

UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA

Faculté des Sciences Agro – Vétérinaires et Biologiques

Département Des Sciences Vétérinaires

MEMOIRE DE MAGISTER

En Sciences Vétérinaires

Spécialité : Microbiologie médicale vétérinaire

ETUDE DE LA CONTAMINATION DE CERTAINES DENREES ALIMENTAIRES
D'ORIGINE ANIMALE PAR LES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES

Par :

MOKHTAR RAHMANI Mohamed

Devant le jury composé de :

A. BERBER	Maître de conférences, U. De Blida	Président.
A. BOUYOUCHEF	Professeur, U. De Blida	Examineur.
D. GUETARNI	Professeur, U. De Blida	Examineur.
M. OUMOUNA	Maître de conférences, U. De Blida	Examineur.
M. BACHIR PACHA	Maître de conférences, U. De Blida	Promoteur.

Blida, Décembre 2009.

RESUME

L'objectif de ce mémoire était d'étudier la cinétique d'élimination dans les œufs de la poule pondeuse de six antibiotiques utilisés dans le traitement et la prophylaxie des maladies infectieuses de la poule pondeuse en Algérie. Quatre familles d'antibiotiques ont été étudiées, à savoir : les tétracyclines, les macrolides, les bêtalactamines, et les polypeptides. L'élimination des antibiotiques a été étudiée séparément dans les deux constituants de l'œuf ; l'albumen et le vitellus. La méthode utilisée était la méthode de diffusion en gélose, en utilisant deux germes test à savoir : *Micrococcus luteus* ATCC 9341 et *Bacillus subtilis* BGA spores.

Les résultats obtenus montrent qu'il existe une grande différence entre les différents antibiotiques étudiés dans leur transfert dans les œufs, non seulement dans le pourcentage d'élimination mais aussi dans la répartition entre l'albumen et le vitellus. Ces variations sont dues à des facteurs liés à l'antibiotique ; surtout les caractéristiques physico – chimiques, et à des facteurs liés à l'animal ; surtout le mécanisme de formation des constituants de l'œuf.

Les résultats de cette étude apportent une meilleure connaissance sur la cinétique d'élimination des antibiotiques dans les œufs et des informations utiles dans la détermination des délais d'attente. Nous avons proposé des délais d'attente dans les œufs de la poule pondeuse pour les antibiotiques étudiés et selon la posologie utilisée. Ces délais d'attente sont destinés à protéger la santé du consommateur des risques liés à la présence des résidus d'antibiotiques dans les œufs.

Mots Clés : Antibiotique, Résidus, Œuf, Poule, Elimination, Délai d'attente, Voie d'administration, Elevage.

SUMMARY

The object of this paper was to study the kinetics of elimination in eggs of laying hens to six antibiotics used in the treatment and prophylaxis of infectious diseases of laying hens in Algeria. Four families of antibiotics were studied, namely, tetracyclines, macrolides, beta-lactams, and polypeptides. The elimination of antibiotics has been studied separately in the two constituents of the egg; albumen and yolk. The method used was the method of disk diffusion, using two test bacteria namely *Micrococcus luteus* ATCC 9341 and *Bacillus subtilis* BGA spores.

The results obtained show that there is significant difference between different antibiotics studied in their transfer to the eggs not only in the percentage of elimination but also in the distribution between the albumen and yolk. These variations are due to factors related to the antibiotic, especially the physical - chemical and factors related to the animal, especially the formation mechanism of the constituents of the egg.

The results of this study provide a better understanding on the elimination kinetics of antibiotics in eggs and useful information in determining waiting times. We proposed delays in egg laying hens for the antibiotics studied and the dosage used. These delays are designed to protect consumer health risks associated with the presence of antibiotic residues in eggs.

Key Words: Antibiotic, Residue, Egg, Elimination, Withdrawal time, Administration route, Breeding.

الملخص

ان الغرض من هذا البحث هو دراسة حركية الاطراح في البيض لسنة مضادات حيوية المستخدمة في العلاج والوقاية من الأمراض المعدية للدجاج البياض في الجزائر. أربع عائلات من المضادات الحيوية تمت دراستها ، وهي : التتراسكلين ، والماكروليدات ، بيتا لاكتام ، والبوليببتيدات. طرح المضادات الحيوية درست بشكل منفصل في كل من زلال البيض وصفار البيض. الطريقة المستخدمة هي طريقة الانتشار في القرص، وذلك باستخدام نوعين من الجراثيم، وهما *Bacillus subtilis* BGA spores و *Micrococcus luteus* ATCC 9341.

النتائج المحصل عليها تشير إلى أن هناك فرقا كبيرا بين المضادات الحيوية المختلفة المدروسة في انتقالها إلى البيض ، ليس فقط في نسبة الاطراح ، بل أيضا في نسبة التوزع بين البياض والصفار. هذه الاختلافات هي نتيجة لعوامل تتصل بالمضادات الحيوية، وخاصة المميزات الفيزيائية -- الكيميائية وعوامل متصلة بالحيوان، وخاصة آلية تشكيل مكونات البياض.

من نتائج هذه الدراسة توفير فهم أفضل لحركية اطراح المضادات الحيوية في البيض ، ومعلومات مفيدة في تحديد أوقات الانتظار. اقترحنا أوقات الانتظار لاستهلاك بيض الدجاج للمضادات الحيوية المدروسة حسب طرق استخدام الدواء. هذه الأوقات مصممة لحماية المستهلكين من المخاطر الصحية المرتبطة بوجود بقايا المضادات الحيوية في البيض.

الكلمات الدالة: مضاد حيوي، بقايا المضادات، بيض، اطراح، وقت الانتظار، طرق التناول، تربية الدجاج.

REMERCIEMENTS

Mes sincères remerciements s'adressent à mon promoteur monsieur BACHIR PACHA Mohamed, maître de conférences à l'université SAAD DAHLAB DE BLIDA, à qui j'exprime ma gratitude, pour m'avoir accordé sa confiance et m'avoir suivi et dirigé pendant toute la période de réalisation de mon présent mémoire de magister.

A monsieur A. BERBER, maître de conférences a la faculté agro - vétérinaire et biologique, chef du département des sciences vétérinaires, qui nous a accordée le grand honneur de présider notre jury de mémoire.

Hommages respectueux

A monsieur A. BOUYOUCEF, professeur à la faculté agro – vétérinaire et biologique, chef d’option de microbiologie au département des sciences vétérinaires, qui nous a fait le grand honneur de bien vouloir participer à notre jury de mémoire de magister

Hommages respectueux

A monsieur D. GUETARNI, professeur à la faculté agro – vétérinaire et biologique, département de biologie de Blida. Nous lui sommes très reconnaissants d’avoir bien voulu prendre en considération notre mémoire de magister et le remercions d’avoir accepté de juger notre travail

Hommages respectueux

A monsieur M. OUMOUNA, maître de conférences à la faculté Agro – vétérinaire et biologique de Blida, qui nous a fait le grand honneur de bien vouloir participer à notre jury de mémoire de magister.

Tous nos remerciements

A mon père et à ma mère,

Toute mon affection et toute ma reconnaissance pour les sacrifices et l'attention qu'ils ont portés à leurs enfants.

A ma femme

En témoignage de mon amour,

A mon frère Mokhtar et à mes sœurs ; Dalila et Zahia

A mes beaux parents ;

A toute ma famille ;

A tous mes amis et confrères ;

Les travaux présentés dans ce mémoire de magister ont été réalisés au laboratoire vétérinaire régional de DRAA BEN KHEDDA, pour cela je remercie le Dr DJERBAL Mouloud, directeur, pour m'avoir accueilli ainsi que le chef de service de bactériologie alimentaire Melle MALKI Ouiza.

Je souhaite également remercier tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail, le responsable des moyens généraux (Mr. OUBAKOUK Nafaa), les techniciens (Mr BALLOUL, Mr BELHADJ,...etc., animalerie (Mr BOUDELLAL Boualem), et Melle AMRANE Ghania, stagiaire au niveau du laboratoire, pour leur précieuse aide à la réalisation de ces travaux.

TABLES DES MATIERES

RESUME	
REMERCIEMENT	
TABLE DES MATIERES	
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	
INTRODUCTION	
Chapitre 1. L'AVICULTURE EN ALGERIE	15
Chapitre 2. GENERALITES SUR L'ŒUF	17
2.1. Structure de l'œuf	17
2.2. Anatomie de l'appareil reproducteur chez la poule pondeuse	22
2.3. Physiologie ovarienne et formation de l'œuf	27
Chapitre 3. ANTIBIOTHERAPIE EN ELEVAGE DE VOLAILLE	35
3.1. Particularités physiologiques des volailles	35
3.2. Considérations pharmacocinétiques	37
3.3. Les antibiotiques utilisés en aviculture	40
Chapitre 4. LES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES	45
4.1. Origine des résidus d'antibiotiques	45
4.2. Facteurs influençant la présence des résidus	46
4.3. Traitement des résidus d'antibiotiques	46
4.4. Prévalence des résidus d'antibiotiques dans le monde	49
4.5. Conséquences de la présence des antibiotiques dans les denrées alimentaires	52
4.6. Fixation des limites maximales des résidus et des délais d'attente	59
Chapitre 5. RECHERCHE EXPERIMENTALE	63
5.1. Objectif des travaux	63
5.2. Conditions d'élevage des poules pondeuses	63
5.3. Traitement	63
5.4. Analyse	68
Chapitre 6. RESULTATS ET DISCUSSION	80
6.1. Le Contrôle.	80
6.2. Oxytétracycline	81
6.3. Erythromycine	92
6.4. Tylosine	98
6.5. Colistine	102
6.6. Ampicilline	110
6.7. Tétracycline	114
6.8. Synthèse	119
CONCLUSION	125
APEENDICES	128
REFERENCES	134

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 1: Evolution des produits d'élevage en Algérie de 1990 à 1999	16
Figure 2: Structure interne de l'œuf.	17
Figure 3: Cinétique et lieu de formation de l'œuf chez la poule pondeuse.	25
Figure 5: Courbe étalon de l'oxytétracycline dans l'albumen	74
Figure 6 : Courbe étalon de l'Oxytétracycline dans le vitellus	74
Figure 7 : Courbe étalon de l'Erythromycine dans l'albumen.	75
Figure 8 : Courbe étalon de l'Erythromycine dans le vitellus	75
Figure 9 : Courbe étalon de l'Ampicilline dans l'albumen.	76
Figure 10 : Courbe étalon de l'Ampicilline dans le vitellus.	76
Figure 11 : Courbe étalon de la colistine dans l'albumen.	77
Figure 12 : Courbe étalon de la colistine dans le vitellus.	77
Figure 13 : Courbe étalon de la Tylosine dans l'albumen.	78
Figure 14 : Courbe étalon de la Tylosine dans le vitellus.	78
Figure 15 : Courbe étalon de la tétracycline dans l'albumen.	79
Figure 16 : Courbe étalon de la tétracycline dans le vitellus.	79
Figure 17: Evolution de la concentration en oxytétracycline ($\mu\text{g/g}$) dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier pendant et après l'arrêt d'un traitement par voie orale : 100mg/kg de poids vif pendant 5 jours	86
Figure 18 : Evolution de la concentration en oxytétracycline ($\mu\text{g/g}$) dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier pendant et après un traitement de 30 mg/g pendant 3 jours par voie intramusculaire.	90
Figure 19 : Evolution de la concentration en érythromycine ($\mu\text{g/g}$) dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier pendant et après un traitement par voie orale de 30 mg/kg pendant 5 jours.	96
Figure 20: Evolution de la concentration en tylosine ($\mu\text{g/g}$) dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier pendant et après un traitement de 0,5 g/l par voie orale pendant 5 jours.	101
Figure 21: Evolution de la concentration en colistine (UI/g) dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier après une seule injection de 50000 UI/g dans le muscle pectorale.	108
Figure 22 : Evolution de la concentration en ampicilline ($\mu\text{g/g}$) dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier pendant et après un traitement administré par voie orale de 1,5 g/l pendant 5 jours.	113
Figure 23: Evolution de la concentration en tétracycline ($\mu\text{g/g}$) dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier pendant et après un traitement administré par voie orale de 50 mg/kg pendant 5 jours.	118
Tableau 1 : Principaux constituants de l'œuf ; compositions moyenne	22
Tableau 2: Antibiotiques sélectionnés parmi les antibiotiques utilisés en aviculture	43
Tableau 3: Caractéristiques des antibiotiques sélectionnés.	44

Tableau 4 : Les limites maximales de résidus des antibiotiques sélectionnés en accord avec le rapport de la <i>Commission du Codex Alimentarius</i> .	60
Tableau 5: Distributions des antibiotiques par lots de poules et calendrier des essais	66
Tableau 6: Posologie d'antibiotiques administrés aux poules pondeuses	67
Tableau 7 : Valeurs du pH de l'albumen et du vitellus après dilution dans un tampon phosphate	68
Tableau 8: Conditions des méthodes de dosages des antibiotiques.	70
Tableau 9: Diamètre des zones d'inhibition (mm) pendant et après un traitement de l'Oxytétracycline à la dose de 100 mg/Kg par voie orale.	84
Tableau 10 : Résidus de l'oxytétracycline ($\mu\text{g/g}$) dans l'albumen et le vitellus durant et après un traitement par voie orale : 100mg/kg pendant 5 jours	85
Tableau 11: Diamètres des zones d'inhibition (mm) pendant et après un traitement de 30 mg/kg d'oxytétracycline par voie IM.	88
Tableau 12: Résidus de l'oxytétracycline ($\mu\text{g/g}$) dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier pendant et après un traitement de 30 mg/kg par voie intramusculaire	89
Tableau 13 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) pendant et après un traitement de 20 mg/kg d'érythromycine par voie orale pendant 5 jours.	94
Tableau 14: Résidus de l'érythromycine ($\mu\text{g/g}$) dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier pendant et après un traitement par voie orale de 20 mg/kg pendant 5 jours.	95
Tableau 15: Diamètres des zones d'inhibition (mm) pendant et après un traitement de 0,5 g/l de Tylosine par voie orale.	99
Tableau 16 : Résidus de la Tylosine ($\mu\text{g/g}$) dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier pendant et après un traitement par voie orale de 0,5 g/l pendant 5 jours.	100
Tableau 17: Diamètres des zones d'inhibition (mm) pendant et après un traitement par voie orale de 75000 UI/kg de la colistine.	103
Tableau 18: Résidus de la colistine (UI/g) dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier pendant et après un traitement de 75000 UI/kg par voie orale pendant 5 jours.	104
Tableau 19: Diamètres des zones d'inhibition (mm) après administration de 50 000 UI/kg de la colistine par voie intramusculaire.	106
Tableau 20: Résidus de la colistine (UI/g) dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier, après administration par voie intramusculaire de 50000 UI/kg en une seule injection.	107
Tableau 21: Diamètres des zones d'inhibition (mm) pendant et après un traitement de 1,5 g/l de l'ampicilline par voie orale.	111
Tableau 22: Résidus de l'ampicilline ($\mu\text{g/g}$) dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier, pendant et après un traitement de 1,5g/l par voie orale pendant 5 jours.	112
Tableau 23: Diamètres des zones d'inhibition (mm) pendant et après un traitement de 50 mg/kg de tétracycline par voie orale pendant 5 jours.	116

Tableau 24: Résidus des tétracyclines ($\mu\text{g/g}$) dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier pendant et après un traitement administré par voie orale de 50 mg/kg pendant 5 jours.	117
Tableau 25: Pourcentage d'élimination des antibiotiques dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier, et leurs répartitions	120
Tableau 26: Durée d'élimination des antibiotiques dans l'albumen, le vitellus, et l'œuf entier	121
Tableau 27: Concentrations maximales obtenues dans l'albumen et le vitellus et rapports de concentration	124
Tableau 28: Délais d'attente proposés.	126

INTRODUCTION

La gravité de certaines affections d'origine microbienne et la surinfection à composante microbienne justifie pleinement le large emploi de l'antibiothérapie chez la poule pondeuse.

Les conditions de l'élevage industriel et la concentration des animaux provoque un microbisme élevé et une virulence accrue des microorganismes et aggrave l'épidémiologie. L'antibiothérapie, par ailleurs présente deux inconvénients majeurs : la création des souches bactériennes antibiorésistantes chez la poule pondeuse et la possibilité de contamination de l'œuf par les résidus dont les répercussions sur la santé de l'homme peuvent être préoccupantes, soit en raison de phénomènes de toxicité des antibiotiques, soit en raison des risques de sélection des germes antibiorésistants.

Les organisations internationales, pour faire face à ce problème, ont établi des normes définissant les limites maximales des résidus tolérées dans les denrées alimentaires d'origine animale. Certains pays en voie de développement ont commencé à définir les limites maximales des résidus dans certains aliments (viande, lait,...). La législation Algérienne est pauvre en matière de réglementation concernant le problème des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale.

Les ministères de la santé publique et de l'agriculture, au vu d'absence de réglementation à ce sujet et des risques éventuels se doivent de nous exiger que soient établis les tolérances et les temps d'attente à respecter pour les

médicaments vétérinaires pouvant affecter la chair des animaux et les produits issus de ces derniers.

Cette étude a pour objectif d'avoir une vue générale sur le processus d'élimination des antibiotiques par l'œuf, leur vitesse d'élimination et la sélectivité du transfert vers le vitellus ou l'albumen afin d'en déduire une politique réglementaire pour garantir la sécurité alimentaire du consommateur.

CHAPITRE 1

L'AVICULTURE EN ALGERIE

L'Algérie était un pays importateur d'œufs de consommation et de viande blanche durant les années 1980. Le développement réel de la production locale a débuté en 1982, juste après la restructuration de l'entreprise mère, à l'époque l'Office national des aliments du bétail (O.N.A.B).

Des bâtiments modernes avec équipements sophistiqués ont été installés. Fort de ces moyens, le secteur public a commencé à mettre à la disposition des éleveurs privés les moyens de production, pour ne pas dire les produits avicoles de base, poussins de chair pour la production de viande blanche, œufs à couver pour la production de poussins de chair, poulettes démarrées pour la production d'œufs de consommation. Le secteur privé s'est vite développé grâce à l'aide de l'état qui a dégagé un crédit pour la construction de bâtiments et leurs équipements en batteries. Tous ces avantages ont permis un développement rapide de la production nationale malgré la rude concurrence de l'importation à l'époque.

Œufs et ovoproduits :

L'œuf est un élément de base pour de nombreuses populations à travers le monde, auxquelles il apporte une des sources essentielles de protéines animales. L'importation de l'œuf de consommation était de l'ordre de 3 milliards d'œufs par an en moyenne (période de 1980 à 1991). Entre 1980 et 1990, le secteur avicole industriel a subi un développement très important qui a multiplié par trois la production en viande blanche et par neuf la production d'œufs. En 1989, des performances ont été atteintes en consommation d'œufs : 125 unités par an et par habitant. En 1992, l'importation de l'œuf de consommation s'est arrêtée

totalemment. En 1993, la production nationale couvrait largement les besoins du pays.

Les ovoproduits, une nouvelle façon de consommer les œufs, qui répond aux exigences de la consommation d'aujourd'hui, rapidité, efficacité, commodité, hygiène. Les ovoproduits font passer l'œuf de l'état coquille à l'état transformé, selon des normes très strictes d'hygiène et de sécurité. Ils sont obtenus à partir de l'œuf entier, de ses différents composants ou de leur mélange, après élimination de la coquille et des membranes et peuvent être partiellement complétés par d'autres denrées alimentaires. Les ovoproduits disponibles sur le marché sont : l'œuf entier, le blanc, et le jaune. Ils sont sous forme : liquide, concentrée, séchée, cristallisée, congelée, surgelée ou coagulée. Les ovoproduits s'adressent pour le moment aux spécialistes de la pâtisserie, de la restauration ou aux industriels de l'agroalimentaire. A côté, se développent des produits plus élaborés valorisant certains composants de l'œuf tels que la lécithine du jaune utilisée pour ses propriétés émulsifiantes et le lysozyme de l'albumen utilisé par les industries agro-alimentaires et la pharmacie.

PRODUITS DE L'ELEVAGE

	1990	1995	1999
PRODUITS	PRODUCTION	PRODUCTION	PRODUCTION
Viandes rouges	445 000	2 996 000	3 100 000
Viandes blanches	2 110 000	1 900 000	2 000 000
Lait (HL)	11 000 000	10 500 000	15 600 000
Œufs 106 unités	2 780	2 640	2 400
Miel	5 000	18 000	18 000
Laine	194 420	210 000	230 000

(source : Ministère de l'Agriculture-2000-" l'Agriculture par les chiffres")

Figure 1: Evolution des produits d'élevage en Algerie de 1990 à 1999 [1]

CHAPITRE 2

GENERALITES SUR L'ŒUF

2.1. Structure de l'œuf

L'œuf est composé de l'intérieur à l'extérieur : jaune ou vitellus, le blanc ou albumen, les coquillères et la coquille.

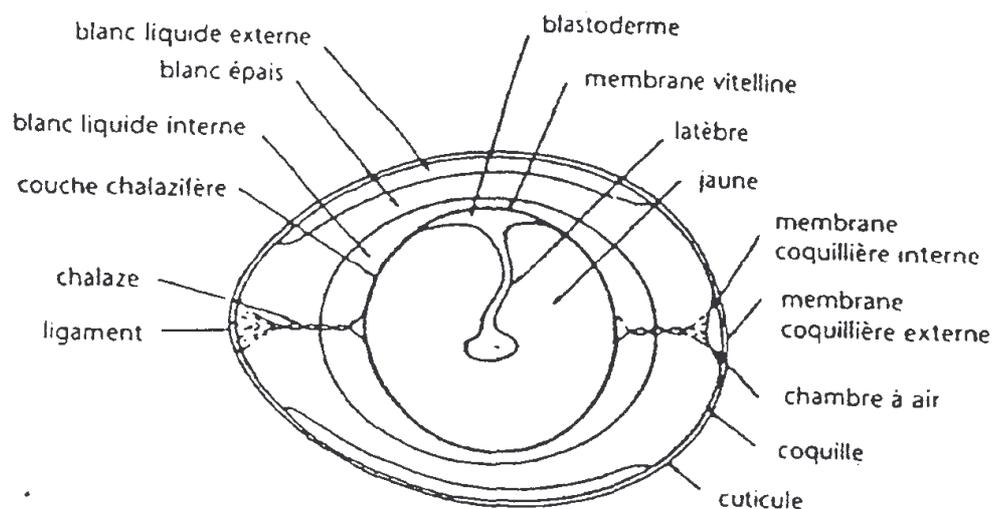


Figure 2: Structure interne de l'œuf (D'après Sauveur, 1988).

2.1.1. Structure interne de l'œuf :

- Le vitellus est contenu à l'intérieur d'une très fine membrane acellulaire transparente appelée membrane vitelline ; composée de quatre couches

superposée dont deux couches d'origine ovarienne (zona radiata et couche péri-vitelline) et deux couches ajoutées après l'ovulation. A la surface du vitellus se trouve un disque clair (blasto – disque) ; lieu de division des cellules embryonnaires (lors de la fécondation).

- L'albumen est composé de quatre zones :
 - Blanc liquide externe (23% du albumen total) situé au contact des membranes coquillières ; c'est la zone qui s'étale rapidement lorsque un œuf est cassé sur une surface plane.
 - Blanc épais (57% de l'albumen total) : attaché aux deux pôles de l'œuf.
 - Blanc liquide interne (17% de l'albumen total) : il est enfermé entre le vitellus et le blanc épais.
 - Chalazes (3% du albumen total) : ce sont des filaments spirales reliant le vitellus aux deux extrémités de l'œuf ; ils jouent le rôle de suspension.
- Les membranes coquillières ont une épaisseur de 70µm, dont 20µm pour la membrane interne et 50µm pour la membrane externe.
- La coquille : elle est constituée d'une trame protéique dont laquelle se développe les cristaux de carbonate du calcium.

La trame protéique est constituée de :

- Couche mamellaire : c'est une juxtaposition de protubérance conique (mamelon) ; dont la pointe est constituée de fibres très entremêlées avec celles de la membrane coquillière externe. Au centre de chaque mamelon un nodule protéique bien individualisé (noyau mamellaire) est le point sur lequel débute la calcification.
- Couche spongieuse : elle est constituée disposée parallèlement à la surface de l'œuf.

La partie minérale est divisée en :

- Capuchon basale des cristaux : accroché sur le noyau protéique mamellaire par une association de type « bouton-pression ».
- Couche des cônes cristallins : correspond à la couche mamellaire organique.

- Couche palissadique : zone de développement linéaire des cristaux représentant deux tiers de l'épaisseur total, elle est couverte d'une fine couche amorphe renfermant notamment le phosphate tricalcique.

La coquille est traversée par de nombreux pores qui permettent les échanges gazeux entre l'embryon et l'extérieur.

2.1.2. Composition de l'œuf :

2.1.2.1. Composition de la coquille :

- ✓ Eau : 1.6%.
- ✓ Protéine (trame) : 3.3%
- ✓ Calcium : 37.3%.
- ✓ Magnésium : 0.8%.
- ✓ Carbonate : 58%.
- ✓ Phosphate tricalcique : 0.8%.

2.1.2.2. Composition de l'albumen :

L'albumen est composé en quasi-totalité d'eau et de protéines, avec quelques minéraux et du glucose libre.

Les principales protéines :

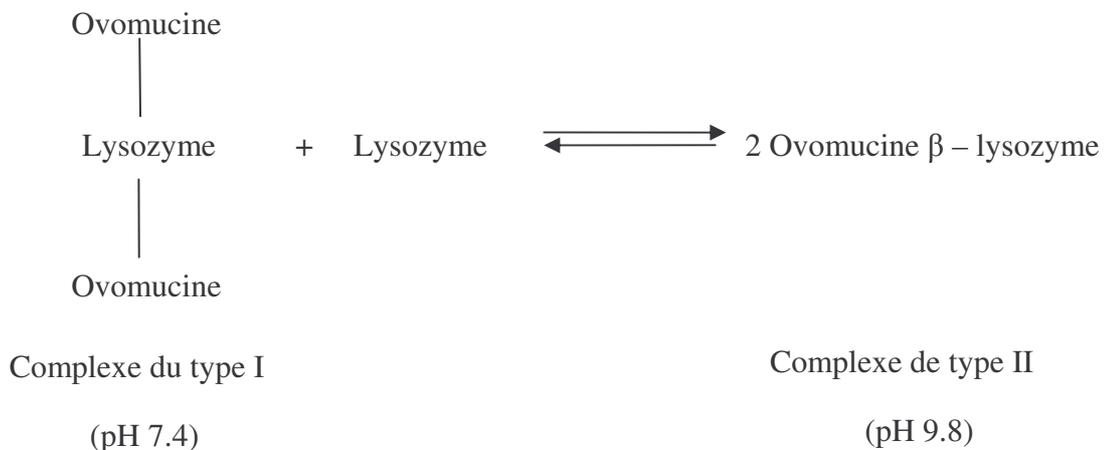
- Les ovalbumines : sont dénaturés par la chaleur et acquièrent une forte rigidité lors du chauffage (coagulation).
- Les globulines et les lysozymes : permettent la formation de mousse après battage (blanc monté en neige) alors que l'ovomucine participe à la stabilité de ces mousses.
- Le lysozyme et l'ovomucine sont responsables de la structure du blanc épais.
- Les conalbumines fixent le fer et les flavoprotéines.
- L'avidine : anti-biotine à l'état cru.
- Les ovomucoïdes : inhibiteurs de la trypsine.

Toutes ces protéines sont des glycoprotéines acides à l'exception de l'avidine : glycoprotéine basique et le lysozyme : holoprotéine basique.

Deux protéines sont impliquées dans les problèmes de qualité de l'œuf :

- L'ovomucine : glycoprotéine acide constitué de deux sous unités α et β . La sous unité β est riche en résidus glucidiques notamment l'acide sialique. L'ovomucine est insoluble en solution diluée et peut donc être séparée du blanc d'œuf par simple dilution. Elle est la seule protéine capable de former le gel (présent 10 fois supérieur dans le blanc épais que dans le blanc liquide).
- Le lysozyme : ou β -glucosamidase, il a un rôle de structure (relation avec l'ovomucine par des liaisons électrostatiques) connu pour son action hydrolysant des parois bactériennes (rôle antibiotiques), il est de nature basique et sensible au pH alcalin in vitro.

Au moment de la ponte, l'albumen renferme du gaz carbonique dissous (4-5mg) et CO_2 dit « combinée » sous forme de bicarbonate (100 mg environ), dans les jours qui suivent, ce CO_2 se dégage suivant la température ; plus la température augmente, et plus la solubilité du CO_2 dans l'albumen est faible et plus la perte du CO_2 est rapide. Cette perte provoque une augmentation du pH de l'albumen : de 7.4 à 9.2-9.5 en 3 à 6 jours en fonction de la température. La conséquence la plus connue de cette élévation du pH est la liquéfaction de l'albumen. Plusieurs hypothèses ont été émises pour expliquer cette liquéfaction. Maintenant, il est bien établi qu'il s'agit d'une modification des interactions électrostatiques entre l'ovomucine et le lysozyme.



Le complexe du type I, formateur de gel, est composé d'une molécule de lysozyme et de deux molécules d'ovomucine. Lorsque le pH s'élève, du lysozyme

en excès réagit avec le complexe précédent et en forme un nouveau (équimolaire) ne possédant plus les propriétés de former un gel : l'ovomucine β passe alors dans la phase soluble. Le fait que des cations (Ca^{+2} , Mg^{+2}) passent de l'albumen vers le vitellus au cours du stockage de l'œuf ne fait qu'accélérer ce processus, puisqu'ils tendent sans doute à s'opposer à la formation du complexe soluble de type II.

2.1.2.3. Composition du vitellus :

Les constituants du vitellus peuvent être séparés en 3 fractions par centrifugation :

- Une fraction lipoprotéique de basse densité (lipovitellines) renferme 90% de lipides dont la majorité sont des glycérides (représente deux tiers de la matière sèche du vitellus).
- Fraction de plus haute densité sédimentaire sous forme de granules, représente 23% de la matière sèche totale. Elle contient toute la phosvitines ainsi que les lipovitellines (lipoprotéine). Celle – ci renferme 18% de lipides repartis à peu près également entre triglycérides et phospholipides.
- Fraction de protéines solubles contenant les livétines et quelques traces d'autres protéines sériques.

Tableau 1 : Principaux constituants de l'œuf ; composition moyenne [2]

	Vitellus	Albumen
Eau (%)	46,5 – 49	87 – 89
pH	6,0 – 6,8	7,6 – 9,4
Protéines (%)	17,4 Vitelline (4 – 15) Phosvitines (5 – 6) Livétines (4 – 10) Vitellénine (8 – 9)	9,5 – 11,5 Ovalbumine (54) Ovotransferrine Ovomucoïdes (11) Ovoglobuline (8) Ovomucine (1,5) Lysozyme (3,5) Flavoprotéines (0,8) Avidine (0,05)
Lipides (%)	33 – 34 Triglycérides (65-70) Phospholipides (25-30) Cholestérol (5)	0,03
Glucides (%)	0,15 – 0,25 (principalement glucose)	0,4 – 0,5 (principalement glucose)
Minéraux (%)	1,1	0,5
Autres	Pigments caroténoïdes : Xanthophylles Carotènes	
Calories	380 – 400	40 – 55

2.2. Anatomie de l'appareil reproducteur chez la poule pondeuse :

La formation de l'œuf fait appel à deux structures anatomiques différentes (ovaire pour le vitellus et oviducte pour l'albumen et la coquille). L'ovulation permettant précisément le passage d'une structure à l'autre. Il existe deux gonades dans les premiers stades embryonnaires mais l'ovaire et l'oviducte gauche se développent beaucoup plus et plus rapidement que l'ovaire et l'oviducte droits. Chez la majorité des oiseaux adultes, seuls les structures gauches sont fonctionnelles, l'ovaire et l'oviducte droits sont vestigiaux. Il s'agit d'un appareil dit « impair » parce que seul l'ovaire et l'oviducte gauche existent chez l'adulte.

2.2.1. Ovaire :

2.2.1.1. Situation :

L'ovaire adulte se situe dans la partie supérieure de la cavité abdominale sous l'aorte et la veine cave postérieure et enveloppe les glandes surrénales droite et gauche. Dorsalement et caudalement, l'ovaire a une zone de contact étendue avec la portion crâniale du rein gauche et chevauche la division crâniale du rein droit.

Crânialement, il est en rapport avec la partie caudale du poumon gauche.

Latéralement, il est entouré par le sac aérien abdominal gauche. Ventralement, il est en relation avec le ventricule. L'ensemble étant suspendu à la paroi dorsale par un repli du péritoine contenant les vaisseaux sanguins, les nerfs et les muscles du soutien [2]. L'irrigation artérielle de l'ovaire est variable, elle dérive le plus souvent de l'artère rénale antérieure. Il existe deux veines ovariennes qui rejoignent la veine cave supérieure. L'innervation est très développée spécialement en direction des follicules.

2.2.1.2. Structure :

Chez la poulette, l'ovaire est constitué d'une partie centrale ou medulla et d'une couverture ou cortex, chez la poule cette différenciation n'est pas possible ; l'ovaire a l'aspect d'un amas cellulaire dont certaines contiennent des ookystes (zone parenchymateuse) et d'autres surtout du tissu médullaire et des vaisseaux (zone vasculaire). On dit que l'ovaire a l'aspect d'une grappe du fait de la présence de 4 – 5 gros follicules contenant chacun un vitellus en phase d'accroissement rapide. A côté de ceux – ci se trouvent de très nombreux petits follicules (plus de 1000 visible à l'œil nu), ainsi que 1 ou 2 follicules vides (en stade post ovulatoire) qui dégénèrent rapidement.

Les follicules sont composés de l'intérieur vers l'extérieur de :

- Une couche péri – vitelline acellulaire sécrétée par la granulosa.
- Une couche mono cellulaire : la granulosa.
- Une couche dite basale.

- Deux thèques ; interne et externe renferment des cellules interstitielles.
- Un épithélium superficiel.

Chaque follicule est rattaché à l'ovaire par un pédicule par lequel pénètrent 2 – 4 artères sanguines. Celles-ci se répondant dans la thèque externe et se divise en artérioles qui, à travers la thèque interne, viennent former un réseau capillaire dense autour de la couche basale. Le système veineux, quant à lui, prend naissance à plusieurs niveaux dont le plus profond se situe dans la thèque interne. Des fibres nerveuses suivent le même trajet que celui des artérioles. Le réseau capillaire est très peu dense au niveau du stigma (ligne de déhiscence folliculaire). Cette disposition permet que l'ovulation n'entraîne en principe pas d'hémorragie, cependant le vitellus porte une «tache de sang».

2.2.2. Oviducte :

2.2.2.1. Situation :

L'oviducte se présente comme un tube étroit de couleur rose pâle s'étendant de la région de l'ovaire au cloaque, il occupe complètement le quart dorsal gauche de la cavité abdominale. Sa longueur totale est voisine de 70 cm et son poids à vide est proche de 40 g. Il est suspendu le long de la surface ventrale du rein gauche et la paroi abdominale dorsale par un repli du péritoine divisé en deux ligaments qui renferment des fibres musculaires lisses : le mésoviducte. L'oviducte est limité dorsalement par la surface ventrale du rein gauche et souvent du rein droit, la paroi dorsale du corps, latéralement par la paroi corporelle latérale gauche, ventralement du côté droit par les intestins en général et les cæcas en particulier, ventralement du côté gauche par la surface dorsale du ventricule et la rate. Le sac aérien abdominal gauche s'interpose entre l'oviducte d'une part, la paroi corporelle gauche et le ventricule d'autre part.

L'irrigation artérielle de l'oviducte se fait à 4 niveaux (ou 5 niveaux) à partir du système artériel général. L'innervation de la partie distale est particulièrement développée : elle joue un rôle essentiel dans la progression de l'œuf en formation et l'oviposition mais elle n'a aucun rôle dans le contrôle des sécrétions [2].

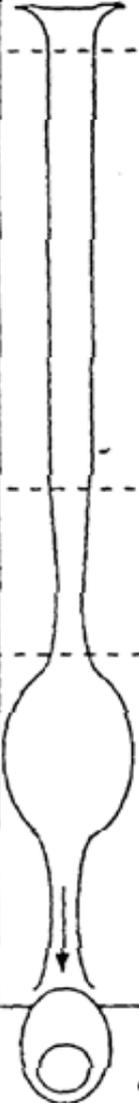
REPERES ANATOMIQUES		FONCTIONS		TEMPS	
OVAIRE	dimension (cm)	Follicules	 Elaboration des gamètes femelles Dépôt du jaune	150 j	
	7			10 j	
			 OVULATION		
OVIDUCTE	9	Infundibulum		20 mn	
	33	Magnum		Dépôt du blanc	3h30
	10	Isthme		Dépôt des membranes coquillières	1h15
	10	Utérus		Dépôt de la coquille	21h
	10	Vagin		Expulsion de l'oeuf (Oviposition)	
		Cloaque	 Oeuf achevé		

Figure 3: Cinétique et lieu de formation de l'oeuf chez la poule pondeuse [2].

2.2.2.2. Structure :

L'oviducte peut être divisé en 5 zones faciles à distinguer, qui sont dans le sens antéropostérieur :

- l'infundibulum ou pavillon, c'est une zone très fine non rattachée à l'ovaire. Le pavillon a une forme d'entonnoir et ne présente pas de replis de la muqueuse interne.
- Le magnum : c'est la partie la plus longue de l'oviducte. Sa paroi est très extensible, et présente sur sa face interne des plis très importants dont l'épaisseur peut atteindre 5 mm. C'est la zone la plus riche en cellules et glandes sécrétrices de tous types. Le magnum est nettement séparé de la zone suivante par une étroite bande translucide ne contenant pas des glandes ni des replis internes.
- L'isthme : il présente un léger rétrécissement du diamètre par rapport au magnum. Ses replis de la muqueuse interne sont moins accentués que ceux du magnum, ses quatre dernières centimètres, constituant l'isthme rouge, sont richement vascularisés.
- L'utérus ou glande coquillière : il se distingue nettement des segments précédents par sa forme de poche et l'épaisseur de sa paroi musculaire. Ses replis internes sont continus que ceux des segments antérieurs car interrompu par des protubérances transverses, l'ensemble formant un relief extrêmement complexe.
- Le vagin : c'est une partie étroite et musculaire. Il est séparé de l'utérus par un resserrement appelé jonction utéro – vaginale qui joue le rôle de progression et conservation envers les spermatozoïdes. Sa paroi interne comporte des replis longitudinaux mais pas de glandes sécrétrices. Il débouche dans la moitié gauche du cloaque.

La paroi de l'oviducte est composée d'une superposition de sept couches qui sont de l'intérieur à l'extérieur :

- L'épithélium sécrétoire, avec deux types principaux de cellules : ciliées et caliciformes.
- Une couche dite lamina propria renfermant les glandes tubulaires pluricellulaires.
- Une couche conjonctive interne.
- Une couche conjonctive externe.
- Une couche de fibres musculaires longitudinales.
- Une séreuse (péritoine).

Les cellules caliciformes et les glandes tubulaires assurent à chaque niveau la synthèse et la sécrétion de composés protéiques spécifiques (protéines de l'albumen, des fibres des membranes coquillères, trame protéique de la coquille et la cuticule). Les cellules ciliées interviennent probablement dans la remontée des spermatozoïdes

A la base de l'infundibulum et surtout au niveau de la jonction utéro – vaginale, des invaginations particulières de la muqueuse constituent des « nids spermatiques » où sont stockés les spermatozoïdes. Il s'agit de glandes tubulaires non branchées d'une longueur comprise entre 0,25 et 0,5 mm, leur paroi est composée d'une couche unique de cellules non ciliées mais présentant, en dehors du col, des microvillosités en contact avec les spermatozoïdes.

2.3. Physiologie ovarienne et formation de l'œuf :

2.3.1. Rappel sur les hormones intervenant dans la reproduction chez la poule :

- Hormones gonadotropes : l'hypophyse antérieure est strictement indispensable au développement et au maintien en activité de l'ovaire. Il existe trois hormones gonadotropes hypophysaires chez les oiseaux comme chez les mammifères :
 - ✓ La F.S.H. : elle régule essentiellement la croissance folliculaire et leur activité sécrétrice.
 - ✓ La L.H. : elle est responsable également du développement de l'ovaire, de la sécrétion par celui – ci d'hormones stéroïdiennes et surtout l'ovulation.

- ✓ La prolactine : elle intervient dans les phénomènes de couaison et dans certains métabolismes (eau).
- Stéroïdes ovariennes : sous le contrôle des hormones gonadotropes, l'ovaire des oiseaux secrète les trois principales familles de stéroïdes sexuels : œstrogènes, androgènes et progestérones.
 - ✓ Les œstrogènes : leurs synthèse est assurée par les 2^{èmes} et le 3^{ème} plus gros follicule, la capacité de synthèse d'œstrogène du plus gros follicule disparaît presque totalement la veille de son ovulation, la synthèse stéroïdienne s'oriente alors vers celle de la progestérone. Les œstrogènes participent au contrôle de tous les stades de la formation de l'œuf : la croissance dans l'oviducte, la synthèse des protéines, le comportement de l'oviposition, et l'écartement des os pelviens.
 - ✓ Les androgènes : ils ont comme origine la thèque et les cellules interstitielles du stroma ovarien. Ils agissent en stimulant la croissance de la crête et de tous les caractères sexuels secondaires, et en synergie avec les œstrogènes ; le développement de l'oviducte et de l'os mandibulaire. Leur sécrétion est également importante lors de la mue.
 - ✓ Les progestérones : ils proviennent pour la plus grande partie de la granulosa du follicule pré – ovulatoire et à un moindre degré du post – ovulatoire. Elle contrôle les activités cellulaires impliquées dans la croissance de l'oviducte et la synthèse de certaines protéines de l'albumen (en synergie avec les œstrogènes). Elle contrôle aussi les rythmes d'ovulation et d'oviposition en agissant sur la libération du L.H par l'hypothalamus, sur les contractions de l'utérus avant l'oviposition et sur le comportement de l'oviposition.

2.3.2. Formation du vitellus d'œuf :

2.3.2.1. Régulation du dépôt du vitellus :

La vitellogenèse est un processus très long commençant chez la jeune poulette et se termine juste avant l'ovulation. Elle fait appel à des constituants transportés par voie sanguine et peut être divisée en trois phases principales :

- Phase initiale d'accroissement lent : au moment de l'éclosion d'un jeune poussin femelle, les ovules portés par leur ovaire ont chacun une dimension comprise entre 1 et 2 centièmes de millimètre. Après un dépôt de quelques gouttelettes lipidiques, ce diamètre atteint 1 mm vers 4 – 5 mois d'âge. A ce stade, la croissance commune à tous les ovules cesse.
- Phase intermédiaire : si un follicule ait été sélectionné dans le pool indifférencie, sa taille passe en 60 jours de 1 à 4 mm grâce à un dépôt constitué essentiellement de protéines et de quelques lipides, l'ensemble constitue le vitellus blanc.
- Phase de grand accroissement : durant les 8 – 10 jours qui précèdent l'ovulation, la croissance de l'ovule s'accélère rapidement et son poids passe de 0.2 à 15 – 18 g. Le vitellus déposé présente parfois des alternances de couleur plus claire qui correspondent à des couches synthétisées pendant la nuit ou la journée. La migration de l'ookyste vers la surface se poursuit simultanément. La durée de cette phase peut être comprise entre 6 – 14 jours.

Sur l'ovaire d'une poule, huit follicules environ sont simultanément en phase de grand accroissement avec un décalage initial d'une journée. Il existe une hiérarchie de taille de follicules parfaitement visible, cependant les mécanismes régulateurs qui permettent un contrôle si fin du recrutement des follicules et de leur croissance ultérieure ne sont pas connus.

2.3.2.2. Origine des constituants du vitellus :

Composition des constituants du vitellus : il s'agit surtout d'une émulsion d'eau, de lipoprotéines, et de protéines en plus des minéraux et des pigments. Aucune de ces substances n'est synthétisée par l'ovaire : toutes sont apportées par le sang (surtout à partir du foie dont l'activité de lipogénèse est multipliée par 10 lors de la maturité sexuelle).

Les protéines du vitellus peuvent être classées en deux catégories selon leurs spécificités :

- ✓ Les livétines : ils ne sont pas des protéines spécifiques du vitellus mais des protéines plasmatiques normales qui s'accumulent sélectivement dans le

vitellus où elles atteignent une teneur supérieure à celle du plasma. Elle provient pour 50 – 60 % du foie.

- ✓ Les autres protéines (phosvitines) et lipoprotéines (lipovitellines de haute densité et les lipovitellines de basse densité) sont des éléments caractéristiques de la poule pondeuse et synthétisés à 100 % par le foie.

La synthèse hépatique des protéines du vitellus est strictement contrôlée par les œstrogènes. Ces dernières agissent sur le foie à trois niveaux :

- Par induction de la synthèse des acides nucléiques spécifiques des protéines du vitellus.
- Par augmentation de la synthèse des protéines non spécifiques.
- A plus long terme, en augmentant la masse hépatique.

La synthèse hépatique des lipoprotéines spécifiques se fait à un taux constant au cours d'une journée, ce qui correspond au dépôt continu du vitellus sur l'ovaire. Pour leur transport sanguin, ils forment avec les ions Ca^{++} un complexe soluble. Ce complexe pénètre dans l'ovule et après quelques réarrangements moléculaires devient insoluble.

Situation de l'ovocyte dans le vitellus : pendant la phase lente, l'ovocyte reste située au centre de l'ovule, au cours de la phase intermédiaire, il migre à la surface laissant un début de trace appelée la « tère ». Il reste ensuite à la surface pendant la phase du dépôt rapide du vitellus.

2.3.3. Formation de l'œuf dans l'oviducte : formation de l'albumen

Après ovulation par l'ouverture du follicule au niveau du stigma, l'œuf est capté par l'infundibulum, ce qui constitue la 1^{ère} étape de l'activité de l'oviducte. C'est après 24 – 26 heures que l'œuf complet est expulsé au niveau du cloaque (oviposition). De l'ovulation à l'oviposition, l'œuf passe par différentes étapes dans l'oviducte qui sont : l'achèvement de la membrane vitelline dans l'infundibulum, la sécrétion des protéines de l'albumen dans le magnum, la sécrétion des membranes coquillières dans l'isthme, l'hydratation de l'albumen et sécrétion de la coquille dans l'utérus et l'oviposition.

2.3.3.1. Rôle sécrétoire de l'infundibulum :

Il assure la sécrétion de la couche externe de la membrane vitelline, qui est constitué de fibrilles ayant une composition très proche de celle du blanc épais. Cette couche représente les 2/3 de l'épaisseur totale de la membrane, elle joue un rôle important dans la protection du vitellus contre le transfert d'eau en provenance de l'albumen.

2.3.3.2. Sécrétion de l'albumen dans le magnum :

2.3.3.2.1. Synthèse des protéines de l'albumen :

Les protéines de l'albumen sont synthétisées localement par la paroi du magnum. La synthèse se fait d'une manière continue entre deux passages du vitellus. La quantité des protéines ainsi accumulée dans les cellules du magnum n'est jamais très supérieure à celle déposée sur un vitellus, donc toute carence en acide aminé indispensable à la synthèse des protéines de l'albumen se répercute dès le 2^{ème} œuf qui suit son installation. Les cellules caliciformes de l'épithélium secrètent l'avidine et l'ovomucine, alors que les cellules des glandes tubulaires secrètent l'ovalbumine et le lysozyme. La synthèse des protéines de l'albumen est sous la dépendance des hormones stéroïdiennes de l'ovaire, par exemple la synthèse de l'avidine réclame un prétraitement aux œstrogènes suivi d'une décharge courte de progestérone.

2.3.3.2.2. Dépôt des protéines de l'albumen sur le vitellus :

Le vitellus pénètre dans le magnum 15 – 20 mm après ovulation et ressort 3h30mn après celle-ci. Au fur et à mesure de son transit, il reçoit les protéines accumulées dans les cellules épithéliales sous forme de grain de sécrétion, expulsé par des invaginations des membranes cellulaires. Dans les glandes pluricellulaires sous épithéliales : un mécanisme similaire se met en place plusieurs heures avant le passage du vitellus, ce qui explique que le canal de ces

glandes soit déjà rempli de protéines secrétées (ovalbumine) lorsque le vitellus parvient à leur niveaux.

2.3.3.1.1. Sécrétion d'eau et de minéraux dans le magnum :

Lorsque l'œuf quitte le magnum, l'albumen renferme déjà 80 % de son contenu final en Na^{++} , 60 – 70 % en Ca^{++} et Mn^{++} , 50 % du chlore. 20 – 30 % du calcium et du manganèse sont liés aux protéines de l'albumen et ils ne sont pas libres, il joue un rôle important dans le déterminisme des propriétés physique de l'albumen.

2.3.3.2. Activité de l'isthme : sécrétion des membranes coquillières.

L'œuf arrive dans l'isthme 3h30 à 3h45 après ovulation. L'albumen commence à être recouvert de fibres protéiques dont l'entrelacement constituera les membranes coquillières terminées en 60 – 75 mn. Le dépôt se fait à vitesse sensiblement constante au fur et à mesure que l'œuf progresse dans l'isthme. Les sécrétions arrivent surtout des glandes tubulaires : il se gonfle au contact de l'eau et forme progressivement un filet fibreux très dense.

La portion terminale de l'isthme (isthme rouge) est le lieu de sécrétion des fibres protéiques constituant la partie inférieure (couche mamillaire) de la matrice organique de la coquille. Ces fibres sont imbriqués dans celles de la membrane coquillière externe et assurent donc la solidité d'attache de la coquille : elle renferme aussi le noyau mamillaire protéique autour duquel débute dans l'isthme rouge la cristallisation du carbonate de calcium.

2.3.3.3. Activité de l'utérus : formation de la coquille de l'œuf

En pénétrant dans l'utérus, l'œuf a passé 5 heures pour parcourir 50 cm de l'oviducte, elle va rester 20 heures pour être expulsé. Durant son séjour dans l'utérus, il va y avoir une hydratation de l'albumen et la formation de la coquille.

2.3.3.4.1. Hydratation de l'albumen :

On assiste à ce qu'on appelle le « plumping », durant cette phase la teneur en eau de l'albumen passe de 3.5 à 7g par gramme de protéine. Ce qui conduit au gonflement de l'œuf et à une tension de membranes coquillières. Ce transfert d'eau est accompagné d'une sécrétion minérale composé surtout du sodium, potassium et bicarbonate. C'est pendant cette phase que les différentes couches d'œuf apparaissent : blanc épais, blanc liquide interne et externe, et chalazes.

2.3.3.4.2. Formation de la coquille de l'œuf :

2.3.3.4.2.1. Chronologie :

Environ 10 heures après ovulation, tandis que se poursuit l'hydratation de l'albumen, commence la croissance des cristaux de CaCO_3 qui va se poursuivre linéairement en fonction du temps jusqu'au stade 22 heure (la vitesse de dépôt de la coquille est de 0,3 – 0,35 g par heure). L'arrêt de la calcification coïncide avec un enrichissement du liquide utérin en phosphates, ce sont des poisons de cristallisation du carbonate de calcium et qui d'ailleurs se trouvent dans la partie superficielle de la coquille, juste sous la cuticule organique. Pour la pigmentation, elle commence à un faible taux dans la couche palissadique des cristaux ; elle est très importante en fin de calcification et la plupart des pigments sont disposés superficiellement, ces pigments (ooporphyrines) dérivent de l'hémoglobine transformée par les cellules utérines. La cuticule organique recouvrant la coquille est sécrétée après le stade 22 heures. Il est à noter que la formation de la coquille intervenant entre 10 – 22 heures après ovulation se situe entre 20 heures du soir et 08heure du matin en moyenne (période nocturne).

2.3.3.4.2.2. mécanisme de formation de la coquille :

Pour la formation de la coquille il y aura besoin en grande partie du calcium et du bicarbonate. Le transport du calcium est essentiellement la fonction des cellules épithéliales et peut emprunter les voies paracellulaires. La production des ions bicarbonate est assurée dans les cellules de glandes tubulaires et à un moindre degré dans les cellules calciformes.

Selon Mongin 1973 [2], le moteur de base des différents transferts est une sécrétion de sodium dans le liquide utérine, effectués par les cellules glandulaires. Cette sécrétion est apportée par le chlore en provenance du plasma sanguin et de bicarbonate HCO_3^- qui est produit essentiellement à l'intérieur de la cellule par hydratation du CO_2 en présence d'anhydrase carbonique. Une partie du chlore est directement réabsorbée par les cellules glandulaires pour accompagner les protons résultant de l'hydratation du CO_2 . Le chlore et le sodium atteignant la lumière utérine sont finalement réabsorbés par les cellules de l'épithélium dans un rapport différent de l'unité ($\text{Na}^{+2} > \text{Cl}^-$) ; il en résulte un excès de charges électriques positives réabsorbées ce qui permet une sécrétion du calcium. Dans le liquide utérin, la présence de HCO_3^- et Ca^{++} permet la précipitation du carbonate du calcium sur la coquille suivant une réaction qu'on peut écrire :



2.3.3.5. Oviposition :

La propagation de l'œuf en formation dans le magnum et l'isthme est assurée par une inhibition des muscles lisses postérieurs à l'œuf jointe à une importante activité des muscles antérieurs. L'activité contractile de l'utérus reprend nettement lorsque l'œuf y pénètre : elle assure à l'œuf un mouvement lent de rotation autour de son grand axe qui dure pendant toute la durée de la formation de la coquille. Après un plateau de 2 – 3 heures pendant lesquelles s'achève le dépôt de la cuticule et la pigmentation, les contractions utérines atteignent un paroxysme et provoquent l'expulsion de l'œuf dans le vagin puis quelques minutes plus tard, à l'extérieur.

CHAPITRE 3

ANTIBIOTHERAPIE EN ELEVAGE DE VOLAILLE

L'importance des maladies infectieuses (affections respiratoires et digestives) explique la 1 ère place occupée par les antibiotiques ou substances analogues en thérapeutique aviaire. Les enjeux économiques de l'antibiothérapie en cas d'échec du traitement, d'un retard du traitement, d'un traitement mal conduit ou encore d'accident thérapeutique sont évidents.

Les volailles présentent de nombreuses particularités physiologiques par rapports aux mammifères. En effet, malgré la très grande hétérogénéité entre les différentes espèces aviaires, la physiologie des volailles reste marquée par l'adaptation au vol même chez les espèces qui ont perdu cette aptitude [3]. Le tube digestif des volailles est doué d'une très grande capacité d'absorption qui permet de couvrir le métabolisme de base élevé de ces espèces. Une simple extrapolation, des schémas posologiques établis chez les mammifères, ne permet pas de définir de façon correcte un schéma thérapeutique en pathologie aviaire [4, 5].

3.1. Particularités physiologiques des volailles :

3.1.1. Particularités du système digestif :

3.1.1.1. Anatomie :

L'appareil digestif des volailles présente des caractéristiques originales. Avec une cavité buccale dépourvue de dents, un œsophage doté d'un diverticule ayant un rôle de réservoir ou jabot, un estomac où les deux fonctions sécrétoire et mécanique sont assurées par les deux poches distinctes ; le ventricule

succenturié ou pro-ventricule (estomac glandulaire) et le gésier (estomac musculaire assurant le broyage des aliments), un intestin grêle court de 165 – 230 cm chez la poule, un gros intestin très court de 5 – 8 cm correspond à la portion intestinale comprise entre le débouché des cæcas (20 cm chez le poulet adulte) et le cloaque ou convergent aussi les voies génitales et urinaires.

3.1.1.2. Physiologie :

Le jabot et l'intestin sont les deux organes majeurs intervenant dans l'absorption des médicaments [5], le pro – ventricule et le gésier jouant un rôle mineur, en raison de la rapidité du transit des aliments à leur niveau.

Le jabot est capable d'absorber des médicaments, mais on pense que cette fonction est limitée. En raison d'une activité motrice irrégulière et du temps de séjour variable (30 min à 6 h) des particules alimentaires et des liquides ingérés, l'absorption n'est pas homogène. L'accumulation de l'aliment dans le jabot entraîne une inhibition de sa motricité, ainsi qu'un ralentissement du péristaltisme de l'œsophage inférieur. Le vidage du jabot est achevé chez les volailles après 3 – 19 h, selon la quantité d'aliments consommée, ce qui peut modifier la biodisponibilité orale des médicaments. Le jabot peut aussi jouer un rôle de stockage pour les médicaments administrés sous forme de capsule. Le pro – ventricule peut du fait de la forte acidité à ce niveau, inactiver la pénicilline G et l'érythromycine [6].

L'intestin est le site principal d'absorption des médicaments à action systémique. C'est aussi le site d'action de certains médicaments destinés à agir localement (anti-infectieux, anticoccidiens, antiparasitaires). Pour certains médicaments, le pH de la lumière intestinale (compris entre 5,6 et 6,4) et la présence d'ions divalents constituent des facteurs limitants. De même, la microflore saprophyte peut inactiver certains médicaments par transformation métabolique (hydrolyse, réduction).

Du fait de la faible longueur du tube digestif, le transit intestinal est très bref, de 4 à 12 heures selon l'âge, la nature et le volume de l'alimentation. En réalité, il

varie surtout en fonction du débit d'ingestion, lui-même étroitement dépendant des conditions physiologiques (croissance, ponte).

La motricité globale du tube digestif des volailles est caractérisée par une activité importante et coordonnée se propageant dans les deux sens, et ce, à tous les niveaux. Les mouvements anti – péristaltiques sont fréquents au niveau duodénal, aboutissant à des reflux duodéno – gastriques régulier (toute les 15 – 20 mn) vers le gésier, voire le jabot. Ce mécanisme de reflux permet l'échange d'aliments entre le duodénum, le gésier et le pro – ventricule. La motricité recto – colique est caractérisée par la présence d'un anti – péristaltisme permanent et vigoureux à partir du cloaque, ce qui a pour conséquences un drainage de l'urine, de l'urodeum vers le rectum et le remplissage des cæcas [3]. Une réabsorption d'eau peut avoir lieu, selon les conditions physiologiques.

3.1.2. Particularité du système urinaire

La formation de l'urine débute, comme chez les mammifères par la filtration glomérulaire, le débit de filtration est évalué à environ 3 ml/Kg/min. L'index de filtration glomérulaire est deux fois plus faible que chez les mammifères. Suite à la filtration, interviennent les mécanismes tubulaires de réabsorption et de sécrétion. Il semblerait que du fait de la participation des vaisseaux de la partie postérieure du corps à l'irrigation rénale, un médicament injecté dans les muscles d'une cuisse ou dans les muscles pectoraux n'a pas la même biodisponibilité [7, 8]. Cependant, il est difficile de conclure si cette différence résulte du système rénal particulier aux oiseaux ou d'une différence de débits sanguins entre les deux sites d'injections [5].

3.2. Considérations pharmacocinétiques :

Les études de la pharmacocinétique permettent d'établir des schémas posologiques rationnels pour un effet thérapeutique optimal. Pour agir, un antibiotique doit se trouver à une concentration adéquate, et pendant un temps approprié sur le site d'infection. Les posologies et la durée du traitement ont

souvent été extrapolées à partir des données établies chez les mammifères, alors qu'il est suggéré que le métabolisme des oiseaux, mesuré par la consommation en oxygène, est plus actif et que la demi-vie plasmatique des médicaments est souvent plus courte.

Les différences de vitesse d'élimination des médicaments, observées entre les mammifères et les oiseaux, résultent essentiellement de différences de poids, de surface corporels et de voies métaboliques [5]. Le foie est le lieu principal de déroulement des réactions métaboliques (oxydation, réduction, hydrolyse, conjugaison,...). Il existe cependant une activité métabolique intense dans le duodénum [9].

3.2.1. Mode d'administration des antibiotiques :

Les méthodes du traitement sont le plus souvent collectives; elles ne nécessitent pas de manipulation d'animaux, alors que les méthodes individuelles présentent de nombreux inconvénients : coût de main d'œuvre, temps de réalisation et stress pour les volailles.

3.2.1.1. Voie orale :

Les présentations orales sont les plus utilisées en thérapeutiques aviaires. Les traitements sont effectués dans l'eau de boisson ou dans l'aliment.

Le traitement dans l'eau de boisson est généralement retenu en premier lieu pour l'administration d'antibiotique chez les volailles, la mise en place est immédiate par utilisation d'un bac a traitement ou une pompe doseuse, cependant un certain nombre d'inconvénients peuvent apparaître :

- certains produits ont une solubilité insuffisante dans l'eau de boisson (les quinolones).
- certains produits sont instables dans l'eau (la pénicilline, tétracyclines).

- la présence de certains antibiotiques dans l'eau de boisson entraîne une diminution du volume d'eau ingéré ainsi que la fréquence de la prise d'eau de boisson.
- la consommation d'eau est variable (en fonction de la température) et proportionnelles à leur poids, donc il est difficile de contrôler précisément la dose ingérée par la volaille.

Le traitement dans l'aliment est un mode d'administration sure et très employé chez les volailles. L'aliment médicamenteux est stocké dans le jabot, à partir duquel se produit une libération lente du produit permettant de limiter les fluctuations du principe actif dans l'organisme [8]. Un autre avantage, est de pouvoir administrer des substances peu ou non solubles dans l'eau. Cependant, un certain nombre de problèmes spécifiques se posent : état de vacuité du silo au moment de la décision thérapeutique, et contraintes liées à l'unité de fabrication ; le fabricant doit tenir compte de la granulométrie des mélanges et de tout ce qui contribue à l'homogénéité de la fabrication. Comme pour l'eau de boisson, il faut tenir compte de la consommation journalière d'aliment pour déterminer la posologie.

3.2.1.2. Voie parentérale :

Chez les volailles, sont employées les voies intramusculaires et sous – cutanées. Les avantages de la voie parentérale consistent en la précision de la dose administrée et en la rapidité d'action du principe actif injecté. Elle permet d'utiliser des médicaments très actifs peu ou pas absorbés par le tractus digestifs (colistine et aminosides). Cependant ce type de traitement ne permet pas une persistance de la concentration sérique du principe actif et nécessite d'être suivi d'un traitement continu par la voie orale.

3.2.1.3. Inhalation :

Chez la volaille, l'utilisation de l'inhalation a pour but essentiellement d'humidifier les voies aériennes et de traiter localement les atteintes respiratoires,

des concentrations adéquates sont atteintes dans la trachée, mais par contre, les concentrations pulmonaires dépendent énormément de la dimension des particules (1 à 2 μm). Ce type de traitement n'est utilisé qu'en traitement d'appoint [10].

3.2.2. Schéma thérapeutique :

Elle comprend la posologie, le rythme d'administration et la durée d'administration. Des études d'efficacité clinique et de pharmacocinétique chez la volaille ont permis d'établir des posologies précises adéquates pour les nouvelles molécules utilisées. Les posologies sont souvent exprimées en quantité de substances active par litre d'eau de boisson ou par Kg d'aliment. Pour des raisons d'efficacité et d'évaluation exacte du coût du traitement, il est préférable de calculer la quantité journalière à administrer en poids de médicament par apport au poids total d'animaux à traiter et de connaître la consommation des oiseaux à l'aide d'un compteur d'eau, pendant et après la fin du traitement.

Le rythme et les durées des administrations sont définis en fonction du mode du traitement. Lors de la distribution dans l'eau de boisson ou dans l'aliment, l'absorption du médicament est continue, ce qui est tout à fait favorable à une bonne efficacité. Il est conseillé de traiter au minimum 3 jours et en moyenne 5 jours et jusqu'à 8 jours pour une administration par l'aliment. Pour la voie intramusculaire, 1 à 2 injections quotidiennes peuvent être nécessaire pendant 3 à 5 jours.

3.3. Les antibiotiques utilisés en aviculture :

Les poulettes destinée à la ponte ou à la reproduction reçoivent, sous la forme de programme sanitaire d'élevage avant entrée en ponte, en complément de vaccins et des traitements antiparasitaires, un certain nombre de traitement anti-infectieux destinée à prévenir les coccidies et les complications consécutives aux vaccinations. Les antibactériens sont les plus utilisés suivis par les antiparasitaires et les additifs. Quelques antibiotiques peuvent être également

administrés à la poule pondeuse sous forme d'additif : comme le bacitracine – Zinc. Leur addition nécessite des mesures législatives pour garantir l'absence, dans les tissus, de résidus susceptibles de présenter un risque pour le consommateur.

3.3.1. Classification et mode d'action :

Il existe plusieurs systèmes de classification des antibiotiques. Le plus courant prend en compte leur mode d'action sur les agents infectieux : certains antibiotiques attaquent la paroi ou la membrane cellulaire, alors que d'autres inhibent la synthèse des acides nucléiques et des protéines. La classification courante des antibiotiques est basée sur leur cible d'action :

3.3.1.1. La paroi :

L'inhibition de la synthèse du peptidoglycane ne se manifeste que sur des bactéries en croissance. L'effet bactéricide dépend des conditions osmotiques extérieures. Ce sont surtout les bêta-lactamines ex. : ampicilline, amoxicilline, pénicilline, céphalosporines.

3.3.1.2. La membrane plasmique :

Les antibiotiques détruisent la membrane comme un détergent; ils sont donc bactéricides. Ce sont les antibiotiques de nature polypeptidiques qui agissent sur ce niveau.

- Les suractifs (détergent) : la colistine (polymyxine E).
- Les non suractifs : le Bacitracine.

3.3.1.3. Les Ribosomes :

Les ribosomes bactériens (70S) sont suffisamment différents des ribosomes cytoplasmiques des cellules animales (80S) pour constituer de bonnes cibles. Les antibiotiques se lient de façon réversible sur l'un des deux sous-unités empêchant ainsi les différentes étapes de traduction des polypeptides. Comme ex. :

- Aminosides et apparentées : streptomycine, néomycine, kanamycine et spectinomycine.

- Groupe des "m l s"
- Macrolides : Spiramycine, l'Erythromycine, la Josamycine, la Tylosine.
- Lincosamides : Lincomycine.
- Synergistines : le Virginiamycine
 - Tétracyclines
 - Antibiotique de 1° génération : la Tétracycline, la Chlorotétracycline et l'Oxytétracycline.
 - Antibiotique de la 2° génération : la Doxycycline.

3.3.1.4. L'ADN :

Les antibiotiques Inhibent la réplication de l'ADN en antagonisant la sous – unité A de la gyrase (topo isomérase II). C'est une enzyme impliquée dans le maintien de la super – hélicité des molécules d'ADN et intervenant dans la réplication, la réparation, la recombinaison et la transposition de l'ADN. Les fluoroquinolones agissent aussi sur le topo isomérase IV (en particulier chez certaines bactéries gram positif). Très schématiquement, la gyrase est la cible primaire pour les bactéries gram négatif et le topo isomérase IV est la cible primaire pour les bactéries gram positif. Ce sont surtout les quinolones ex.: l'acide oxolinique la fluméquine et les fluoroquinolones : la Norfloxacin, l'enrofloxacin.

3.3.1.5. La synthèse de l'acide folique :

Ce sont des inhibiteurs par compétition de l'acide folique synthétase : similitude de structure avec le PABA (acide p-aminobenzoïque); les cellules animales ne synthétisent pas l'acide folique.

- i. Les sulfamides : sulfadimidine, sulfadiméthoxine, sulfaquinoxaline.
- ii. Le triméthoprime : il est utilisé seul ou associé à un sulfamide.

Tableau 2: Antibiotiques sélectionnés parmi les antibiotiques utilisés en aviculture

Famille	Antibiotiques	principales indications	dose indiquée	durée
Bétalactamines	ampicilline	Colibacillose, Salmonelloses, pasteurelloses, staphylococcie	1,5 g/l.	3 – 5 jours.
Tétracyclines	Oxytétracycline	Infections à Gram +, maladies respiratoires chroniques, sinusites, entérite non spécifiques, choléra, infections par E.coli, psittacose.	50 – 100 mg/kg	3 – 7 jours.
	Tétracycline		25 mg/kg	3 – 5 jours.
Macrolides	Erythromycine	maladies respiratoires, mycoplasmoses, coryza infectieux, sinusite, synovite infectieuse.	20 mg/kg	5 jours.
	Tylosine	maladies respiratoires	0,5 g/l	3 – 5 jours.
Polypeptide	Colistine	colibacillose, salmonelloses	75000 UI/kg	3 – 6 jours.

Tableau 3: Caractéristiques des antibiotiques sélectionnés [11]

Famille	Antibiotique	Caractéristique Chimique	Résorption Digestive	Distribution	Élimination	Activité Antibactérienne
Bétalactamines	Ampicilline	liposoluble acide	partielle rapide	extracellulaire dans les sécrétions bronchiques	urinaire biliaire	bactéricide
Tétracyclines	Oxytétracycline	liposoluble basique	incomplète rapide	extracellulaire et intracellulaire	biliaire (50%) urinaire (50%)	bactériostatique
	Tétracycline					
Macrolides	Erythromycine	liposoluble basique	incomplète rapide	intracellulaire	biliaire (85%) urinaire (15%)	bactériostatique
	Tylosine		relativement complète assez rapide			
Polypeptides	Colistine	hydrosoluble basique	pratiquement nulle	tractus digestif	fécale (voie orale)	bactéricide

CHAPITRE 4

LES RESIDUS DES ANTIBIOTIQUES

4.1. Origine des résidus des antibiotiques :

Les résidus sont des substances pouvant apparaître dans les denrées alimentaires par suite de l'utilisation de médicaments vétérinaires. Il s'agit de traces indésirables de médicaments ou de dérivés de ceux – ci dans le produit final. Théoriquement, toutes les voies d'administration des antibiotiques peuvent mener à l'apparition des résidus dans les denrées alimentaire d'origine animale comme le lait, la viande et les œufs. Une étude menée à l'USA, en 1993, sur toutes les carcasses positives en résidus montre que les antibiotiques fréquemment causaient des résidus sont la pénicilline à 20%, la streptomycine à 10%, l'oxytétracycline à 10%, la sulfaméthazine à 9%, la tétracycline 4%, la gentamycine à 4% et la néomycine à 3% [12]. Selon les denrées alimentaires, les résidus d'antibiotiques sont plus fréquemment rencontrés dans les produits laitiers, les veaux de boucherie et le porc commercialisé. Les antibiotiques injectables sont responsables de 46% des infractions enregistrées suivis par les administrations par la voie orale à 20 % (aliment, eau de boisson et bols) et les infusions intra mammaire à 7%. Une étude basée sur l'opinion des fermiers a rapporté que 92% des contaminations d'antibiotiques du lait sont dus à l'usage des infusions intra mammaire (61% en lactation et 31% hors lactation) pour le traitement des mammites. Les infusions intra mammaire délivrent une concentration élevée d'antibiotiques directement dans la glande mammaire, la majorité de ces produits contiennent des β lactamines et beaucoup de test de dépistage sont particulièrement sensibles à cette classe d'antibiotique, c'est pourquoi les β lactamines sont les résidus les plus détecté dans le lait dans différents pays du monde.

Les résidus peuvent être d'origine fécal par le biais des fèces d'animaux traités, qui en contaminant l'alimentation peuvent provoquer des résidus de certain antibactérien chez les animaux non traité. Le porc sain non traité inclus dans le box d'un porc traité par la sulfaméthazine entraîne des résidus dans l'urine, le rein, et le diaphragme [13, 14]. Les résidus peuvent aussi apparaître chez les veaux nourris avec du lait et/ou du colostrum provenant des vaches traités avec des antibactériens [15]. La contamination de l'aliment de bétail avec des composés varies peut se produire, la signification de cette contamination dépend de la pharmacocinétique du composé et de l'espèce affecté [16].

4.2. Facteurs influençant la présence des résidus :

Plusieurs facteurs ont contribué aux problèmes des résidus tels que les traitements insuffisants ou non – identification des animaux traités. Plusieurs infractions résultent de l'utilisation incohérente du médicament avec son étiquette, ceci se produit par le non respect des temps d'attente, la voie d'administration, la dose indiquée et la fréquence du traitement [17]. Le statu sanitaire de l'animal et le mode d'administration du médicament influencent potentiellement les résidus ; les maladies peuvent affecter la pharmacocinétique, le métabolisme, et la présence d'infection et/ou d'inflammation peut causer l'accumulation du médicament dans les tissus affecté [18].

4.3. Traitement des résidus des antibiotiques :

La plupart des aliments d'origine animale sont chauffés avant la consommation. Il n'existe pas d'une étude de licenciement des médicaments qui contient les effets des traitements thermiques sur les résidus. Les informations concernant cette influence sont importantes pour obtenir les meilleures estimations d'exposition du consommateur aux problèmes des résidus [19].

4.3.1. Le traitement enzymatique :

L'utilisation de pénicillinases a été envisagée, mais elle est très coûteuse et n'est efficace que sur les résidus des pénicillines [20].

4.3.2. Le traitement thermique :

Le chauffage permet d'éliminer une partie des résidus, mais tous les antibiotiques n'ont pas la même thermolabilité et ils ne sont pas tous détruits par les procédés de diminution de charge microbienne mis en œuvre dans les industries (pasteurisation, stérilisation) et dans les différents procédés de préparation des denrées alimentaires (cuisson). La stabilité des antibiotiques dans l'aliment à la chaleur de cuisson est déterminée par différentes méthodes. Ceci inclut le chauffage dans un milieu liquide comme le lait, l'eau, et dans les solides comme la viande et les différentes saucisses. L'inactivation des résidus dans les tissus et l'œuf est étudiée. Le temps et la température du chauffage sont faciles à contrôler dans les milieux liquides, mais les résultats dans les produits carnés sont plus indicatifs du processus de la cuisson actuel.

Les tétracyclines sont relativement sensibles à un chauffage doux à une solution acide, ce qui détruit la structure cyclique des tétracyclines.

Le chauffage ordinaire de la viande (bien cuit) n'a aucune liaison à l'inactivation des majeurs composants sensibles tels que la pénicilline et la tétracycline. Plusieurs chauffages ou un chauffage humide prolongé sont nécessaires pour inactiver la plupart des composés sensibles des résidus [21].

La stabilité de la Benzylpénicilline au chauffage et à la cuisson a été étudiée dans l'eau (à 100°C et à 65°C), 5% d'éthanol, 5% du bicarbonate de sodium, pH 5.5 à 100°C et à la cuisson (huile à 180°C et à 140°C). La Benzylpénicilline est stable à 65°C mais il est sensible à de hautes températures avec une demi-vie qui varie entre 15 et 60 minutes dans les solutions étudiées [22].

La stabilité au chauffage de l'oxytétracycline dans l'eau et l'huile végétale a été étudiée. Les résultats montrent que l'antibiotique est instable à 100°C avec une demi-vie de 2 min, mais il est plus stable dans l'huile à 180°C où la demi-vie est d'environ 8 min. L'effet de différentes méthodes de la cuisson incluant le bouillonnement, le rôtissage, et la friture sur les résidus de l'oxytétracycline dans les tissus d'animaux traités a été étudié. Une nette réduction de l'oxytétracycline de 35 – 94 % est observée, avec une température durant la cuisson ayant l'impact majeur sur les pertes [23]. Dans la majorité des échantillons des œufs pochés, la forme la plus bénigne du

traitement thermique, les résidus d'oxytétracycline et du chlorotétracycline reste en haute concentration. Dans tous les cas, le brouillage des œufs a également omis de détruire tous les antibiotiques résiduels. L'autoclavage détruits tous les résidus détectables dans tous les cas [24].

Chez la crevette, les résidus de l'oxytétracycline sont réduits à 50-70% dans le muscle par les méthodes usuels de la cuisson (bouillonnement, cuisson à 200°C et friture à 180°C), tandis que la réduction des résidus au niveau de la coquille est de 20 – 30 % seulement. Les résidus de l'acide oxolinique sont réduits à 20 – 30 % dans le muscle et la coquille par la cuisson. Ce résultat montre que les méthodes de cuisson peuvent seulement réduire ces résidus chez la crevette [25].

L'enrofloxacin reste stable pendant 3 heures dans l'eau à une température de 100°C. Durant la cuisson, les résidus d'enrofloxacin restent stables. Toutefois, il y a une nette diminution de la concentration des quinolones dans les tissus à cause de la perte par exsudation dans le liquide utilisé pour la cuisson [26].

La stabilité du sulfaméthazine à la chaleur a été étudiée. Le composé est stable dans l'eau pendant l'ébullition à 100°C. Dans l'huile à 260°C, des pertes sont observées, indiquant une demi-vie de 5 minutes, et à 180°C le sulfaméthazine est instable avec une demi-vie d'environ 2 heures. Durant le stockage en congélation, les résidus de sulfaméthazine sont stables pour une période de 3 mois [27].

4.3.3. Le peroxyde d'hydrogène :

Le H₂O₂ à 0.17% baisse le niveau de la pénicilline G de 436 ± 15.1 à 6 ± 1.49 ppb en utilisant le traitement d'incubation et de la pasteurisation du lait. La concentration de 0.34% du peroxyde d'hydrogène est plus efficace à diminuer le niveau de la pénicilline G à des valeurs inférieures à la LMR (5ppb) associée au traitement de pasteurisation, avec ou sans incubation [28].

4.3.4. L'utilisation de bactéries sélectionnées pour leur antibio – résistance :

Dans le processus de fermentation du lait (formation de fromage et de beurre): l'augmentation de la résistance d'une bactérie à un antibiotique donné, ou à une autre famille d'antibiotiques donnée, s'accompagne inévitablement de la

détérioration d'autres qualités du lait, par ailleurs, cette méthode ne supprime pas le risque de santé publique posé par les inhibiteurs [20].

La pertinence sur la sécurité alimentaire est incertaine du fait que la nature des dégradations des produits est inconnue. L'identité de ces produits, et leur toxicité doit être établis. L'utilisation des données relative à la surveillance des résidus dans les tissus crus et l'estimation de l'exposition du consommateur doit être revue sur la base des effets de différents traitements sur les résidus.

4.4. Prévalence des résidus des antibiotiques dans le monde :

Les résidus des antibiotiques concernent tous les pays du monde. La majorité des pays, pour combattre les effets néfastes des résidus des médicaments vétérinaires, ont adopté des programmes de surveillance permanente réalisés par des organismes qualifiés.

En 1997, l'Allemagne et la Suisse font savoir que le miel provenant d'Amérique centrale, en particulier du Mexique, contient de la streptomycine. Lors du congrès APIMONDIA de 1997 à Anvers, on apprend à l'occasion d'une conférence internationale que les apiculteurs mexicains utilisent un « fortifiant » contenant de la streptomycine, contaminant ainsi le miel. Des analyses de laboratoires officiels en 1999 ont démontré que parmi 310 miels étrangers analysés, 107 échantillons, c'est – à – dire près d'un tiers étaient positifs. Parmi les résidus découverts, il s'agit surtout de streptomycine. On a également découvert des résidus de tétracyclines et de sulfonamides [29].

Bien que l'usage du chloramphénicol dans la médecine vétérinaire soit restreint aux animaux de compagnie, des résidus sont trouvés dans des échantillons d'aliment d'origine animale. Par exemples, les résultats d'analyse réalisés en Allemagne entre 2000 et 2002 conformément à la directive 96/23/ECC montre qu'une petite partie (<0.2%) de toutes les échantillons (n>17500) prélevé des abattoirs et des fermes contient des résidus du chloramphénicol. La concentration trouvée de 11 échantillons positive de bovins d'engraisement, porc et poulet s'étend de 0.3 à 3.3 mg/kg avec huit valeurs inférieurs à 1mg/kg [30].

En Suisse, en 2000, les résultats d'une vaste campagne d'analyses du miel suisse, menée par les laboratoires cantonaux, montrent que sur plus de 800 échantillons analysés et prélevés dans l'ensemble de la Suisse, des résidus de sulfamides et d'antibiotiques ont été trouvés dans environ 6% de ces échantillons. La valeur de tolérance, de 0,05% mg/kg, qui donne lieu à une contestation du produit, était dépassée dans 2,5% des échantillons [29].

Au Portugal, 90 échantillons de reins de porc collectés d'un abattoir de la région centre, sont dépistés par des tests microbiologiques et seulement 6 échantillons ne satisfaisaient pas les exigences de la communauté européenne concernant les LMR. Avec des méthodes de dépistage plus sensibles, les résultats montrent que 36% des reins contiennent des résidus d'antibiotiques [31].

Au Maroc, la contamination du lait par les antibiotiques est importante (en moyenne 3 échantillons sur 12, soit un taux de contamination de 25 %), en raison des traitements contre les mammites et de l'absence de contrôle de ce paramètre par les collecteurs du lait [32].

Au Sénégal, dans une étude faite sur le foie et le gésier de poulet de chair, 65% et 36% des produits analysés, respectivement dans les marchés et dans les exploitations, contenaient des résidus d'antibactériens. Il ressort de cette analyse que 14% des échantillons contenaient des résidus de tétracyclines, 8% des résidus de sulfamides, 41% des résidus de Nitrofuranes et 5% du chloramphénicol (gésiers uniquement). Sur les 37 échantillons analysés, 20 échantillons (soit 54%) avaient des teneurs en résidus très largement supérieures aux limites maximales de résidus (LMR) [33].

Au Canada, au cours d'une période de 108 semaines, dans un abattoir de Toronto et sur un total de 487 carcasses bovines éprouvées à cette étude, 12 donnèrent des résultats positifs ; dans tous les cas, il s'agissait de vaches adultes [34]. Des échantillons de tissus de 623 porcs suspects d'avoir reçus des traitements d'antibiotiques sont collectés lors des inspections fédérales dans les abattoirs du Manitoba et soumis à des analyses d'Octobre 1987 à Mars 1988. Soixante animaux (3%) ont des niveaux de résidus de la chlorotétracycline détectable (0.10 – 1.38 ppm). Cent trente-huit animaux (22%) ont des niveaux des résidus de l'oxytétracycline détectable (0.05 – 2.07 ppm) [35].

En Finlande, dans l'inspection de la viande, 0.13% des échantillons des reins de bovins contiennent des résidus d'antibiotiques dépistés avec les méthodes microbiologiques [36].

Au Kenya, sur les 250 prélèvements de viande bovine dans les abattoirs, analysé pour avoir des résidus de tétracyclines, 114 (45.6%) étaient positives. Sur les 114 échantillons positifs aux résidus des tétracyclines, 60 (24%) sont des prélèvements de foie, 35 (14%) sont des prélèvements de rein et 19 (7.6%) sont des prélèvements de muscles [37].

Aux USA, le FSIS (Food Safety and Inspection Service) a analysé 2370 échantillons pour des résidus des antibiotiques. Soixante et une positive non violatrices, et trente et une violation ont été détectés. Les résidus se répartissent en 26 pour la néomycine, 4 pour le gentamycine et 1 pour la pénicilline. Sur ces trente et une violations, vingt quatre était des veaux [38]. Les données du STOP (Swab Test On Premises) tirées du National Residue Program (NRP) of the Food Safety and Inspection Service (FSIS), qui est le premier test de dépistage utilisé dans les abattoirs, indiquent que durant 1983-1998, le taux des carcasses d'animaux avec des niveaux violatrices à passer de 55.1% à 0.56% [39]. Les résultats de surveillance de l'USDA de 1997 à 2000 indiquent peu de violations des LMR pour les antibiotiques détectés au niveau des poulets de chairs. Dans 1997 et 1998, pas de violations détectées. En 1999 et 2000, seulement 0.2, 0.2 et 0.4% des échantillons ont des résidus violatrices dans les dindons, poulet de chair et le poulet adulte respectivement [40].

En France, sur 85 échantillons de miels produits (plan de contrôle 2000), aucun ne présentait de résidus de streptomycine et sur 72 échantillons de miels importés, 4 échantillons présentaient des teneurs comprises entre 10,3 et 16 µg/kg. Et sur 193 échantillons de miel de production française (plan de contrôle 2000), 49 échantillons présentaient des teneurs comprises entre 16 et 589 µg/kg des tétracyclines. Sur 72 échantillons de miel importés, 20 échantillons présentaient des teneurs comprises entre 15 et 951 µg/kg [41].

En Italie, en 2006, La présence de CAP (chloramphénicol) a été détectée dans 83 % des échantillons de la gelée royale à des concentrations comprises entre 0,6 µg/kg et 28 µg/kg (moyenne 6,1 µg/kg) [42].

Au Vietnam, Le centre des services d'analyses et d'expérimentations de Ho Chi Minh a conduit une étude de validation de la méthode GC et HPLC-MS pour

la détection du chloramphénicol ; des échantillons de crevette sont analysés. Durant les trois premiers trimestres de 2002, 44 échantillons étaient positifs au chloramphénicol dont les concentrations variaient de 0.4-1.4 mg/kg [43]. L'incidence des échantillons positifs du miel de la région sud-est d'Asie fournis au laboratoire de février 2002 à juin 2002 était de 6% pour les β lactamines, 62% pour les aminoglycosides, 31% pour les tétracyclines, 45% pour les sulfonamides et 65% pour le chloramphénicol [44].

Au Nigeria, sur un total de 200 œufs commerciaux dépistés pour la présence de résidus d'antibiotiques, 2 œufs sont révélés positifs ce qui représente 1% [45].

En Algérie, les résidus d'antibiotiques contaminent 50% d'échantillons de viande blanche, 85% de viandes rouges désossées congelées et environ 9% de viandes rouges locales [46]. Pour les résidus dans les œufs, aucune étude n'a été faite pour le moment.

4.5. Conséquences de la présence des antibiotiques dans les denrées alimentaires :

Les premières inquiétudes concernant les résidus d'antibiotiques dans l'alimentation ne sont pas exprimées par les consommateurs mais par les producteurs du lait et ses dérivés, qui découvrirent que le lait contaminé a inhibé la culture bactérienne utilisée dans les produits du lait fermenté (yaourt, fromage...). Il y avait certaines inquiétudes sur les risques pour la santé publique (allergie) mais ils ont reçu peu d'attention. Ainsi la pression pour que le contrôle et le dépistage des résidus d'antibiotiques dans l'alimentation soit obligatoire, initialement, venaient des industries du lait. C'était dans le milieu des années soixante, que le public devient plus concerné par les risques sanitaires et environnementales que présentent les résidus chimiques, des contrôles rigoureux sur l'utilisation des médicaments antibactériens dans l'alimentation animale et des niveaux de tolérance ont été établis [12].

4.5.1. Les réactions allergiques :

En médecine humaine, l'allergie est un effet secondaire reconnu des antibiotiques et en particuliers des bêtalactamines [47]. Une proportion notable de la population générale a une sensibilité allergique aux antibiotiques (plus de 7 – 10 %), dû aux traitements médicaux. Par contre, les cas d'allergie dus aux antibiotiques provenant d'alimentation sont extrêmement rares, basée sur les preuves clinique et de laboratoires de réactions immunologiques [48]. Les antibiotiques sont des molécules étrangères, mais leur poids moléculaire est trop petit pour être immunogène. Pour qu'ils deviennent immunogènes, ils doivent agir comme des haptènes, ils fusionnent avec des protéines porteuses entraînant la formation d'anticorps [18]. L'allergie peut aller d'une simple éruption à un choc anaphylactique mortel [47].

L'hypersensibilité pour les résidus est une réponse immunitaire chez les patients sensibilisés, cette allergie est restreinte aux réactions qui ont des IgE comme médiateurs [19]. Cependant, compte tenu du très faible taux de résidus présents dans l'organisme, comparés aux concentrations d'antibiotique administrées lors du traitement ou de prophylaxie, il est très improbable qu'ils soient à l'origine d'une sensibilisation primaire de l'individu [47]. D'autant plus que lorsque les antibiotiques sont administrés par voie orale, ils subissent des modifications qui tendent à diminuer leurs pouvoirs allergène. Les résidus de la pénicilline en particuliers forment des complexes avec certaines protéines (albumines) par liaisons covalentes. Ils sont alors masqués par la structure tertiaire de l'albumine et deviennent inaccessible aux anticorps. Il est donc peu probable que des dérivés significativement immunogènes puissent être formés [47,49]. Des techniques très spécifiques et sensibles sont alors nécessaires pour les mettre en évidence [49]. Le résidu à grand risque peut être un métabolite qui diffère par sa structure chimique et par ses propriétés pharmacologiques de la molécule d'origine administrée. De faible modification de la molécule, comme la rupture du cycle des β lactamines de la pénicilline, qui se produit in vivo, amène à un métabolite, ex pénicilloyl, qui perd son activité antibiotique mais possédant un potentiel allergénique [49]. Des cas d'allergies aux résidus de pénicilline dans les aliments d'origine animale ont été scientifiquement prouvés, mais ceux – ci restent extrêmement rares (moins de 10 cas signalés dans les 25 ans derniers), même si

les résidus de bêtalactamines restent souvent incriminés dans les cas d'allergies alimentaires [47].

Les aminoglycosides, les tétracyclines et les sulfonamides peuvent causer des réactions allergéniques. Certains macrolides peuvent, dans des cas exceptionnels, être responsables des lésions hépatiques causées par une réponse allergique dû à un métabolite modifiant ainsi les cellules hépatiques. Dans un cas, un choc anaphylactique est causé par des résidus de streptomycine [18].

Le fait de ne pas associer les réactions mineures (ex. urticaire) avec l'exposition aux résidus allergènes peut être la raison des lacunes trouvées dans le signalement des cas [47]. L'hypothèse de l'anaphylaxie induite par les aliments, associée aux résidus des pénicillines dans la viande, est fortement plausible. Le phénomène de libération spontanée d'histamine peut être associé à l'ingestion fréquente des résidus de la pénicilline nichés dans les repas [50]. Une étude de la cinétique plasmatique et la formation des résidus chez les jeunes porcs suite à une action prolongée de la pénicilline qui est utilisée dans les Pays – Bas chez les porcs atteints d'arthrite montre que dix semaines après la dernière injection, les résidus de la pénicilline sont présents en quantités très élevées dans les sites d'injection par rapport aux LMR de la Benzylpénicilline [51].

4.5.2. Les effets toxiques :

La cytotoxicité et la génotoxicité du chloramphénicol et de six métabolites ont été étudiées dans les cellules de la moelle osseuse humaine in vitro. Les six métabolites testés dans l'étude sont : nitroso chloramphénicol, chloramphénicol-glucuronide, chloramphénicol base (NAPD), et l'hydroxy – amphénicol HAP (dérivé alcool), di hydro chloramphénicol et nitro – phényle – amino – propane – dione – chloramphénicol (NPAP-chloramphénicol). L'effet cytotoxique est démontré par l'inhibition de l'incorporation de la thymidine dans l'ADN. Le chloramphénicol provoque l'apoptose des cellules à une concentration de 2 – 5 mmol/L ; étudié in vitro en utilisant les cellules rénales du singe et les cellules précurseurs hématopoïétiques de l'homme. Le chloramphénicol provoque une dépression de la moelle osseuse en inhibant la synthèse protéique dans la mitochondrie des cellules de la moelle osseuse [30]. Les résultats suggèrent que

le chloramphénicol sous sa forme hydrophobe, a la capacité de diffuser dans la bicouche lipidique de la membrane plasmique et donc de causer l'effet toxique. Les auteurs postulent que cet effet peut expliquer la toxicité aiguë du chloramphénicol dans les tissus énervés, comme le myocarde, et peut entraîner un collapsus cardiovasculaire chez les nouveau-nés ou « Grey baby syndrome » [52]. L'effet génotoxiques est évalué par l'induction de la cassure de l'ADN monobrin. On a suggéré que l'anémie aplasique et la leucémie causée par le chloramphénicol sont liées à l'endommagement d'ADN causé par le nitroso-chloramphénicol ; produit de réduction des groupes para-nitro du chloramphénicol [30].

Les Nitrofuranes sont soupçonnés de fœto-toxicité (carcinogène et mutagène), ils ont été étudiés par des tests génotoxiques.

Certains sulfamides sont fœto-toxiques à forte dose. Ces molécules passent dans le lait maternel, et sont toxiques pour les nourrissons de moins d'un mois. Les sulfonamides ont été utilisés largement dans l'alimentation animale, mais ils se sont révélés carcinogène, mutagène et toxique pour la thyroïde, ce qui rend leur utilisation diminuée avec des délais d'attente long, et une surveillance rigoureuse de leurs résidus.

Les risques des malformations congénitales après une thérapie à l'érythromycine sont augmentés et cela est dû à un effet sur les malformations cardiovasculaires et les sténoses pyloriques constatées après une exposition au début de la grossesse chez l'homme. Beaucoup d'explications sont discutées, la plus probable est que l'érythromycine inhibe un canal cardiaque spécifique qui semble jouer un rôle important dans la régulation des rythmes cardiaques chez les embryons [53].

Des doses élevées de résidus des tétracyclines peuvent réversiblement retarder la croissance du squelette et irréversiblement décolorer les dents des enfants de moins de 08 ans juste après leur déposition au niveau des os et des dents [19].

4.5.3. Impacts sur l'industrie agro-alimentaire :

4.5.3.1. Impacts Technologiques :

Dans les industries laitières, les résidus antimicrobiens ont des conséquences néfastes sur la transformation du lait en produits laitiers, notamment sur la fabrication de fromages et de beurres. Elles résultent essentiellement de l'inhibition totale ou partielle des phénomènes fermentaires d'origine bactériennes. Ainsi, toutes les étapes de la transformation du lait en fromage peuvent être perturbées : il y a un défaut de coagulation du lait ; le caillé ressort de mauvaise qualité, une insuffisance de l'égouttage et le rendement de fabrication est diminué ; il y a une mauvaise maturation du fromage (consistance, couleur, odeur, goût modifiés) ainsi qu'une prolifération anarchique des bactéries coliformes insensibles aux antibiotiques et dont la multiplication n'est plus inhibée par les ferments lactiques. Concernant la fabrication du beurre, il y a une mauvaise acidification, une diminution du développement des germes d'arôme d'où pertes de goût et d'arôme, ainsi qu'une diminution du rendement de fabrication. Pour ces productions, les manifestations dus aux inhibiteurs sont diverses mais toutes ciblées sur les phénomènes liés aux bactéries et aux ferments lactiques. Ces conséquences technologiques dépendent essentiellement de la dose résiduelle d'inhibiteurs dans le lait collecté et la sensibilité des germes lactiques utilisés aux antibiotiques. D'autres industries alimentaires sont influées par la contamination d'antibiotiques. Les résidus dans la viande causent énormément de perte dans le domaine des saucisses fermentées [44].

4.5.3.2. Impacts Economiques :

Les pertes subies, chaque année, par les industries laitières sont estimées à des centaines de millions de dollars. A cause de la présence de résidus inhibiteurs dans le lait, c'est environ 0,5% de la production annuelle française qui est perdue, impropre à la transformation et à la consommation. En laiterie, une citerne contaminée par des résidus d'antibiotiques (soit jusqu'à 25 000 litres de lait) entraîne un manque à gagner correspondant à environ 11 450 euros, soit la

valeur des produits finis (environ 0,46 euros par litre de lait transformé, compte tenu du paiement du lait, des frais de collecte et de transformation). Le lait impropre est alors dirigé vers les industries qui en font un usage non alimentaire, vendu environ 0,15 euros par litre : la laiterie perd donc 7750 euros par citerne contaminée. Depuis le 1er janvier 2003, cette pénalité est ramenée à 10 euros pour 1000 litres de lait pour les producteurs adhérents à la Charte des Bonnes Pratiques en Elevage Laitier [54].

4.5.4. La résistance aux antibiotiques :

La résistance aux antibiotiques est un risque sanitaire bien documenté dans le monde entier, les organisations de santé ont donné la priorité pour son étude.

Le facteur le plus important dans la sélection de bactéries résistantes est généralement admis comme étant l'usage d'antibiotique, et en général, il y a une relation étroite entre la quantité des antibiotiques utilisée et le degré du développement de résistance [55]. Les bactéries sont résistantes aux antibiotiques soit naturellement soit par un mécanisme acquis. La résistance naturelle est le plus souvent le fait d'une imperméabilité de la bactérie à l'antibiotique ou à l'absence de cible sur laquelle l'antibiotique peut interagir. Par contre, les mécanismes acquis de résistance sont nettement plus nombreux : diminution de perméabilité, modification de la cible, production d'enzymes inactivant l'antibiotique, multiplication des cibles, mécanisme d'efflux, et by – pass de l'étape métabolique ciblée par l'antibiotique [56].

Des études in vivo sur des modèles d'animaux visant à évaluer les effets de doses thérapeutiques et de résidus de tétracycline sur la flore intestinale humaine ont mis en évidence les modifications engendrées sur la flore intestinale. Il y a effectivement eu une sélection de bactéries résistantes à la tétracycline, ainsi qu'un effet sur les populations fécales aérobies et anaérobies, sans compter les modifications de certains paramètres métaboliques de la microflore. Par contre, la barrière contre les salmonelles exogènes a été maintenue [57].

L'utilisation des fluoroquinolones chez les animaux destinés à l'alimentation avait provoqué l'apparition de *Campylobacter* et de salmonelles résistantes à la fluoroquinolone et une sensibilité réduite aux fluoroquinolones. Les

renseignements sur l'incidence de cette résistance sur la santé humaine étaient pour l'instant peu nombreux mais on ne pouvait écarter des répercussions possibles si celle – ci venait à augmenter et à se généraliser. [58].

Au Danemark, en 2004, la résistance d'E. Coli aux antibiotiques est de 44% et 11% pour les tétracyclines, 21% et 5% pour le triméthoprim, 3% et 13% pour l'acide nalidixique respectivement chez le porc et le poulet [59].

Au Pays Bas, en 2003, la résistance d'E. Coli aux antibiotiques est de 70% et 60% pour les tétracyclines, 44% et 46% pour le triméthoprim, 0% et 35% pour le Fluméquine chez le porc et le poulet respectivement [59].

En France, pour les souches de *Salmonella typhimurium* isolées de pathologies bovines, les taux très élevés de souches résistantes à l'ampicilline (93 % vs 88 %) et à l'association amoxicilline-acide clavulanique (55 % vs 47 %) diminuent entre 1999 et 2000. Le pourcentage de souches sensibles à l'acide nalidixique s'accroît entre les deux années (69 % vs 78 %), et aucune souche, intermédiaire ou résistante à l'enrofloxacin n'est mise en évidence. Les taux de résistance sont stables pour les autres antibiotiques. Les autres sérotypes de salmonelles isolés des bovins sont moins résistants que *typhimurium* [60].

En 2000, la résistance d'E. Coli aux antibiotiques est de 88%, 85% pour les tétracyclines, 50%, 51% pour le triméthoprim et 3%, 28% pour l'acide nalidixique chez le porc et le poulet respectivement [59].

En Belgique, et en 1997, la résistance des salmonelles chez le poulet est de : 36% pour l'ampicilline, 12% pour le spectinomycine, 36% pour la tétracycline, 27% pour l'acide nalidixique et 17% pour le chloramphénicol. *S.Enteritidis* est dans l'ensemble-sensible (90%), tandis que 22% des espèces de *S.Typhimurium* sont sensible avec 70% des isolats partagent le profile de résistance ASTC. Prés de 80% des espèces *S.Hadar* sont résistantes à l'acide nalidixique. Une augmentation significatif dans le nombre des espèces de *S.Typhimurium* isolés contenant le profile de résistance ASTC est observé de 4.1% en 1992, à 23% en 1994 et à 38% en 1996. En 1997 aucune résistance dans les isolats de *S.Typhimurium* n'est notée pour l'enrofloxacin et l'acide nalidixique [61]. Chez les bovins, la résistance des salmonelles est de : 46% pour l'ampicilline, 65% pour le spectinomycine, 73% pour la tétracycline et de 12% pour l'acide nalidixique. Aucune résistance n'est notée pour l'enrofloxacin dans les isolats de bovins. Toutes les espèces de *S.Enteritidis* sont sensibles tandis que les espèces de

S.Dublin sont résistantes à la spectinomycine (81%) et à l'acide nalidixique (24%) [61].

Au Portugal, dans des échantillons tirés des porcs abattus dans un abattoir, la majorité des échantillons fécaux montrent un pourcentage élevé d'*E. Coli* résistant aux sulfonamides et tétracyclines, 88%, 85% respectivement. Ces données soulèvent des questions importantes sur la pertinence de la détection des résidus des antibiotiques comme seul moyen d'établir la qualité et la sécurité pour les consommateurs des produits issues d'animaux de rente [31].

4.6. Fixation des limites maximales des résidus et détermination des délais d'attente :

Des limites de sécurité sont établies pour les résidus des antibiotiques dans l'alimentation sous la forme des tolérances ou les limites maximales des résidus (LMR).

La notion de limites maximales des résidus est définie par la combinaison des données de trois sources différentes : les études de toxicité chez les animaux de laboratoire, la diffusion tissulaire des médicaments vétérinaires chez les animaux de rentes, et les habitudes du consommateur [62]. Notons ici que le terme tolérance est utilisé en U.S alors que le terme LMR est utilisé au Canada et l'E.U mais les deux termes ont la même signification. En Algérie, nous n'avons trouvé aucune législation concernant la fixation des tolérances ou les LMR pour les différentes denrées alimentaires d'origine animale. Les LMR concernent les composés et leurs métabolites, ils sont exprimés en particule par million (ppm) ou par milliard (ppb). Le calcul des LMR d'un composé est basé sur la dose journalière admissible (DJA) de celui-ci. La DJA est une estimation faite par le JECFA de la quantité de médicaments vétérinaires, exprimée sur la base du poids corporel, pouvant être absorbée quotidiennement pendant toute une vie d'un individu de 60 Kg sans présenter de risque appréciable pour la santé.

Au niveau international, l'organisation chargée du contrôle des résidus utilise les normes de la commission Codex alimentarius, dont les lignes directrices sont mises en place par *the Codex Committee on Residues of Veterinary Drugs in Food* (CCRVDF) basé sur l'avis scientifiques du comité commune FAO/OMS d'expert sur les additifs alimentaires (JECFA).

Tableau 2 : Les limites maximales de résidus des antibiotiques sélectionnés en accord avec le rapport de la *Commission du Codex Alimentarius* [63]

Antibiotiques	limites maximales des résidus d'antibiotiques dans les œufs ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Oxytétracycline	400
Erythromycine	50
Tylosine	300

Ampicilline	-
Colistine	300*
Tétracycline	400

* : ou 6000 UI/kg.

La détermination du temps d'attente résulte de la comparaison des concentrations résiduelles présentes dans l'organisme aux limites maximales de résidus.

Cela exige des études pharmacocinétiques. Elles ont pour but de déterminer l'évolution dans le temps du principe actif et de ses métabolites dans les principaux tissus. Le temps d'attente correspond au moment après la dernière administration où les concentrations résiduelles deviennent inférieures aux limites maximales définies pour chaque aliment (viande, lait,...) et pour 99% de la population d'animaux testés. Le délai d'attente est d'une autre façon ; la période minimale entre le dernier traitement recommandé et le moment d'abattage (viande) ou de collection pour utilisation comme aliment (œuf et lait).

Ce temps d'attente est défini par le laboratoire et validé par l'administration pour des indications précises et pour un protocole thérapeutique (dose, durée d'administration). L'établissement des délais d'attente approprié garanti que le tissu consommable est intact et ne présente aucun résidu nuisible après utilisation de la substance thérapeutique.



Figure 4 : Détermination du délai d'attente.

CHAPITRE 5

RECHERCHE EXPERIMENTALE

5.1. Objectif des travaux :

L'objectif de ces travaux était d'avoir une vue générale sur le processus d'élimination des antibiotiques par l'œuf, leur vitesse d'élimination et la sélectivité du transfert vers le vitellus ou l'albumen afin d'en déduire une politique réglementaire pour garantir la sécurité alimentaire du consommateur.

5.2. Conditions d'élevage des poules pondeuses :

Les animaux de cette étude proviennent de l'exploitation d'élevage de poules pondeuses AVI CHEGGA de Chlef, ils ont été transportés vers le laboratoire vétérinaire régional de DRAA BEN KHEDDA où sont effectués les travaux de cette recherche durant la période de Février – Juillet 2009.

25 poules pondeuses de race « Isabrown » de même âge (52 semaines) et d'un poids moyen de 2,1 kg sont élevées dans des lots (au nombre de 5 sujets par lot), dont un lot sert comme témoin. La température ambiante dans l'animalerie, où sont logés les animaux, était constante (20°C), et la durée d'éclairage était de 14 h. Les poules recevaient de l'aliment ponte complet haute énergie (2900 kcal/kg), exempt d'antibiotiques et de l'eau propre *ad libitum*.

5.3. Traitement :

Nous avons utilisé dans cette étude six antibiotiques majeurs utilisés en thérapeutique chez la poule pondeuse, avec deux voies d'administration (Per Os et intramusculaire). L'administration des antibiotiques est effectuée en deux

étapes (essai). Dans chaque essai, chaque lot recevait un seul traitement, sauf le lot témoin qui ne recevait aucun antibiotique pendant toute la durée de l'expérimentation. Deux antibiotiques sont administrés par les deux voies ; intramusculaire et orale (oxytétracycline, colistine), tandis que la voie orale était préconisée pour le reste des antibiotiques.

Avant de commencer les expérimentations, une période de 15 jours était jugé nécessaire à l'adaptation et à l'acclimation des poules à de nouvelles conditions d'élevage, et encore, elle était nécessaire à contrôler la production journalière des différents lots, et y remédier si y aura une hétérogénéité entre les différents lots (voir appendices). En plus, entre Les deux essais, une période de un mois était maintenue (temps de latence), pendant laquelle les poules ne recevaient aucun traitement. Le déroulement de l'étude dans le temps est récapitulé dans le tableau (5).

5.3.1. Modalités d'administration :

La voie orale est systématiquement retenue, puisque c'est la voie généralement utilisée dans les élevages de volailles. Cependant pour quelques molécules, nous avons aussi retenu la voie intramusculaire (injection au niveau du muscle pectoral) pour les raisons suivantes :

- comparer les deux voies d'administration ;
- étudier le transfert dans les œufs des antibiotiques non absorbés par le tractus gastro-intestinal (polypeptides).

5.3.2. Posologie :

Les posologies retenues ont été celles couramment utilisées chez la poule pondeuse. Un des inconvénients de la voie orale provient de la difficulté à contrôler effectivement la dose ingérée par chaque poule, une administration par une sonde œsophagienne a été efficace dans le contrôle de la dose ingérée. Pour la voie intramusculaire, les injections ont été réalisées au niveau du bréchet (muscle pectoral). Pour les antibiotiques, où la posologie était en (g/l), nous avons

calculé la dose journalière équivalente à une consommation moyenne de 250 ml d'eau par poule pondeuse.

La teneur des antibiotiques est exprimée en masse, exception faite pour la colistine qui est exprimée en unité internationale en se référant aux références officielles (OMS). Les différentes posologies sont citées dans le tableau (6).

5.3.3. Temps d'administration :

Tous les traitements ont débuté après la fin de travail au niveau du laboratoire, entre 16 et 18 h.

5.3.4. Temps de prélèvement :

Les œufs ont été collectés chaque jour vers 9 h puisque la majorité des œufs sont pondus le matin, jusqu'à ce que tous les œufs ne contiennent plus de résidus décelables. Les œufs sont prélevés, à raison de 3 œufs (choisies au hasard) par lot d'animaux. Après la pesée, une désinfection de la coquille à l'aide de l'eau de javel est nécessaire, suivie d'un séchage à l'aide du papier hygiénique, avant la séparation de l'albumen et du vitellus.

Tableau 5: Distributions des antibiotiques par lots de poules et calendrier des essais

	Lot Témoin	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4
Période d'acclimation ⁽¹⁾	Aucun traitement				
1 ^{ère} épreuve ⁽²⁾	Aucun traitement	Oxytétracycline Voie Orale	Erythromycine Voie Orale	Tylosine Voie Orale	Colistine Voie Orale
Temps de latence ⁽²⁾	Aucun traitement				
2 ^{ème} épreuve ⁽³⁾	Aucun traitement	Oxytétracycline Voie Intramusculaire	Ampicilline Voie Orale	Tétracycline Voie Orale	Colistine Voie intramusculaire

⁽¹⁾ Période d'acclimation = 15 jours.

⁽²⁾ Temps de latence entre les essais = 30 jours.

⁽³⁾ Durée de chaque essai = 15 jours : administration de l'antibiotique pendant 1 à 5 jours, récolte et analyse des œufs des divers lots de poules.



Tableau 3: Posologie d'antibiotiques administrés aux poules pondeuses

Antibiotiques (principe actif)	Voie d'administration	Dose administrée	Durée de traitement
Oxytétracycline	Orale	100 mg/kg de poids vif	5 jours
	intramusculaire	30 mg/kg de poids vif	3 jours
Ampicilline	Orale	1,5 g/l	5 jours
Colistine	Orale	75000UI/kg de poids vif	5 jours
	Intramusculaire	50000 UI/kg de poids vif.	Une seule injection.
Erythromycine	Orale	20 mg/kg de poids vif	5 jours
Tylosine	Orale	0,5 g/l	5 jours
Tétracycline	Orale	50 mg/kg de poids vif	5 jours

5.4. Analyse :

Le dosage des résidus de différents antibiotiques est effectué par la méthode microbiologique de diffusion en gélose, méthode préconisée par la F.A.O - O.M.S [64], par Katz et Fassbender. (1972) [65], Katz et coll. (1974) [66], et par Archimbault et al. (1978) [67]. Le tableau (8) rassemble, pour chaque antibiotique les conditions de dosage et les limites de quantifications atteintes par cette méthode dans l'albumen et le vitellus.

Après ensemencement d'un milieu gélosé par une suspension de spores ou de formes végétatives, des cylindres en aciers (8 mm de diamètre) sont déposés sur la gélose (diamètre 8mm) et sont remplis avec 200µl de solutions à analyser. Les boîtes de pétri sont mises pour incubation pendant une durée et à une température en fonction de la souche utilisée. Durant l'incubation, l'antibiotique diffuse dans la gélose en fonction de sa concentration et empêche le développement des bactéries. Cela se traduit par la présence de zones d'inhibition autour des cylindres. Le diamètre de ces zones d'inhibition est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse numérique et comparé à une gamme étalon représentant le diamètre en fonction de Log [concentration].

5.4.1. Préparation des échantillons :

L'albumen et le vitellus de chaque œuf sont pesés, ils seront analysés séparément après dilution au 1/3 dans un tampon phosphate approprié au résidu recherché et homogénéisation à l'aide d'un mini agitateur. Les pH obtenus après dilution dans les tampons phosphate sont regroupés dans le tableau (7) :

Tableau 4 : Valeurs du pH de l'albumen et du vitellus après dilution dans un tampon phosphate

Matrice	Tampon phosphate		
	pH 4.5	pH 6	pH 8
Albumen (pH 7.9)	6,4	6,6	8,4
Vitellus (pH6.4)	5,9	6,2	7,6

L'albumen subit un traitement thermique au bain marie, tandis que le vitellus est centrifugé. Ces actions sont justifiées, comme indiqué dans les chapitres antérieurs que l'albumen contient des substances inhibitrices (lysozyme, ovotransferrine,...) qui peuvent agir sur les bactéries utilisées comme souches – test dans cette méthode. Il est donc nécessaire de procéder à une dénaturation de ces substances qui ont la propriété d'être thermolabile. L'inactivation thermique du lysozyme dépend de l'intensité du traitement mais également du pH de la solution, thermosensible à un pH alcalin, elle devient plus résistante à pH acide. Un traitement thermique de 65 – 75 °C pendant 15 à 20 min de l'albumen dilué au tiers dans un tampon approprié avant dépôt sur le milieu gélosé, a été nécessaire.

Pour le vitellus, une centrifugation du mélange vitellus-tampon a été nécessaire. En utilisant le surnageant, les lipoprotéines sont éloignées, ce qui augmente la sensibilité des échantillons et l'amélioration de la quantification des antibiotiques. Tous les détails de ces traitements sont notés dans le tableau (8), pour la composition des différents tampons, voir appendices.

Tableau 8: Conditions des méthodes de dosages des antibiotiques.

Famille	Molécule	Diluant		Traitement thermique	Centrifugation	Germe-test	Milieu		Limite de quantification (LOQ) en µg/g	
		albumen	vitellus				N°	pH	Vitellus	Albumen
Bétalactamines	Ampicilline	Tampon pH 6	Tampon pH 6	70°C pendant 15 mn	5000 tours/mn pendant 15 mn.	Micrococcus luteus ATCC 9341	1	6,5	0,02	0,02
		Tampon pH 4,5	Tampon pH 4,5	70°C pendant 15 mn	4000 tours/mn pendant 15 mn	Bacillus subtilis BGA spores	8	5,9	0,15	0,09
Tétracyclines	Tétracycline	Tampon pH 8	Tampon pH 8	65°C pendant 15 mn	4000 tours/mn pendant 15 mn	Micrococcus luteus ATCC 9341	11	8	0,28	0,17
	Oxytétracycline	Tampon pH 6	Tampon pH 6	75°C pendant 20 mn	4000 tours/mn pendant 15 mn	Bacillus subtilis BGA spores	10	7,25	2,31*	4*
Macrolides	Tylosine									
	Erythromycine									
Polypeptides	Colistine									

* exprimé en UI

5.4.2. Préparation des boîtes de Pétri

5.4.2.1. Les souches – test utilisées :

Dans ces différentes expérimentations, les souches test utilisées sont : *Micrococcus luteus* ATCC 9341 et *Bacillus subtilis* BGA spores (suspension commerciale de Merck).

5.4.2.2. Préparation des milieux et des souches – test :

5.4.2.2.1. Préparation des milieux de culture :

Les milieux de culture sont pesés par une balance analytique de précision, additionnés à la quantité nécessaire avec de l'eau distillée, une ébullition au bain marie à 100 °C a été nécessaire jusqu'à la liquéfaction totale. Un ajustement du pH par addition d'un acide (HCL) ou d'une base (NaOH) est exigé avec une tolérance de ± 0.2 . Après une stérilisation à 121 °C pendant 15 mn, on les mets dans des flacons de 250 ml pour utilisation ultérieure.

5.4.2.2.2. Préparation des différentes souches – test :

On ensemence les souches pures de *Micrococcus luteus* ATCC 9341 et *Bacillus subtilis* BGA dans un bouillon B.H.I.B, puis on les met dans l'étuve pour incubation pendant 18 – 24 h à une température adéquate (30 °C).

5.4.2.2.3. Entretien des souches de référence :

- 1- Ensemencer le milieu de culture N°11 (Antibiotic Medium 11, Difco™) en tubes inclinés, par une culture de *Micrococcus luteus* ATCC 9341 ou *Bacillus subtilis* BGA dans un bouillon B.H.I.B.
- 2- Incuber pendant vingt – quatre heures à 30 °C,
- 3- Conserver au réfrigérateur à 4 °C environ et renouveler l'ensemencement tous les quinze jours.

5.4.2.2.4. Réutilisation des souches de référence :

- 1- Récolter les germes à partir d'un tube de gélose de préparation récente à l'aide de 2 à 3 ml de solution de chlorure de sodium à 0,8%.

- 2- Ensemencer à partir de cette suspension, le milieu de culture N°11 (Antibiotic Medium 11, Difco™) dans une fiole jaugée de 250 ml et incubé pendant dix – huit à vingt quatre heures à 30 °C.
- 3- Récolter, par lavage, les germes dans 25 ml de solution de chlorure de sodium 0,8% et homogénéiser.
- 4- Diluer la suspension à 1/10 à l'aide de la solution de chlorure de sodium. La transmission lumineuse de la suspension, mesurée à 650 nm sous une épaisseur de 1 cm par comparaison avec la solution de chlorure de sodium 0,8%, doit être de 75 % environ. Cette suspension est utilisée comme suspension mère, elle peut être conservée pendant une semaine à 4 °C environ.

Les souches sont maintenant prêtes à être utilisées pour les dilutions. A partir de la suspension récoltée, on fait une série de dilutions ; pour chercher la quantité de spores ou de cellules végétatives idéales permettant d'obtenir pour les différentes concentrations en antibiotiques des zones d'inhibitions aussi étendues et nettes que possible (entre 10^6 et 10^8 ufc/ml). Les boîtes de Pétri sontensemencées, par la méthode d'ensemencement en masse ; ajouter 1 ml de la suspension bactérienne choisi à 14 ml de gélose liquéfiée dans chaque boîte de pétri (la gélose est liquéfiée dans un bain marie à une température de 45 – 50°C). Bien agiter les boîtes de Pétri pour avoir une culture étendue sur toute la boîte.

Après solidification de la gélose, les boîtes de Pétri sont prêtes à être creusées par un emport pièce, 4 cuvettes par boîte (8 mm de diamètre) sont déposés, ils doivent par la suite contenir une goutte d'agar pour ne pas laisser la solution diffuser sous la gélose et seront remplis avec 200µl des solutions à analyser (albumen, vitellus). Les boîtes de Pétri peuvent être stockées au réfrigérateur pour une utilisation ultérieure.

Au moment de l'analyse, les cuvettes de chaque boîte de pétri sont remplies avec 200 µl de solutions d'albumen ou de vitellus, trois cuvettes sont destinées aux échantillons à analyser et une cuvette pour le control.

5.4.3. Dosage des résidus

Deux gammes étalons ont été réalisées en ajoutant à l'albumen témoin et au vitellus témoin 1 ml de solution croissante en antibiotiques (prises d'essais de 10 g pour chaque matrice). Après dilution au 1/3 par ajout de 19 ml de tampon phosphate au pH approprié pour chaque antibiotique et homogénéisation, on obtient les concentrations finales qui correspondent aux différents points de la gamme étalon. Ces solutions ont subi les mêmes traitements que les échantillons (le traitement thermique pour l'albumen et la centrifugation pour le vitellus).

Les antibiotiques utilisés pour effectuer les gammes étalons sont des antibiotiques de référence et correspondent aux antibiotiques administrés aux poules pondeuses ; l'oxytétracycline dihydrate (Sigma, O4636), l'ampicilline sodique (Sigma, A0166), le sulfate de la colistine (Sigma, C4461), tétracycline hydrochloride (Sigma, T7660), l'érythromycine (Sigma, E5389), et la tylosine tartrate (Sigma, T6134). Ils ont été préparés en solution selon les recommandations des différentes pharmacopées internationales. Les concentrations relatives aux différents points des gammes étalons des différents antibiotiques, ont été choisies selon Roudaut et al, (68) (69) (70) pour l'oxytétracycline, les tétracyclines et l'ampicilline, et en se référant à la limite maximale des résidus dans les œufs pour les autres antibiotiques restants (LMR / 4, LMR / 2, LMR, LMR x 2, LMR x 4,....etc.).

On a pu réaliser des courbes étalons : le diamètre de zones d'inhibitions en fonction de log [concentration] pour chaque antibiotique dans l'albumen et dans le vitellus, en utilisant Microsoft office Excel 2007. La fonction F(x) de la courbe étalon de régression est choisie, parmi les différentes fonctions connues, selon le coefficient de détermination R^2 le plus élevé, pour avoir plus de certitude (Figures 5 –16).

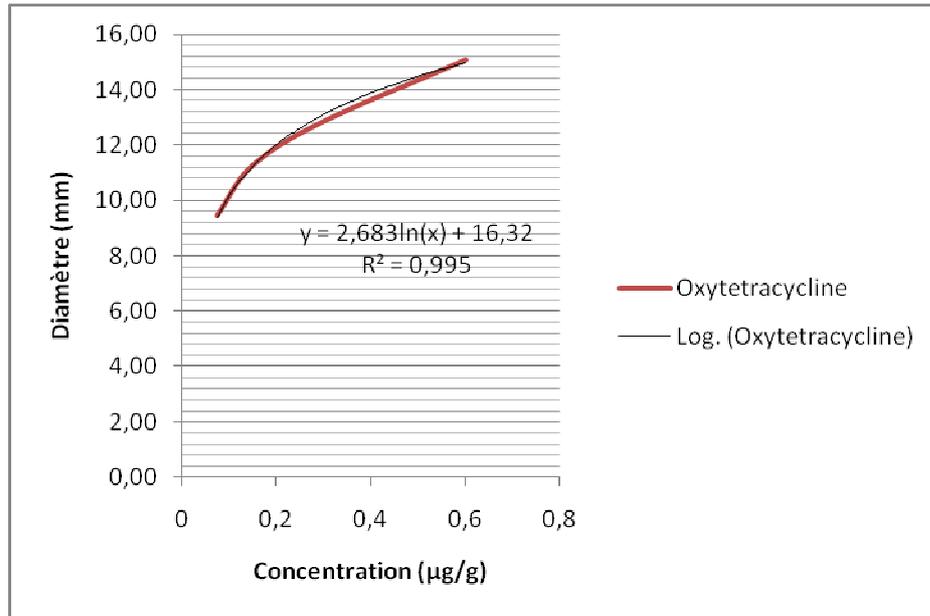


Figure 5: Courbe étalon de l'oxytétracycline dans l'albumen

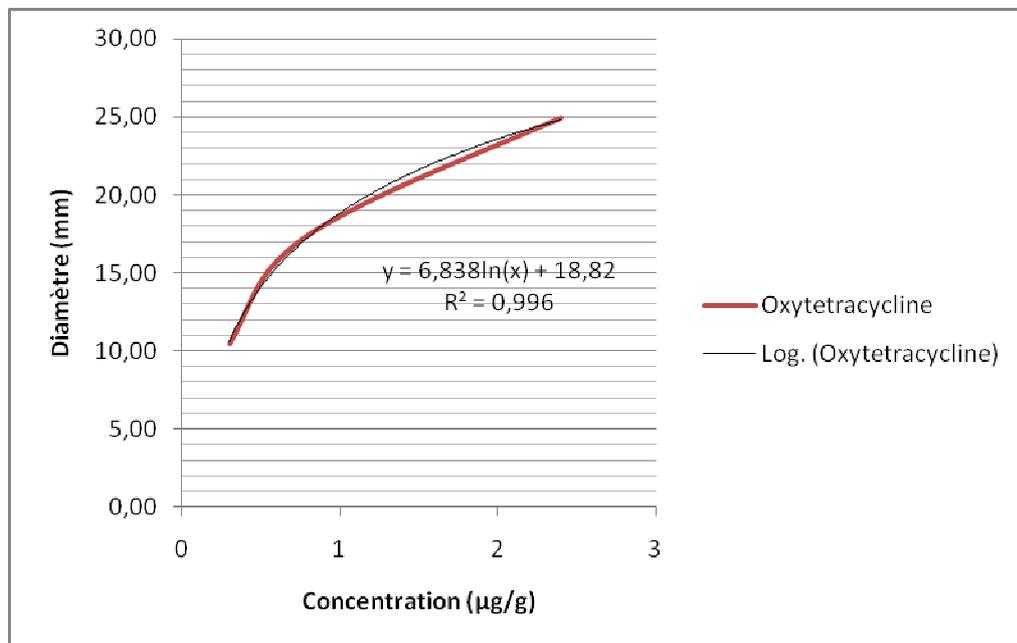


Figure 6 : Courbe étalon de l'Oxytétracycline dans le vitellus

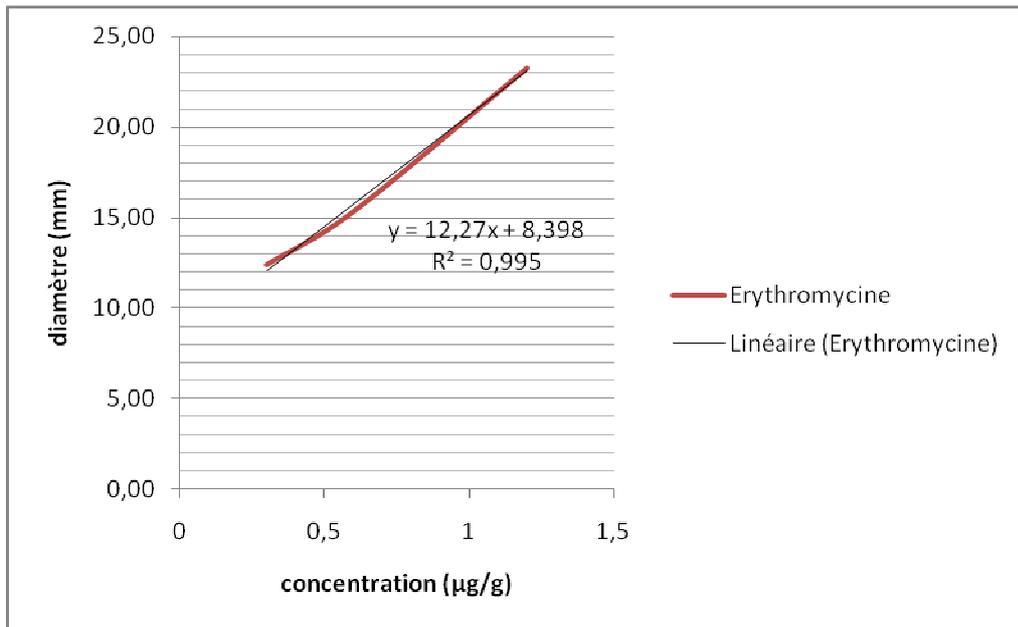


Figure 7 : Courbe étalon de l'Erythromycine dans l'albumen.

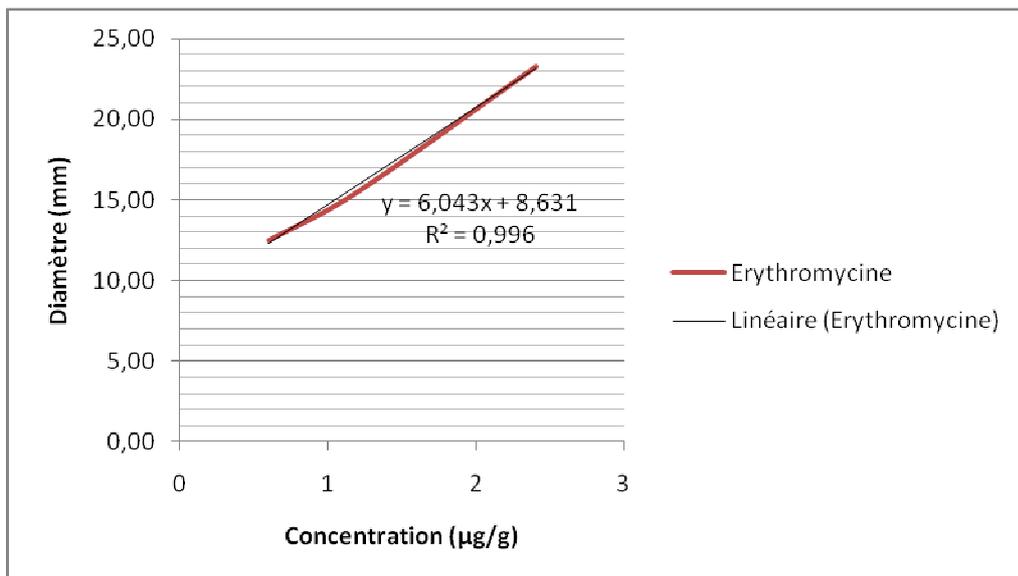


Figure 8 : Courbe étalon de l'Erythromycine dans le vitellus

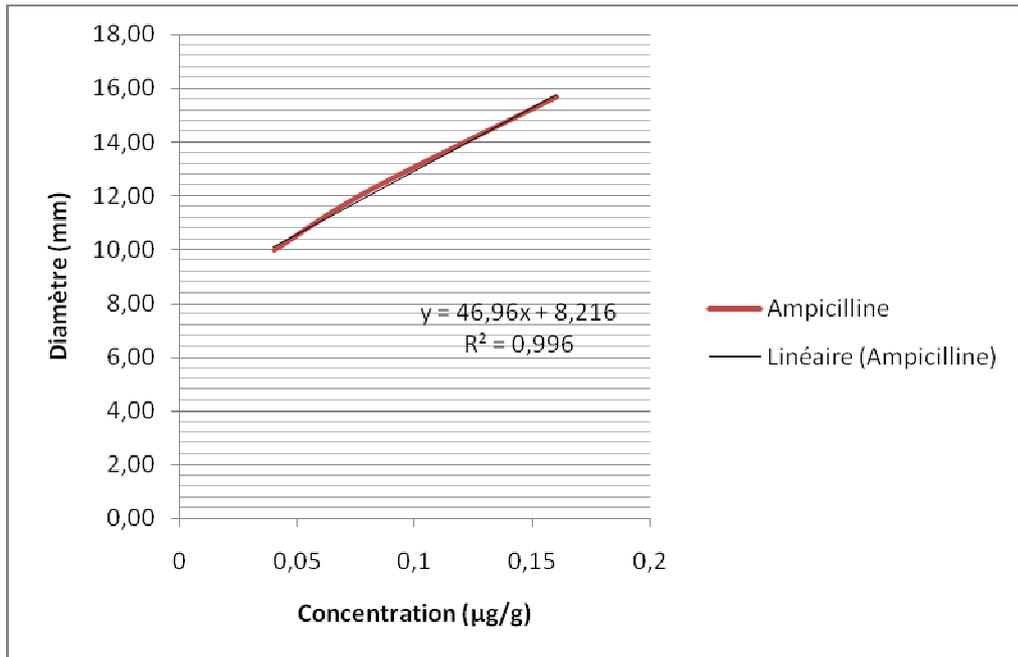


Figure 9 : Courbe étalon de l'Ampicilline dans l'albumen.

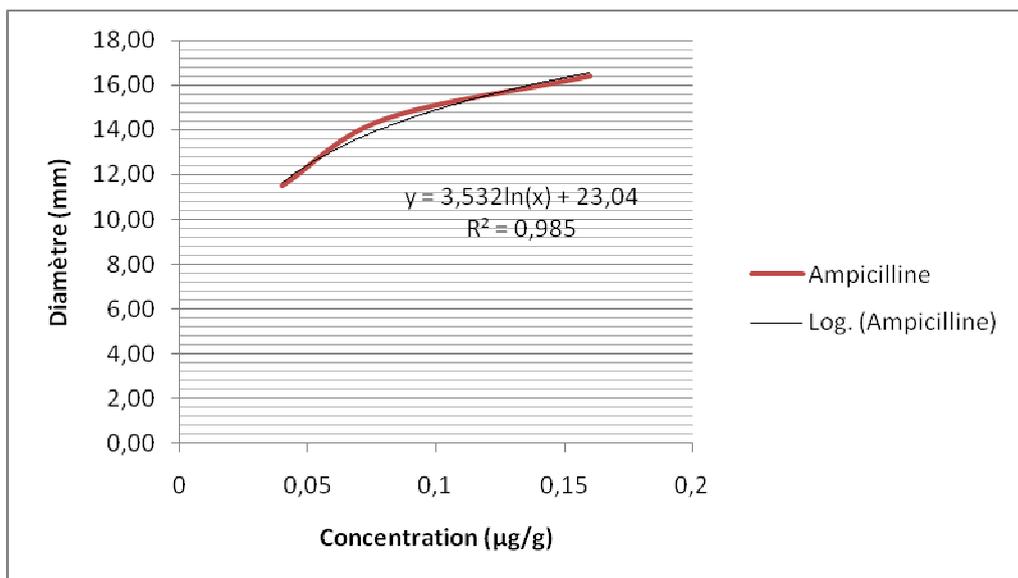


Figure 10 : Courbe étalon de l'Ampicilline dans le vitellus.

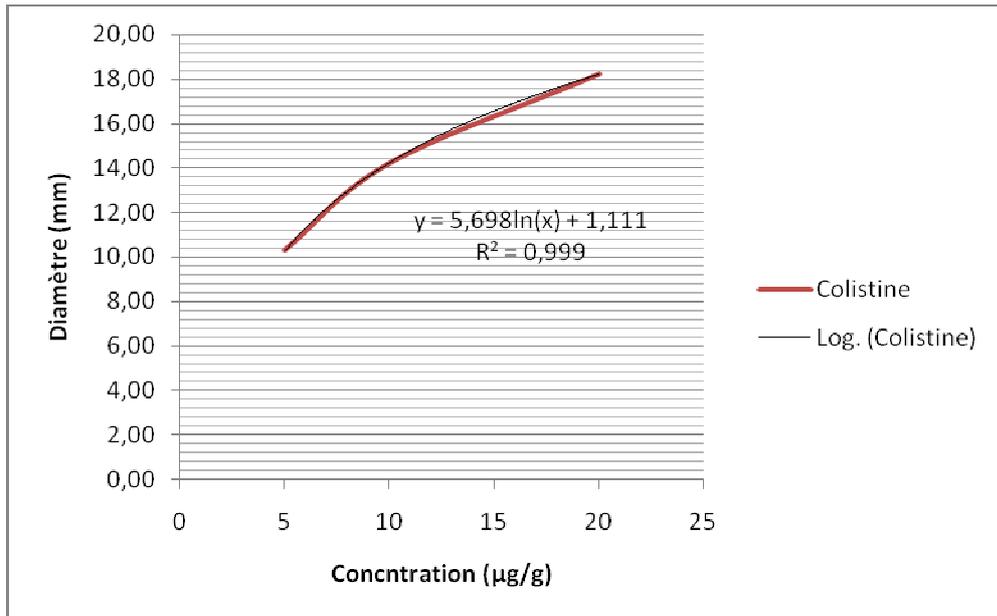


Figure 11 : Courbe étalon de la colistine dans l'albumen.

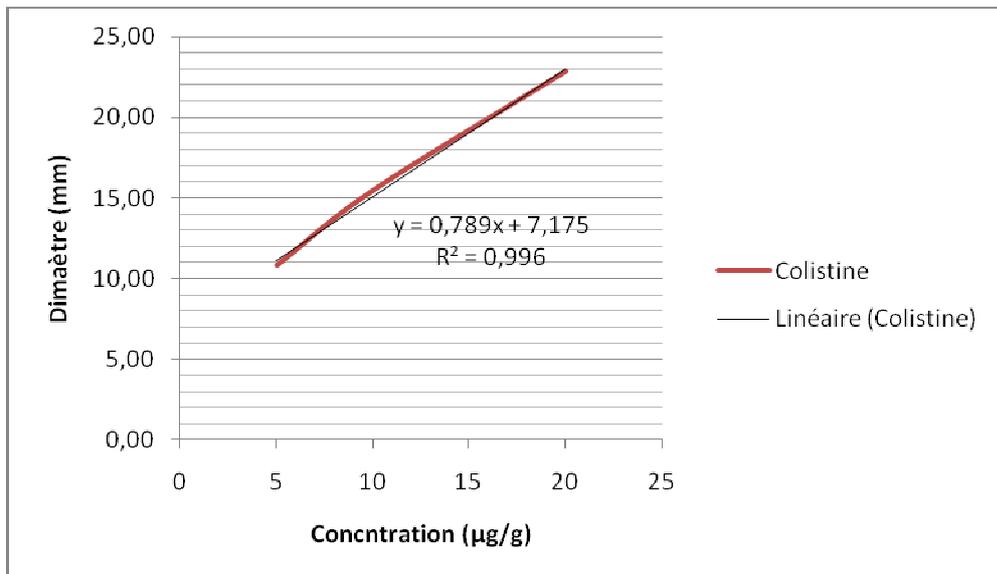


Figure 12 : Courbe étalon de la colistine dans le vitellus.

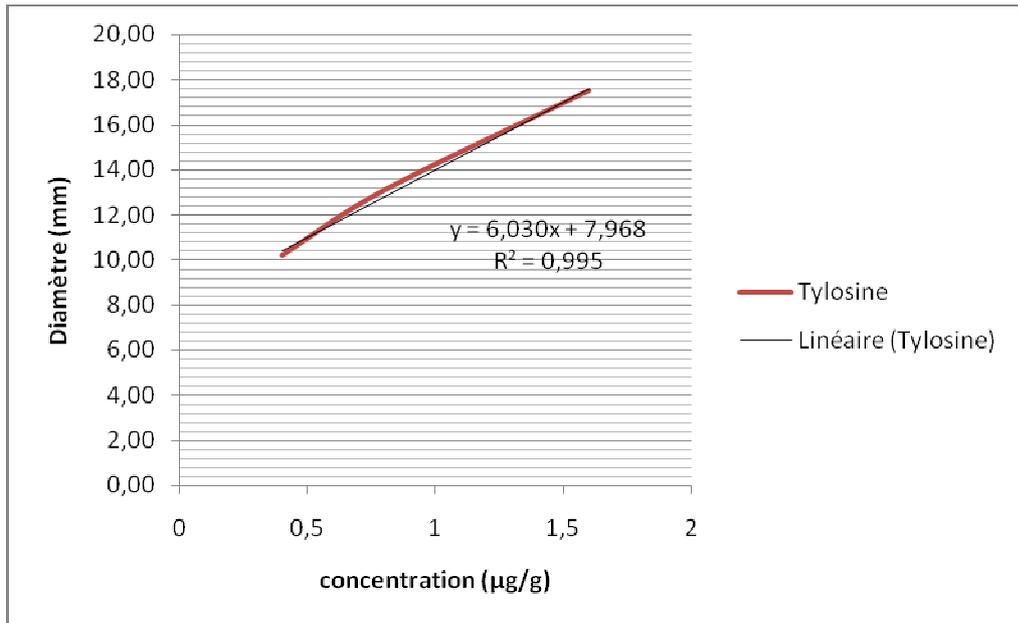


Figure 13 : Courbe étalon de la Tylosine dans l'albumen.

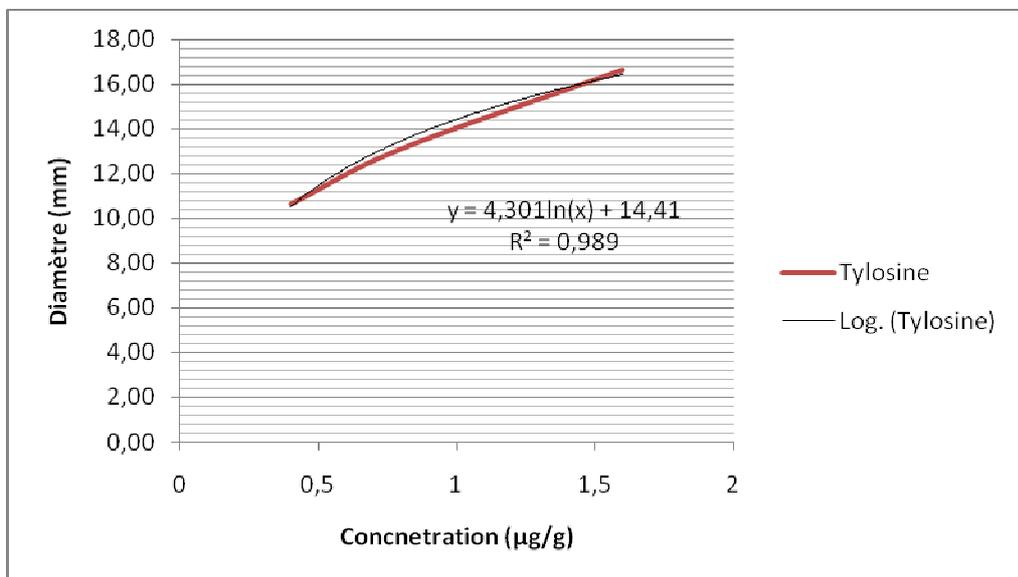


Figure 14 : Courbe étalon de la Tylosine dans le vitellus.

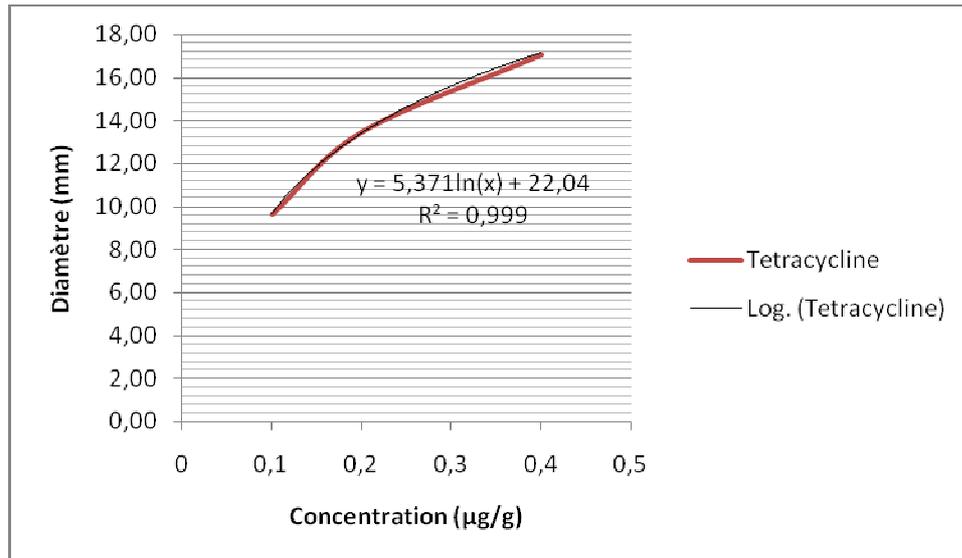


Figure 15 : Courbe étalon de la tétracycline dans l'albumen.

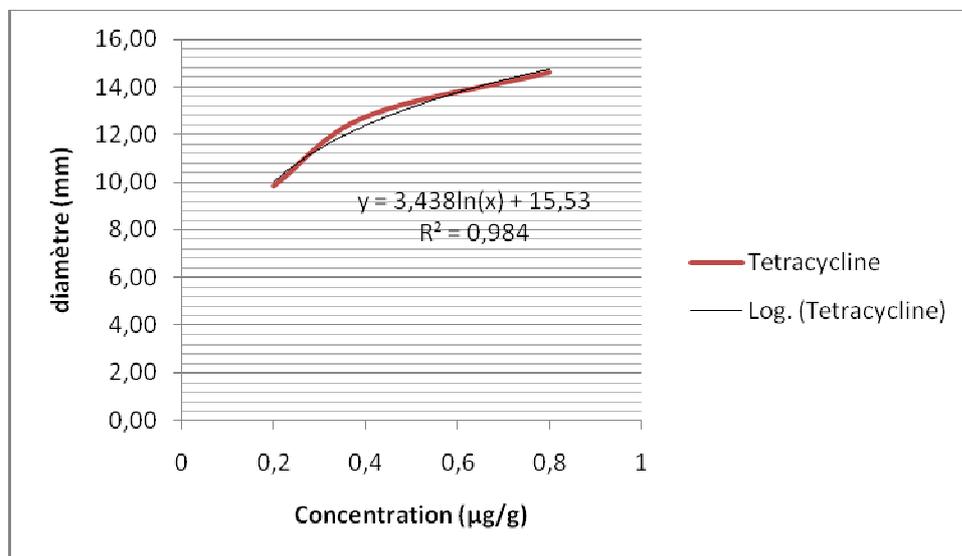


Figure 16 : Courbe étalon de la tétracycline dans le vitellus.

CHAPITRE 6

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats sont exprimés en mm pour les zones d'inhibition et en $\mu\text{g/g}$ pour les concentrations des résidus de différents antibiotiques, exception faite pour la colistine en UI/g. Pour chaque antibiotique et pour chaque mode d'administration, deux tableaux représentant les résultats bruts et les concentrations trouvées, et un graphe montrant la cinétique de l'élimination des antibiotiques dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier en fonction du temps sont conçus. La discussion est faite pour chaque antibiotique séparément.

Les résultats bruts sont traités, en utilisant la gamme étalon afin de déterminer la concentration dans chaque échantillon. Des moyennes ont été enregistrées durant chaque jour pendant le traitement et après l'arrêt du traitement avec leur écart – type (un modèle de calcul est présenté en p. 81). Dans le cas où il n'y a pas de mesure de zone d'inhibition, la valeur 0 est attribuée à l'échantillon concerné pour calculer la concentration moyenne. Les résidus dans l'œuf entier ont été calculés en tenant compte du poids respectif de l'albumen et du vitellus. Il faut prendre en considération les limites de quantifications (LOQ) ; Les résultats inférieurs aux LOQ ne seront pas pris en compte. Les LOQs représentent les concentrations en antibiotiques qui ont engendré des zones d'inhibition de 9mm de diamètre.

2.4. Le contrôle :

Durant l'expérimentation, les œufs du lot témoin servent comme « contrôle » de l'activité inhibitrice du lysozyme dans l'albumen. Dans le vitellus, c'est surtout

pour confirmer l'absence des résidus d'antibiotiques. Ainsi, ils ont été utilisés pour faire les gammes étalons pour les différents antibiotiques.

Aucune zone d'inhibition n'a été décelée dans les échantillons « contrôle » durant toute l'expérimentation, ni pour l'albumen ni pour le vitellus.

Cela est dû au traitement thermique bien appliqué sur l'albumen, et à l'absence des résidus d'antibiotique dans les œufs du contrôle, car ils sont prélevés du lot témoin qui ne recevait aucun traitement durant toute la durée de l'expérimentation.

2.4. Oxytétracycline :

2.4.1. Résultats obtenus après administration orale :

Dans le tableau (9), les résultats bruts sont montrés, pour chaque échantillon et pour chaque jour pendant le traitement et après l'arrêt du traitement par l'oxytétracycline administré oralement pendant 5 jours à la dose de 100 mg/kg de poids vif. Les échantillons sont mesurés quotidiennement jusqu'à l'élimination totale des résidus.

Les résidus de l'oxytétracycline apparaissent précocement dans l'albumen dès le 1^{er} jour du traitement (figure 18) mais elles n'apparaissent que tardivement dans le vitellus (un jour de retard).

Les concentrations maximales sont atteintes au 3^{ème} jour du traitement pour l'albumen et au 1^{er} jour après la fin du traitement pour le vitellus et décroissent rapidement dans les jours qui suivent. La concentration maximale obtenue est de 0,25 µg/g pour l'albumen et de 0,48 µg/g pour le vitellus (tableau 10).

La durée d'élimination de l'oxytétracycline est de 6 jours dans l'albumen et de 5 jours dans le vitellus.

Pour l'œuf entier, la concentration d'oxytétracycline éliminée est calculée en tenant compte du poids respectif de l'albumen et du vitellus.

Modèle de calcul des concentrations moyennes obtenues.

Exemple : les résultats bruts de l'oxytétracycline administré par voie orale à la dose de 100 mg/kg, obtenus au 6^{ème} jour après l'arrêt du traitement.

			(Y)		(X)
Œuf 1	Ech.1	Vit.	11,41		0,34
		Alb.	9,80		0,09
	Ech.2	Vit.	10,90		0,31
		Alb.	11,15		0,15
	Ech.3	Vit.	10,66		0,3
		Alb.	ND		0
			6		
Œuf 2	Ech.1	Vit.	10,25		0,29
		Alb.	9,73		0,09
	Ech.2	Vit.	ND		0
		Alb.	9,80		0,09
	Ech.3	Vit.	9,35		0,25
		Alb.	10,65		0,12
			11,41		0,34
Œuf 3	Ech.1	Vit.	10,42		0,11
		Alb.	ND		0
	Ech.2	Vit.	ND		0
		Alb.	10,02		0,28
	Ech.3	Vit.	10,02		0,1
		Alb.	10,02		

Depuis les diamètres (Y), on calcule les concentrations (X) en utilisant les équations des courbes étalons ^{1, 2}

¹⁻ Equation de la courbe étalon de l'oxytétracycline dans l'albumen : $y = 2,683\ln(x) + 16,32$

²⁻ Equation de la courbe étalon de l'oxytétracycline dans le vitellus : $y = 6,838\ln(x) + 18,82$

Calcul de la moyenne des concentrations dans le Vitellus :

Œuf 1 : $(Ech1+Ech2+Ech3)/3 = (0.34 + 0.31 + 0.3)/3 = 0,317$

Œuf 2 : $(Ech1+Ech2+Ech3)/3 = (0.29 + 0 + 0.25)/3 = 0,180$

Œuf 3 : $(Ech1+Ech2+Ech3)/3 = (0.34 + 0 + 0.28)/3 = 0,20$

Calcul de la moyenne des concentrations dans l'albumen :

$$\text{Oeuf 1 : } (\text{Ech1} + \text{Ech2} + \text{Ech3})/3 = (0.09 + 0.15 + 0)/3 = 0,080$$

$$\text{Oeuf 2 : } (\text{Ech1} + \text{Ech2} + \text{Ech3})/3 = (0.09 + 0.09 + 0.12)/3 = 0,100$$

$$\text{Oeuf 3 : } (\text{Ech1} + \text{Ech2} + \text{Ech3})/3 = (0.11 + 0 + 0.1)/3 = 0,070$$

Equation de l'écart type :

$$s = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

On retient l'équation de l'écart type corrigé :

$$s_{n-1} = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} = s \sqrt{\frac{n}{n-1}} \quad \text{Ou } \bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i), \text{ représente la moyenne.}$$

Moyennes obtenues et les écarts – type corrigés :

Vitellus	0,23
Ecart -type	0,072
<hr/>	
Albumen	0,08
Ecart -type	0,015

Tableau 9: Diamètre des zones d'inhibition (mm) pendant et après un traitement de l'Oxytétracycline à la dose de 100 mg/Kg par voie orale.

Temps en jours		PENDANT LE TRAITEMENT					APRES L'ARRÊT DU TRAITEMENT										
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
OXYTÉTRACYCLINE (Per Os)	Ech.1	Vit.	ND	11,5	11,7	13,9	12,9	13,0	12,8	14,0	11,9	11,6	11,4	ND	ND	NE	NE
		Alb.	ND	11,9	10,7	12,6	10,4	10,0	ND	11,1	11,4	11,1	9,80	9,51	ND	NE	NE
	Ech.2	Vit.	ND	12,1	11,2	11,8	12,3	12,4	12,2	11,9	11,3	11,1	10,9	10,1	ND	NE	NE
Ech.3	Alb.	11,5	10,6	13,3	11,1	12,9	12,5	11,4	9,85	ND	10,0	11,1	ND	9,33	NE	NE	
	Vit.	ND	10,5	12,6	13,3	13,8	13,9	13,7	13,5	12,7	12,5	10,6	9,90	9,5	NE	NE	
	Alb.	11,9	11,1	13,8	13,1	13,4	13,4	11,8	11,5	11,8	10,4	ND	10,8	ND	NE	NE	
Ech.1	Vit.	ND	11,5	13,4	14,2	14,7	14,8	14,6	14,3	13,5	12,2	10,2	9,51	ND	NE	NE	
	Alb.	11,2	10,0	13,0	12,3	12,6	12,1	11,1	10,8	11,1	9,84	9,73	ND	ND	NE	NE	
	Vit.	ND	11,1	11,4	13,7	12,5	12,6	12,4	13,8	11,5	11,3	ND	ND	ND	NE	NE	
Ech.2	Alb.	9,94	12,5	11,5	10,9	11,1	10,7	9,85	9,71	9,85	ND	9,80	9,72	ND	NE	NE	
	Vit.	ND	10,5	12,9	11,0	14,1	14,3	14,0	11,1	13,0	12,7	9,35	ND	ND	NE	NE	
	Alb.	11,6	12,9	13,5	11,5	13,1	12,6	11,5	10,1	11,5	10,2	10,6	ND	9,15	NE	NE	
Ech.3	Vit.	ND	ND	13,7	12,2	15,0	15,2	14,9	12,3	13,8	12,3	11,4	10,6	ND	NE	NE	
	Alb.	10,9	12,1	12,7	10,4	12,3	11,9	10,8	ND	10,8	ND	10,4	10,1	ND	NE	NE	
	Vit.	ND	11,3	13,2	11,6	14,5	14,6	14,4	11,7	13,3	13,1	ND	ND	9,56	NE	NE	
Ech.1	Alb.	9,80	10,7	11,3	12,9	10,9	10,6	9,71	11,4	9,71	9,61	ND	10,3	ND	NE	NE	
	Vit.	ND	11,7	10,6	13,0	11,7	11,8	11,6	13,2	10,7	10,5	10,0	9,31	9,34	NE	NE	
	Alb.	10,2	12,6	11,8	13,4	11,5	11,1	10,1	11,8	10,1	11,5	10,0	ND	ND	NE	NE	

ND : Non Décelable.

NE : Non effectué.

Vit. : Vitellus.

Alb. : Albumen.

Ech. : Échantillon.

Tableau 10 : Résidus de l'oxytétracycline ($\mu\text{g/g}$) dans l'albumen et le vitellus durant et après un traitement par voie orale : 100mg/kg pendant 5 jours

Temps en jours	PENDANT DE L'TRAITEMENT					APRES L'ARRÊT DU TRAITEMENT								
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Albumen	0,12	0,19	0,25	0,22	0,22	0,19	0,12	0,12	0,12	0,09	0,08	<0,07	<0,07	NE
Ecart-type	0,015	0,032	0,044	0,034	0,034	0,032	0,015	0,015	0,015	0,029	0,015			
Vitellus	ND	0,34	0,39	0,42	0,47	0,48	0,46	0,43	0,40	0,37	<0,24	<0,24	<0,24	NE
Ecart-type		0,015	0,023	0,028	0,033	0,034	0,032	0,027	0,024	0,008				
Oeuf entier	0,09	0,23	0,30	0,27	0,30	0,28	0,22	0,22	0,21	0,17	0,13	0,09	0,04	NE
Ecart-type	0,010	0,023	0,026	0,020	0,019	0,017	0,015	0,015	0,014	0,018	0,021	0,033	0,020	

ND : Non Décelable
NE : Non Effectué

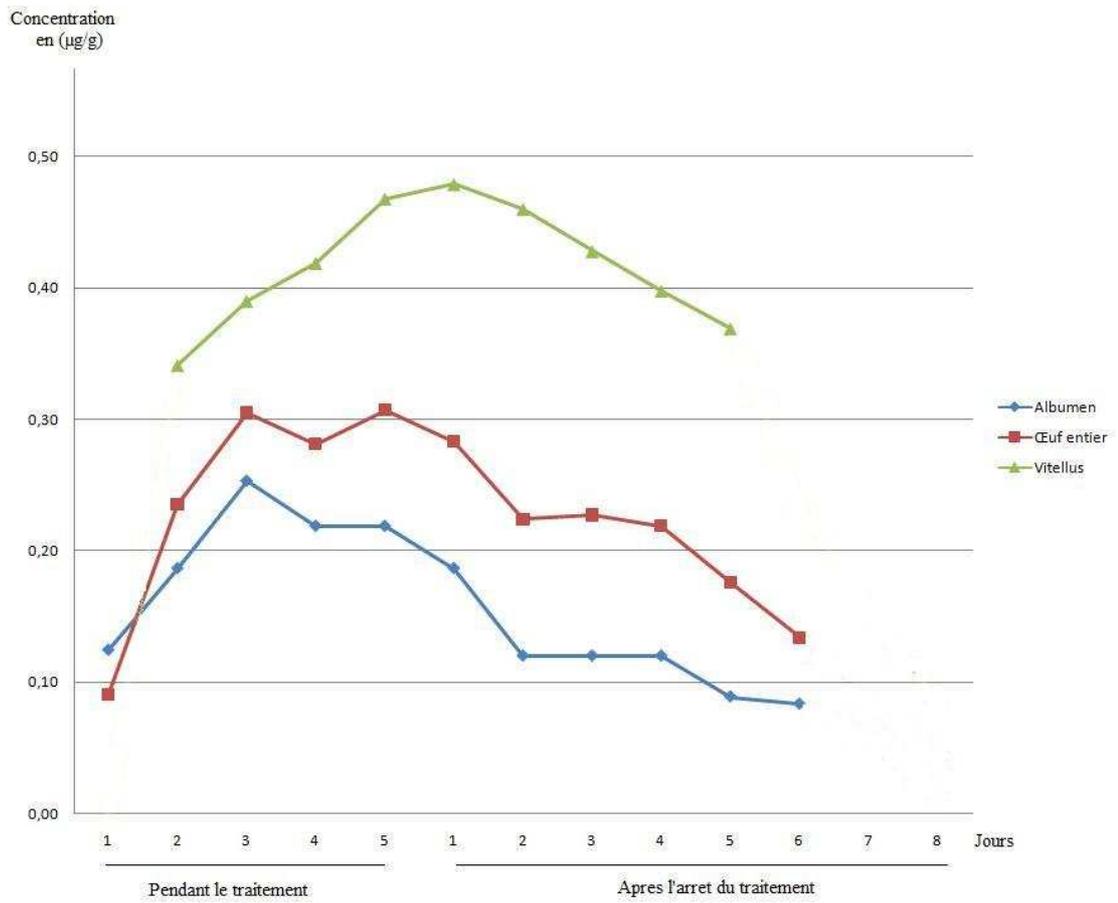


Figure 17: Evolution de la concentration en oxytétracycline ($\mu\text{g/g}$) dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier pendant et après l'arrêt d'un traitement par voie orale : 100mg/kg de poids vif pendant 5 jours

5.1.1. Résultats obtenus après administration intramusculaire :

Les résultats bruts sont montrés au tableau (11). Les zones d'inhibition sont calculées et notées quotidiennement pour l'ensemble des œufs, après administration par voie intramusculaire de l'oxytétracycline pendant 3 jours à la dose de 30 mg/kg. Les mesures sont faites quotidiennement jusqu'à l'élimination totale des résidus de l'oxytétracycline.

Les résidus de l'oxytétracycline apparaissent précocement dans l'albumen et tardivement dans le vitellus (vers le 3^{ème} jour du traitement).

Les concentrations maximales sont atteintes au 1^{er} jour après la fin du traitement pour l'albumen, et au 2^{ème} jour pour le vitellus. Les concentrations maximales obtenues par la voie intramusculaire sont de 2,34 µg/g pour le vitellus et de 2,72 µg/g pour l'albumen (tableau 12).

La durée d'élimination de l'oxytétracycline administré par voie intramusculaire était de 10 jours dans l'albumen et de 11 jours dans le vitellus (figure 19).

Pour l'œuf entier, la concentration d'oxytétracycline éliminée est calculée en tenant compte du poids respectif de l'albumen et du vitellus.

Ces résultats prennent en considération la limite de quantification dans l'albumen et le vitellus ; 0,07 µg/g pour l'albumen et 0,24 µg/g pour le vitellus. Des moyennes inférieures à ces limites sont trouvées et ne sont pas pris en compte, vu l'attribution dans le calcul de la moyenne la valeur 0 pour les échantillons où la zone d'inhibition était non décelable.

Tableau 11: Diamètres des zones d'inhibition (mm) pendant et après un traitement de 30 mg/kg d'oxytétracycline par voie IM.

Temps en jours		APRES L'ARRÊT DU TRAITEMENT															
		PENDANT LE TRAITEMENT			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
		1	2	3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
OXYTÉTRACYCLINE INJECTION	Gef 1	Ech.1	Vit.	ND	10,41	16,21	22,02	21,13	13,92	11,75	12,12	10,90	12,07	10,41	NE	NE	
			Alb.	ND	12,31	16,79	10,17	11,88	9,55	ND	10,88	ND	10,93	ND	10,93	ND	NE
		Ech.2	Vit.	ND	9,95	15,49	21,05	18,83	13,30	11,23	12,66	10,42	10,27	9,66	9,95	NE	NE
	Gef 2	Ech.1	Alb.	ND	15,99	16,80	12,61	10,50	11,85	11,42	9,71	11,20	9,66	9,98	NE	NE	
			Vit.	ND	10,16	17,52	23,59	21,30	14,91	12,59	10,21	11,68	11,62	11,16	NE	NE	
		Ech.3	Alb.	ND	13,67	17,80	13,76	13,07	12,34	12,28	11,83	10,16	11,61	11,35	ND	NE	NE
	OXYTÉTRACYCLINE INJECTION	Gef 3	Ech.1	Vit.	ND	ND	18,62	22,09	19,43	15,86	13,39	11,26	11,32	12,34	ND	ND	NE
				Alb.	ND	14,52	18,21	12,30	9,82	11,56	11,14	9,21	10,93	10,68	9,73	ND	NE
			Ech.2	Vit.	ND	10,10	17,97	20,35	18,57	13,49	11,39	10,77	10,57	11,91	10,10	ND	NE
Gef 1		Ech.1	Alb.	ND	16,37	18,48	10,87	12,18	10,22	9,85	11,42	9,66	9,53	ND	ND	NE	
			Vit.	ND	ND	14,49	21,15	20,81	15,26	12,89	12,07	10,95	9,60	11,42	ND	NE	
		Ech.3	Alb.	ND	15,24	16,52	12,78	12,62	12,01	11,57	11,83	11,35	9,97	10,11	ND	NE	
Gef 2		Ech.1	Vit.	ND	ND	15,98	23,65	20,63	16,21	13,69	11,83	10,70	10,60	12,13	NE	NE	
			Alb.	ND	16,09	17,32	12,02	11,61	11,29	10,88	11,14	10,68	ND	9,51	NE	NE	
		Ech.2	Vit.	ND	10,71	15,27	22,76	21,84	15,65	13,21	10,92	12,26	10,13	10,71	NE	NE	
Gef 3	Ech.1	Alb.	ND	13,14	17,44	10,72	10,36	10,07	9,71	9,85	9,53	11,20	ND	NE	NE		
		Vit.	ND	9,44	17,12	19,96	17,61	12,62	10,65	12,35	9,88	11,35	9,44	NE	NE		
	Ech.3	Alb.	ND	14,89	17,42	11,22	10,83	10,54	10,16	11,57	9,97	11,61	ND	NE	NE		

ND : Non Décelable.

NE : Non effectué.

Vit. : Vitellus.

Alb. : Albumen.

Ech. : Echantillon

Tableau 12: Résidus de l'oxytétracycline (µg/g) dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier pendant et après un traitement de 30 mg/kg par voie intramusculaire

Temps en jours	PENDANT LE TRAITEMENT			APRES L'ARRÊT DU TRAITEMENT												
	1	2	3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Albumen	ND	0,61	1,55	2,72	1,06	0,28	0,19	0,17	0,15	0,12	0,13	0,11	0,11	<0,07	ND	NE
Ecart-type		0,122	0,208	0,055	0,431	0,049	0,032	0,025	0,021	0,015	0,018	0,013	0,013			
Vitellus	ND	<0,24	0,73	1,77	2,34	2,22	1,58	1,21	0,55	0,39	0,35	0,32	0,33	0,27	ND	NE
Ecart-type			0,059	0,140	0,099	0,192	0,140	0,077	0,039	0,023	0,011	0,000	0,017	0,057		
Œuf entier	ND	0,48	1,31	2,43	1,43	0,92	0,66	0,48	0,27	0,20	0,20	0,17	0,18	0,11	ND	NE
Ecart-type		0,055	0,162	0,081	0,330	0,033	0,044	0,024	0,011	0,014	0,010	0,009	0,011	0,005		

ND : Non Décelable.
NE : Non Effectué.

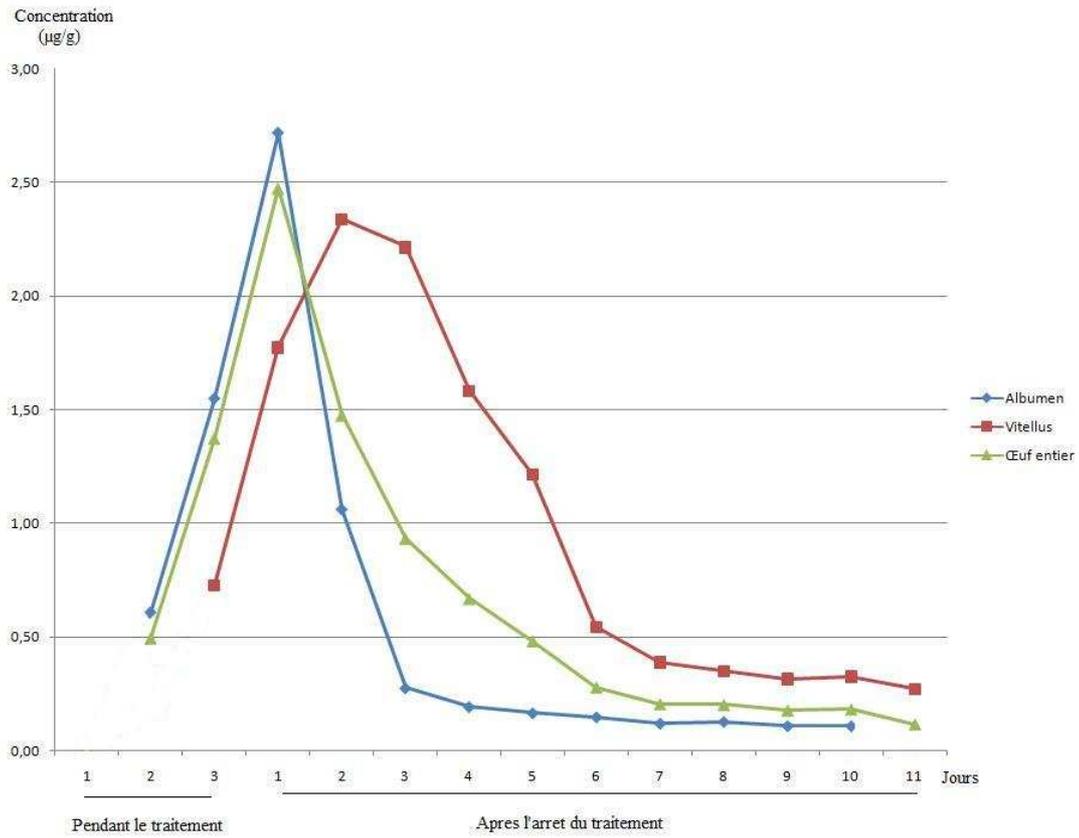


Figure 18 : Evolution des la concentration en oxytétracycline ($\mu\text{g/g}$) dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier pendant et après un traitement de 30 mg/g pendant 3 jours par voie intramusculaire.

5.1.2. Discussion :

Les résidus d'oxytétracycline apparaissent dans l'albumen avant d'apparaître dans le vitellus, en suivant les mécanismes mis en jeu pour la formation de l'œuf. Le dépôt des constituants du vitellus synthétisés dans le foie et apportés par le sang se fait d'une manière continue pendant 8 à 10 jours précédant l'ovulation durant la phase de grand accroissement. Tandis que les constituants d'albumen sont synthétisés localement par la paroi du magnum.

Les concentrations enregistrées sont plus élevées par la voie intramusculaire, que par la voie orale bien que la dose utilisée soit supérieure par la voie orale que la voie intramusculaire, respectivement de 100 mg/kg et 30 mg/kg, en plus le passage dans l'œuf est 20 fois supérieur par la voie intramusculaire que par la voie orale (Tableau 25). Cela s'explique par le fait que l'oxytétracycline administré par voie orale est incomplètement catabolisé, en plus il a été montré que les tétracyclines forment des liaisons bivalentes avec les ions Ca^{++} dans le tractus digestif, ce qui limite leur absorption [24, 68, 71].

Quelques études ont été réalisées par Yoshimura et al. (1991) [72] sur l'élimination de l'oxytétracycline dans les œufs de la poule pondeuse, des concentrations maximales ont été détectées, soit de 1,42 $\mu\text{g/g}$ dans le vitellus et 1,03 $\mu\text{g/g}$ dans l'albumen suite à un traitement de 7 jours avec une dose de 0,5 g/l. Omija et al. (1994) [73] ont constaté des concentrations maximales de 0,526 mg/kg et de 0,280 mg/kg pour le vitellus et l'albumen suite à un traitement de 7 jours à la dose de 800 mg/l. Roudaut et al. (1987) [68] ont trouvé des concentrations maximales de 0,48 $\mu\text{g/g}$ et 0,17 $\mu\text{g/g}$ pour le vitellus et l'albumen, cela respectivement, suite à un traitement de 5 jours à la dose de 0,5 g/l. Des études sur l'élimination de l'oxytétracycline dans l'œuf après l'administration par la voie intramusculaire, ont été faites par Roudaut et al. (1987) [68] et Huber (1971) [74]. Les périodes d'élimination étaient de 9 et 11 jours pour l'albumen et le vitellus après une injection de 30 mg/kg [68]. Huber (1971) a prouvé que les résidus de l'oxytétracycline persistent pendant 3 à 4 jours après injection de 44 mg/kg dans l'œuf entier [74].

Nos résultats, sont en accord avec ceux de Roudaut et al. (1987) [68] concernant la durée d'élimination après administration de 30 mg/kg pendant 3 jours d'oxytétracycline par voie intramusculaire. Pour la voie orale, nous avons obtenus des résultats proches de ceux obtenus par Roudaut et al. 1987 [68] concernant les doses maximales, mais nous avons utilisé une dose différente de (100 mg/kg) par rapport à la dose utilisés par ces derniers qui était de 60 mg/kg.

5.2. Erythromycine :

5.2.1. Résultats obtenus après administration par voie orale :

Les résultats bruts (tableau 13) sont notés quotidiennement après mesures des zones d'inhibition de différent échantillons d'œufs récoltés du lot N°2 durant la 1^{ère} essai, après administration de 20 mg/kg d'érythromycine par voie orale pendant 5 jours. Les mesures sont arrêtées au moment où aucune inhibition n'est décelée.

Les résidus de l'érythromycine apparaissent précocement dans l'albumen dès le 1^{er} jour du traitement et au 2^{ème} jour du traitement dans le vitellus. Les moyennes de concentration maximale observées étaient au 2^{ème} jour du traitement pour l'albumen de l'ordre de 0,19 µg/g et le lendemain du traitement pour le vitellus de 0,51 µg/g (tableau 14).

Les résidus persistent pendant 6 jours dans l'albumen et 5 jours dans le vitellus (fig. 20), la répartition du passage entre l'albumen et le vitellus est relativement égale (tableau 25).

Pour l'œuf entier, les concentrations d'érythromycine éliminée sont calculées en tenant compte du poids de l'albumen et du vitellus.

Ces résultats prennent en considération la limite de quantification dans l'albumen et le vitellus ; 0,05 µg/g pour l'albumen et 0,06 µg/g pour le vitellus. Des moyennes inférieures à ces limites sont trouvées et ne sont pas pris en compte, vu l'attribution dans le calcul de la moyenne la valeur 0 pour les échantillons où la zone d'inhibition était non décelable.

5.2.2. Discussion :

L'apparition précoce des résidus d'érythromycine dans l'albumen par rapport au vitellus est expliquée par les mécanismes de formation des deux constituants de l'œuf ; l'oviducte pour l'albumen et le foie pour le vitellus.

Nos résultats sont en accord avec les résultats trouvés par d'autres études sur l'élimination de l'érythromycine dans les œufs de la poule pondeuse. Roudaut et Morétain, (1990) [75] ont trouvé que les résidus apparaissent 1 à 2 jours après le début du traitement dans l'albumen, et 2 à 3 jours dans le vitellus. Ils ont constaté aussi que la concentration maximale dans l'albumen était de 0,10 UI/g pendant le traitement, et de 0,31 UI/g dans le vitellus le lendemain du traitement, avec une dose de 375000 UI/l.

Dans d'autres études [76], les résidus apparaissent dès le premier jour du traitement avec 0,194 µg/g dans l'œuf entier, une concentration maximale de 0,221 µg/g au lendemain d'un traitement de 3 jours a été constaté, avec une dose de 20 mg/kg. En plus, en utilisant la méthode LC/MS/MS, les résidus apparaissent dès le 4^{ème} jour du traitement et persistent jusqu'au lendemain du traitement après administration par voie orale de l'érythromycine pendant 7 jours avec une dose de 20mg/kg.

Nous avons constaté que la durée d'élimination dans le vitellus est inférieure que celle de l'albumen, cela est du probablement à la limite de quantification élevées dans le vitellus par rapport à l'albumen.

Tableau 14: Résidus de l'érythromycine ($\mu\text{g/g}$) dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier pendant et après un traitement par voie orale de 20 mg/kg pendant 5 jours.

Temps en jours	PENDANT LE TRAITEMENT					APRES L'ARRÊT DU TRAITEMENT								
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Albumen	0,08	0,19	0,15	0,17	0,15	0,12	0,10	0,09	0,08	0,07	0,05	<0,05	ND	NE
Ecart-type	0,037	0,042	0,041	0,024	0,025	0,030	0,035	0,042	0,038	0,035	0,045			
Vitellus	<0,06	0,18	0,34	0,41	0,42	0,51	0,38	0,34	0,18	0,08	<0,06	<0,06	ND	NE
Ecart-type		0,084	0,060	0,078	0,091	0,177	0,065	0,064	0,090	0,076				
Œuf entier	0,06	0,19	0,21	0,23	0,24	0,24	0,18	0,18	0,11	0,07	0,04	0,02	ND	NE
Ecart-type	0,019	0,053	0,047	0,036	0,024	0,034	0,028	0,023	0,016	0,036	0,031	0,020		

ND : Non Décelable
NE : Non Effectué.

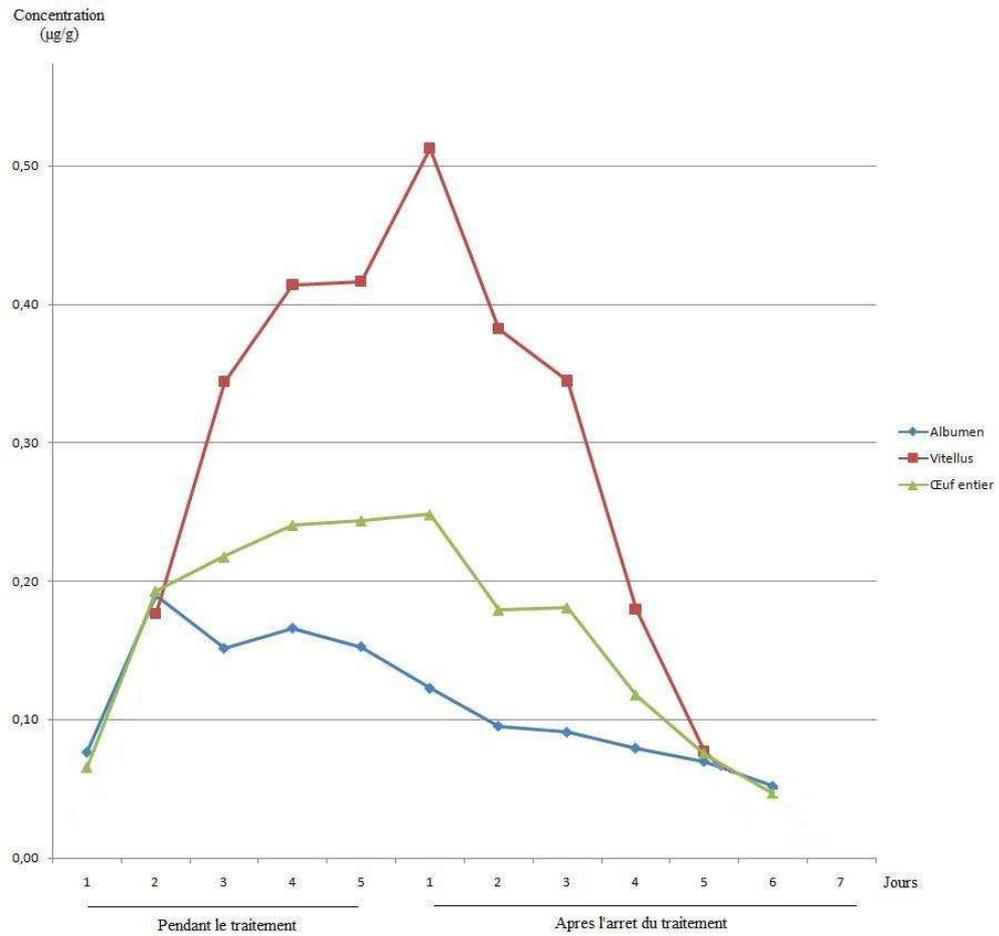


Figure 19 : Evolution de la concentration en érythromycine ($\mu\text{g/g}$) dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier pendant et après un traitement par voie orale de 30 mg/kg pendant 5 jours.

6.3. Tylosine :

6.3.1. Resultats obtenues :

Les résultats bruts figurants dans le tableau 15 concernant les zones d'inhibition des échantillons d'œufs pondus du lot 3 durant le 1er essai. Les poules recevaient de la tylosine durant 5 jours à la dose de 0,5 g/l. La mesure du diamètre des zones d'inhibition est arrêtée au moment où aucune inhibition n'est décelée.

Les résidus de la tylosine apparaissent dès le premier jour dans l'albumen et à partir du 4^{ème} jour dans le vitellus (Fig. 21). La moyenne de concentration maximale est observée au 5^{ème} jour pendant le traitement dans l'albumen avec 0,32 µg/g et au premier jour de la période après arrêt du traitement dans le vitellus avec 0,33 µg/g (tableau 16). La persistance des résidus était de 3 jours dans l'albumen et de 4 jours dans le vitellus. Pour le passage de la tylosine dans les différents constituants de l'œuf, environ deux tiers de la tylosine éliminé dans l'œuf entier passe dans l'albumen (tableau 25).

Ces résultats prennent en considération la limite de quantification dans l'albumen et le vitellus ; 0,17 µg/g pour l'albumen et 0,28 µg/g pour le vitellus. Des moyennes inférieures à ces limites sont trouvées et ne sont pas pris en compte, vu l'attribution dans le calcul de la moyenne la valeur 0 pour les échantillons où la zone d'inhibition était non décelable.

6.4.2. Discussion :

L'apparition des résidus dans l'albumen avant le vitellus est due aux mécanismes de formation des constituants de l'œuf (le foie pour le vitellus et l'oviducte pour l'albumen). Un retard significatif est observé pour l'apparition des résidus de la tylosine dans le vitellus, ceci est probablement dû à LOQ élevée dans le vitellus.

D'autres auteurs ont mentionné que la tylosine apparaît dès le deuxième jour d'un traitement avec 1 000.000 UI/l dans l'albumen et dès le 4^{ème} jour dans le vitellus. Des concentrations maximales de 0,25 UI/g et de 0,65 UI/g, ont été décelées dans l'albumen au 4^{ème} jour du traitement et dans le vitellus le lendemain du traitement. Les résidus persistent jusqu'au 3^{ème} jour après traitement dans le vitellus, ils ne sont pas détectés dans l'albumen après le premier jour de la période après l'arrêt traitement (Roudaut et Morétain., 1990) [75].

Ces résultats sont en accord avec les nôtres, même si la posologie est différente.

Tableau 15: Diamètres des zones d'inhibition (mm) pendant et après un traitement de 0,5 g/l de Tylosine par voie orale.

Temps en jours		PENDANT LE TRAITEMENT					APRES L'ARRÊT DU TRAITEMENT											
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
TYLOSINE (Per Os)	Gcf 1	Ech.1	Vit.	ND	ND	9,94	9,81	ND										
			Alb.	ND	9,90	9,65	ND	10,8										
		Ech.2	Vit.	ND	ND	9,90	10,3	10,3										
	Gcf 2	Ech.1	Alb.	9,66	ND	ND	10,8	11,1										
			Vit.	ND	ND	ND	10,3	9,61										
		Ech.2	Alb.	9,84	10,0	9,41	ND	11,1										
	Gcf 3	Ech.1	Vit.	ND	9,76	9,48	ND	10,0										
			Alb.	9,86	9,71	10,0	10,9	9,69										
		Ech.2	Vit.	ND	9,24	10,2	9,42	10,5										
Gcf 3	Ech.1	Alb.	9,54	10,0	10,5	9,67	10,4											
		Vit.	ND	9,15	9,77	10,7	ND											
	Ech.2	Alb.	9,90	9,98	9,78	11,2	9,97											
Gcf 3	Ech.1	Vit.	ND	9,81	9,78	ND	11,1											
		Alb.	9,43	9,87	10,9	10,5	9,57											
	Ech.2	Vit.	9,42	9,39	ND	10,5	11,2											
Gcf 3	Ech.1	Alb.	ND	ND	ND	ND	ND											
		Vit.	ND	ND	ND	ND	10,9											
	Ech.2	Alb.	ND	ND	11,2	10,0	ND											

ND : Non Décelable.

NE : Non effectué.

Vit. : Vitellus.

Alb. : Albumen.

Tableau 16 : Résidus de la Tylosine ($\mu\text{g/g}$) dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier pendant et après un traitement par voie orale de 0,5 g/l pendant 5 jours.

Temps en jours	PENDANT LE TRAITEMENT					APRES L'ARRÊT DU TRAITEMENT					
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	6
Albumen	0,19	0,22	0,29	0,29	0,32	0,28	0,25	0,17	<0,17	<0,17	ND
Ecart-type	0,109	0,110	0,104	0,144	0,214	0,167	0,046	0,164			
Vitellus	<0,28	<0,28	<0,28	<0,28	0,28	0,33	0,31	0,29	0,28	<0,28	<0,28
Ecart-type					0,062	0,102	0,050	0,156	0,138		
Œuf entier	0,15	0,21	0,27	0,28	0,30	0,29	0,27	0,21	0,16	0,12	0,04
Ecart-type	0,044	0,098	0,081	0,096	0,127	0,123	0,036	0,067	0,074	0,017	0,018

ND : Non Décelable.

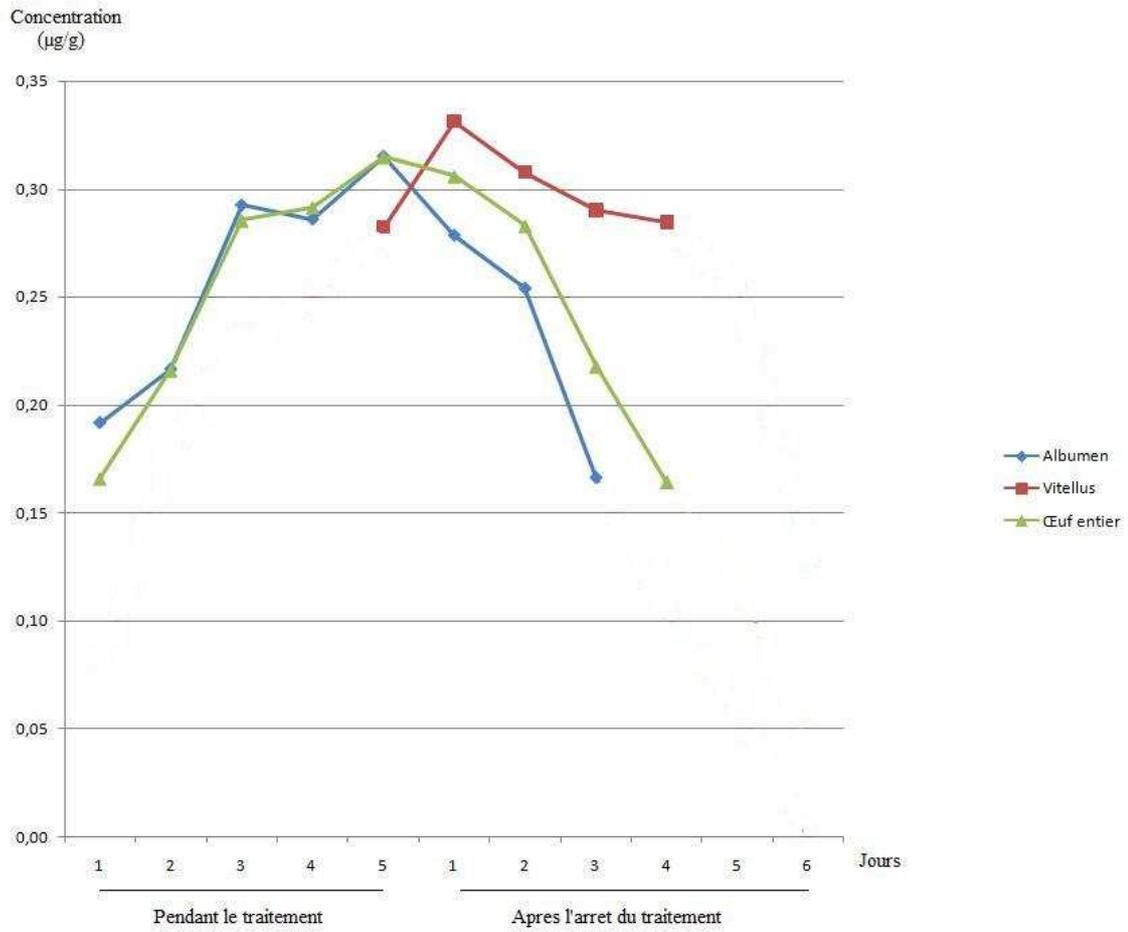


Figure 20: Evolution de la concentration en tylosine ($\mu\text{g/g}$) dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier pendant et après un traitement de 0,5 g/l par voie orale pendant 5 jours.

6.4. Colistine :

6.4.1. Résultats obtenus après administration par voie orale :

Les résultats bruts figurants dans le tableau (17) concernent les diamètres des zones d'inhibition des échantillons d'œufs pondus par les poules du lot N°4 durant le 1er essai, et qui recevaient de la colistine par voie orale pendant 5 jours à la dose de 75000 UI/kg.

Pour cet antibiotique, aucun résidu n'est décelable après administration par la voie orale, la même constatation a été faite par Roudaut (1989) [77] après administration du même antibiotique à raison de 90.000 UI/kg dans l'eau de boisson. Seulement, nous avons obtenu quelques données concernant quelques échantillons, qui n'ont pas dépassé après le calcul de la moyenne le seuil de la quantification. En plus, aucun résidu n'a été détecté après administration par la voie orale de 100.000 UI/Kg de la colistine incorporée dans l'alimentation [76].

Tableau 18: Résidus de la colistine (UI/g) dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier pendant et après un traitement de 75000 UI/kg par voie orale pendant 5 jours.

Temps en jours	PENDANT LE TRAITEMENT					APRES L'ARRÊT DU TRAITEMENT				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Albumen	<4	ND	ND	<4	<4	ND	ND	ND	ND	ND
Ecart-type										
Vitellus	ND	ND	<2,31	<2,31	<2,31	ND	ND	<2,31	<2,31	ND
Ecart-type										
Œuf entier	0,70	ND	0,09	0,88	0,65	ND	ND	0,10	0,12	0,70
Ecart-type	0,611		0,161	0,555	0,580			0,174	0,213	0,611

ND : Non Décelable

6.4.2. Résultats obtenus après administration par voie intramusculaire :

Les résultats bruts sont mentionnés au tableau (19). Les diamètres des zones d'inhibition est mesuré et noté quotidiennement pour l'ensemble des échantillons d'œufs, après une administration par voie intramusculaire de la colistine en une seule injection.

Une injection unique de 50.000 UI/kg a laissé des résidus dans le vitellus pendant 7 jours avec des concentrations allant jusqu'à 11,51 UI/g au 3^{ème} jour après traitement (tableau 20). Dans l'albumen, aucune inhibition n'est détectée sur l'ensemble des échantillons.

Ces résultats prennent en considération la limite de quantification dans l'albumen et le vitellus ; 4 UI/g pour l'albumen et 11,51 UI/g pour le vitellus. Des moyennes inférieures à ces limites sont trouvées et ne sont pas pris en compte, vu l'attribution dans le calcul de la moyenne la valeur 0 pour les échantillons où la zone d'inhibition était non décelable.

6.5.3. Discussion :

Le taux d'élimination de la colistine dans l'œuf entier était de 1% (tableau 25). L'absence des résidus dans l'albumen peut être traduite par une destruction partielle, une inclusion dans l'albumen coagulé durant le traitement thermique ou à cause de la concentration minimale décelable élevée. Par ailleurs, la colistine peut pénétrer en très petites quantités dans l'oviducte, et se déposer dans l'albumen à des concentrations très basses [77].

Dans l'œuf entier, les concentrations de la colistine administrée par la voie intramusculaire n'ont pas dépassé la limite maximale des résidus déterminée par la *Commission du Codex Alimentarius* (2009) : 6 UI/g. En revanche, la nécessité de répéter les injections s'oppose à l'utilisation de cet antibiotique dans la thérapeutique aviaire par cette voie d'administration.

Tableau 19: Diamètres des zones d'inhibition (mm) après administration de 50 000 UI/kg de la colistine par voie intramusculaire.

			APRES L'ARRÊT DU TRAITEMENT										
			PENDANT LE TRAITEMENT										
Temps en jours			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
COLISTINE INJECTION	Gf 1	Ech.1	Vit.	9,72	14,14	16,33	15,61	13,21	12,14	11,13	ND	NE	ND
			Alb.	ND	ND	NE	ND						
		Ech.2	Vit.	9,1	14,91	15,25	15,55	14,98	14,08	11,36	9,1	NE	NE
		Alb.	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	NE	ND
	Ech.3	Vit.	10,2	14,29	16,84	15,43	15,36	ND	ND	12,73	9,33	NE	ND
		Alb.	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	NE	ND
	Ech.1	Vit.	10,84	13,92	15,5	15,53	13	15,45	ND	ND	9,72	NE	ND
		Alb.	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	NE	ND
	Ech.2	Vit.	9,33	14,71	18,1	15,94	15,79	14,11	11,65	9,2	NE	NE	ND
	Alb.	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	NE	ND	
Ech.3	Vit.	10,61	13,08	15,25	15,14	15,17	14,4	12,25	10,42	NE	NE	ND	
	Alb.	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	NE	ND	
Ech.1	Vit.	10,89	13,77	17,15	15,61	14,86	13,48	11,6	ND	ND	NE	ND	
	Alb.	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	NE	ND	
Ech.2	Vit.	10,42	14,84	15,32	14,81	ND	10,79	13,02	ND	ND	NE	ND	
	Alb.	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	NE	ND	
Ech.3	Vit.	8,63	13,39	16,56	14,74	16,48	13,83	10,77	10,61	NE	NE	ND	
	Alb.	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	NE	ND	

ND : Non Décelable.

NE : Non effectué.

Vit. : Vitellus.

Alb. : Albumen.

Tableau 20: Résidus de la colistine (UI/g) dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier, après administration par voie intramusculaire de 50000 UI/kg en une seule injection.

Temps en jours	PENDANT LE TRAITEMENT										APRES L'ARRÊT DU TRAITEMENT									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Albumen	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	NE	ND
Ecart-type																				
Vitellus	3,54	8,80	11,51	10,39	8,65	7,17	5,23	<2,31											NE	ND
Ecart-type	0,372	0,368	0,133	0,351	1,281	2,236	1,032													
Œuf entier	1,09	2,57	3,84	3,49	2,60	2,26	1,57	0,70											NE	ND
Ecart-type	0,114	0,107	0,044	0,118	0,384	0,706	0,310	0,325												

ND : Non Décelable
NE : Non Effectué

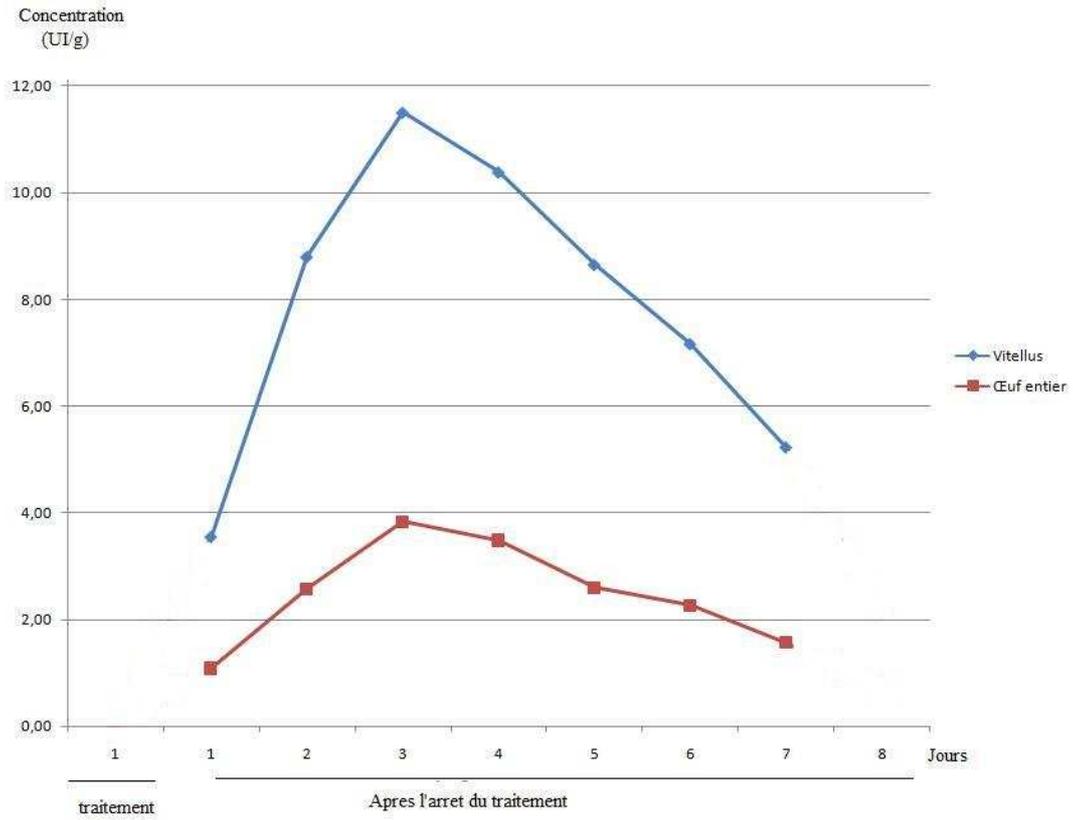


Figure 21 : Evolution de la concentration en colistine (UI/g) dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier après une seule injection de 50000 UI/g dans le muscle pectorale.

6.5. Ampicilline :

6.5.1. Résultats obtenus après administration par voie orale :

Les résultats bruts sont mentionnés au tableau (21). Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés et notés quotidiennement pour l'ensemble des œufs, après une administration par voie orale de l'ampicilline pendant 5 jours à la dose de 1,5 g/l.

Les résidus de l'ampicilline apparaissent dans l'albumen et le vitellus. Les résidus dans l'albumen sont susceptibles d'apparaître dès le premier jour du traitement mais ils ne sont détectés qu'au deuxième jour du traitement dans le vitellus. Ils persistent après la fin du traitement dans le vitellus, par contre, ils ne seront plus détectés dans l'albumen après la fin du traitement (Fig. 22).

Les moyennes de concentration maximales sont atteintes dans l'albumen au 2^{ème} jour du traitement avec 0,038 µg/g, et dans le vitellus au 4^{ème} jour du traitement avec 0,041 µg/g (tableau 22). Le pourcentage d'élimination de l'ampicilline dans l'œuf entier était de 0,0005 % (tableau 25).

Ces résultats prennent en considération la limite de quantification dans l'albumen et le vitellus ; 0,02 µg/g pour l'albumen et le vitellus. Des moyennes inférieures à ces limites sont trouvées et ne sont pas pris en compte, vu l'attribution dans le calcul de la moyenne la valeur 0 pour les échantillons où la zone d'inhibition était non décelable.

5.6.2. Discussion :

L'apparition des résidus de l'ampicilline dans l'albumen et le vitellus suit les mécanismes de formation des constituants de l'œuf (l'oviducte pour l'albumen et le foie pour le vitellus).

Roudaut et al. (1986) [70] ont mentionné que les résidus dans l'albumen apparaissent dès le premier jour avec une concentration de 0,004 µg/g après une

administration orale de 1,5 g/l, et n'atteignent que vers le 4^{ème} jour 0,008 µg/g ce qui constitue la concentration maximale dans l'albumen.

D'autres études faites par Roudaut et al. (1986) [70] sur l'élimination des résidus de l'ampicilline dans les œufs après administration par voie intramusculaire de 2×10mg/Kg à 6 h d'intervalle ont mentionné que les résidus persistent 2 jours pour l'albumen et 4 jours pour le vitellus après l'arrêt du traitement.

Dans le même contexte, Donoghue et al. (1997) [78] ont mentionné que les résidus d'antibiotiques apparaissent pour le vitellus dès la fin d'un traitement à l'ampicilline administré par la voie intramusculaire avec une dose de 40mg/kg pendant 1, 2 ou 3 jours et persistent jusqu'à 4, 5 ou 6 jours après la fin des traitement.

Nos résultats confirment ceux obtenus par Roudaut et al. (1986) [70] et par Archimbault et coll. [67] qui ont utilisé le même germe-test avec une sensibilité différente (0,01µg/g pour l'œuf entier, après un traitement dans l'aliment avec une posologie de 60 mg/kg d'ampicilline trihydrate pendant 6 jours.

Dans le tableau (26), sont indiquées les durées d'élimination des antibiotiques dans l'albumen et le vitellus. L'ampicilline est éliminée dans le vitellus pendant 2 jours après l'arrêt du traitement.

Tableau 21: Diamètres des zones d'inhibition (mm) pendant et après un traitement de 1,5 g/l de l'ampicilline par voie orale.

Temps en jours		PENDANT LE TRAITEMENT					APRES L'ARRÊT DU TRAITEMENT													
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10				
AMPICILLINE (Per Os)	G5 1	Ech.1	Vit.	ND	ND	12,4	11,3	9,46												
			Alb.	ND	10,8	9,68	ND	10,9												
		Ech.2	Vit.	ND	9,64	12,4	10,6	9,97												
		Alb.	10,6	11,1	ND	10,9	ND													
	G5 2	Ech.3	Vit.	ND	9,89	12,1	11,9	10,2												
			Alb.	ND	11,0	9,44	ND	ND												
		Ech.1	Vit.	ND	10,3	11,9	12,5	10,6												
		Alb.	10,8	10,6	10,0	11,1	10,7													
	G5 3	Ech.2	Vit.	ND	10,8	11,6	10,9	11,1												
			Alb.	9,54	10,4	10,5	9,78	10,4												
		Ech.3	Vit.	ND	11,0	11,1	12,4	11,4												
		Alb.	ND	9,91	10,8	ND	9,98													
	G5 3	Ech.1	Vit.	ND	11,5	10,4	12,6	11,8												
			Alb.	10,4	9,52	11,0	10,6	9,58												
		Ech.2	Vit.	ND	ND	9,88	12,2	11,9												
	Alb.	ND	ND	11,2	9,53	ND														
Ech.3	Vit.	ND	11,2	10,6	10,1	11,6														
	Alb.	9,94	ND	ND	10,1	ND														

ND : Non Décelable.

NE : Non effectué.

Vit. : Vitellus.

Alb. : Albumen.

Ech. : Échantillon.

Tableau 22: Résidus de l'ampicilline ($\mu\text{g/g}$) dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier, pendant et après un traitement de 1,5g/l par voie orale pendant 5 jours.

Temps en jours	PENDANT LE TRAITEMENT					APRES L'ARRÊT DU TRAITEMENT				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Albumen	0,024	0,038	0,036	0,031	0,025	<0,02	<0,02	ND	ND	ND
Ecart-type	0,006	0,026	0,015	0,011	0,019					
Vitellus	ND	0,024	0,038	0,041	0,033	0,028	0,025	<0,02	ND	ND
Ecart-type		0,008	0,011	0,004	0,009	0,011	0,001			
Œuf entier	0,017	0,034	0,037	0,033	0,028	0,017	0,010	0,005	ND	ND
Ecart-type	0,004	0,017	0,009	0,009	0,013	0,009	0,004	0,005		

ND : Non Décelable.

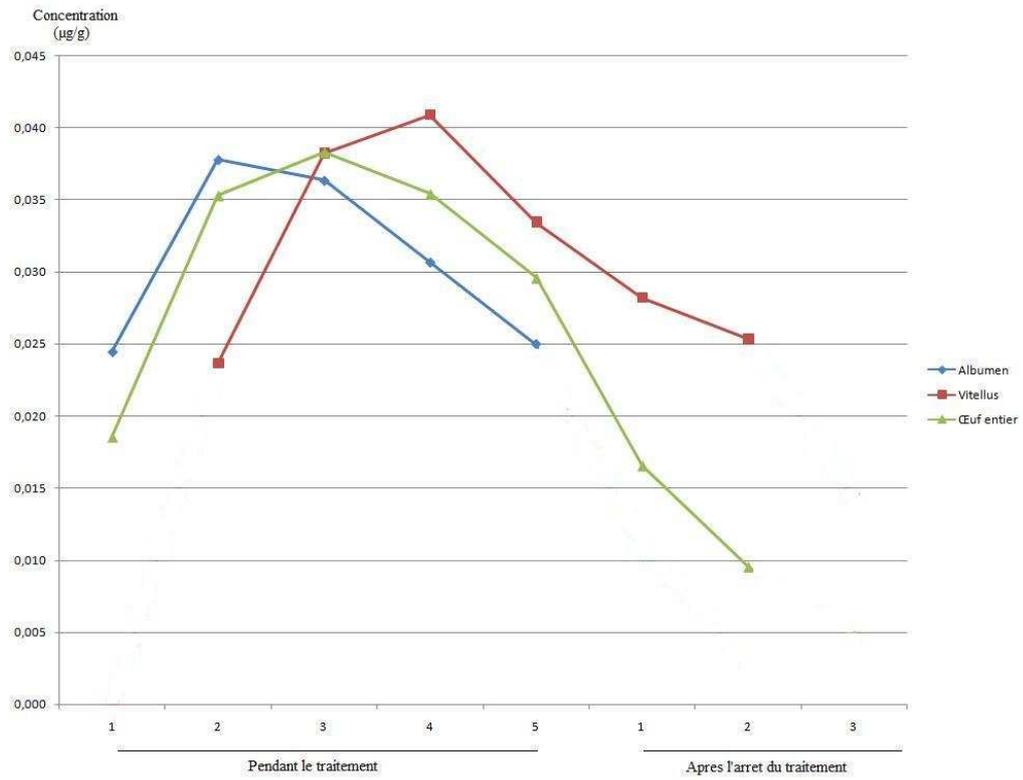


Figure 22 : Evolution de la concentration en ampicilline ($\mu\text{g/g}$) dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier pendant et après un traitement administré par voie orale de 1,5 g/l pendant 5 jours.

6.6. Tétracycline :

6.6.1. Résultats obtenus après administration par voie orale :

Les résultats bruts représentant les diamètres d'inhibition concernant l'élimination de la tétracycline dans l'albumen et le vitellus après administration de 50 mg/kg de tétracycline pendant 5 jours à des poules pondeuses du lot N°3 durant le 2^{ème} essai, sont notés quotidiennement dans le tableau (23). Les mesures ne sont arrêtées qu'au moment où aucune zone d'inhibition n'est décelée.

Les concentrations moyennes maximales sont atteintes dès le 4^{ème} jour du traitement dans l'albumen (0,24 µg/g) et au 2^{ème} jour après la fin du traitement dans le vitellus avec 2,03 µg/g (tableau 24). Les résidus persistent dans l'albumen durant 3 jours après la fin du traitement et allant dans le vitellus jusqu'au 9^{ème} jour (Fig. 24).

Les résidus de la tétracycline éliminés dans le vitellus représentent environ $\frac{3}{4}$ de la quantité totale éliminée dans l'œuf entier (tableau 25). Dans l'albumen, ils représentent environ $\frac{1}{4}$ bien que le poids total de celui-ci est estimé à 60 % de la masse totale de l'œuf.

Ces résultats prennent en considération la limite de quantification dans l'albumen et le vitellus ; 0,09 µg/g pour l'albumen et 0,15 µg/g pour le vitellus. Des moyennes inférieures à ces limites sont trouvées et ne sont pas pris en compte, vu l'attribution dans le calcul de la moyenne la valeur 0 pour les échantillons où la zone d'inhibition était non décelable.

6.7.2. Discussion :

Les résidus de la tétracycline apparaissent dans l'albumen dès le premier jour, puis dans le vitellus en suivant les mécanismes de formation de l'albumen (oviducte) et du vitellus (foie).

Les résidus de la tétracycline éliminés dans le vitellus représentent environ $\frac{3}{4}$ de la quantité totale éliminée dans l'œuf entier. Ceci peut être expliqué par le caractère lipo – solubilité des tétracyclines.

Roudaut et al. 1989 [69], et grâce à l'administration dans l'eau de boisson de 0,5 g/l de la tétracycline, ont trouvé des concentrations moyennes de 0,22 $\mu\text{g/g}$ au 3^{ème} jour du traitement dans l'albumen et 1,11 $\mu\text{g/g}$ dans le vitellus vers le 2^{ème} jour après la fin du traitement. La période d'élimination était de 2 jours pour l'albumen et de 9 jours pour le vitellus. Ceci est en accord avec les résultats que nous avons trouvés.

Tableau 24: Résidus des tétracyclines (µg/g) dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier pendant et après un traitement administré par voie orale de 50 mg/kg pendant 5 jours.

Temps en jours	PENDANT LE TRAITEMENT					APRES L'ARRÊT DU TRAITEMENT									
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Albumen	0,09	0,16	0,23	0,24	0,20	0,18	0,10	0,11	<0,09	<0,09	<0,09	<0,09	ND	ND	ND
Ecart-type		0,029	0,052	0,020	0,044	0,037	0,024	0,037							
Vitellus	<0,15	0,20	0,38	0,64	1,04	1,63	2,03	1,27	1,09	0,59	0,46	0,35	0,24	0,21	<0,15
Ecart-type		0,117	0,114	0,081	0,389	0,657	0,339	0,494	0,410	0,073	0,142	0,104	0,091	0,013	
Œuf entier	0,07	0,17	0,28	0,35	0,47	0,62	0,66	0,50	0,41	0,21	0,16	0,12	0,08	0,07	0,04
Ecart-type	0,025	0,019	0,004	0,030	0,095	0,176	0,109	0,142	0,100	0,033	0,034	0,036	0,030	0,004	0,021

ND : Non Décelable.

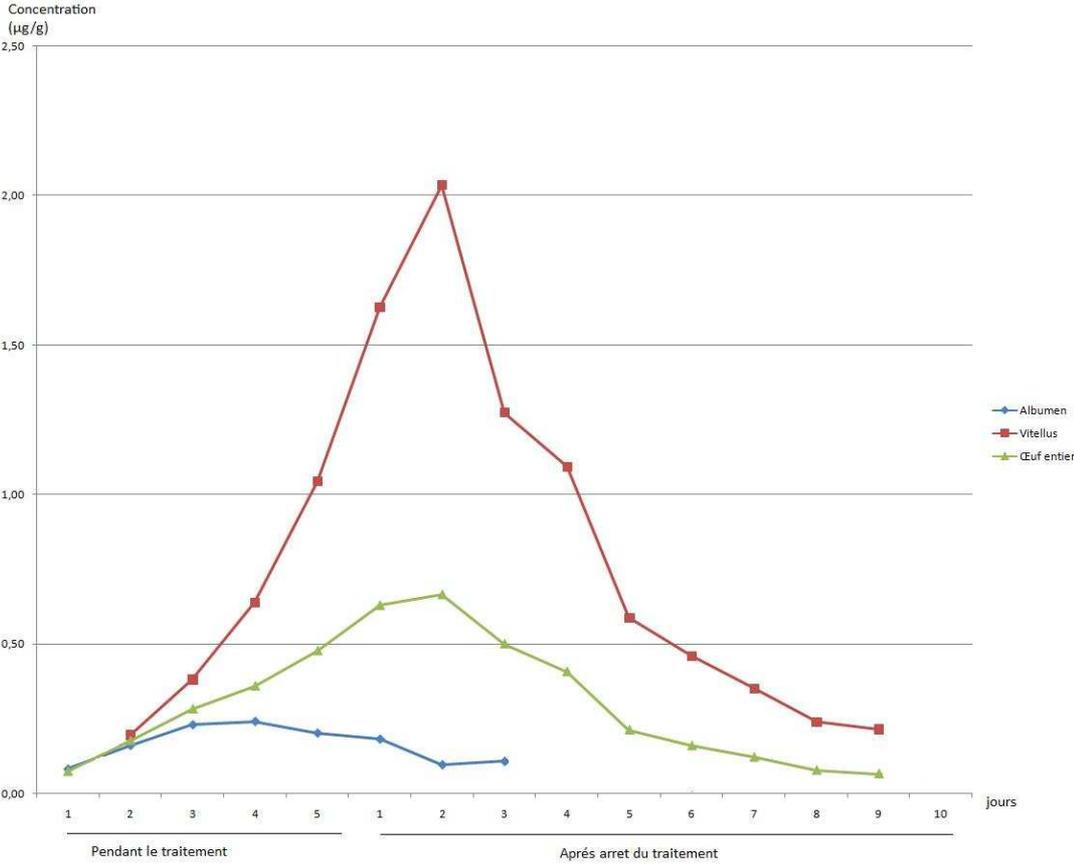


Figure 23: Evolution de la concentration en tétracycline (µg/g) dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier pendant et après un traitement administré par voie orale de 50 mg/kg pendant 5 jours.

6.8. Synthèse :

Quelques études ont évalué quantitativement des résidus de médicament dans des œufs de poules pondeuses traités expérimentalement avec des antibiotiques administrés par voie orale ou intramusculaire, en utilisant différentes méthodes, à savoir : méthodes microbiologiques et méthodes chromatographiques. Nous avons tenté de quantifier par cette étude une éventuelle présence d'antibiotiques dans les œufs en apportant une certaine connaissance de la cinétique de transfert et de l'élimination de ces résidus.

Nous avons trouvés des résultats variables concernant la vitesse d'élimination des antibiotiques, les pourcentages d'élimination et la sélectivité du transfert vers l'albumen ou le vitellus.

Les pourcentages d'élimination sont très variables en fonction des antibiotiques étudiés, ceux – ci correspondent à la répartition dans l'albumen (tableau 25). Le fait que l'albumen représente approximativement 60 % du poids de l'œuf, les pourcentages d'élimination ont été importants dans l'œuf entier.

Lors d'utilisation de la voie intramusculaire, les pourcentages d'élimination sont plus élevés (20 fois) que par la voie orale.

Les délais d'apparition des antibiotiques sont différents entre l'albumen et le vitellus. Pour la voie orale, les résidus apparaissent rapidement dans l'albumen (24 heures après le début du traitement), plus tardivement dans le vitellus (un à deux jours plus tard). Cela s'explique par le mode de formation du vitellus par accumulation des constituants qu'ils génèrent dans l'ovaire.

Le rapport de concentration (tableau 27) entre le vitellus et l'albumen a été supérieur à un pour la plupart des antibiotiques étudiés, sauf pour l'oxytétracycline qui a été administré par la voie intramusculaire.

On peut résumer les facteurs qui peuvent affecter les pourcentages d'élimination, la vitesse d'élimination et le transfert sélectif vers un compartiment donné en :

Tableau 25: Pourcentage d'élimination des antibiotiques dans l'albumen, le vitellus et l'œuf entier, et leurs répartitions

Antibiotiques	Voie d'administration	Dose Administrée	Pourcentage d'élimination (%)			Répartition de l'antibiotique (%)	
			Albumen	Vitellus	Œuf entier	Albumen	Vitellus
Oxytétracycline	orale	100 mg/kg.	0,0068	0,0072	0,0139	48,6	51,5
	intramusculaire	30 mg/kg.	0,1513	0,1164	0,2695	56,2	43,2
Erythromycine	orale	20 mg/kg.	0,0240	0,0248	0,0487	49,3	51,0
Tylosine	orale	0,5 g/l	0,0136	0,0074	0,0211	64,6	35,1
Ampicilline	orale	1,5 g/l	0,0003	0,0002	0,0005	60,9	38,9
Colistine	orale	75000 UI/kg	0,0114	0,0073	0,0186	61,2	39,0
	intramusculaire	50000 UI/kg	ND	ND	0,9980	ND	99,7
Tétracycline	orale	50 mg/kg.	0,0110	0,0351	0,0462	23,9	76,0

Tableau 26: Durée d'élimination des antibiotiques dans l'albumen, le vitellus, et l'œuf entier

Antibiotiques	Voie D'administration	Dose Administrée	Période D'élimination (Jours)		
			Albumen (1)	Vitellus (1)	Œuf entier (2)
Oxytétracycline	orale	100 mg/kg.	6	5	0
	intramusculaire	30 mg/kg.	10	11	5
Erythromycine	orale	20 mg/kg.	6	5	5
Tylosine	orale	0,5 g/l	3	4	0
Ampicilline	orale	1,5 g/l	0	2	-
Colistine	orale	75000 UI/kg	0	0	0
	intramusculaire	50000 UI/kg	0	7	0
Tétracycline	orale	50 mg/kg.	3	9	4

1 : en se référant à la limite de quantification.

2 : en se référant à la limite maximale des résidus

- Facteurs liés à l'antibiotique : Ce sont généralement les voies d'administration et les propriétés physico – chimiques des antibiotiques qui jouent un rôle principal dans le transfert des résidus, en particulier dans la répartition de ces résidus entre le vitellus et l'albumen :
- Les propriétés physico – chimiques :
 - Demi – vie et fixation aux protéines plasmatiques : Certains antibiotiques possèdent une demi-vie plasmatique extrêmement courte dans le milieu sanguin de poule pondeuse ce qui limite le passage supplémentaire après arrêt du traitement comme pour l'ampicilline de 1 – 4 h. Par contre, la demi-vie est relativement longue pour les tétracyclines (9 h).
 - Liposolubilité et hydro-solubilité des antibiotiques : les antibiotiques ; érythromycine, oxytétracycline **et** tétracycline, ont un rapport de concentration Vitellus/Albumen supérieur à 2 (tableau 27), ceci est dû à une affinité pour le vitellus. Cette affinité est expliquée par le caractère liposolubilité de ces antibiotiques et richesse des vitellus en lipides. En revanche, l'albumen par sa nature, se rapproche d'un milieu extracellulaire, d'où le transfert sélectif des acides faibles constaté pour l'acide oxolinique [79].
 - Le poids moléculaire : les molécules volumineuses de la colistine sont incapables de traverser les membranes tissulaires d'où une très faible diffusion tissulaire et un court séjour de cet antibiotique au niveau plasmatique et peut expliquer en partie l'absence de résidus de la colistine dans l'albumen.
- La voie d'administration des antibiotiques : limite ou prolonge la durée de persistance dans l'organisme surtout pour les tétracyclines qui ont la propriété de former des complexes ou chélates avec certains ions (notamment le calcium et le magnésium).
- Facteurs liés à l'animal (poule) :
 - Les mécanismes de formation de l'albumen et du vitellus : le vitellus est constitué de lipoprotéines, et de protéines en plus des minéraux et

pigments. Ces substances sont synthétisées par le foie et déposées majoritairement durant la phase du grand accroissement. Par contre, Les protéines de l'albumen sont synthétisées localement par la paroi du magnum entre chaque passage entre deux vitellus.

- Certains facteurs qui ne sont pas évoqué dans cette étude comme : l'âge, la race, la température, ...etc. ont probablement une influence sur le processus d'élimination des antibiotiques dans les œufs. D'autre étude complémentaire peuvent éclaircir cette théorie.

Tableau 27: Concentrations maximales obtenues dans l'albumen et le vitellus et rapports de concentration

Antibiotiques	Voie d'administration	Dose administrée	Concentration Maximale ($\mu\text{g/g}$)		Rapport Vitellus/Albumen
			Albumen	Vitellus	
Oxytétracycline	orale	100 mg/kg.	0,22	0,48	2,18
	intramusculaire	30 mg/kg.	2,72	2,34	0,86
Erythromycine	orale	20 mg/kg.	0,19	0,51	2,68
Tylosine	orale	0,5 g/l	0,32	0,33	1,03
Ampicilline	orale	1,5 g/l	0,038	0,041	1,08
Collistine	orale	75000 UI/kg	≤ 4	$\leq 2,31$	-
	intramusculaire	50000 UI/kg	≤ 4	11,41	-
Tétracyclines	orale	50 mg/kg.	0,24	2,03	8,46

CONCLUSION

Les résidus d'antibiotiques, après utilisation thérapeutique de ces substances chez la poule pondeuse engendrent des risques réels de contamination des constituants de l'œuf. De ce fait, le temps d'attente est à définir avant la livraison à la consommation de ces produits et à moduler en fonction du produit administré, de la voie d'administration utilisée et la dose administrée, car de ces trois paramètres dépendent la présence des résidus d'antibiotiques.

En dépit de ses carences (manque de productivité, inapplicable à certains antibiotiques) la méthode de détection des résidus d'antibiotiques par diffusion en gélose apparaît comme une méthode simple, bon marché et sensible. Elle a l'avantage en outre de s'appliquer à d'autres productions que l'œuf et permet de définir les délais déjà fixés, elle servira longtemps de méthode idéale pour contrôler la salubrité des denrées alimentaires d'origine animale. Parallèlement des techniques analytiques plus perfectionnées vont se développer en Algérie d'où une sensibilité et une spécificité encore plus grandes, mais au risque de voir les délais d'attente s'allonger considérablement au cas où on maintiendrait le principe de l'absence de tolérance pour les résidus d'antibiotiques.

A l'issue de cette étude, nous avons jugé indispensable de proposer les délais d'attente (tableau 28) pour chaque antibiotique, selon la voie d'administration, lors de son administration chez la poule pondeuse aux doses recommandées. A titre de précaution, 2 jours ou 30% sont ajoutés aux délais durant lesquels des résidus ont été détectés avec une concentration inférieure ou proche aux limites maximales des résidus, pour garantir une marge de sécurité pour la santé du consommateur [80].

Nous attendons à ce que cette étude apporte un plus dans la compréhension du processus d'élimination des antibiotiques étudiés dans les

œufs de poule pondeuse, apporte des informations utiles, avec d'autres études, pour la détermination des temps d'attente par le législateur Algérien, et éventuellement fixer des LMRs propres à l'Algérie.

Tableau 5: Délais d'attente proposés.

Antibiotiques	Voie D'administration	Posologie	Durée Du Traitement	LMR**	Délais D'attente Proposés*
Oxytétracycline	orale	100 mg/kg	5 jours	400	2 jours
	intramusculaire	30 mg/kg	3 jours	400	7 jours
Erythromycine	orale	20 mg/kg	5 jours	50	7 jours
Tylosine	orale	0,5 g/l	5 jours	300	2 jours
Colistine	orale	75000 UI/kg	5 jours	300	2 jours
	intramusculaire	50000 UI/kg	1 jour	300	2 jours
Tétracycline	orale	50 mg/kg	5 jours	400	6 jours
Ampicilline	orale	1,5 g/l	5 jours	10***	4 jours

* : Pour l'œuf entier

** : en µg/kg.

*** : proposé par Roudaut (1987).

Il est attendu des ministères de l'agriculture et de la santé publique :

- De définir les normes de tolérance en urgence sur le plan national pour que l'éleveur puisse continuer à bénéficier de ces thérapeutiques irremplaçables et afin d'épargner la santé du consommateur.

- D'établir un temps d'attente pour chaque antibiotique utilisé chez la poule pondeuse avant la commercialisation des œufs afin de protéger la santé du consommateur.
- De fixer pour l'œuf entier une limite maximale de résidus pour les antibiotiques utilisés chez la poule pondeuse.
- D'arrimer les limites maximales de résidus et les temps d'attente aux normes universelles et de se référer aux études qui ont été réalisés récemment avant l'élaboration de toute réglementation.

APPENDICE A

LISTE DES ABREVIATIONS

Alb. : Albumen

ATCC : American Type Culture Collection

B.H.I.B: Brain-Heart Infusion Broth.

DJA : Dose Journalière Admissible.

Ech. : Echantillon.

HPLC-MS: High Performance Liquid Chromatography Mass Spectrometry

JECFA: Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives

LMR : limites maximales de résidus.

LOQ : limite de quantification.

ND : Non Décelable.

NE : Non Effectué

OMS : Organisation mondiale de la santé.

UFC : Unité Forming Colonie

Vit : Vitellus.

APPENDICE B

Production journalière d'œufs durant la période d'acclimation

Tableau 6: Production journalière d'œufs durant la période d'acclimation.

		Lot n°1	Lot n°2	Lot n°3	Lot n°4	Lot n°5	TOTAL
1	Matin	0	0	0	0	1	4
	Soir	1	0	1	1	0	
2	Matin	0	1	0	0	1	12
	Soir	3	1	2	3	1	
3	Matin	0	2	0	3	1	10
	Soir	0	1	2	1	0	
4	Matin	2	3	2	3	1	14
	Soir	2	0	0	1	0	
5	Matin	2	2	1	2	2	17
	Soir	1	1	1	3	2	
6	Matin	2	1	3	3	3	12
	Soir	0	0	0	0	0	
7	Matin	2	3	1	2	2	16
	Soir	1	1	0	1	3	
8	Matin	1	3	2	2	2	16
	Soir	0	2	2	2	0	
9	Matin	2	4	4	3	0	19
	Soir	2	1	1	2	0	
10	Matin	3	4	3	2	1	15
	Soir	0	0	0	1	1	
11	Matin	2	2	3	2	3	15
	Soir	0	2	0	1	0	
12	Matin	2	3	2	3	4	17
	Soir	1	0	1	1	0	
13	Matin	3	5	3	2	3	20
	Soir	1	0	1	1	1	
14	Matin	4	4	3	4	3	21
	Soir	0	0	1	1	1	
15	Matin	5	4	5	3	3	22
	Soir	0	0	0	1	1	

APPENDICE C

Formule de différents milieux de culture

Antibiotic Medium 1, Difco™: pH 6.55 ± 0.05 à 25 °C

Composition (Par Litre) :

Extrait de viande	1.5 g
Extrait de levure	3.0 g
Digestion pancréatique de la caséine.....	4.0 g
Peptone	6.0 g
Dextrose.....	1.0 g
Agar	15.0 g

Antibiotic Medium 8, Difco™: pH 5.85 ± 0.05 à 25 °C

Composition (Par Litre) :

Extrait de viande.....	1.5 g
Extrait de levure	3.0 g
Peptone	6.0 g
Agar	15.0 g

Antibiotic Medium 10, Difco™ : pH 7.25 ± 0.05 à 25 °C

Composition (Par Litre) :

Digestion pancréatique de la caséine.....	17.0 g
Peptone de soya.....	3.0 g
Dextrose	2.5 g
Chlorure de sodium.....	5.0 g

Phosphate Di potassique.....	2.5 g
Agar	12.0 g
Polysorbate 80	10.0 g

Antibiotic Medium 11, Difco™ : pH 7.95 ± 0.05 à 25 °C

Composition (Par Litre) :

Extrait de viande.....	1.5 g
Extrait de levure.....	3.0 g
Digestion pancréatique de la caséine.....	4.0 g
Peptone.....	6.0 g
Dextrose	1.0 g
Agar	15.0 g

Milieu B.H.I.B: (Brain Heart Infusion Broth)

Composition (par litre) :

Protéose peptone.....	10 g.
Infusion de cervelle de veau.....	12, 5 g.
Infusion de cœur de bœuf.....	5 g.
Chlorure de sodium.....	5 g.
Phosphate disodique.....	2,5 g.
Glucose.....	2 g.

APPENDICE D

Formule des différents tampons.

- pH4.5 : phosphate monopotassique 13.6 g
Eau distillé800ml
- pH6.0 : phosphate monopotassique.....8g
Phosphate dipotassique 2g
Eau distillé.....1000ml.
- pH8.0 : Phosphate monopotassique0.523g.
Phosphate dipotassique16.73g.
Eau distillé.....1000ml

Ajuster le pH par addition de NaCl ou NaOH solution. Stériliser à 121 °C pendant 15 mn.

APPENDICE E :

Réalisation de la courbe étalon

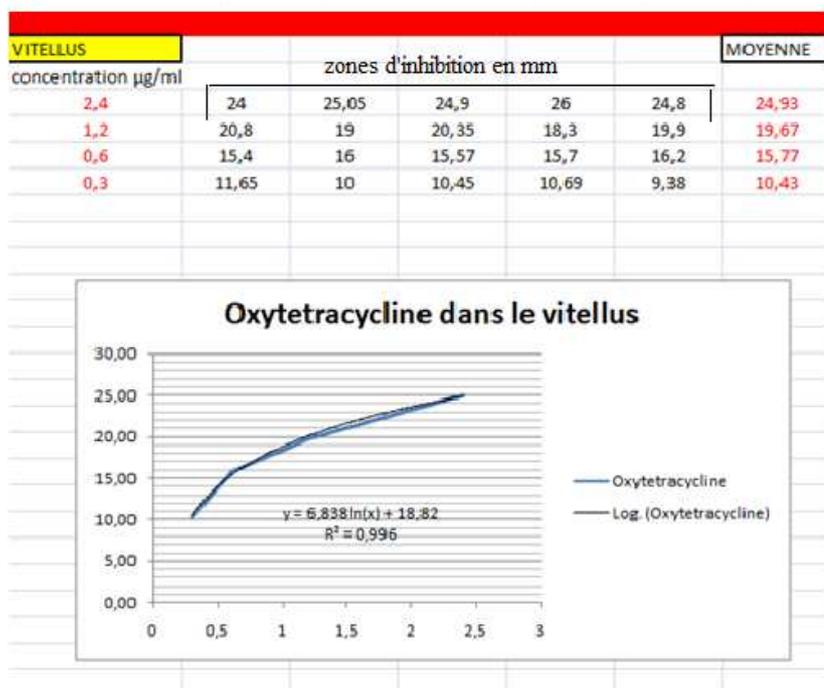
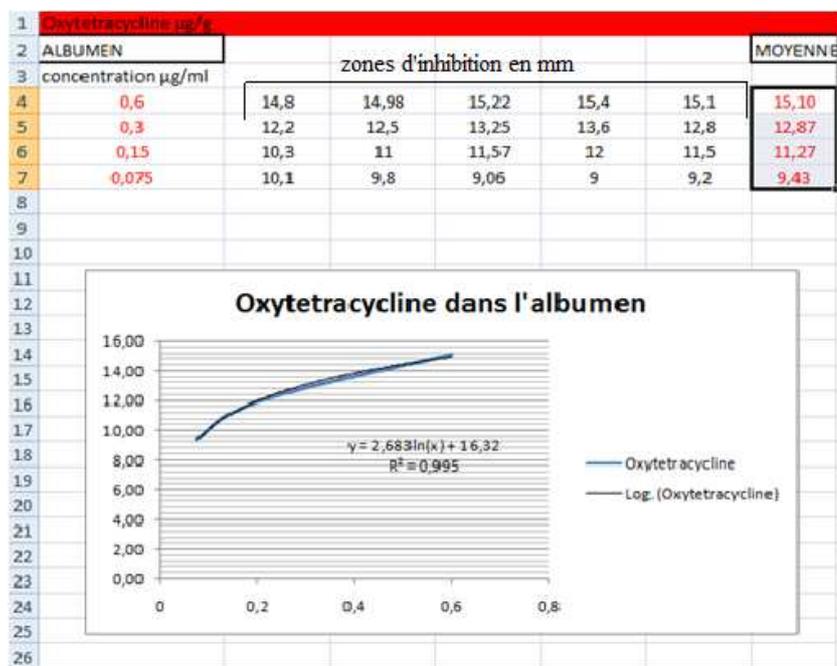


Figure 24: Exemple : réalisation de la courbe étalon à l'aide de Microsoft Excel.

REFERENCES

1. "Données statistiques N°317", Office National des statistiques, Alger.
2. Sauveur, B., "Reproduction des volailles et productions d'œufs", INRA, Paris, (1988).
3. Souilem, O., et Gogny, M., "Particularités de la physiologie digestive des volailles", *Revue Méd. Vét.* V. 145, (1994), 525 - 537.
4. Anadon, A., Martinez-Larranaga, M.R. et Diaz, M.J., "Pharmacokinetics of tetracycline in chickens after intravenous administration", *Poultry Science*, V. 64, (1985), 2273-2279.
5. Anadon, A., Martinez- Larranaga, M.R. et Fernandez-Cruz, M.L., "Considérations physiologiques et pharmacologiques en thérapeutique aviaire". *Revue.Méd.Vét*, V. 144, (1993), 745-757.
6. Brigitte, ROUDAUT., "Antibiothérapie chez la poule pondeuse, etude des residus d'antibiotiques dans les œufs", INPT, Toulouse, (1997).
7. Dorrestein, G.M., Van Gogh, M. et Rinzema, J.D., "Pharmacokinetic aspects of penicillins, aminoglycosides and chloramphenicol in birds compared to mammals. A review", *Vet. Quart*, V. 6, (1984), 216 - 224 .
8. Dorrestein G.M. et Van Miert A.S.J.P.A.M., "Pharmacotherapeutic aspects of medication of birds", *J. Vet . Pharmacol. Ther*, V. 11, (1988), 33 - 34.
9. Burgere, H., "Pharmacologie chez les oiseaux. in BURGERE-PICOUX J. et SILIM A. (Eds) Manuel de pathologie aviaire", ENVA. (1992), 355-363.
10. Van Alstine, W.G. et Dyer, D.C., "Antibiotic aerosolization: tissue and plasma oxytetracycline concentrations in turkey poults", *Avian Diseases*, V. 29, (1985), 430-436.
11. Puyt, J.D., "Antibiotiques en élevage de volaille", *Bulletin des GTV*, V. 5, (1995). 17-110.

12. Mitchell, J.M., "The validation of an enzyme immunoassay for the detection of antimicrobial drug residues in tissue", thesis master of science, Guelph, (1997).
13. McCaughey, W.J., Elliott, C.T. and Crooks, S.R.H., "Carry-over of sulphadimidine in the faeces and urine of pigs fed medicated feed", *Vet. Rec*, V. 126,(1990), 351-354.
14. Elliott, C., McCaughey, W.J., Crooks, S.R.H. and McEvoy, J., "Effects of short term exposure of unmedicated pigs to sulphadimidine contaminated housing", *Vet.Rec*, V. 134, (1994), 450 - 451.
15. Guest, G.B. and Paige, J.C., "The magnitude of the tissue residue problem with regard to consumer needs", *J. Am.Vet. Med. Assoc*, V. 198, (1991), 805 - 808.
16. McEvoy, J.D.G., "Contamination of animal feedingstuffs as a cause of residues in food: a review of regulatory aspects, incidence and control", *Analytica Chimica Acta*, V. 473, (November 2002), 3-26.
17. Nhiem, D.V., "Analysis of tetracycline residues in marketed pork in Hanoi", Vietnam, (2005).
18. Myllyniemi, A., "Development of microbiological methods for the detection and identification of antimicrobial residues in meat", Helsinki, (2004).
19. Ruyck, H.D., "Development of confirmatory methods and disposition of some veterinary drugs in food", (2003).
20. Gedilaghine, V., "La rationalisation du traitement des mammites en exploitation laitière", *These.Med.Vet*, Alfort, (2005).
21. Moats, W.A., "The effect of processing on veterinary residues in foods", *Adv Exp Med Biol*, V. 459, (1999), 233-41.
22. Rose, M.D., Bygrave, J., Farrington, W.H. et Shearer, G., "The effect of cooking on veterinary drug residues in food. Part 8. Benzylpenicillin", *Analyst*, V. 122, n°10, (1997), 1095-9.
23. Rose MD., Bygrave, J., Farrington, W.H. et Shearer G., "The effect of cooking on veterinary drug residues in food: 4. Oxytetracycline" . *Food Addit Contam*, V. 13, n°3, (1996), 275-286.
24. Meredith, W.E., Weiser, H.H. et Winter, A.R., "Chlortetracycline and oxytetracycline residues in poultry tissues and eggs". *Applied Microbiology*, V. 13, (1965), 86-88.
25. Uno, K., "Oxytetracycline and oxolinic acid residues in kuruma prawn (*Penaeus japonicus*) and the effect of cooking procedures on the residues", *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*, V. 43, (2002), 62-67.

26. Lolo, M., Pedreira, S., Miranda, J.M., Vázquez, B.I., Franco, C.M., Cepeda, A et Fente, C., "Effect of cooking on enrofloxacin residues in chicken tissue". *Food Addit Contam*, V. 23, n°10, (2006), 988-93.
27. Rose, M.D., Farrington, W.H. et Shearer, G., "The effect of cooking on veterinary drug residues in food: 3. Sulphamethazine (sulphadimidine)". *Food Addit Contam*, V. 12, (1995), 739-50.
28. Hanway W.H., Hansen A.P., Anderson, K.L., Lyman, R.L. and Rushing J. E. "Inactivation of Penicillin G in Milk Using Hydrogen Peroxide", *J. Dairy Sci*, V. 88, (2005), 466–469.
29. Fluri, P. et Bogdanov, S., "Qualite du miel et residus des antibiotiques", centres suisses de recherches apicoles, (2001).
30. JEFCA. "Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food". IPCS, WHO 53, Genève, (2004).
31. Pena, A., Serrano, C., Réu, C., Baeta, L., Calderón, V., Silveira, I., Sousa, J.C. et Peixe, L., "Antibiotic residues in edible tissues and antibiotic resistance of faecal *Escherichia coli* in pigs from Portugal" *Food Addit Contam*, V. 21, (2004), 749-55.
32. Sraïri, M.T., Hasni Alaoui, I., Hamama, A., Faye, B., "Qualité physico-chimique et contamination par les antibiotiques du lait de mélange en étables intensives au Maroc", *Renc. Rech. Ruminants*, (2004).
33. Abiola, F.A., Diop, M.M., Teko-Agbo, A., Delepine, B., F.C. Biaou., B. Roudaut., V. Gaudin et P. Sanders., "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*, 2005, V. 156, n°5, . (2005), 264-268.
34. Masztis, P S., "Antibiotic Residue Testing in a Beef Slaughterhouse", *Can Vet J*, V. 25, n°8, (1984), 329-330.
35. Salisbury, C.D., Chan, W., Patterson, J.R., MacNeil, J.D. et Kranendonk, C.A., "Case report: an investigation of chlortetracycline and oxytetracycline residues in suspect swine slaughtered in Manitoba, Canada, October 1987 to March 1988", *Food Addit Contam*, V. 7, (1990), 369-73.
36. NFA, EELA, MAF. "Results of residue examinations of products of animal origin in Finland in 2003", EVI, EELA, Helsinki, (2004).
37. Muriuki, F.K., Ogara, W.O., Njeruh, F.M. and E. S, Mitema., "Tetracycline residue levels in cattle meat from Nairobi salughter house in Kenya", *J. Vet. Sci*, V. 2, n°2, (2001), 97–101.
38. "2005 fsis national residue program data", FSIS, (2006).

39. Dey, B.P., Thaler, A. et Gwozdz, F., "Analysis of microbiological screen test data for antimicrobial residues in food animals" *J Environ Sci Health B*, V. 38, n°3, (2003), 391-404.
40. Donoghue, D.J., "Antibiotic Residues In Poultry Tissues and Eggs: Human Health Concerns?" *Poultry Science*, V. 82, (2003), 618–621.
41. Hirsch, M., AVIS de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'évaluation du risque éventuel lié à la présence de résidus de tétracyclines et de streptomycine dans le miel", n° 2002-SA-0126. Maisons Alfort, (2006).
42. Calvarese, S., Forti, A., Scortichini, G et Diletti, G. "Chloramphenicol in royal jelly: analytical aspects and occurrence in Italian imports", *Apidologie*, V. 38, (2006), 673–678.
43. Son, C.P.N., "Chloramphenicol analysis in shrimp". The centre of analytical services and experimentation of Ho Chi Minh City. (2002).
44. Salter, R., "CHARM II SYSTEM - comprehensive residue analysis system for honey". *Apiatica*, V. 38, (2003), 198-206.
45. Kabir, J., Umoh, V.J., Audu-okoh, E., Umoh, J.U. et Kwaga, J.K.P., "Veterinary drug use in poultry farms and determination of antimicrobial drug residues in commercial eggs and slaughtered chicken in Kaduna State, Nigeria". *Food Control*. 2004, V. 15, (2004), 99 - 105.
46. Hamdi, T.M., "Recherche des résidus de substances antimicrobiennes dans les viandes" . 6^{ème} JSV, ENSV, Alger, (2008).
47. Dewdney, J.M., Maes, L., Raynaud. J.P., Blanc, F., Scheid, J.P., Jackson, T., Lens, S. and Verschuere, C., "Risk assessment of antibiotic residues of beta-lactams and macrolides in food products with regard to their immuno-allergic potential". *Food Chem Toxicol*, V. 29, n°7, (1991), 477-83.
48. Dayan, A.D., "Allergy to antimicrobial residues in food: assessment of the risk to man", *Vet Microbio*, V. 35, (1993), 213-26.
49. Wal, J.M., "Evolution of the concept of residues in the products of animals raised with the use of antibiotics". *Ann Nutr Aliment*, V. 33, n°3, (1979), 325- 341.
50. Kanny, G., Puygrenier, J., Beaudoin, E. et Moneret-Vautrin, D.A., "Alimentary anaphylactic shock: implication of penicillin residues", *Allerg Immunol (Paris)*, V. 26, n°5, (1994), 181-3.
51. Vaarkamp, H., "Maximum residue levels (MRL's) of veterinary medicines in relation to food safety. MRL's really do matter--the Benzapropen case", *Tijdschr Diergeneeskd*. (2002), 2-6.

52. Wu, C., Clift, P., Fry, C.H. et Henry, J.A., "Membrane action of chloramphenicol measured by protozoan motility inhibition". Arch Toxicol, V. 70, n°12, (1996), 850-3.
53. Källén, Bengt A.G., Olausson, P.O. et Danielsson, Bengt R. Is erythromycin therapy teratogenic in humans? "Reproductive Toxicology. V. 20, n°2, (2005), 209-214.
54. Form, G., "Les résidus inhibiteurs dans le lait. Evolution des méthodes de détection- Facteurs de risques en région Rhône-alpes". These Med Vet. (2003).
55. Châtaigner, B. et Antoine, S., "Investigation sur la présence de résidus d'antibiotiques dans les viandes commercialisées à Dakar", Institut Pasteur de Dakar. Projet PACEPA.
56. Delaere, B., "la résistance aux antibiotiques en médecine générale". Service de Médecine Interne Générale, Cliniques Universitaires Saint - Luc. Belgique.
57. Agnes, P-G., Sylvie, C., Denis, E.C, Jacques, B., and Jean-Michel, P., "Evaluation of Residual and Therapeutic Doses of Tetracycline in the Human-Flora-Associated (HFA) Mice Model". Regulatory Toxicology and Pharmacology.V. 34, (2001), 125–136.
58. FAO-OMS. Rapport de la onzième session du comité du codex sur les résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments. commission du codex alimentarius, CL 1998/36-RVDF, (1999), Washington D.C.
59. Greko, Christina., "Anti-infective usage in animals – a risk for human health?" National veterinary institute., Sweden, 1-5.
60. AFSSA., "La résistance aux antibiotiques chez les bactéries d'origine animale et l'utilisation des antibiotiques en élevage. Les travaux conduits à l'AFSSA: conteste et résultats préliminaires".
61. EMEA., "Antibiotic Resistance in the European Union Associated with Therapeutic Use of Veterinary Medicines", The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, EMEA/CVMP/342/99-corr-Final, (1999).
62. Enriquez, B., "Residues of antibiotics and protection of the health of consumers. Notions of maximal residues limit and withdrawal time". Ann Pharm Fr, V. 58, (2000), 455 – 463.
63. Commission du Codex Alimentarius (CAC). "Mises à jour à la trente-deuxième session de la Commission du Codex Alimentarius (Limites maximales de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments)", CAC/LMR 02-2009, (2009).

64. F.A.O.-O.M.S. - Normes d'identité et de pureté de divers antibiotiques, Réunion de la F.A.O. sur la nutrition, F.A.O.-O.M.S. (1969). n°45A , O.M.S. additifs alimentaires, 69.34.
65. Katz, S.E. et Fassbender, C.A., "Improved procedures for the determination of oxytetracycline in milk, milk products, chicken muscle, liver and eggs". Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, V. 7, (1972), 229-236.
66. Katz, S.E., Fassbender, C.A. et Dinnerstein, P.S., "Effect of feeding penicillin to chickens". J. Assoc. Off. Anal. Chem., V. 57, (1974), 522-526.
67. Archimbault, P., Boutier, C. et Muscat, G., "L'ampicilline chez la volaille. Etude des résidus après administration per os chez la poule pondeuse". Revue Med Vet. V. 129, n°11, (1978), 1541-1551.
68. Roudaut, B., Moretain, J.P. et Boisseau, J., "Excretion of oxytetracycline in eggs after medication of laying hens". Food Additives And Contaminants, V. 4, n°3, (1987), 297-307.
69. B. Roudaut., J.P Moretain. et J. Boisseau., "Excretion of tetracycline and chlortetracycline in eggs after oral medication of laying hens". Food additives and contaminants, V. 6, n°1, (1989), 71-78.
70. Roudaut, B., Moretain, J.P. et Boisseau, J., "Résidus d'ampicilline dans les oeufs après administration orale et parentérale". Rec. Med. Vét., V. 163, (1987), 43-47.
71. Fontaine, M. «Vade-Mecum du vétérinaire». OPU, V.1 , 15 éd, réimpression (1993). 138 -138.
72. Yoshimura, H., Osawa, N., Rasa, FS., Hermawati, D., Werdiningsih, S., Isriyanthi, NM. et Sugimori, T., "Residues of doxycycline and oxytetracycline in eggs after medication via drinking water to laying hens", Food Addit Contam, V. 8, n°1, (1991), 65-69.
73. Omija, B., Mitema, E.S. et Maitho, T.E., "Oxytetracyclin residue levels in chicken eggs after oral administration of medicated drinking water to laying chickens". Food Addit Contam, V. 11, n°6, (1994), 641-647.
74. Huber, W.G., "The impact of antibiotic drugs and their residues". Advances in Veterinary Science, V. 15, (1971), 101-132.
75. Roudaut, B. et Moretain, J.P., "Residue of macrolide antibiotics in eggs following medication of laying hens". British Poultry Sciences, V. 31, (1990), 661-675.
76. FAO - WHO, Expert committee on food additives. "Residue evaluation of certain veterinary drugs", 66 meeting, (2006).

77. Roudaut, B., "Depletion of colistin in eggs following medication of laying hens". *The Veterinary Quarterly*, V. 11, n°3, (July 1989), 183-185.
78. Donoghue, D.J., Hairston, H., Henderson, M., McDonald, M., Gaines, S., Donoghue, A.M. "Modeling drug residue uptake by eggs: yolks contain ampicillin residues even after drug withdrawal and nondetectability in the plasma". *Poultry Science*. V. 76, (1997), 458-462.
79. Roudaut, B., "Elimination of oxolinic acid in eggs after oral treatment of laying hens", *British Poultry Science*, V. 38, (1998), 47-52.
80. Sachot, E. et Puyt, J.D., "Les différents calculs du temps d'attente", *Le Point Vétérinaire*, V. 32, (2001), 48 - 51 .