfamides par apport à chaque région

Le nombre total de prélèvement positifs des sulfamides était de 15 échantillons soit 31.25%.

Les échantillons prélevés à El-omaria ont été indemnes de sulfathiazol, alors qu'au niveau de Beni Slimane nous avons noté un taux important de contamination, soit 10,41%.

Nos résultats ont été confirmés par notre enquête, qui explique l'utilisation modeste des sulfamides en Algérie, qui n'a été mise en place que ces dernières années en médecine vétérinaires.

3.2.3. Résultat global par rapport à chaque antibiotique

Le résultat final par rapport à chaque antibiotique est présenté dans le tableau et figure suivants

Tableau XIV: Résultat global de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le foie du poulet de chair analysés par rapport à chaque antibiotique

	Béta-lactamines		Aminosides		Sulfamides	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
Nombre positif	28	58,33	24	50	15	31,25
Nombre négatif	20	41,67	24	50	33	68,75
Total	48	100	48	100	48	100

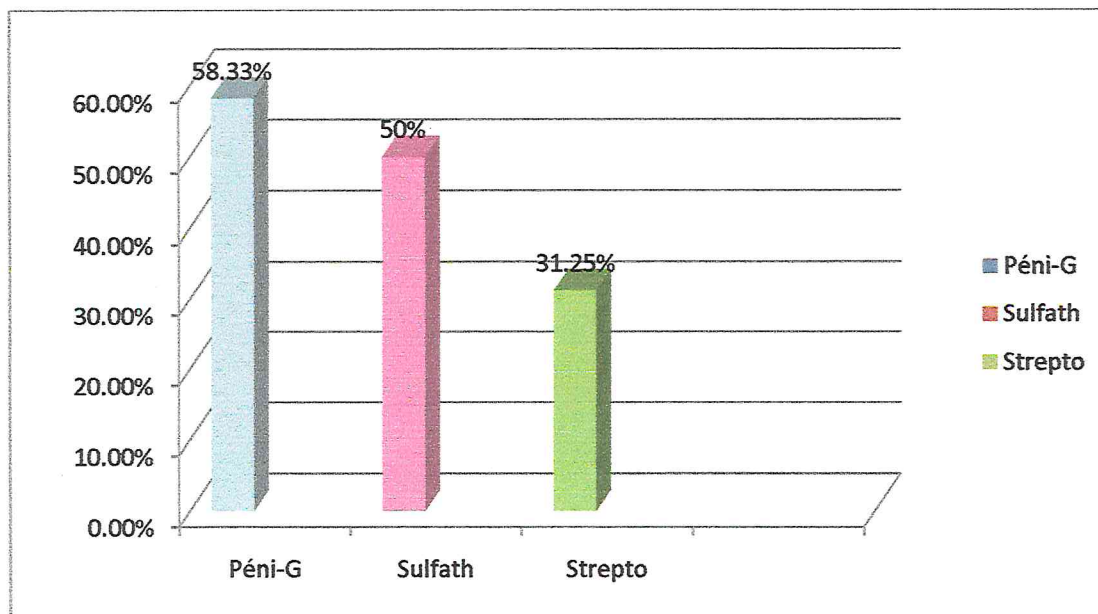


Figure 17 : Résultat global de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le foie du poulet de chair par rapport à chaque antibiotique

Parmi les échantillons positifs, la famille des béta-lactamines occupe le pourcentage le plus élevé (58.33%) suivi par les aminosides (50%) et en dernier les sulfamides (31.25%). Ce résultat

concorde bien avec les données rapportées par notre enquête concernant la fréquence de l'utilisation des antibiotiques en élevage avicole.

Les causes de contamination de foie du poulet de chair par ces résidus doivent être recherchées avec soin pour en maîtriser au mieux les risques.

Nous supposons que la contamination de foie par les résidus d'antibiotiques est due à:

- L'utilisation des antibiotiques à titre curatifs ou préventifs dont l'objectif majeur est de prévenir ou d'éradiquer l'infection, d'obtenir la guérison des animaux cliniquement malades, d'éviter leur mortalité et de restaurer leur production.
- D'autre part, la date d'analyse des échantillons étudiés s'étalent sur une période entre le mois de janvier et le mois de mars 2015, cette période est proche de celle correspondant au pic d'incidence des maladies respiratoire , ce qui pourrait être à l'origine d'une présence importante des résidus d'antibiotiques dans le foie
- Le test que nous avons utilisé pour la détection des résidus d'antibiotiques (Méthode des quatre boites) pourrait avoir une influence sur les résultats obtenus, car il permet une détection aux limites maximales de ces résidus (LMR).

Quelque soit l'origine de ces antibiotiques, elle montre bien la grande part de responsabilité des éleveurs liée à la non maîtrise des traitements d'antibiotiques et au non respect des délais d'attente constat que nous avons confirmé au cours de notre enquête adressé aux vétérinaires et qui a été rapporté aussi par d'autres enquêtes Saadaoui et Boufassa [50].

CONCLUSION

A l'issue de notre recherche, nous pouvons dire que les résidus d'antibiotiques, essentiellement les Bêtalactamines, les Sulfamides et les Macrolides sont bien présents dans un produit de consommation qui est le foie de poulet de chair, il suffit juste de les rechercher.

Il ne fait pas de doute que la présence, à des concentrations plus au moins élevées, de résidus d'antibiotiques dans le foie de poulet de chair constitue un danger dont il ne faut pas négliger les conséquences pour la santé publique. En effet pour le consommateur les contre effets de problématique des résidus d'antibiotiques sont multiples: avant tout l'émergence de bactéries pathogènes zoonotiques résistantes, à coté des problèmes sanitaires qu'ils causent (allergies ; foetotoxicité..).

En Algérie, il n'existe aucun programme d'inspection obligatoire pour le foie du poulet de chair car il n'existe aucune loi ou de règlements qui visent à assurer la salubrité alimentaire par rapport aux résidus d'antibiotiques dans ce dernier.

RECOMMANDATIONS

A l'issus de notre étude, pour minimiser les problèmes issus de l'utilisation abusive des antibiotiques dans les élevages avicoles, nous recommandons les mesures suivantes :

- Le contrôle par l'état de la qualité de fabrication des antibiotiques.
- Prescription obligatoires par nos vétérinaires pour tous les antimicrobiens utilisées dans les traitements des maladies du poulet de chair.
- Les vétérinaires doivent sensibiliser et rappeler aux éleveurs que les antibiotiques ne sont pas dénués de risque et que leur utilisation doit se faire de manière raisonnée avec professionnalisme et rigueur.
- Le vétérinaire doit impérativement informer l'éleveur de respecter le délai d'attente du médicament pour éviter tout problème de résidus dans le foie de poulet de chair.
- Arrêt ou élimination de l'emploi des antibiotiques comme facteurs de croissance en l'absence d'évaluation de leur innocuité pour la santé publique.
- Il importe grandement de communiquer aux prés du grand public les risques des résidus d'antibiotiques des denrées alimentaires d'origine animale.
- Promouvoir l'éducation et la formation des éleveurs sur les bonnes pratiques de l'antibiothérapie, et les risques encourus lors des mauvaises pratiques.
- Garantir un niveau élevé de protection des consommateurs par l'adoption de nouvelles stratégies thérapeutiques et des programmes de surveillance des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires.
- Renforcer les capacités analytiques des laboratoires en Algérie, pour le contrôle des résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments.

REFERENCE
BIBLIOGRAPHIQUE

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Abiola. F.A, Diop. M.M, Teko-Agbo. A, Delepine. B, Biauou. F.C, Roudaut. B, Gaudin. V et Sanders. P,** 2005, « Résidus d'antibactériens dans le foie et le gésier de poulets de chair dans les régions de Dakar et de Thiès (Sénégal) », Revue Méd. Vét., 156 (5) 264-268.
2. **Ait-kaci. K,** 2003, « Les résidus d'antibiotiques dans le poulet de chair dans l'est Algérien », mémoire de fin d'étude présenté en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en agronomie,.
3. **Albert. L,** 1977, « Précis de pharmacie chimique usuelle à l'usage des pharmaciens et étudiants en pharmacie », Ed. Techniques et documentation, Paris.
4. **Alamargot. J** 1982, « Manuel d'anatomie et d'autopsie aviaires », Edition : Le point vétérinaire, L'appareil digestif et ses annexes, pages 15-32.
5. **Anonyme 1** 2007, Toulouse-physiologie.envt.fr
6. **Anonyme 2 a** (2005), « Antibiothérapie 1 & 2 », page 2-39.
<http://ifsi.ch-hyeres.fr/IMG/pdf/Antibiotherapie.pdf> (Consulter le 11-12-2007).
7. **Anonyme 3 b** (2006), « Cours de chimie organique, minérale et structurale. Chapitres chromatographies ».
<http://www.ac-nancy-metz.fr/enseign/physique/CHIM/Chromato01/chromato01.html> (Consulter le 06-02-2008)
8. **Anonyme 3 d** (2006), « Cours Pharmacologie DCEM1 », page 307-320. Université Paris-VI. Faculté de médecine Pierre et Marie Curie. <http://www.chups.jussieu.fr/polys/pharmaco/poly/Pharmaco.pdf> (Consulter le 2002-2008).
9. **Anonyme 7** (2006), « Résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires "De l'étable à la table..." », Service de Protection de la Consommation journées scientifique. etat.geneve.ch/des/SilverpeasWebFileServer/reference_4.pdf?ComponentId=kmelia704&SourceFile=1166702119710...4.pdf Date de consultation 30/10/2008
10. **Anonyme 10** (2008) « Limite Maximale de Résidus ». <http://fr.wikipedia.org/wiki/LMR> Date de consultation 30/10/2008
11. **Anonyme 11** (2008), « Recherche des résidus d'antibiotiques dans la viande : De nouvelles méthodes pour de nouveaux besoins »
http://www.dsm.com/nl_NL/downloads/premitest/publicatie9.pdf

12. Anonyme 15 (2008)

<http://ead.univangers.fr/%7Ejaspard/Page2/COURS/6CoursDEUST/CHROMATOGRAPHIE/1Cho>, Date de consultation 30/10/2008.

13. Anonyme 16, <http://Fr.slideshare.net>.

14. Anonyme 17, [www. antibiotiques-info.org](http://www.antibiotiques-info.org).

15. ANSES, 2012. « Les données présentées dans ce service sont issues de la Table de composition nutritionnelle Ciqual 2012 réalisée par l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses). <http://sante.journaldesfemmes.com/calories/foie-de-poulet-cuit/aliment-40116>

16. Audétat M, 2006, « Les antibiotiques dans les élevages : risque ou solution », Travail effectué dans le cadre du cours risques, environnement et société, semestre d'été 2006, Unil.

17. Caude. M et Jardy. A, (2001), « Méthodes chromatographiques : introduction, Technique d'ingénieur », PE 1 445- (1-6).

18. Caude. M et Jardy. A, « Chromatographie en phase liquide : appareillage et applications », Technique d'ingénieur, PE1 456- (1-17).

19. Caude. M et Jardy. A, « Chromatographie en phase liquide : Théorie et méthodes de séparation », Technique d'ingénieur, PE1 455- (1-47).

20. Châtaigner B et Stevens A (2003), « Investigation sur la présence de résidus d'antibiotiques dans les viandes commercialisées a Dakar (Institut Pasteur de Dakar), page 3–7, 51.

http://www.redev.info/Doc/Polagri/III-Pol-Agri-securite-alimentaire/III-3-Devlocal/Enquete_residus_AB_Senegal.pdf (Consulter le 20-11-2007)

21. Cohen Y et Jacquot C. (2001) « Pharmacologie » 5^e édition.

22. Devie . P, Divol .A, Gilbert. G, Laurent. S, Le Goaziou. A, Olivon. M, Petit et J (2006). « Les antibiotiques dans l'alimentation animale », page 1-30.

<http://www.univ-brest.fr/esmisab/sitesc/Prod-Anim/antibio.pdf> (Consulter le 12-122007).

23. DIOP M. M., 2003. « Etude des résidus de médicaments vétérinaires dans les produits aviaires de la zone des Niayes » (Sénégal). Thèse: Méd. Vét., Dakar, n°17.

24. Duval. J et Soussy. C-J (1990) « Antibiothérapie » (4^eme édition), page 3-58.

25. Fabre J.M, Petit C et Bosquet G (2006). « Comprendre et prévenir les risques de résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale ». Edition Lavoisier, p 4.

26. **FAO/OMS, 1990.** « Evaluation des résidus de certains médicaments vétérinaires dans les aliments ». Trente-sixième rapport du comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires. Genève; 76p.
27. **FNOSAD, 2004.** « pharmacologie » 3ème édition, page 127.
28. **Gaudin. V, Fabre. J.M, Rault. A,** « Rapport_Etude_preliminaire », AFSSA, doc.090206, France.
29. **Gaudy. C et Buxeraud. J,** « Antibiotiques (pharmacologie et thérapeutique) ». pp 5-21.
30. **Guillemot. D (2006).** « Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine », page 10-214. (AFSSA Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments).
31. **Gurérin-Faublée. V (2001),** « Principes de l'utilisation des antibiotiques en pratique vétérinaire », page 2-6. <http://www.medspe.com/site/articles/20020320/article3/guerin.pdf> (Consulter le 08-03-2008).
32. **Jaussaud P,** « Cours de pharmacologie de première année de deuxième cycle », Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, 2002.
33. **Jenster G, Van der kor put J.A et Trapman J et Brinkmana.O (1992),** "Functional domains of the human androgen receptor". J. Steroid. Biochem. Mol. Biol., 41, 671-675. Ministère de la Santé.
34. **Kermezli. Y et Tir. M, (1993)** « Etude de la possibilité d'obtention de l'Acide 6 Amino Penicillanique à partir de la pénicilline V Potassique », Mémoire d'ingénieur d'état en chimie industrielle, Centre Universitaire de Médéa.
35. **Klotins . K (2006),** « Utilisation des antibiotiques comme stimulateurs de croissance: controverse et solutions ». <http://www.omafra.gov.on.ca/french/livestock/animalcare/amr/facts/05-042.htm> (Consulter le 12-11-2007).
36. **Korsrud G.O (1998),** "Bacterial inhibition tests used to screen for antimicrobial Veterinary Drug Residues in Slaughtered Animals". Journal of AOAC International 81, 1, 21-24.
37. **Krebber. R, Hoffend. F.J and Ruttman. F,** "Development - Residues, Operator and Consumer Safety", Germany Bayer Crop Science AG , Alfred-Nobel-Str. 50, 40789.
38. **Kunihiro Kishida 2007,** "Quantitation and confirmation of six sulphonamides in meat by liquid chromatography-mass spectrometry with photodiode array detection", Food Control, , 18, 301-305.
39. **Kirkpatrick . D (2002),** « L'utilisation au Canada d'antimicrobiens chez les animaux destinés à l'alimentation: les conséquences pour la résistance et la santé humaine », page17-229.

http://www.hc-sc.gc.ca/dhp-mps/alt_formats/hpfb-dgpsa/pdf/pubs/amrram_final_report-rapport_06-27_f.pdf (Consulter le 07-01-2008).

40. **Laurentie M et Sanders P, (2002)**. « Résidus de médicaments vétérinaires et temps d'attente dans le lait », Bull. Group. Tech. Vét., (15), 197-201.

41. **Lee J.B, 2007** "Development of an analytical protocol for detecting antibiotic résiduels in variou foods", Food Chemistry, 105, 1726–1731.

42. **Maghuin M (2002)**, « Hormones, substances anabolisantes et résidus de traitements vétérinaires en relation avec la sécurité alimentaire In: Sécurité alimentaire du consommateur », 2ème. Ed. TEC & DOC, Lavoisier. p 65-91.

43. **Messai. A (2006)**, « Analyse critique des pratiques de l'antibiothérapie en élevages avicoles », page 5, 26-27. Thèse de magistère département des sciences vétérinaires d'El Khroub, Université de Mentouri Constantine (UMC).

44. **Milhaud. G (1978)**, « L'utilisation rationnelle des médicaments vétérinaires et le temps d'attente », page 177-185. Rec.Méd.Vét., 1978, 154 (2) ,177-185. Ecole vétérinaire d'ALFORT(France).

45. **Muller L.M,** « Méthode de prédiction des aptitudes de croissance des populations de microorganismes ». Thèse de doctorat, Université Claude Bernard-Lyon, 1995.

46. **Paule Neyrat, 2001**, <http://www.e-sante.fr/foie/guide/1567>.

47. **Puyt. J-D, Guérin-Faubleé. V (2006)**, « Médicaments anti-infectieux en médecine vétérinaire. Bases de l'antibiothérapie ». Edition 2006, page 1-27.

48. **Règlement (CEE) No 2377/90, (1990)**. « Procédure communautaire pour la fixation des limites maximales de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale », modifié par le règlement (CE) n°205/2006.JO L34.7.2.2006 p. 21

49. **Reig. M et Toldra. F, (2008)** "Veterinary drug residues in meat: Concerns and rapid methods for detection", Meat Science, , 78 (1-2) 60-67.

50. **Saadoudi M A et Boufassa H, (2012)**, « Enquête sur l'utilisation des antibiotiques en élevage du poulet de chair (Alger, Médéa) », Université Saad dahleb de Blida, département des sciences vétérinaires.

51.**Scippo. M-L (2008)** « Technologie, sécurité et qualité des aliments introduction à la qualité et la sécurité des aliments : aspects chimiques. Contrôle des résidus et des médicaments vétérinaires », page 2-36. Université de Liège, faculté de médecine vétérinaire. <http://www.adaoa.ulg.ac.be/> (Consulter le 19-01-2001).

52. Scippo. M-L, et Maghuin-Rogister. G (2006), « Résidus et contaminants des denrées alimentaires: 25 ans de progrès dans leur analyse ». Méthodes biologiques de dépistage, page 125-129. Ann. Méd. Vét, 2006, 150, 125-130.
53. Siouffi. A.M, Postaire. E et Pradeau. D, (2002), « Chromatographie planaire », Technique d'ingénieur PE1 475- (1-25).
54. Stoltz. R,(2008), « Les résidus d'antibiotiques dans denrées d'origine animale : Evaluation et métrise de ce danger », Thèse de doctorat, Université Claude Bernard, Lyon I,
55. Vladimir. B, (1998), "The Chemistry and Biology of Antibiotics"
56. Wal. J.M. (1979), "Evolution of the concept of residues in the Products of animals raised with the use of antibiotics" , Ann. Nutr. Aliment., 33 (3) 325-341.
57. Webb. C .J et Edwards. D, (1979) , « Les antibiotiques à attaque », Encyclopédie des techniques de point.
58. Yala D, Merad A.S, Mohamedi D et Ouar korich M.N (2001), « Classification et mode d'action des antibiotiques ». Revue Médecine du Maghreb n°9, p5-12.

ANNEXES

Annexes 1

Questionnaire à l'intention des vétérinaires praticiens

Eléments d'identification :

Date : / /

❖ **Wilaya :**.....

❖ **Commune :**.....

➤ **Cher confrère /conscœur :**

- Ce questionnaire a été établi dans le but de collecter des données relatives à l'utilisation des antibiotiques en élevages avicoles.
- Ce questionnaire s'inscrit dans le cadre d'un mémoire de fin d'étude, ayant pour thème : « Recherche des résidus d'antibiotiques dans le foie du poulet de chair »

1)- Quels est l'importance de l'activité avicole dans votre clientèle ?

- Activité principale

-Activité secondaire

2)- Quels types d'affections rencontrez-vous le plus souvent ?

-Respiratoires

-Digestives

-Mixtes

-Autres.....

3)- Comment utilisez-vous des antibiotiques ?

-Rarement

-Dans tous les cas

-Autres.....

4)- Quels types d'antibiotiques utilisez-vous le plus souvent en traitement ?

-Bétalactamines

-Aminosides

-Tétracyclines

-Sulfamides

5)- Respectez-vous les doses d'utilisation ?

-Oui

-Non

-Si non, augmenter-vous les doses 2 à 3 fois plus .

6)- Est-ce que la notion de « délais d'attentes » est connue par vos éleveurs ?

-Oui

-Non

- Aucune idée

7)- Est-ce qu'ils respectent ces délais ?

-Oui

-Non

-Aucune idée

8)- quels sont les pathologies les plus rencontrées dans votre terrain qui nécessitent une antibiothérapie ?

-MRC (Maladies Respiratoires Chroniques)

-Bronchite infectieuse

-Colibacillose

-Coccidiose

-Salmonellose

-Avitaminose

-Pasteurellose

9)- Généralement, qui administre les médicaments ?

- Vous-même

- Eleveur (suivant vos indications d'usage)

10)- Après le début de traitement, gardez-vous toujours un contact avec vos clients ?

-Oui

-Non

11)- Quelle est le taux approximatif d'utilisation des antibiotiques, par rapport aux autres produits
Médicamenteux ?

-Taux :.....%.

12)- Le choix des antibiotiques dépend de :

- Disponibilités

- Prix de vente

-Délai d'attente

-Autres

13)- Pensez-vous que les résidus d'antibiotiques existent dans le foie du poulet de chair aux niveaux
des boucheries ?

-Oui

-Non

-Autre

Annexe 2

Composition et préparation des milieux

1. Milieu Soja agar : milieu non sélectif utilisé pour la culture des bactéries.

1.1. Composition

1.2. Préparation

- Mettre 40g de soja en poudre dans 1 litre d'eau distillée chauffée.
- Distribuer en flacon de 500ml.
- Stériliser dans l'autoclave 121°C pendant 15 min.
- Couler les boîtes de pétri.

2. Milieux à pH fixe

2.1. Composition

2.1.1. Test agar, pH6

- Peptones de caséine, digestion trypsique : 3,45g/l
- Peptone de viande, digestion trypsique : 3,45g/l
- Chlorure de sodium : 5,0g/l
- Agar-agar : 13g/l
- Eau : 1000l

2.1.2. Test agar, pH7.4

- Peptones de caséine, digestion trypsique : 3,45g/l
- Peptone de viande, digestion trypsique : 3,45g/l
- Chlorure de sodium : 5,0g/l
- Trisodium phosphate (12H₂O) : 0,35g/l
- Agar-agar : 13g/l
- Eau : 1000l

2.1.3. Test agar, pH8

- Peptones de caséine, digestion trypsique : 3,45g/l
- Peptone de viande, digestion trypsique : 3,45g/l
- Chlorure de sodium : 5,0g/l
- Trisodium phosphate (12H₂O) : 1,17 g/l
- Agar-agar : 13g/l
- Eau : 1000 l

2.2. Préparation

- Dissoudre toutes les pesées des agents nutritifs dans un volume d'eau distillée nécessaire.
- Bouillir le milieu jusqu'à la dissolution.
- Mettre cette gélose dans un flacon de stérilisation.
- Mettre les flacons dans l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.
- Laisser les flacons refroidir, et les placer ensuite dans l'étuve à (+45°C).

Annexe 3

Préparation des solutions d'antibiotiques témoins

❖ Solution contenant de la pénicilline

Dissoudre 61mg de pénicilline G sodique dans 100ml d'eau distillée en utilisant une fiole jaugée de 100ml. Au moment de l'emploi, diluer cette solution mère au 1 /5000 en effectuant deux dilutions successives, pour avoir une concentration finale égale à 0,2 UI de pénicilline/ml, **la solution mère doit être utilisée le jour même.**

La première au 1/100 ;

La deuxième au 1/50.

❖ Solution contenant du sulfathiazol

Dissoudre 55mg de sulfathiazol dans 5ml de NaOH 0,1N et ajuster à 50ml avec l'eau distillée stérile dans une fiole jaugée.

Pour avoir une concentration de la solution finale égale à 4µg/ml, diluer la solution mère au moment de l'emploi à la 1/25.

La solution mère peut être conservée entre 4C° et 6C° pendant une semaine.

❖ Solution contenant de la streptomycine

Dissoudre 50mg de gentamycine dans l'eau distillée de 50ml dans une fiole jaugée.

Au moment de l'emploi, diluer cette solution mère au 1 /200.

Pour avoir une concentration finale de la solution set de 5µg de streptomycine/ml et la solution mère peut être conservée entre +4°C - +6°C.

❖ Solution contenant de l'érythromycine

Dissoudre 54mg d'érythromycine dans 3ml de méthanol et ajuster à 50ml de l'eau distillée stérile dans une fiole jaugée. Au moment de l'emploi, diluer cette solution mère au 1/4000 on effectuant deux dilutions successives, pour avoir une concentration égale à 0,25µg/ml :

La première au 1/200;

La deuxième au 1/20.

La solution mère peut être conservée pendant deux semaines.