

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE de TLEMCCEN

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers

**Département de Biologie**

MEMOIRE

Présenté par

**M<sup>elle</sup>DJENNANE Souhila**

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de MASTER**

En Microbiologie Appliquée

**Thème**

***CONTRIBUTION À LA DÉTECTION DES  
RÉSIDUS D'ANTIBIOTIQUES DANS LE FOIE  
DE POULET CONSOMMÉ DANS LA RÉGION  
DE NÉDROMA***

Soutenu le 24 juin 2017, devant le jury composé de :

Président	EL AFFIFI Mohamed	MCB	Université de Tlemcen
Encadreur	YOUCEFI Fatima	MCB	Université de Tlemcen
Examineur	AZZI Noureddine	MAA	Université de Tlemcen
Examineur	TEFIANI Choukri	MCA	Université de Tlemcen

**Année Universitaire : 2016-2017**

## **Remerciement :**

C'est avec un grand plaisir que je saisis l'occasion de la présentation de ce travail de Master pour adresser mes vifs remerciements à Mr EL AFFIFI Mohamed maitre de conférence classe B pour avoir accepté de présider le jury de cette thèse.

Mes profonde gratitude est adressée à Mr AZZI Noureddine maitre-assistant de classe A pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Je tiens à remercier mon encadreur Mme YOUCEFI Fatma maitre de conférences classe B pour m'avoir fait confiance et accepté de diriger ce modeste travail de Master, pour m'avoir suivi et conseillé durant toute cette étude, et pour son aide dans la réalisation de mes recherches aussi bien sur au laboratoire.

J'exprime mes respectueux remerciements à Mr TEFIANI Choukri maitre de conférences classe A pour son aide et son soutien.

Je tiens à remercier vivement Monsieur ADDOUNE Zohair Docteur en Médecine vétérinaire et délégué à la direction des services agricoles de Nédroma et pour son collaboration.

Je ne saurai exprimer assez mes remerciements à Mme MALEK Fadila responsable de spécialité.

Je tiens à remercier chaleureusement mes meilleurs amis (es), mes frères, mes sœurs et mes cousins (es) pour leur soutien.

Je tiens à remercier également toutes les personnes qui de près ou de loin ont contribué à ce travail notamment les étudiants du master microbiologie appliquée.

Enfin, je saisis cette occasion pour remercier les membres de jury tout en espérant qu'ils trouveront les qualités de clarté et de motivation qu'ils attendent.

---

A ma mère ;  
A l'âme de ma grand-mère...

---

## **Contribution à la Détection des résidus d'Antibiotiques dans le foie de poulet de chair au Nord-Ouest de l'Algérie (Nédroma)**

### **RESUME**

La présente étude a été réalisée dans le but d'actualiser les données existantes sur la présence des résidus d'antibiotiques dans les foies de poulet provenant des abattoirs de Nédroma. L'approche méthodologique adoptée a consisté dans un premier temps à un échantillonnage au niveau des abattoirs. Ces échantillons de foie ont ensuite été analysés à l'aide d'un test biologique standardisé la méthode de référence (méthode de 4 boîtes)

A l'issue de cette étude, sur 145 échantillons analysés 118 se sont avérés positifs 81,25% des échantillons contiendraient donc des résidus d'antibiotiques (Macrolides, Spiramycines, Sulfamides,  $\beta$ -lactamines).

En somme, les viandes provenant des abattoirs de Nédroma sont contaminées par des résidus d'antibiotiques, un danger chimique. Ce qui pose clairement un problème de santé publique vu l'importance des abattoirs dans le ravitaillement en viande des marchés de Nédroma. Des mesures doivent donc être prises à plusieurs niveaux par les acteurs de la filière (pouvoirs publics, vétérinaires, techniciens et éleveurs) pour garantir la sécurité sanitaire.

**Mots clés :** Résidus, Antibiotiques, foie de poulet, méthode de 4 boîtes.

---

## الكشف عن رواسب المضادات الحيوية في كبد الدجاج بشمال غرب الجزائر (ندرومة)

### الملخص

هذه الدراسة تمت بهدف تحديث المعلومات الحالية عن وجود بقايا المضادات الحيوية في كبد الدجاج من مذابح ندرومة.

كان الأسلوب المنهجي الذي اعتمد في البداية اخذ العينات من المذابح. هذه العينات من الكبد يتم تحليلها بمساعدة الاختبار البيولوجي القياسي الطريقة المرجعية (طريقة ال 4 علب).

اظهرت الدراسة انه من بين 145 عينة 118 كانت إيجابية. 81.25 من العينات تحتوي اذن على بقايا المضادات الحيوية (ماكروليد – سبيراميسين – سيلفاميد - بيتالاکتامين)

في الواقع اللحوم الاتية من مذابح ندرومة ملوثة ببقايا المضادات الحيوية خطر كيميائي من الواضح ان يخلق مشكل صحي عام نظرا لأهمية المذابح في تزويد أسواق ندرومة باللحوم.

يجب الاخذ بمقاييس على عدة مستويات من طرف ممارسي هذا النشاط (السلطة العامة، البيطرة، التقنيين والمربيين)

الكلمات المفتاحية: بقايا، مضادات حيوية، كبد الدجاج، طريقة ال 4 علب.

---

## **Contribution to the Detection of Antibiotics Residues in Polutry (Chicken meat) in the North West of Algeria:**

### **ABSTRACT**

This study was conducted in order to update the existing data on the presence of antibiotic residues in liver from abattoirs of Nédroma. The methodological approach adopted was initially to sampling at the slaughterhouses. These samples of liver were then analyzed using a standardized bioassay: reference method (4 boxes method)

Test results show that 118 of 145 samples tested were positive. 81,25% of samples contained residues of antibiotics, (macrolides, spyracycin, sulfonamides,  $\beta$ -lactams)

In short, the meat from the abattoirs of Nédroma is heavily contaminated with residues of antibiotics, a chemical hazard. This is clearly a public health problem, given the importance of slaughterhouses in the supply of meat markets of Nédroma. Measures must be taken at various levels (public authorities, veterinarians, breeders and technicians) to ensure the food safety.

**Keywords:** Residues, Antibiotics, chicken liver, 4 boxes method.

## Sommaire :

<b>Introduction</b> .....	2
<b>Chapitre I – Synthèse bibliographique</b> .....	3
1-1- La viande blanche .....	4
1-1-1-Definition et importance .....	4
1-1-1-1-Definition de la viande .....	4
1-1-1-2-Definition de la viande blanche .....	4
1-1-1-3-Importance .....	4
1-1-2-Composition et valeur nutritive de la viande :.....	4
1-1-2-1-Compositon chimique de viande .....	4
1-1-2-2-Valeur nutritive de viande .....	5
1-1-3-Principales espèces productrices de viande blanche .....	5
1-1-4-production de viande blanche .....	6
1-1-4-1- historique .....	6
1-1-4-2- évolution de la production mondiale de la viande blanche.....	6
1-1-4-3-Evolution de la production de la viande blanche en Algérie .....	6
1-1-4-4- Consommation de la viande blanche .....	6
1-1-5- Le foie.....	7
1-1-5-1- Définition .....	7
1-1-5-2- Le rôle du foie .....	7
1-2- Les antibiotiques .....	8
1-2-1- Historique .....	8
1-2-2- Définition d'un antibiotique .....	8
1-2-3- Mode d'action des antibiotiques .....	8

---

1-2-4- Usage des antibiotiques en médecine vétérinaire .....	9
1-2-5- Utilisation des antibiotiques autant qu'additifs .....	9
1-2-5-1- Définition d'additif .....	10
1-2-5-2- Les effets des additifs .....	10
1-2-6- Classification des antibiotiques .....	11
1-2-7- Pharmacocinetique des antibiotiques .....	11
1-3- Les résidus d'antibiotiques dans les aliments et le risque pour le consommateur ....	13
1-3-1- les résidus d'antibiotiques .....	13
1-3-1-1- définition de résidus .....	13
1-3-1-2- facteurs de résistance des résidus .....	13
1-3-1-3- conséquences négatives d'utilisation des antibiotiques chez les animaux .....	14
1-3-2- Les risques présentés par les résidus .....	14
1-3-2-1- Risques pour la santé publique .....	14
1-3-2-1-1- toxicité directe .....	14
1-3-2-1-2- les réactions allergiques .....	14
1-3-2-1-3- l'acquisition de résistances aux antibiotiques .....	15
1-3-2-1-3-1- définition de la résistance .....	15
1-3-2-1-3-2- modalités d'acquisition et de transmission de résistance .....	15
1-3-2-1-4- les autres effets pour l'homme dus à la présence de résidus d'antibiotiques ....	16
1-3-2-2- Risques pour la santé animale .....	16
1-3-2-3- Risques d'ordre technologique .....	16
1-3-2-4- Risques pour l'environnement .....	16
1-3-3- ATB interdit dans le traitement des animaux destinés à la consommation humaine .	17
1-3-4- Délai d'attente .....	17

---

1-3-4-1- définition .....	17
1-3-4-2- fixation du temps d'attente .....	18
1-3-4-3- modalité de détermination du temps d'attente .....	18
1-3-4-3-1- la méthode classique .....	18
1-3-4-3-2- la nouvelle méthode proposée .....	18
1-3-5- LMR des antibiotiques .....	19
1-3-5-1- définition .....	19
1-3-5-2- fixation de la LMR .....	19
1-3-6- Objectifs et stratégie d'évaluation des résidus .....	19
1-4- Les méthodes de détection et de quantification des résidus d'ATB.....	20
1-4-1- méthodes de détection .....	20
1-4-1-1- méthodes de détection biologique.....	20
1-4-1-1-1- méthode alternative.....	20
1-4-1-1-2- la méthode de référence.....	20
1-4-1-2- méthodes biochimiques .....	20
1-4-1-2-1- méthode enzymatique.....	20
1-4-1-2-2- méthode sur tiges .....	21
1-4-1-3- méthodes immunologiques .....	21
1-4-1-3-1- RIA (radio-immuno assay) et RRA (radio- recep- teur assay) .....	21
1-4-1-3-2- ELISA (enzyme linked immuno sorbent assay) .....	21
1-4-2- méthodes de confirmation et de quantification .....	21
1-4-2-1- méthodes chromatographiques .....	21
1-4-2-2- méthode spectrométrique.....	21

---

## Chapitre II – Matériels et méthodes

2-1- Matériels.....	23
2-1-1- Souches bactériennes : description, conservation et préparation .....	23
2-1-2- Milieux de culture et conditions de croissance .....	24
2-1-2-1- BHIB (bouillon).....	24
2-1-2-2- MH (gélose solide) .....	25
2-2- Echantillonnage.....	26
2-3- Expérimentation au laboratoire.....	27
2-3-1- mesure de densité optique des bactéries.....	27
2-3-2- revivification des souches .....	28
2-3-3- dénombrement en surface par la technique des spots.....	29
2-3-4- préparation des souches.....	30
2-3-5- La méthode officielle des 4 boites .....	31
2-3-6- préparation des solutions témoins.....	33
2-3-6-1- solution témoin contenant la pénicilline G .....	33
2-3-6-2- solution témoin contenant la Sulfaprim S.....	34
2-3-6-3- solution témoin contenant la Rovamycine.....	35
2-3-6-4- solution témoin contenant de l'Erythromycine.....	36
2-3-7- préparation des échantillons .....	37
2-3-8- ensemencement des milieux de culture .....	38
2-3-9- interprétation des zones d'inhibition .....	38

## Chapitre III – Résultats

3-1- Résultat de la cinétique bactérienne .....	41
3-1-1- Résultats de la cinétique par la mesure de la DO .....	41

---

3-1-1-1- mesure de la DO par le colorimètre .....	41
3-1-1-2- mesure de la DO par le spectrophotomètre .....	42
3-1-2- Dénombrement des souches en spots .....	43
3-2- Résultats de la présence des résidus d'antibiotiques dans le foie de poulet par la méthode de 4 boîtes .....	46
3-2-1- comparaison entre les tueries .....	47
3-2-2- comparaison de la présence des résidus d'ATB selon les familles d'ATB .....	48
3-2-3- détection des résidus d'ATB dans toutes les tueries selon les familles .....	49
3-3- l'analyse des causes.....	50

#### **Chapitre IV- Discussion**

1- Limites de l'échantillonnage.....	54
2- Limites de la méthode d'analyse .....	54
3- Interprétations .....	54
4- conclusion .....	56

#### **Conclusion**

#### **Annexes**

#### **Références bibliographiques**

---

## **Liste des tableaux**

Tableau n°1 : composition moyenne du muscle squelettique.....	5
Tableau n°2 : principales espèces à l'origine de viande blanche.....	6
Tableau n°3 : les grandes familles d'ATB.....	13
Tableau n°4 : anti-infectieux dont l'usage est interdit pour traitement des animaux dont les productions sont destinées à la consommation humaine.....	18
Tableau n°5 : origine, milieu de culture et température de croissance des différentes souches utilisées.....	26
Tableau n°6 : informations sur les échantillons.....	28
Tableau n°7 : les familles d'antibiotiques recherchées selon les souches de références.....	35
Tableau n°8 : résultats obtenues par le colorimètre .....	41
Tableau n°9 : résultats obtenu par le spectrophotomètre .....	42
Tableau n°10 : causes et mesures représentatives .....	52

## Listes des figures

Figure n°1 : principaux sites d'action des ATB.....	9
Figure n°2 : les 4 stratégies de résistance aux antibiotiques.....	15
Figure n°3 : les 2 souches de référence utilisées <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 et <i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341.....	25
Figure n°4 : des flacons stériles contiennent de BHIB.....	27
Figure n°5 : les germes pathogènes : <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 et <i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341 réactivés, cultivés et incubés.....	27
Figure n°6 : échantillon de foie congelé dans un sac stérile .....	29
Figure n°7 : le spectrophotomètre JENWAY pour mesurer la DO.....	30
Figure n°8 : revivification des souches : <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 et <i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341 .....	30
Figure n°9 : une cuve de spectrophotomètre avec la solution pour mesurer la DO.....	31
Figure n°10 : schéma représentatif de la cinétique bactérienne.....	32
Figure n°11 : préparation des dilutions.....	33
Figure n°12 : l'antibiotique témoin de pénicilline G (originale).....	36
Figure n°13 : l'antibiotique témoin de Sulfaprim S (originale).....	37
Figure n°14 : l'antibiotique témoin de Rovamycine (originale).....	37
Figure n°15 : l'antibiotique témoin d'érythromycine “ erybesan” (originale).....	38
Figure n° 16 : boîte de pétri avec des puits des échantillons et des témoins.....	39
Figure n°17 : courbe de la cinétique bactérienne des <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 et <i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9431 en mesurant la DO par le colorimètre.....	42
Figure n° 18 : étude de la cinétique bactérienne des <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 et <i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9431 en mesurant la DO par le spectrophotomètre .....	43
Figure n°19 : étude de cinétique bactérienne par la méthode de dénombrement en spots à la dilution $10^{-7}$ de la souche <i>Bacillus subtilis</i> .....	44

---

Figure n°20 : courbe cinétique bactérienne par la méthode de dénombrement en spots à la dilution $10^{-8}$ de la souche <i>Micrococcus luteus</i> .....	44
Figure n°21 : Photos de la culture en spot de <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 et <i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341.....	45
Figure n°22 : souches de références (positives/négatives) et la présence/absence de résidus d'ATB.....	46
Figure n°23 : détection des résidus d'ATB dans le foie de poulet dans la région de Nédroma en 2017.....	47
Figure n° 24 : répartition des résidus d'ATB dans le foie de poulet selon les tueries de la région de Nédroma en 2017.....	48
Figure n°25 : comparaison entre famille d'ATB présents dans le foie de poulet dans la totalité des échantillons.....	49
Figure n°26 : répartition des résidus d'ATB dans le foie de poulet dans chaque tuerie.....	49
Figure n°27 : diagramme d'Hishikawa.....	51

---

## **Liste des abréviations :**

AFNOR : association française de normalisation.

ARF : antibiotique régulateur de flore

ATB : antibiotique

ATCC: American Type Culture Collection.

BHI : Brain-Heart-Infusion

CCVRDF : Comité du Codex Alimentarius sur les résidus de Médicaments Vétérinaire dans les Aliments

CEE : communauté économique européenne.

CMI : concentration minimale inhibitrice

DES : dose sans effets.

DJA : dose journalière.

DO : densité optique.

ELISA : enzyme linked immuno sorbent assay

HPLC : chromatographie en phase liquide.

LMR : limite maximale de résidus.

MH : Muller Hinton.

Ppm : partie par million.

Réf : référence.

RIA : radio-immuno assay

RRA : radio- recepneur assay

RS : recepneur essay

SM : spectrométrie de masse

---

# Introduction

---

## **Introduction :**

Actuellement, différents produits vétérinaires sont utilisés en élevage avicole, sous la responsabilité ou non des vétérinaires dans le but de lutter contre les pathologies et améliorer le rendement (**ALAMBEDJI et al. 2008**). Parmi ces produits, les antibiotiques occupent une place de choix.

Néanmoins, leur utilisation sans contrôle peut conduire à la formation des résidus dans les produits issus de ces animaux, surtout lorsque les délais d'attente ne sont pas respectés par les utilisateurs.

Les risques potentiels liés à la présence des résidus dans les denrées alimentaires d'origine animale sont de plusieurs ordres : risques cancérigènes (Nitrofuranes), risques allergiques (Pénicillines, Streptomycine), risques toxiques (Chloramphénicol), modification de la flore intestinale (Tétracyclines), sélection de bactéries résistantes aux antibiotiques (plusieurs antibiotiques sont concernés).

En Algérie, les efforts actuellement perceptibles sur la sécurité sanitaire des aliments concernent surtout les produits exportés vers les pays du nord. Pourtant, l'étude de **Hakem et al (2015)** a montré l'utilisation abusive des antibiotiques dans les élevages des poulets de chair. Par ailleurs, des études menées sur les viandes de bovins, d'ovins et/ou de volailles (**Ramdane ,2015 ; Mansouri ,2007**) ont révélé la présence des résidus d'antibiotiques dans ces dernières. Par contre, il n'y a actuellement pas d'informations suffisantes sur ces aspects en ce qui concerne les foies de poulet.

C'est pourquoi nous avons entrepris la présente étude dont l'objectif général est la détection des résidus d'antibiotiques dans le foie de poulet de chair à la daïra de Nédroma ; wilaya de Tlemcen ; au nord- ouest de l'Algérie, en utilisant la méthode officielle des 4 boîtes, dans le but de construire une base de données sur l'utilisation des antibiotiques dans le secteur de volailles et donc évaluer le niveau de consommation de produits animaux à risque.

Notre étude comporte quatre chapitres :

Le premier chapitre concerne la partie bibliographique : nous avons parlé brièvement de viande blanche ; son importance, sa valeur nutritive, la progression de sa production et de foie. Aussi j'ai discuté sur les antibiotiques ; leur mode d'action et classification et leur utilisation autant qu'additifs. J'ai cité les résidus d'antibiotiques ; facteurs de résistance, les risques présentés par eux ; le délai d'attente, LMR des antibiotiques et les méthodes de détection et de quantification des résidus d'ATB.

Le deuxième chapitre représente le matériel et les méthodes ; nous avons abordé dans cette partie l'échantillonnage effectué dans la région de Nédroma, la pratique de la cinétique bactérienne des deux souches pathogènes *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et *Micrococcus luteus* ATCC 9341, puis nous avons réalisé le volet expérimental qui comporte la recherche des résidus d'antibiotiques par la méthode officielle des 4 boites.

Le troisième chapitre présente les résultats obtenus au laboratoire.

Le dernier chapitre comporte les discussions : les limites d'échantillonnage, les limites de la méthode d'analyse et les interprétations.

En fin ce document se terminera par une conclusion et des références bibliographiques.

# **Chapitre I – Synthèse bibliographique**

## **Chapitre I – Synthèse bibliographique :**

Ce chapitre parle de la viande blanche, des antibiotiques et des résidus des antibiotiques.

### **1-1- La viande blanche :**

La viande occupe une place de choix dans l'alimentation tant pour des raisons nutritionnelles que des raisons socioculturelle (Clinquart et al, 1999). A l'époque, il n'y avait pas de production de viande ; les humains chassaient et satisfaisaient leurs besoins en protéines. Quand ils sont devenus sédentaires. Ils ont élevé des animaux pour l'obtention des produits comme le lait, les œufs. Plus tard le cheptel a été élevé pour la consommation de viande, (Benayad et al, 2007).

#### **1-1-1-Définition et importance :**

##### **1-1-1-1-Définition de la viande :**

On appelle viande ; la chair des animaux dont on a coutume de se nourrir. On inclut ici la chair des mammifères, des oiseaux et des poissons. La viande est donc toute partie comestible de ces animaux, (Fosse, 2003).

##### **1-1-1-2-Définition de la viande blanche :**

C'est une protéine animale présentant autant de qualités nutritives que la viande rouge. Cette protéine était qualifiée de viande de pauvres. Actuellement et compte tenu des avantages qu'elle présente en matière de lipides, cette viande est conseillée aux patients au titre d'un régime alimentaire non gras pour la maîtrise du taux de cholestérol, (Boukhalfa, 2006).

##### **1-1-1-3-Importance :**

L'aviculture prend une place de choix dans les plans de développement de nombreuses nations tant pour des raisons nutritionnelles et économiques que de gout. Parmi les nutriments indispensables à la vie figure les matières azotées et surtout celles d'origine animale. L'azote peut être apporté par les viandes dont celles de volailles, (Ndiaye, 2002).

#### **1-1-2-Composition et valeur nutritive de la viande :**

##### **1-1-2-1-Composition chimique de viande :**

La composition chimique de la viande est variable. Elle varie selon l'espèce chez une même espèce d'un animal à un autre eu sein d'un animal d'un muscle à un autre. On peut toutefois retenir comme composition moyenne les chiffres indiqués dans le tableau (1).

**Tableau n°1 : composition moyenne du muscle squelettique, (Ouali, 1991).**

Composition chimique	Pourcentage(%)
Eau	75
Protéines totales	20
Lipides	2.5
Glucides	1.2
Substances solubles non protéiques	1.3

### 1-1-2-2-Valeur nutritive de viande :

La valeur nutritive de la viande peut être résumée dans 4 points essentiels :

- ❖ Une source d'azote : cet azote est présent sous forme de protéines, (Belhadj, 2008) qui sont composées essentiellement de myosine, myobalbumines et de collagène, (Abdelouahed, 2007).
- ❖ Une source d'énergie : la teneur en matière grasses détermine le potentiel calorique. Cette teneur en glucides est négligeable car il n'y a pas de glycogène dans la viande au stade de sa commercialisation, (Abdelouahed, 2007).
- ❖ Une source de minéraux : les viandes sont riches en phosphore et représentent une source alimentaire de fer héminique, (Belhadj, 2008). Il s'agit de fer ferreux, mieux absorbé que le fer ferrique des végétaux. Les abats, en particulier le foie, sont très riches en fer et en phosphore, (Abdelouahed, 2007).
- ❖ Dépourvues de vitamines liposolubles : elles sont riches en vitamines du groupe B, (Abdelouahed, 2007).

### 1-1-3-Principales espèces productrices de viande blanche :

Le tableau (2) présente les différentes espèces productrices de viande blanche.

**Tableau n°2 : principales espèces à l'origine de viande blanche, (Lepetz, 2007)**

<b>poussin</b>		0,4 à 0,7 kg
<b>poulet</b>	Mâle et femelle	0,8 à 1.3 kg
<b>poularde</b>	Femelle bien engraisée, os fins et chair abondante. On caractérise la poularde par ses pattes bleues.	1,3 à 1,8 kg
<b>chapon</b>	Cop castré	2 à 3 kg
<b>poule</b>	Femelle en fin de croissance, abattue après la 1ère période de ponte.	1,2 à 1,8 kg
	<b>Dindonneau</b>	2 à 3 kg
	<b>Dinde</b>	3 à 6 kg
	<b>Dindon</b>	6 à 12 kg

A ces principales catégories s'ajoute la viande blanche issue des veaux et des agneaux nourris exclusivement avec du lait.

#### **1-1-4-Production de viande blanche :**

##### **1-1-4-1- Historique :**

En 1880 la crise de l'agriculture a révélé les signes des élevages industrialisés volailles sont développés dans les années 1920. Le maintien des poulets à l'intérieur des bâtiments est responsable des problèmes chez eux surtout des carences en vitamine D. En 1936, John Tyson, charge 500 poulets dans son camion et les livre 1000 km plus loin. Les abattoirs peuvent s'approvisionner en poulets à bas prix sur un plus vaste marché. A partir de 1950, le poids d'abattage est atteint en six semaines grâce aux nourritures enrichies, (Benayad et al, 2007).

##### **1-1-4-2- Evolution de la production mondiale de la viande blanche en Algérie :**

Le secteur d'élevage croît vite, au niveau mondial. En 1961 la production atteignait 75 millions de tonnes, cette production a cru d'un facteur 5 depuis les années 1950 et a doublé depuis 1970. Elle s'élève à plus de 265 millions aujourd'hui, soit 3 fois plus. Les principaux producteurs sont la Chine (28%), les USA (15%) et le Brésil (8%), (Benayad et al, 2007).

### **1-1-4-3-Evolution de la production de la viande blanche en Algérie :**

La production de viandes blanches a eu une croissance moyenne annuelle de 7% (augmenté de 24000 tonnes en 1968 à 200000 tonnes en 1999). Cette progression s'explique par les efforts accomplis en direction des facteurs de production ce qui a permis de faire passer la consommation de viande blanche de 0,5 kg/an/habitant en 1968 à 9 kg/an/habitant en 1995, **(Feliachi 2003)**.

### **1-1-4-4- Consommation de la viande blanche :**

La consommation de viande dans le monde entier diffère dans les pays occidentaux et les pays en voie de développement. Dans le monde industrialisé, la consommation de viande est passée de 62 kg/personne/an en 1964 à 88 kg/personne/an en 1997. A partir de 1990, la consommation est restée stable. Dans les pays en voie de développement, cette consommation aussi augmenté mais dans des proportions moindres. Elle est passée d'une moyenne de 10 kg/personne dont 70% de viande blanche, **(Mialot, 2008)**.

La consommation de viande blanche a connaît donc une forte croissance. La production mondiale est en hausse de 3 à 4 % par an, **(Dusser, 2005)**. A l'échelle nationale, la consommation de viande blanche (poulet de chair) est de 10 kg/habitant/an.

### **1-1-5- Le foie :**

#### **1-1-5-1- Définition :**

Le foie est la plus grande glande de l'organisme. De forme ovoïde, il se situe sous le diaphragme. Le foie et la vésicule biliaire assurent un certain nombre de fonctions essentielles de l'organisme. Du fait de l'importance de cet organe, les maladies qui l'affectent sont souvent préoccupantes. **(Vital, 2017)**.

Le foie est la glande la plus volumineuse de l'organisme et il assure plusieurs fonctions importantes. Il présente un aspect rouge brunâtre. Il est très richement vascularisé, ce qui lui confère cette couleur foncée. Pas moins d'un litre et demi de sang traverse cet organe chaque minute. Il est situé pour sa plus grande partie du côté droit de la cavité abdominale, juste au-dessus du duodénum. **(Vital, 2017)**.

### **1-1-5-2- Le rôle du foie :**

L'une des fonctions principales du foie est relative à la digestion et à la production d'enzymes digestives qui sont déversées dans l'intestin grêle. Cependant, le foie aide aussi à contrôler le métabolisme et collabore avec le système immunitaire du corps pour combattre les cellules et substances nocives qui menacent l'organisme (par un phénomène appelé "phagocytose").

Le foie aide l'organisme à digérer les graisses en sécrétant de la bile qui se déverse dans le duodénum. (Vital, 2017).

Le foie détruit aussi les globules rouges, synthétise l'urée afin d'excréter les déchets azotés, produit le fibrinogène utilisé dans le processus de coagulation du sang, stocke le glycogène, intervient dans le métabolisme et dans le stockage des vitamines et produit entre autres des substances protectrices et anti-toxiques.

C'est lui qui va capturer, transformer et rendre inoffensifs les toxiques auxquels nous pouvons être exposés en mangeant, buvant ou en respirant. (Vital, 2017).

### **1-2- Les antibiotiques :**

#### **1-2-1- Historique :**

Fleming Alexander a découvert les ATB en 1929. Au cours d'examen de routine de cultures de staphylocoques en boîtes de pétri au Saint Mary's hospital de Londres, il a remarqué la croissance accidentelle de quelques moisissures de *penicillium notatum* autour desquelles les colonies bactériennes ne cultivaient pas. Il émit l'hypothèse que ce champignon devait sécréter une substance nuisible à la croissance des staphylocoques, et il a prouvé que le bouillon filtré de ce champignon permet de reproduire ce phénomène. Ils sont aussi préparés en 1935, les sulfamides et par la suite de nombreux antibiotiques ont été aussi préparés à partir de champignons inférieurs, aussi des bactéries telluriques les plus productrices d'ATB. Les tétracyclines sont découvertes dans les années 1950, (Duval et Soussy, 1990 ; Puyt et Guérin-Faubleé, 2006).

#### **1-2-2- Définition d'un antibiotique :**

C'est une substance antibactérienne d'origine biologique, (produite par des micro-organismes), ou de synthèse chimique (capable d'inhiber la vitalité d'autres micro-organismes)

par un mécanisme particulier jouant sur les mécanismes vitaux de germe), (Gogny, Puyt et al, 2001 ;Morin et al, 2005 ; Gauthier, 2006 ;Lechat, 2008).

### 1-2-3- Mode d'action des antibiotiques :

A la différence des antiseptiques et des désinfectants, les antibiotiques agissent de façon spécifique sur certaines structures de cellule bactérienne ; cette spécificité d'action s'explique pourquoi les ATB sont actifs à très faible concentration. Cette action s'exerce selon les molécules sur des sites variés (figure 1), (Mevius et al, 1999 ; Oxoby, 2002 ;Bergogne et al, 2005 ;Cup, 2008) :

- Sur la paroi bactérienne : en inhibant la dernière étape de la biosynthèse de peptidoglycane au cours de la multiplication cellulaire, la nouvelle bactérie n'est plus protégée entraînant ainsi une lyse bactérienne.
- Sur la membrane cellulaire : en désorganisant sa structure et son fonctionnement, ce qui produit des troubles d'échanges électrolytiques avec le milieu extérieur.
- Sur les ribosomes : ce qui entraîne l'arrêt de la biosynthèse des protéines ou la formation de protéines anormales.
- Sur l'ADN : en empêchant sa réplication et en inhibant la biosynthèse protéique.
- Autre : en agissant autant qu'antimétabolites bactériens.

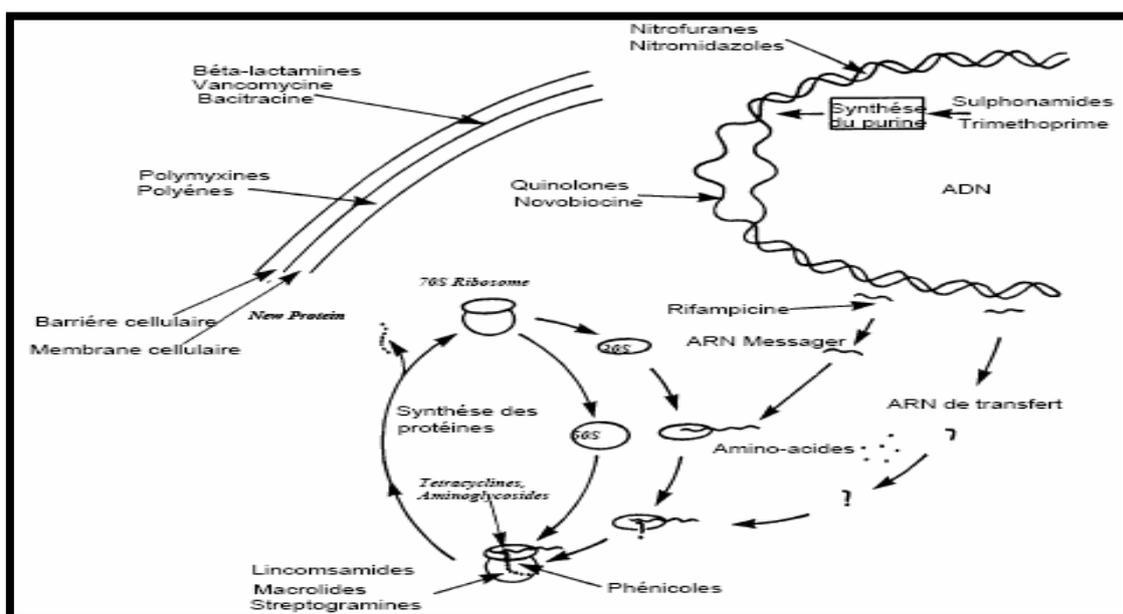


Figure n°1 : principaux sites d'action des ATB, (Mevius et al, 1999;Oxoby, 2002;Puyt et Guérin-Faublée, 2006 ;Errecalde, 2007 ; Cup, 2008).

### **Effets bactériostatiques et bactéricides des antibiotiques :**

On distingue les ATB bactériostatiques et bactéricides en fonction de type d'activité des bactéries (Morin et al, 2005). Cette activité s'apprécie in vitro par le dénombrement de la population bactérienne après mise en culture en présence de l'ATB à des concentrations proches de la CMI, (Duval et Soussy, 1990 ;Fontaine,1992).

### **1-2-4- Usage des antibiotiques en médecine vétérinaire :**

Selon Duval et Soussy, 1990 ; Fontaine, 1992 ; les ATB peuvent être utilisés de 4 manières, avec des objectifs variables :

- ✓ Les ATB sont utilisés à titre thérapeutique curatif. L'objectif est d'obtenir la guérison des animaux cliniquement malades et d'éviter la mortalité.
- ✓ Lorsqu'une infection collective et très contagieuse se déclare dans un élevage avec de grands effectifs et évolue sur un mode aigu, avec suffisamment d'éléments concordants pour incriminer une (des) bactérie (s), l'ensemble de groupe d'animaux est traité
- ✓ Les ATB peuvent, être administrés à des périodes critiques de leur vie, sur des animaux soumis à une pression de contamination régulière et bien connue, après contrôle de la nature de l'infection par des examens de laboratoire.
- ✓ L'usage des ATB dans l'aliment à titre d'additifs en vue d'améliorer la croissance a fait l'objet de nombreuses critiques. Ces ATB régulateurs de flore (ARF) ou ATB promoteurs de croissance sont utilisés à des doses très faibles, et sont tous des agents chimiothérapeutiques non utilisés en médecine humaine pour limiter les risques de sélection de résistance vis-à-vis de molécules d'intérêt médical majeur.

### **1-2-5- Utilisation des antibiotiques autant qu'additifs :**

#### **1-2-5-1- Définition d'additif :**

Selon l'Union Européenne ; un additif est défini comme étant toute substance non consommée comme aliment en soi et non utilisée comme ingrédient caractéristique dans l'alimentation, possédant ou non une valeur nutritive, et dont l'adjonction intentionnelle aux denrées alimentaires, dans un but technologique au stade de leur fabrication, transformation, traitement, conditionnement, transport ou entreposage, a pour effet qu'elle devient elle-même ou que ses dérivés deviennent, un composant de ces denrées alimentaires,(Pujol-Dupuy, 2004).

### 1-2-5-2- Les effets des additifs :

Selon **guillemot (2006)** ; les additifs sont ajoutés aux aliments pour animaux ou à l'eau pour remplir notamment une ou plusieurs des fonctions suivantes :

- Avoir un effet positif sur les caractéristiques des aliments pour animaux
- Avoir un effet positif sur les caractéristiques des produits d'origine animale
- Répondre aux besoins nutritionnels des animaux
- Avoir un effet positif sur les conséquences environnementales de la production animal
- Avoir un effet positif sur la production, le rendement ou le bien-être des animaux notamment en influençant la flore gastro-intestinale ou la digestibilité des aliments pour animaux.

### 1-2-6- Classification des antibiotiques :

Les ATB sont classés en fonction d'origine, de nature chimique ou de mode d'action.

Parmi ces ATB ; on a des  $\beta$ -lactamines, des tétracyclines, des aminoglycosides, des macrolides, des glycopeptides, des sulfamides et des fluoroquinolones qui sont les plus importants, (**Kummerer, 2009**). Le tableau (3) présente les familles d'ATB.

#### *Association d'antibiotiques*

Selon **Puyt et Guérin-Faubleé (2006)** ; les ATB doivent autant que possible être utilisés seuls. C'est la règle générale de mono-antibiothérapie.

Toutefois on est souvent conduit en thérapeutique anti-infectieuse à associer plusieurs ATB soit :

- Pour retarder l'apparition d'antibiorésistance microbienne (uniquement chromosomique).
- Pour assurer l'ouverture d'ATB en urgence devant une infection à germes inconnus lors d'infection polybactériennes.
- Afin de rechercher une synergie.
- Afin de limiter les effets indésirables.

### **1-2-7- Pharmacocinetique des antibiotiques :**

L'ATB doit parvenir à son site d'action pour éradiquer une infection. Le passage du lieu d'administration jusqu'au site(s) d'action se fait en quatre phases différentes, (**Potel at al, 2006**) :

- + L'absorption
- + La distribution
- + Les transformations
- + L'excrétion

**Tableau n°3 :** les grandes familles d'anti infectieux, (**Talbert et al, 2009**)

β-LACTAMINE	Pénicillines (pénème)	Groupe G	Activité : bactéricide Mécanisme d'action : inhibition de synthèse de paroi des bactéries en phase de croissance
		Groupe M (mécicilline) (antistaphylococcique)	
		Groupe A (ampicilline) (aminopénicilline)	
		Carboxypénicilline- Urédopénicilline	
		amidinopénicilline	
	Carbapénème (pènème)	Imipènem-Ertapènem- Méropènem	
	Céphalosporine (céphème)	1 <sup>er</sup> génération-2 <sup>ème</sup> génération-3 <sup>ème</sup> génération	
	Monobactames	aztréoném	
	Inhibiteurs irréversibles des β-lactames (en association)		
Acide clavulanique-sulbactame-tazobactam			
AMINOSIDES (aminoglycoside)		Activité : bactéricide Mécanisme d'action : inhibition de synthèse protéique.	
PHENICOLES		Activité : bactériostatiques Mécanismes d'action : inhibition de synthèse protéique.	
CYCLINES	Tétracycline	Activité : bactériostatique Mécanisme d'action : inhibition de synthèse protéique	
	Glycylcycline		
MACROLIDES	Macrolides	Activité : bactériostatique Mécanisme d'action : inhibition de synthèse protéique	
	Macrolides apparentés		
	Macrolides associés		
POLYPEPTIDES (polymyxine)		Activité : bactéricide Mécanisme d'action : inhibition de synthèse de membrane cytoplasmique	
SULFAMIDES		Mécanisme d'action : inhibition de synthèse d'acide folique	
IMIDAZOLES		antiparasitaire	
QUINOLONES	Quinolone urinaire- fluoroquinolones systémiques	Activité : bactéricide Mécanisme d'action : inhibition de synthèse d'ADN bactérien	
	Quinolone dite antipneumococcique		
ANTIBIOTIQUES DIVERS	Rivamycines-glycopeptides-oxazolidine-lipopeptide cyclique-acide fusidique	Activité : bactéricide Mécanisme d'action : inhibition de synthèse protéique ; inhibition enzymatique du métabolisme bactérien ; inhibition de synthèse de paroi bactérienne	
	Acide fusidique- fosfomycine		

### **1-3- Les résidus d'antibiotiques dans les aliments et le risque pour le consommateur :**

#### **1-3-1- les résidus d'antibiotiques :**

##### **1-3-1-1- définition de résidus :**

Ce sont toutes les substances pharmacologiquement actives, qu'il s'agisse des principes actifs, d'excipients ou de produits de dégradation, ainsi que leurs métabolites restant dans des denrées alimentaires obtenues à partir d'animaux aux quels le médicament vétérinaire en question a été administré, (**Article 1, point 1, du règlement (CEE) n°2377/90**), (**Milhaud et Pinault, 1999**) ; (**Pouliquen et Le Bris, 2001**) ; (**Kolbener et al, 2005**).

##### **1-3-1-2- Facteurs de résistance des résidus :**

Selon **Châtaigner et Stevens (2005)** la persistance de résidus varie selon plusieurs facteurs :

- ❖ L'ATB lui-même
- ❖ La forme pharmaceutique
- ❖ Les modalités d'injection
- ❖ Le site d'injection
- ❖ La dose injectée
- ❖ La sévérité de l'irritation locale
- ❖ Facteurs liés à l'animal

##### **1-3-1-3- Conséquences négatives d'utilisation des antibiotiques chez les animaux :**

- ★ Présence de résidus dans les produits alimentaires d'origine animale, (**Klotins, 2006**)
- ★ Contamination d'environnement, (**Klotin, 2006**)

Selon **Scippo (2008)** ces conséquences sont dues aux mauvaises pratiques : produits du marché noir, administration sans prescription vétérinaire, non-respect des doses et des délais d'attente.

##### **1-3-2- Les risques présentés par les résidus :**

Selon **Scippo (2008)** les risques présentés par les résidus suite à leur utilisation chez les animaux sont de 4 ordres :

### **1-3-2-1- Risques pour la santé publique :**

#### **1-3-2-1-1- toxicité directe :**

- ✓ Les ATB qui présentent une toxicité sont le chloramphénicol et nitrofurannes dont leur utilisation est actuellement interdite.
- ✓ Certains sulfamides sont foetotoxiques à forte dose. Ils passent dans le lait maternel, et sont toxiques pour les nourrissons de moins d'un mois. Ils ont des effets néfastes sur le matériel génétique, la reproduction, la fertilité et une toxicité pour les systèmes nerveux et immunitaire, (**Châtaigner et Stevens, 2005**).

#### **1-3-2-1-2- les réactions allergiques :**

L'allergie est un effet secondaire reconnu des ATB et en particulier des  $\beta$ -lactames. Quand aux macrolides, ils causent peu d'effets secondaires et seulement très peu d'entre eux semblent causés par des mécanismes allergiques. Cependant, compte tenu des très faibles taux de résidus présents dans l'organisme, comparés aux concentrations d'ATB administrées lors de traitement, il est très improbable qu'ils soient à l'origine d'une sensibilisation primaire de l'individu, (**Châtaigner et Stevens, 2005**).

#### **1-3-2-1-3- l'acquisition de résistances aux antibiotiques :**

##### **1-3-2-1-3-1- définition de la résistance :**

La capacité d'adaptation d'une bactérie dans un milieu contenant des agents chimiques néfastes pour elle est connue depuis longtemps, (**Bourin et al, 1993**).

##### **1-3-2-1-3-2- modalités d'acquisition et de transmission de résistance :**

Pour résister, la bactérie a développé 4 stratégies principales pour empêcher l'interaction entre l'ATB et la cible bactérienne (figure 2) : brouillage, camouflage, blindage, esquive, (**Bourin et al, 1993 ; Oxoby, 2002**).

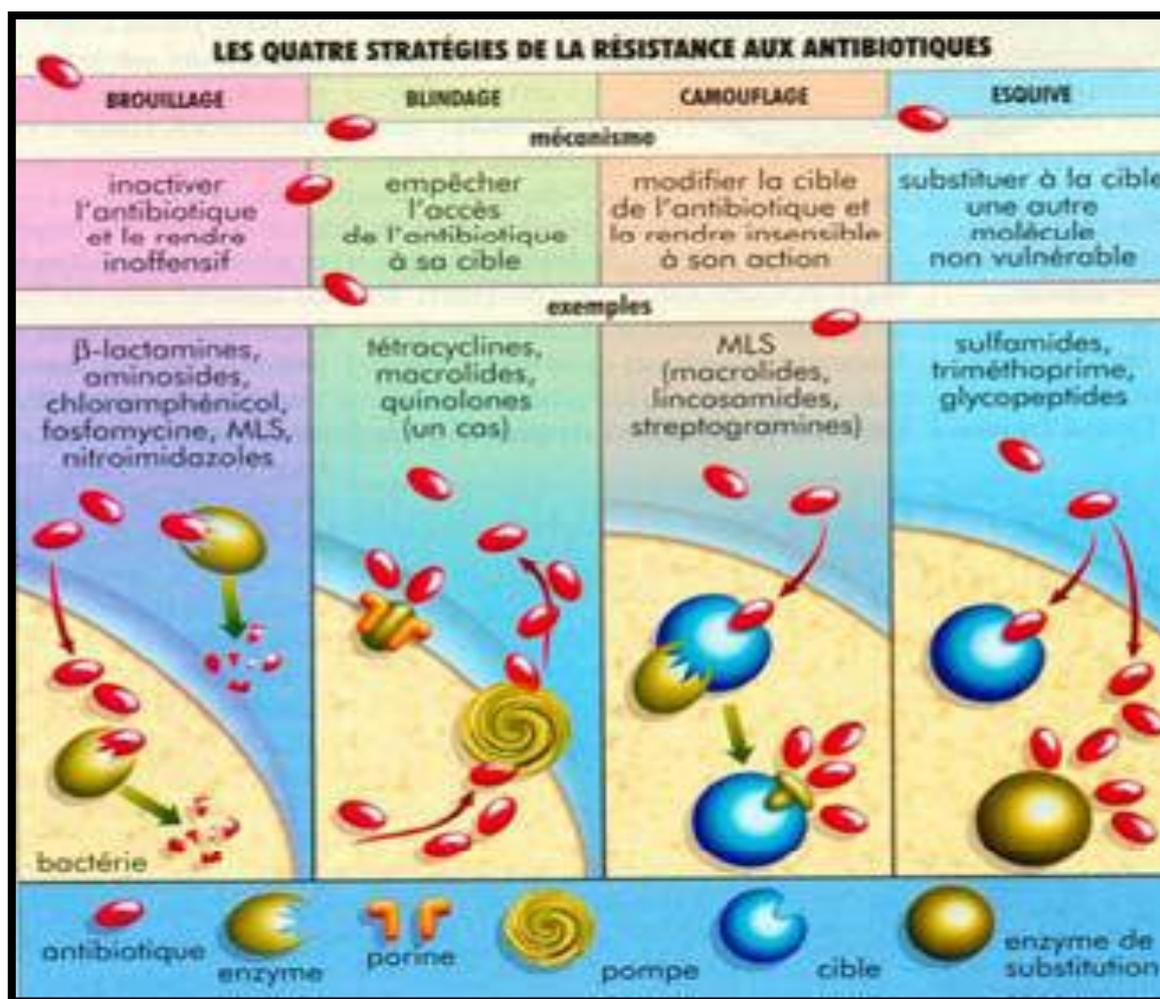


Figure n°2 : les 4 stratégies de résistance aux antibiotiques, (Oxoby, 2002).

#### 1-3-2-1-4- les autres effets pour l'homme dus à la présence de résidus d'antibiotiques :

Les autres effets dus aux résidus sont d'ordre toxicologique et pharmacologique. On note entre autre une influence sur la flore humaine :

- En modifiant sa composition par inhibition sélective.
- En favorisant ou en sélectionnant des microorganismes résistants.

Mais il n'y a pas de preuves scientifiques que des concentrations en résidus inférieures aux LMR puissent modifier sérieusement la flore intestinale, (Scippo, 2008). Des études in vivo sur des modèles animaux visant à évaluer les effets de doses thérapeutiques et de résidus de tétracyclines sur la flore intestinale humaines ont mis en évidence les modifications engendrées sur la flore intestinale. Il y a 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, (**Châtaigner et Stevens, 2005**).

On note aussi une action cancérigène. L'ingestion répétée et prolongée de ces produits peut induire le développement de tumeurs cancéreuses, (**Châtaigner et Stevens, 2005**).

#### **1-3-2-2- Risques pour la santé animale :**

Les ATB utilisés en thérapeutiques possèdent en règle générale une faible toxicité. Ceci les différencie des antiseptiques externes qui ne peuvent en aucun cas être employés par voie générale. Néanmoins, certains ATB présentent une forte toxicité générale qui empêche leur emploi dans beaucoup d'espèces animales.

C'est le cas des ATB ionophores qui présentent une toxicité cardiaque majeure. En dehors des toxicités directes d'organe spécifique à chaque ATB, toute antibiothérapie doit faire craindre au praticien surtout 2 types d'effets indésirables, une perturbation de la flore digestive et des échecs thérapeutiques par sélection de résistance, (**Puyt et Guérin-Faubleé, 2006**).

#### **1-3-2-3- Risques d'ordre technologique :**

Selon **Scippo (2008)** : la présence d'ATB dans le lait entraîne des accidents de

0 fabrication du fromage, du yaourt et autres produits de fermentation du lait et sa présence dans la viande entraîne des accidents de fabrication du salami et autres produits de fermentation de la viande.

#### **1-3-2-4- Risques pour l'environnement :**

Il est admis qu'après un traitement d'ATB, les animaux excrètent dans leur environnement une fraction de dose administrée. On constate des disparités dans le temps de demi-vie selon la molécule. Ceci implique une persistance longue de certains ATB dans l'environnement qui peuvent être présents dans les eaux de surface. Cela conduit à une pollution chimique d'environnement, avec une action sur la flore commensale, d'autant plus que les ATB excrétés sont à doses inférieures aux CMI, (**Chatellet, 2007**).

L'administration d'ATB peut avoir des conséquences indirectes sur l'environnement. Les mutants peuvent contaminer les denrées alimentaires. De plus ; un animal peut se contaminer en s'abreuvant aux eaux de surface. Aussi les bactéries d'origine fécale sont épanchées avec le fumier, et par conjugaison peuvent transmettre leurs éventuels gènes de résistance aux

bactéries de sol. L'utilisation des ATB en élevage représente donc un risque de sélection de résistance chez les bactéries environnementales, (**Chatellet, 2007**).

### **1-3-3- Antibiotiques interdit dans le traitement des animaux destinés à la consommation humaine :**

Le tableau (4) présent les anti-infectieux dont l'usage est interdit pour le traitement des animaux ou les productions sont destinées à la consommation humaine.

**Tableau n°4 :** anti-infectieux dont l'usage est interdit pour traitement des animaux dont les productions sont destinées à la consommation humaine, (**Guillemot, 2006**).

Principe actif	Règlement	Date
<b>Chloramphénicol</b>	1430/94 (CEE)	22/06/94
<b>Dapsone</b>	3426/93 (CEE)	14/12/93
<b>Dimétridazole</b>	1798/95 (CEE)	25/07/95
<b>Metronidazole</b>	613/98 (CEE)	18/10/98
<b>Furazolidone seule</b>	14402/95 (CEE)	26/06/95
<b>Autres nitrofuranes</b>	2901/93 (CEE)	18/10/93
<b>Ronidazole</b>	3426/93 (CEE)	14/12/92

### **1-3-4- Délai d'attente :**

#### **1-3-4-1- définition :**

Selon l'article L.617-2 du CSP de la CEE, le temps d'attente est défini comme étant le délai à observer la dernière administration du médicament à l'animal dans les conditions normales d'emploi et l'obtention des denrées alimentaires provenant de cet animal, afin de garantir qu'elles ne contiennent pas de résidus en quantités supérieures aux limites maximales établies par le règlement n°90-2377(CEE), (**Milhaud et Pinault, 1999**).

C'est aussi le délai à observer entre l'administration du médicament à un animal dans les conditions normales et l'utilisation des denrées alimentaires provenant de cet animal pour garantir que ces denrées alimentaires ne contiennent pas de résidus pouvant présenter des dangers pour la santé du consommateur, (**Milhaud, 1978**).

#### **1-3-4-2- fixation du temps d'attente :**

Pour fixer le temps d'attente d'une substance, il faut étudier son métabolisme pour connaître les lieux d'accumulation et les voies d'excrétion du composé de départ et de ses métabolites et étudier leur décroissance en fonction du temps. Ceci nécessite une première investigation avec des molécules marquées, puis de nombreux travaux complémentaires pour les doser. Les différents temps d'attente proposés devront assurer qu'il n'y a pas de résidus mesurables dans les productions d'animal vivant ou dans les denrées alimentaires obtenues après l'abattage, **(Milhaud, 1978)**.

#### **1-3-4-3- modalité de détermination du temps d'attente :**

Le temps d'attente est calculer en utilisant les résultats des études pharmacocinétiques de déplétion des résidus, réalisées sur un nombre suffisant d'animaux, recommandé par la ligne directrice, **(Milhaud et Pinault, 1999)**.

##### **1-3-4-3-1- la méthode classique :**

Consiste à fixer comme temps d'attente, le délai nécessaire pour que tous les tissus, de tous les animaux d'essai, présentent une teneur en résidus inférieure à la LMR fixée pour chacun d'eux. Ce délai de sécurité peut être estimé à 10 à 30% du délai précité, ou 1 à 3 fois la demi-vie d'élimination, en tout cas au moins 1 à 2 jours, **(Milhaud et Pinault, 1999)**.

##### **1-3-4-3-2- la nouvelle méthode proposée :**

Elle utilise une approche statistique se basant sur des principes de pharmacocinétique bien établis. Elle considère que l'élimination des résidus correspond à un modèle cinétique monocompartimental, la décroissance des concentrations en fonction du temps d'attente par une analyse de régression linéaire du log de la concentration en fonction du temps, **(Milhaud et Pinault, 1999)**.

#### **1-3-5- LMR des antibiotiques :**

##### **1-3-5-1- définition :**

Une LMR est la concentration maximale de résidus qui peut demeurer dans les tissus ou les produits alimentaires issus d'un animal destiné à l'alimentation humaine à qui l'on a administré des médicaments vétérinaires et que le consommateur et sans effet sur les processus de fabrication, **( Pouliquen et Le Bris, 2001) ; (Fabre et al, 2006)**.

### **1-3-5-2- fixation de la LMR :**

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

Selon **Fabre et al (2006)** la fixation de la LMR s'appuie sur 3 notions essentielles :

- Recherche de la dose sans effet sur l'animal par différents tests biologiques
- Partant de cette DSE et de facteurs de sécurité, calcul d'une Dose Journalière Admissible (DJA).
- Partant de cette DJA, de la connaissance de consommation alimentaire moyenne des habitants et de l'analyse de la répartition dans les différents tissus et organes, on calcule les LMR.

### **1-3-6- Objectifs et stratégie d'évaluation des résidus :**

C'est une démarche visant la protection de la santé publique consistant à définir la concentration maximale de résidus, résultant de l'utilisation normale du médicament, reconnue comme acceptable, dans ou sur un aliment, sans qu'il en résulte un risque d'altération de la santé du consommateur. Cette concentration est la LMR.

La fixation des LMR est l'aboutissement de la première phase de l'analyse des risques formalisés en dernier lieu par la Comité du Codex Alimentarius sur les résidus de Médicaments Vétérinaire dans les Aliments (CCVRDF). Cette analyse des risques comporte 3 composantes (**Milhaud et Pinault, 1999**) :

- L'appréciation des risques (C'est un processus à base scientifique en 4 étapes : L'identification des dangers ; La caractérisation des dangers ; L'évaluation de l'exposition ; La caractérisation des risques
- La gestion des risques
- La communication sur les risques

### **1-4- Les méthodes de détection et de quantification des résidus d'antibiotiques dans la viande blanche :**

Le contrôle des résidus d'ATB dans les denrées alimentaires d'origine animale s'effectue en 2 étapes avec la recherche d'un effet ATB par une méthode de dépistage et la confirmation de la

présence d'ATB par une méthode physico-chimique, (**Guillemot, 2006**).

#### **1-4-1- méthodes de détection (dépistage) :**

Sont rapides et peu coûteuses, permettent de traiter un grand nombre d'échantillons. Elles doivent avoir des limites de détection suffisamment basses, (**Scippo, Maghuin- Rogister, 2006**).

##### **1-4-1-1- méthodes de détection biologique (microbiologique) :**

###### **1-4-1-1-1- méthode alternative (premitest) :**

Permet de détecter les résidus d'ATB présentes dans la viande fraîche, la charcuterie, les reins le poisson et les œufs. C'est un test à large spectre, qui détecte un grand nombre d'ATB couramment utilisés pour la viande, (**Eloit, 2004**).

###### **1-4-1-1-2- la méthode de référence (méthode de 4 boîtes) :**

A pour objet, à l'aide de microorganismes sensibles, la mise en évidence de résidus de substances à activité ATB sans déterminer leur identité. Elle est applicable aux muscles d'animaux de boucherie et volailles, aux muscles et foies de palmipèdes gras, (**Gaudin et al, 2006 ; Scippo, Maghuin-Rogister, 2006**).

##### **1-4-1-2- méthodes biochimiques :**

###### **1-4-1-2-1- méthode enzymatique (penzymtest) :**

Ce test qui sert pour la détection des résidus des ATB de type bêta-lactamines (test qualitatif) dans le lait a été adapté à la mise en évidence de ces résidus dans la viande toute en tirant parti de la propriété de l'hydroxylapatite d'adsorber les protéines à faible force ionique et à pH neutre, (**Danhaive, 1986**).

###### **1-4-1-2-2- méthode sur tiges (le test beta star) :**

C'est un test de type Récepteur Assay. Il est basé sur l'emploi d'un récepteur spécifique lié à des particules d'or. Il est très spécifique de bêta-lactamines (pénicillines et céphalosporines), (**Maghuin-Rogister et al, 2001 ; Scippo, 2008**).

##### **1-4-1-3- méthodes immunologiques :**

###### **1-4-1-3-1- RIA (radio-immuno assay) et RRA (radio- récepteur assay) :**

Il est basé sur la compétition qui existe entre l'ATB marqué par un isotope et ce même ATB

non marqué présent dans l'échantillon à doser, pour un récepteur bactérien.

#### **1-4-1-3-2- ELISA (enzyme linked immuno sorbent assay) :**

Se base sur le même principe que le RIA mise à part le fait que le marquage est enzymatique au lieu d'être radioactif, (Maghuin-Rogister et al, 2001).

#### **1-4-2- méthodes de confirmation et de quantification :**

##### **1-4-2-1- méthodes chromatographiques :**

La chromatographie est une méthode physique de séparation basée sur les différences d'affinités des substances à analyser à l'égard de 2 phases, l'une stationnaire et l'autre mobile.(Chaboun, 2008 ).

##### **1-4-2-2- méthode spectrométrique (spectrométrie de masse (SM)) :**

C'est une méthode physico-chimique permettant d'identifier un principe toxique. Elle mesure des rapports masse/charge de molécules individuelles et ionisées et de leurs produits de fragmentations, (Haffmann et al, 2005).



# **Chapitre II – Matériels et méthodes**

## Chapitre II – Matériels et méthodes :

L'objectif de ce travail est la recherche des résidus des ATB dans la viande de poulet et précisément dans le foie, au niveau de la région de Nédroma.

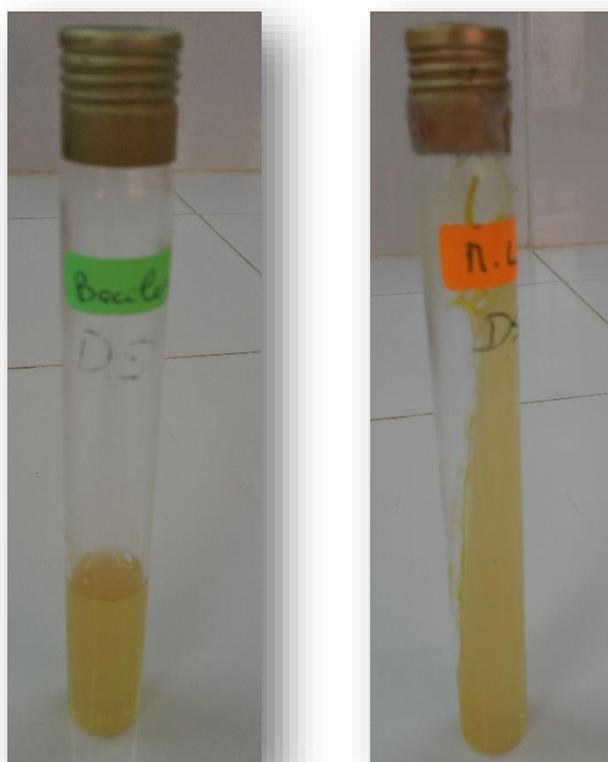
Ce travail se base sur une technique microbiologique de diffusion en gélose (AFSSA, 2000).

Les analyses des échantillons ont été réalisées au sein du laboratoire de microbiologie au département d'Agronomie de la faculté SNV/STU à l'université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen.

### 2-1- Matériels :

#### 2-1-1- Souches bactériennes : description, conservation et préparation :

Les souches *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et *Micrococcus luteus* ATCC 9341 sont utilisés lors de la présente étude ont été obtenues de divers laboratoires internationaux.



**Figure n°3** : les 2 souches de référence utilisées *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et *Micrococcus luteus* ATCC 9341

Le tableau (5) décrit chacune des souches, son origine, son milieu de culture ainsi que la température de croissance.

Chaque souche pure a été conservée individuellement dans des cryovials renfermant 1 ml de culture qui étaient maintenus à  $-80^{\circ}\text{C}$ . Précédant leur utilisation, les cryovials ont été utilisés pour inoculer un volume de 9 ml de BHIB pour les souches pathogènes pour ainsi constituer un premier repiquage. Cette étape constitue le réveil des souches.

**Tableau n°5** : origine, milieu de culture et température de croissance des différentes souches utilisées.

Souches	Origine de la souche	Milieu de culture	Température de croissance
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Laboratoire universitaire de Tlemcen	Muller Hinton Réf CM0337	37°C
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	Laboratoire universitaire de Tlemcen	Muller Hinton Réf CM0337	37°C

## 2-1-2- Milieux de culture et conditions de croissance :

### 2-1-2-1- BHIB (bouillon) :

Dans 1L de l'eau distillé ; dissoudre 37g de poudre de BHIB(Brain-Heart-Infusion : Réf CM 0225) ; mettre sur la plaque chauffante en agitant jusqu'avoir une solution claire, l'autoclaver pendant 15 min à  $120^{\circ}\text{C}$ .



**Figure n°4** : des flacons stériles contiennent de BHIB

#### 2-1-2-2- MH (gélose solide) :

Pour préparer 1L de ce milieu ; Nous avons besoin d'1L d'eau distillé et de 38g de poudre de Muller Hinton (Réf CM 0337). On fait bouillir le milieu en agitant pour but d'homogénéiser. On autoclave à 120°C pendant 15 min.

Les germes pathogènes : *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et *Micrococcus luteus* ATCC 9341 ont été réactivés et cultivés sur BHI (Brain-Heart-Infusion : Réf CM0225) et incubés en aérobie à la température d'incubation (37°C) pendant 24h.

Les deux souches ont été cultivées au moins trois fois avant l'expérience.



**Figure n°5** : les germes pathogènes : *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et *Micrococcus luteus* ATCC 9341 réactivés, cultivés et incubés

## 2-2- Echantillonnage :

L'étude a été réalisée au nord-ouest de l'Algérie ; la daïra de Nédroma (Tlemcen).

L'échantillonnage est effectué le 10 et le 11 Avril 2017 à partir des 8 tueries de la daïra de Nédroma.

Les tueries, les lieux, le temps d'abattage, la durée entre le temps d'abattage et la prise des échantillons et la quantité de foie sont résumés dans le tableau (6) :

**Tableau n°6 : Origine des échantillons**

Les tueries	Lieu de tuerie	Temps d'abattage	La prise des échantillons	La quantité de foie
<b>A</b>	HRAYEK	11/04/2017 20 :30	10 min	22
<b>B</b>	BAB TAZA	11/04/2017 21 :12	30 min	15
<b>C</b>	OUED TLATA	11/04/2017 19 :58	20 min	15
<b>D</b>	DAR BENFLIH	11/04/2017 20 :30	15 min	15
<b>E</b>	ZAOUYA	11/04/2017 21 :19	20 min	23
<b>F</b>	ZAOUYA	11/04/2017 21 :45	10 min	10
<b>G</b>	ZAOUYA	11/04/2017 00 :22	20 min	23
<b>H</b>	MEZZAOUROU	10/04/2017 20 :30	30 min	22
<b>somme</b>	–	–	–	<b>145</b>

Les prélèvements ont été conservés dans des sachets stériles type stomacher. Le transport s'est effectué dans des conditions contrôlées (4°C) dans des boîtes isothermes ; les enceintes de transport sont contrôlées avant chaque prélèvement, par un contrôle d'ambiance dans le but de maîtriser les risques de contaminations exogènes.



**Figure n°6 :** échantillon de foie congelé dans un sac stérile (original)

Les échantillons sont codifiés et conservés au congélateur jusqu'à leur utilisation au laboratoire.

### **2-3- Expérimentation au laboratoire :**

Ce travail a demandé d'étudier la croissance bactérienne de deux souches de références utilisées pour détecter la présence des résidus d'ATB. Cette technique comporte deux parties, la première est la mesure de la densité optique (DO) par le spectrophotomètre (JUNWAY), et la deuxième est le dénombrement en surface par la technique des spots.

#### **2-3-1- mesure de densité optique des bactéries :**

Pour mesurer la densité optique (DO) ; nous utilisons le spectrophotomètre (JUNWAY) (et/ou le colorimètre) qui nous permet de suivre en temps réel la croissance bactérienne dans un milieu BHIB à pH 7.2.



**Figure n°7 :** le spectrophotomètre JENWAY pour mesurer la DO

La DO permet de mesurer la biomasse de la culture et non directement sa concentration en cellules viables.

### **2-3-2- revivification des souches :**

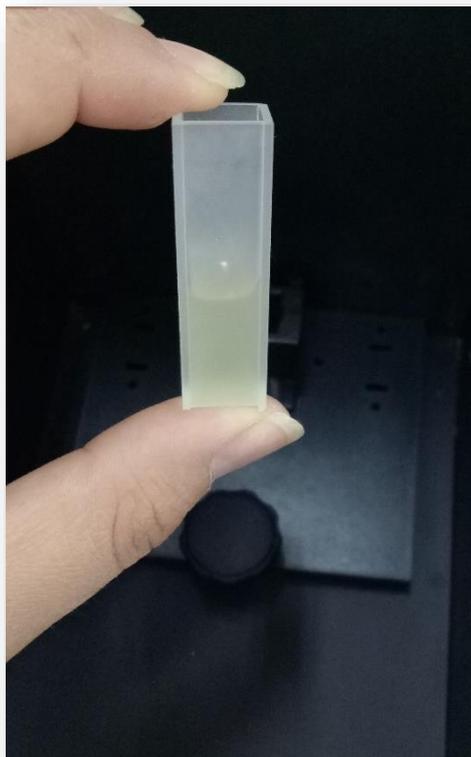
Nous avons pris 1 ml de la souche pure de *Bacillus subtilis* ATCC 6633 à l'aide de micropipette ; additionné avec 5 ml de bouillon BHIB. L'ensemble est incubé dans une étuve à 37°C pendant 18h.



**Figure n°8 :** revivification des souches : *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et *Micrococcus luteus* ATCC 9341

A partir d'un tube contenant une gélose inclinée de Muller Hinton, nous avons prélevé une colonie de *Micrococcus luteus* ATCC 9341. Nous l'avons ensemencé dans 5ml de bouillon BHIB. L'ensemble est incubé pendant 18h à 37°C.

Nous devons suivre l'absorbance chaque 2h pendant 24h, en prélevant 2 ml de la solution à l'aide d'une pipette de précision dans des conditions stériles et le verser dans une cuve à spectrophotomètre et mesurer la DO à 590 nm.



**Figure n°9** : une cuve de spectrophotomètre avec la solution pour mesurer la DO

### **2-3-3- dénombrement en surface par la technique des spots :**

Le dénombrement en surface est effectué par la technique des spots.

A une surface de la gélose parfaitement sèche, nous avons déposé les dilutions :  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$  et  $10^{-10}$ .

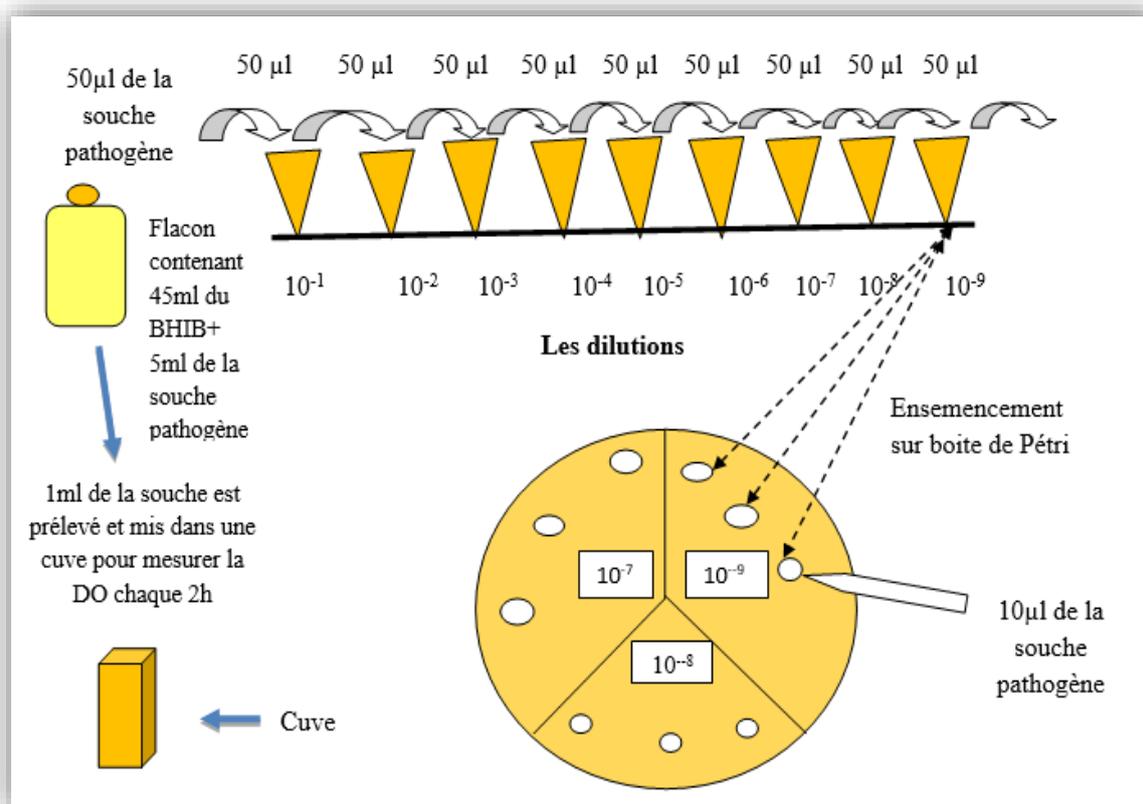
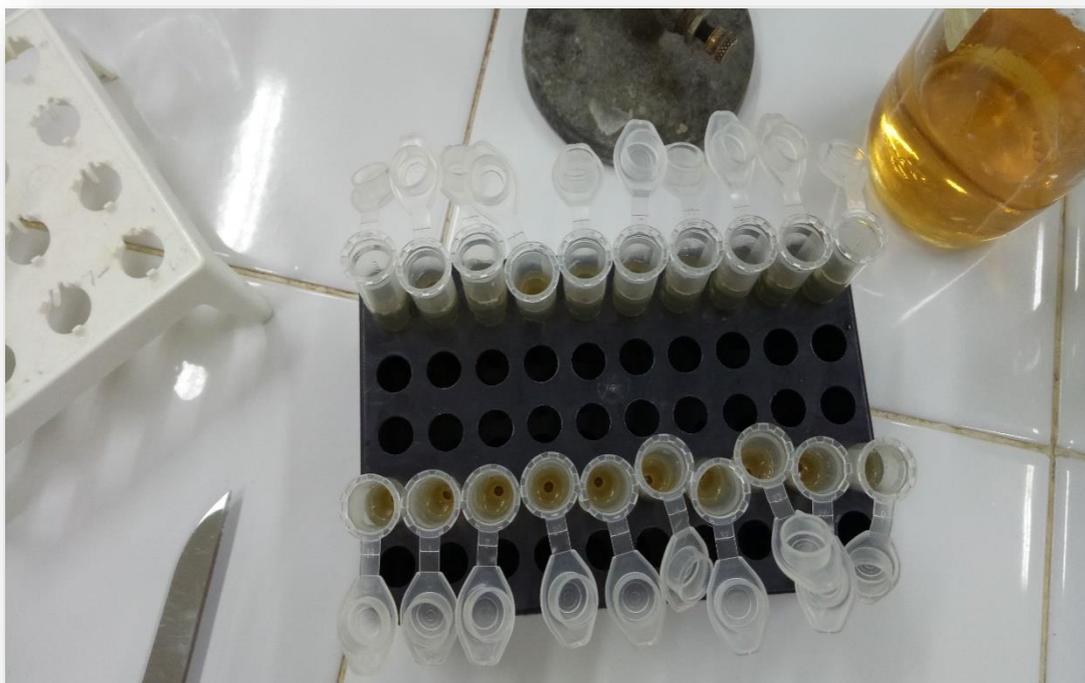


Figure n°10 : schéma représentatif de la cinétique bactérienne

#### 2-3-4- préparation des souches :

- Après une incubation de 18h nous avons prélevé 5ml de chaque culture bactérienne et nous l'avons mélangé avec 45ml d'un bouillon BHIB (= solution mère).
- 1ml est prélevé de chacun des 2 flacons de la solution mère qui contiennent les souches bactériennes ; et ajouté dans une cuve pour la DO (spectrophotomètre à 590 nm d'onde) pour le calcul de  $T_0$ .
- Préparer des tubes qui contiennent 450 µl de BHIB pour les dilutions.
- 50µl de la première solution est déposé dans le premier tube contenant 450 µl de BHIB. (c'est la première solution au  $10^{-1}$ ).
- De cette solution ; 50µl sont aussi prélevé pour une deuxième dilution au  $10^{-2}$  et ainsi de suite  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-10}$ .



**Figure n°11 : préparation des dilutions (original)**

- ✚ Pour chaque solution, nous avonsensemencé 10µl dans une boîte de pétri contenant le milieu de culture MH en raison de 3 ensemencements par boîte.
- ✚ Après 2h d'incubation de solution mère à 37°C :
  - Calculer la DO pour avoir la valeur de T<sub>2</sub>.
  - Réaliser les mêmes dilutions.
- ✚ Cette opération est répété continuellement chaque 2h jusqu'au T<sub>12</sub>. (=24h après 1<sup>er</sup> test).

#### **2-3-5- La méthode officielle des 4 boites (AFSSA, 2000) :**

La technique des 4 boites : l'objectif cette méthode est de mettre en évidence ; à l'aide des microorganismes sensibles des résidus de substance à activité antibiotique sans en déterminer leur identité. Elle est applicable aux muscles d'animaux de boucherie et volailles, aux muscles et foie. Elle est basée sur l'inhibition de la croissance de bactéries de genre *Micrococcus luteus* et *Bacillus subtilis*. Elle est réalisée au moyen de boites de pétri contenant une gélose ensemencée avec la souche *Micrococcus luteus* ou la souche *Bacillus subtilis*. Les zones d'inhibition dépourvues de colonies bactériennes autour des points de dépôts des échantillons (morceau de foie ou papier imbibé d'exsudat de foie) sont révélatrices de la présence

potentielle d'ATB, (AFNOR, 2011).

Le protocole expérimental utilisé est le suivant :

- L'ensemencement des boîtes de culture par les souches bactériennes sensibles aux ATB, à savoir : *Bacillus subtilis* à pH 6,0 ; 7,2 ; 8,0 et *Micrococcus luteus* à pH 8,0.
- Le dépôt de 10µl de l'exsudat dans les puits correspondants de chaque boîte préensemencée suivi d'une incubation à la température optimale du développement de la souche bactérienne correspondante.

Les ATB éventuellement présents vont diffuser dans le milieu et inhiber ainsi la croissance de l'organisme test, ce qui entrainera la formation d'une zone d'inhibition autour du disque de viande, (Bogaert et col, 1980 ; AFSSA, 2000 ; AFNOR, 2011).

Préparation des boîtes de pétri :

***Bacillus subtilis* :**

Gélose à pH 6,0 : (Détection de β-lactamines / Tétracyclines) : le milieu agar témoin pH 6,0 préalablement fondu puis refroidi à 45°C estensemencé avec 1% de la suspension de spores (dilution), de façon à obtenir une concentration d'environ 10<sup>4</sup> spores par ml de milieu. On répartit ensuite le milieuensemencé dans des boîtes de pétri à raison de 6ml par boîte puis on laisse refroidir sur une surface plane et horizontale.

Gélose à pH 7,2 : (Détection des sulfamides) : le milieu agar témoin pH 7 préalablement fondu puis refroidi à 45°C estensemencé avec 1% de la suspension de spores, de façon à obtenir une concentration d'environ 10<sup>4</sup>spores par ml de milieu. On répartit ensuite le milieuensemencé dans des boîtes de pétri à raison de 6ml par boîte puis on laisse refroidir sur une surface plane et horizontale.

Gélose à pH 8,0 : (Détection des Spiramycines) : le milieu agar témoin pH 8,0 préalablement fondu puis refroidi à 45°C estensemencé avec 1% de la suspension de spores (dilution), de façon à obtenir une concentration d'environ 10<sup>4</sup> spores par ml de milieu. On répartit ensuite le milieuensemencé dans des boîtes de pétri à raison de 6ml par boîte puis on laisse refroidir sur une surface plane et horizontale.

### ***Micrococcus luteus* :**

Gélose à pH 8,0 : (Détection des macrolides /  $\beta$ -lactamines) : le milieu agar témoin pH 8,0 préalablement fondu puis refroidi à 45°C estensemencé avec 1% de la suspension de spores (dilution), de façon à obtenir une concentration d'environ  $10^4$  spores par ml de milieu. On répartit ensuite le milieuensemencé dans des boîtes de pétri à raison de 6ml par boîte puis on laisse refroidir sur une surface plane et horizontale.

### Protocole expérimental :

La technique de diffusion se déroule comme suit :

- Placer au centre de chaque boîte, à l'aide d'une pince, un disque de papier filtre d'un diamètre de 6 mm sur lequel on dépose 10 $\mu$ l de la solution témoin correspondant à chaque boîte ; à savoir : la Pénicilline G (pH 6,0) ; le Sulfaprim S (pH 7,2) ; le Rovamycine (pH 8,0) pour *Bacillus subtilis* et Erythromycine (pH 8,0) pour *Micrococcus luteus* ; comme il est mentionné dans le tableau (7).
- Assurer le pré diffusion en laissant les boîtes une demi-heure à une heure à température de laboratoire.
- Retourner les boîtes et les incuber à 37°C durant 24h.

**Tableau n°7 :** les familles d'antibiotiques recherchées selon les souches de références (Hakem et al, 2013 ; Murugaiyah et al, 2015) :

Souches de références	pH	T° d'incubation (°C)	Familles d'ATB recherchée	L'ATB témoin utilisé
<i>Bacillus subtilis</i>	6	37	B-lactamine et/ou tétracycline	Pénicilline G
<i>Bacillus subtilis</i>	7,2	37	Sulfamide	Sulfaprim S
<i>Bacillus subtilis</i>	8	37	Spiramycine	Rovamycine
<i>Micrococcus luteus</i>	8	37	Macrolide et/ou B-lactamine	érythromycine

### **2-3-6- préparation des solutions témoins, (AFSSA, 2000) :**

La quantité d'ATB à peser est en fonction du nombre d'UI (unités internationales) par mg ou la pureté de l'ATB en question. La balance de précision à + ou - 2mg.

### 2-3-6-1- solution témoin contenant la pénicilline G :

Dissoudre 61mg de pénicilline G sodique correspondant à 1.000.000 U.I dans de l'eau distillée et ajuster à 100ml dans une fiole jaugée.

Au moment de l'emploi, diluer cette solution mère au 1/5.000 en effectuant deux dilutions successives ; l'une à 1/100, et l'autre au 1/50.

La concentration de la solution finale est 0,2 U.I de pénicilline par ml.

La solution mère de la pénicilline est conservée au réfrigérateur pendant 5 jours maximum.



Figure n°12 : l'antibiotique témoin de pénicilline G (originale)

### 2-3-6-2- solution témoin contenant la Sulfaprim S, (AFSSA, 2000) :

Prendre 0,125µl de Sulfaprim S ; correspondant au 50.000 µg de matière active dans 5ml de NaOH 0,1M et ajuster à 50ml avec de l'eau distillée dans une fiole jaugée. Au moment de l'emploi, diluer cette solution mère au 1/50. La concentration de la solution finale est de 0,02 mg de Sulfaprim S par ml. La solution mère de Sulfaprim S peut être conservée au réfrigérateur 7 jours au maximum.



Figure n°13 : l'antibiotique témoin de Sulfaprim S (originale)

#### 2-3-6-3- solution témoin contenant la Rovamycine, (AFSSA, 2000) :

Dissoudre dans une fiole jaugée de 50ml, 64mg de Rovamycine correspondant à 50.000 $\mu$ g de matière active dans de l'eau distillée et ajuster à 50ml dans une fiole jaugée. Au moment de l'emploi, diluer cette solution mère au 1/200. La concentration de la solution finale est de 5 $\mu$ g de Rovamycine par ml. La solution mère de Rovamycine peut être conservée au réfrigérateur pendant un mois au maximum.



Figure n°14 : l'antibiotique témoin de Rovamycine (originale)

#### 2-3-6-4- solution témoin contenant de l'Erythromycine (AFSSA, 2000) :

Dissoudre 54mg de l'Erythromycine correspondant à 50.000 $\mu$ g de matière active dans 3 ml de méthanol, et ajuster à 50ml avec de l'eau distillée dans une fiole jaugée. Au moment de l'emploi, diluer cette solution au 1/4.000 en effectuant deux dilutions successives, l'une au 1/200 et l'autre au 1/20. La concentration de la solution finale est de 0,25  $\mu$ g d'Erythromycine par ml. La solution mère d'Erythromycine peut être conservée au réfrigérateur pendant 14 jours maximum.



Figure n°15 : l'antibiotique témoin d'érythromycine " erybesan" (originale)

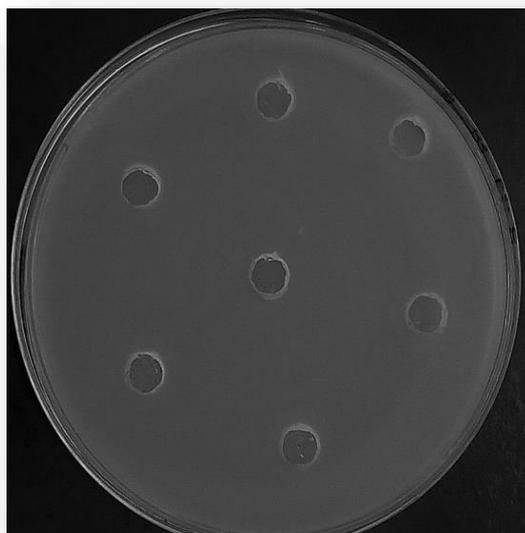
#### 2-3-7- préparation des échantillons :

Les échantillons congelés sont décongelés à l'air libre.

25g de chaque échantillon est prélevé, pesé et broyer avec un mortier stérile contenant 250ml d'une solution de Ringer stérilisé.

#### 2-3-8- ensemencement des milieux de culture :

Nous avons réalisé 6 répétibilités pour chaque échantillon, donc dans une boîte de pétri ; nous trouvons 6 puits correspondant à la répétabilité d'un échantillon de foie et un puits au centre correspondant au témoin positif.



**Figure n° 16 :** boîte de pétri avec des puits des échantillons et des témoins (original)

Pour les solutions témoins en contact avec *Bacillus subtilis* ; nous avons ajouté la pénicilline G pour la boîte à pH 6, le Sulfaprim pour pH 7,2 et la Rovamycine pour le pH 8.

Pour la solution témoin en contact avec *Micrococcus luteus* à pH 8 ; on a utilisé l'érythromycine.

### **2-3-9- interprétation des zones d'inhibition :**

A l'issue de l'incubation, des solutions témoins doivent présenter une zone d'inhibition nette supérieure ou égale à 11mm. Pour chacune des quatre boîtes ; sont considérés comme positifs, les échantillons de foies donnant des zones d'inhibition supérieures à 8 mm, diamètre du puits compris.

Sont considérés comme contenant des résidus d'ATB, les échantillons trouvés positifs par l'une au moins des quatre boîtes testées. Après avoirensemencé les boîtes par *Bacillus subtilis* aux pH 6 ; 7,2 ; 8 et *Micrococcus luteus* à pH 8.

On a procédé à la vérification de leur sensibilité et ce en déposant dans le puits au centre de la boîte de 6mm de diamètre 10µl des solutions de pénicilline G, de Sulfaprim S, de Rovamycine et l'érythromycine dans les boîtes correspondant à *Bacillus subtilis* (pH 6 ; 7,2 ;8) et *Micrococcus luteus* (pH 8), respectivement.

# **Chapitre III – Résultats**

### Chapitre III – Résultats :

Dans cette partie ; nous allons présenter les résultats, qui englobe l'étude de la cinétique bactérienne et la détection des résidus d'ATB par la méthode des 4 boîtes dans la viande de poulet.

#### 3-1- Résultat de la cinétique bactérienne :

Les résultats de la cinétique bactérienne comportent le calcul de la croissance par la DO et le développement des colonies en spots.

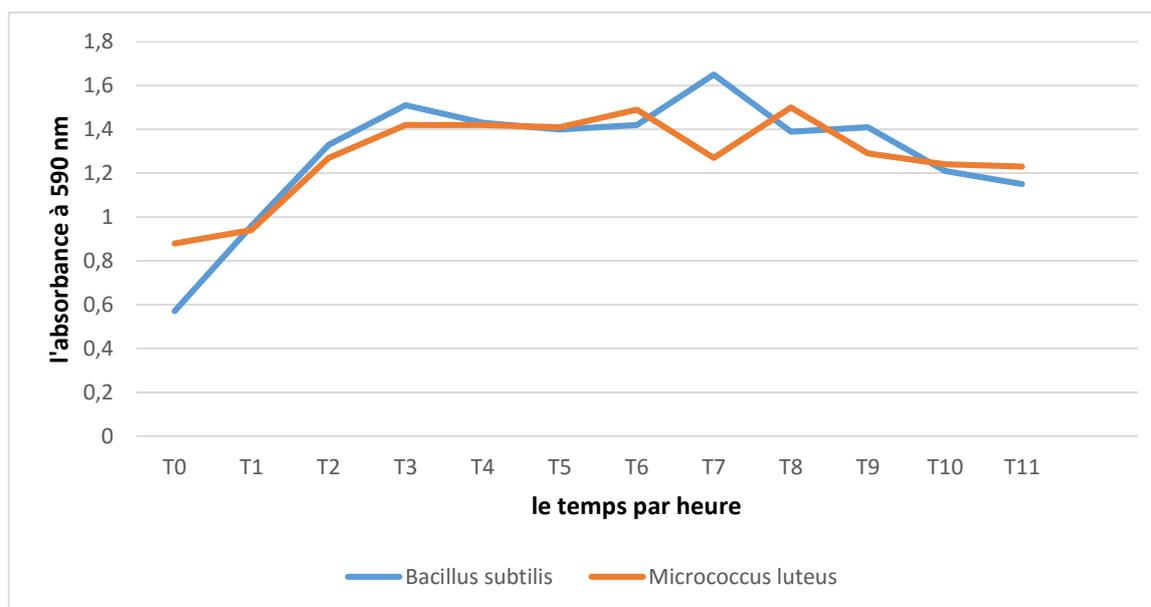
##### 3-1-1- Résultats de la cinétique par la mesure de la DO :

##### 3-1-1-1- mesure de la DO par le colorimètre :

Nous avons mesuré la DO par le colorimètre à 590nm, et on a obtenu les résultats mentionnés dans le tableau (8) suivant :

**Tableau n°8** : résultats obtenues par le colorimètre :

Tn souches	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Micrococcus luteus</i>
T0	0.57	0.88
T1	0.96	0.94
T2	1.33	1.27
T3	1.51	1.42
T4	1.43	1.42
T5	1.40	1.41
T6	1.42	1.50
T7	1.65	1.27
T8	1.39	1.49
T9	1.41	1.29
T10	1.21	1.24
T11	1.15	1.23



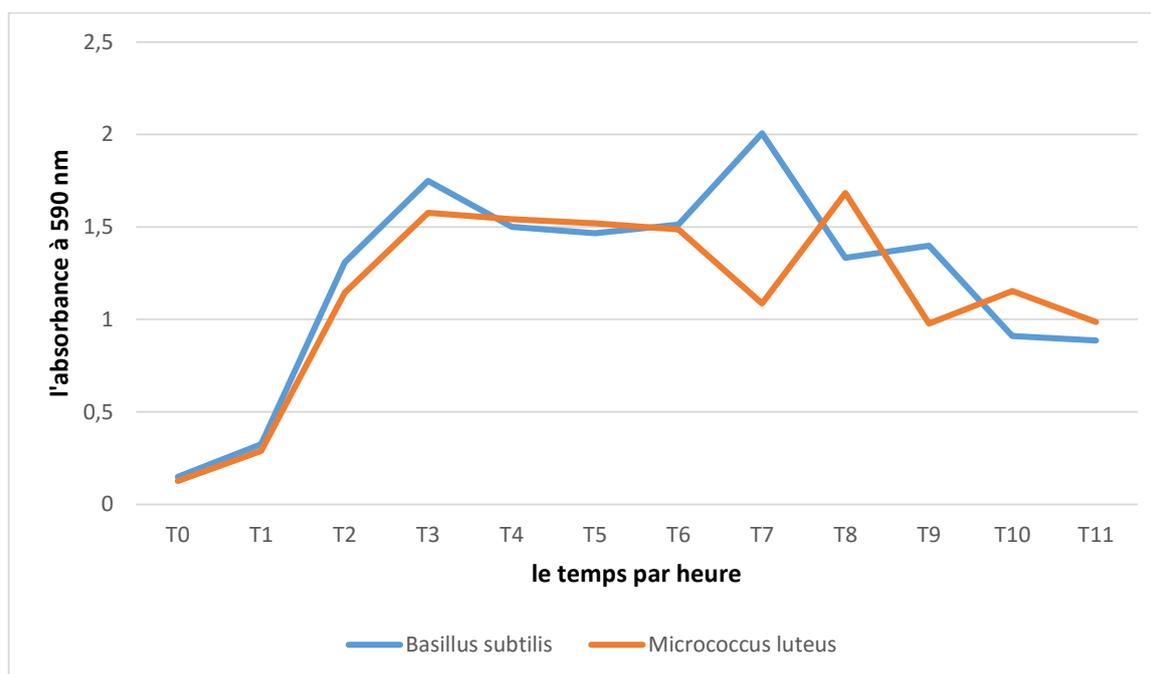
**Figure n°17 :** étude de la cinétique bactérienne des *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et *Micrococcus luteus* ATCC 9431 en mesurant la DO par le colorimètre

### 3-1-1-2- mesure de la DO par le spectrophotomètre :

Nous avons mesuré aussi la DO par le spectrophotomètre à 590nm, et on a obtenu les résultats mentionnés dans le tableau (9) :

**Tableau n°9 :** résultats obtenu par le spectrophotomètre :

Tn souches	Bacillus subtilis	Micrococcus luteus
T0	0.149	0.126
T1	0.325	0.288
T2	1.309	1.145
T3	1.75	1.576
T4	1.5	1.542
T5	1.467	1.52
T6	1.512	1.487
T7	2.007	1.087
T8	1.333	1.683
T9	1.399	0.977
T10	0.911	1.154
T11	0.886	0.987



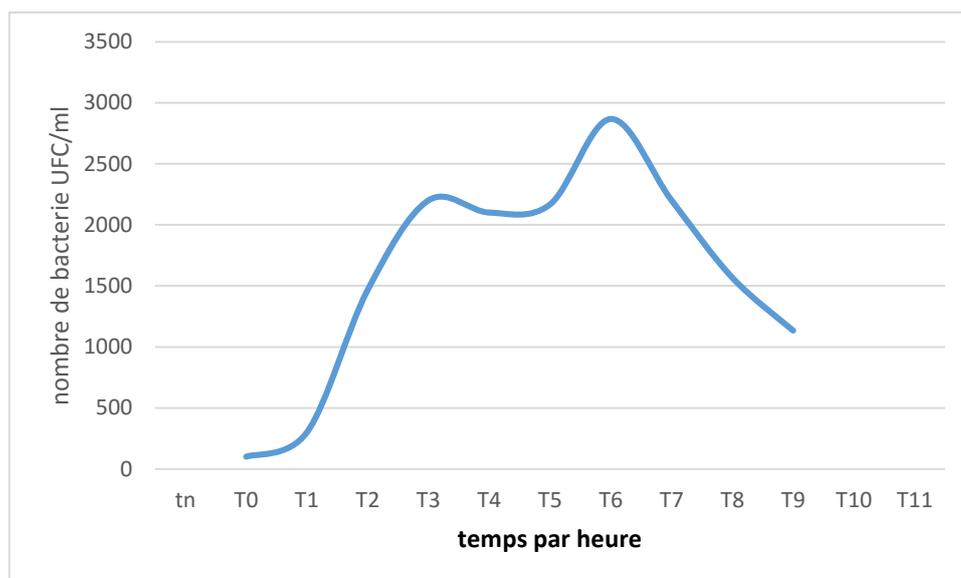
**Figure n° 18** : étude de la cinétique bactérienne des *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et *Micrococcus luteus* ATCC 9431 en mesurant la DO par le spectrophotomètre

La courbe de cinétique bactérienne révèle une activité microbienne croissante des deux souches étudiées : *Bacillus subtilis* ATCC 6633 entre T0 et T7 et *Micrococcus luteus* ATCC 9341 entre T0 et T8.

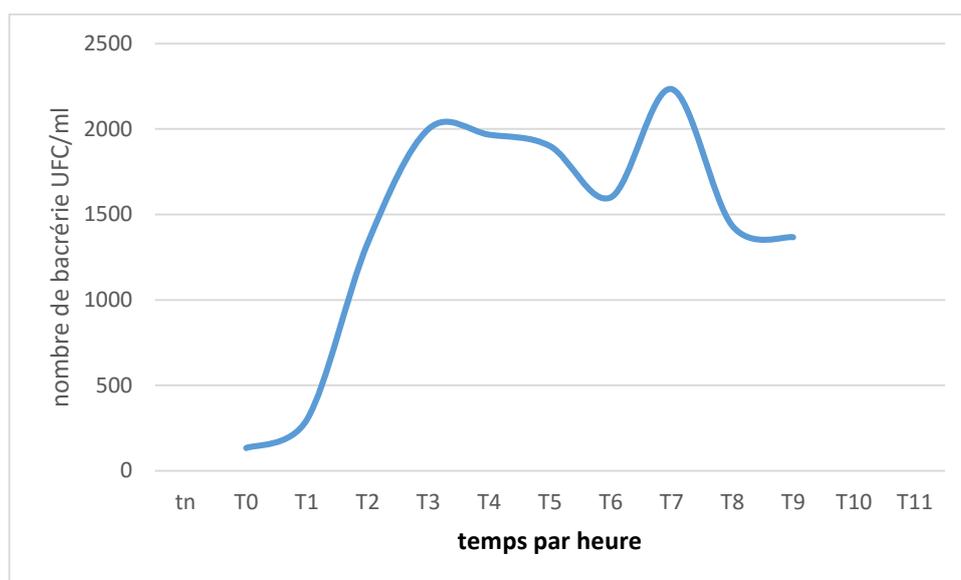
Nous remarquons que la première souche : *Bacillus subtilis* ATCC 6633 atteint sa charge maximale après 14h d'incubation ; et la deuxième souche : *Micrococcus luteus* ATCC 9341 atteint sa charge maximale après 16h d'incubation.

### 3-1-2- Dénombrement des souches en spots :

La courbe montre que le dénombrement de la souche *Bacillus subtilis* ATCC 6633 est croissant jusqu'à atteindre un maximum à T7 (14 heures d'incubation).



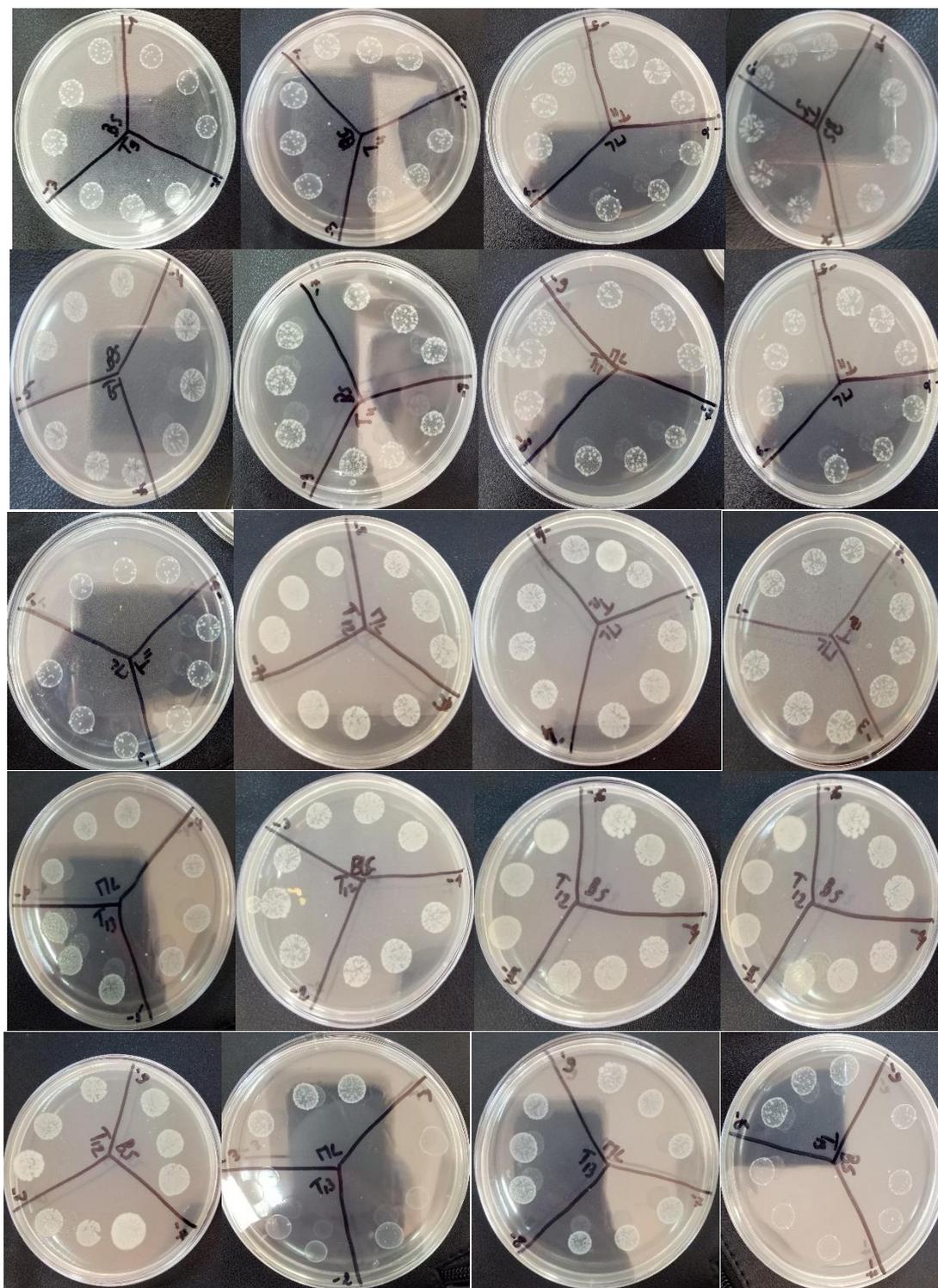
**Figure n°19 :** courbe de cinétique bactérienne par la méthode de dénombrement en spots à la dilution  $10^{-7}$  de la souche *Bacillus subtilis*



**Figure n°20 :** courbe cinétique bactérienne par la méthode de dénombrement en spots à la dilution  $10^{-8}$  de la souche *Micrococcus luteus*

Cette courbe montre que le dénombrement de la souche *Micrococcus luteus* ATCC 9341 est croissant jusqu'à atteindre un maximum à T8 (16 heures d'incubation).

Les résultats de la cinétique bactérienne sont presque identiques entre la mesure de la densité optique et les spots des deux souches de référence *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et *Micrococcus luteus* ATCC 9341.



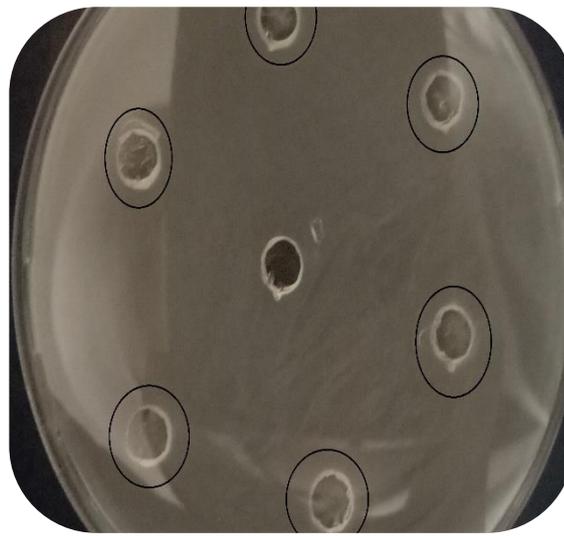
**Figure n°21** : Photos de la culture en spot de *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et *Micrococcus luteus* ATCC 9341

### 3-2- Résultats de la présence des résidus d'antibiotiques dans le foie de poulet par la méthode de 4 boîtes :

Après l'analyse des échantillons de foie de poulet par la méthode des quatre boîtes, les résultats obtenus montrent la présence des zones d'inhibitions qui témoignent de la présence des résidus d'ATB.



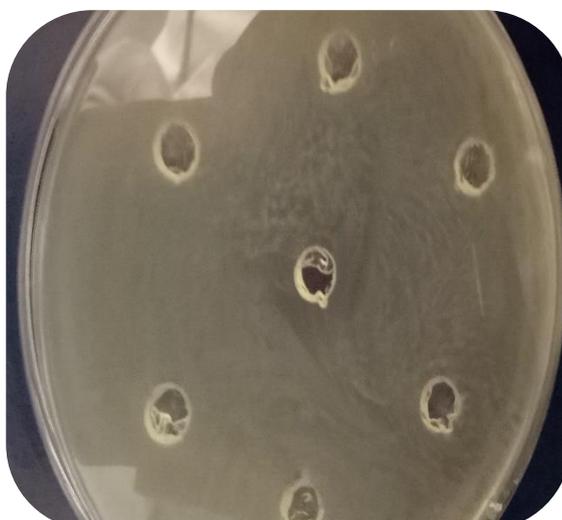
*Micrococcus luteus* à pH 8



*Bacillus subtilis* à pH 7,2



*Bacillus subtilis* pH 8

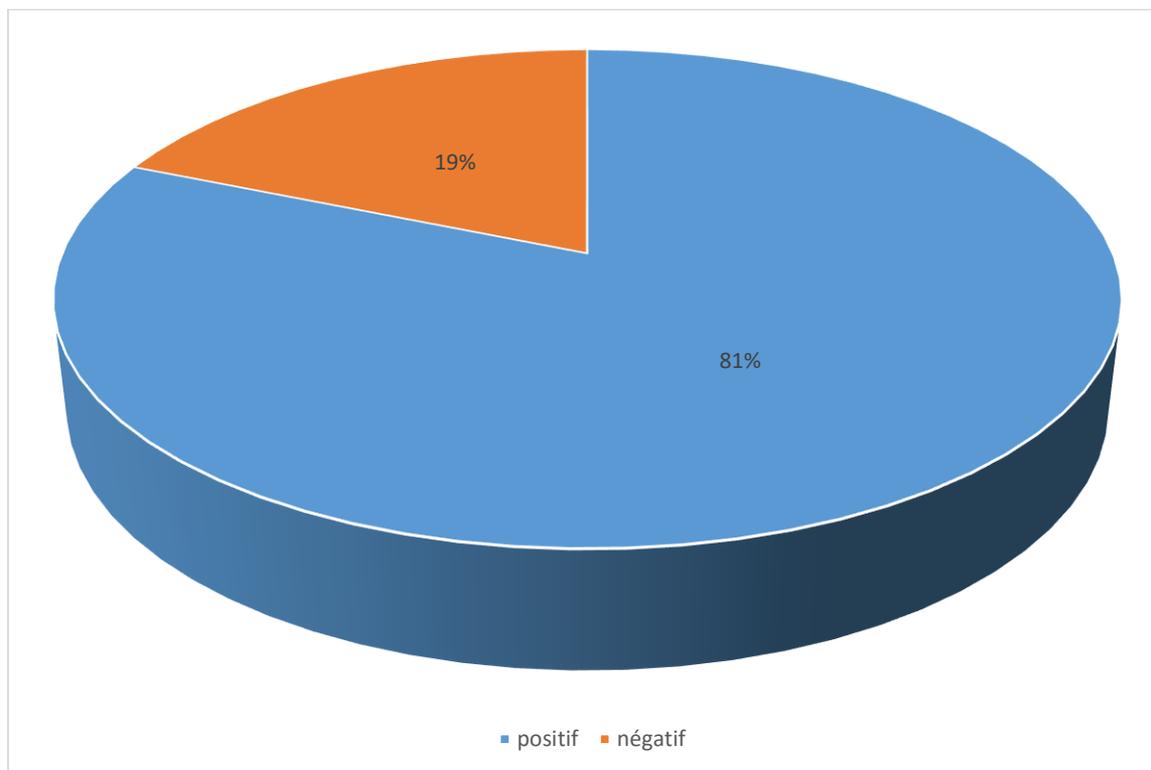


*Bacillus subtilis* à pH 6

**Figure n°22 :** souches de références (positives/négatives) et la présence/absence de résidus d'ATB

La figure suivante montre que sur 145 foies traités, 118 (précisément 117,81 foies) d'entre eux sont positifs.

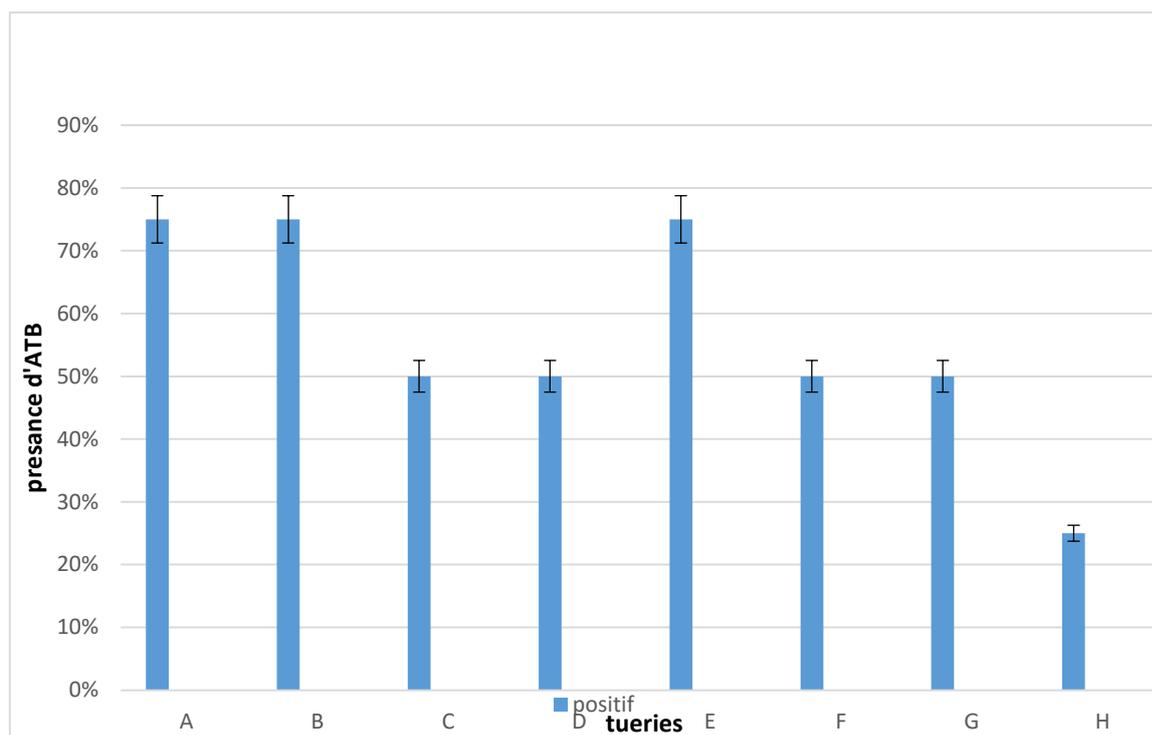
C'est l'équivalent de 81,25% de cas positifs.



**Figure n°23** : détection des résidus d'ATB dans le foie de poulet dans la région de Nédroma en 2017

### 3-2-1- comparaison entre les tueries :

La figure montre que les résidus d'ATB sont présents dans les foies dans toutes les tueries à différent pourcentages :

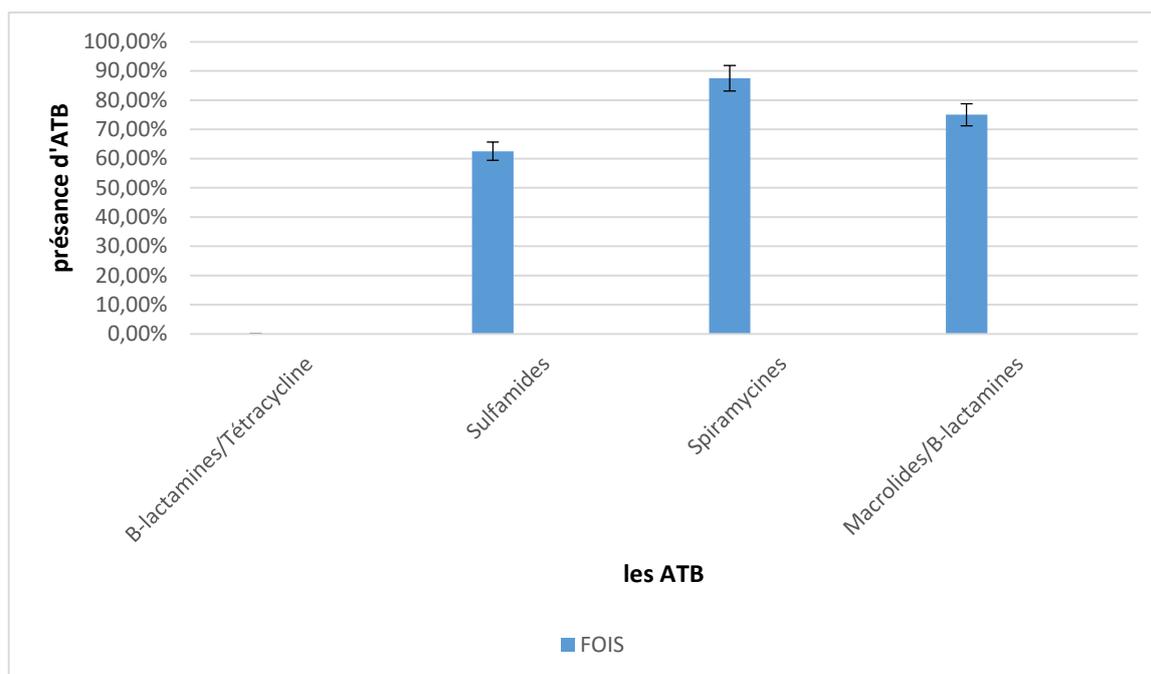


**Figure n° 24:** répartition des résidus d'ATB dans le foie de poulet selon les tueries de la région de Nédroma en 2017

### 3-2-2- comparaison de la présence des résidus d'ATB selon les familles d'ATB :

Selon les familles d'ATB ; ce sont les Spiramycine qui dominent dans les foies, suivis par les érythromycines puis les sulfamides.

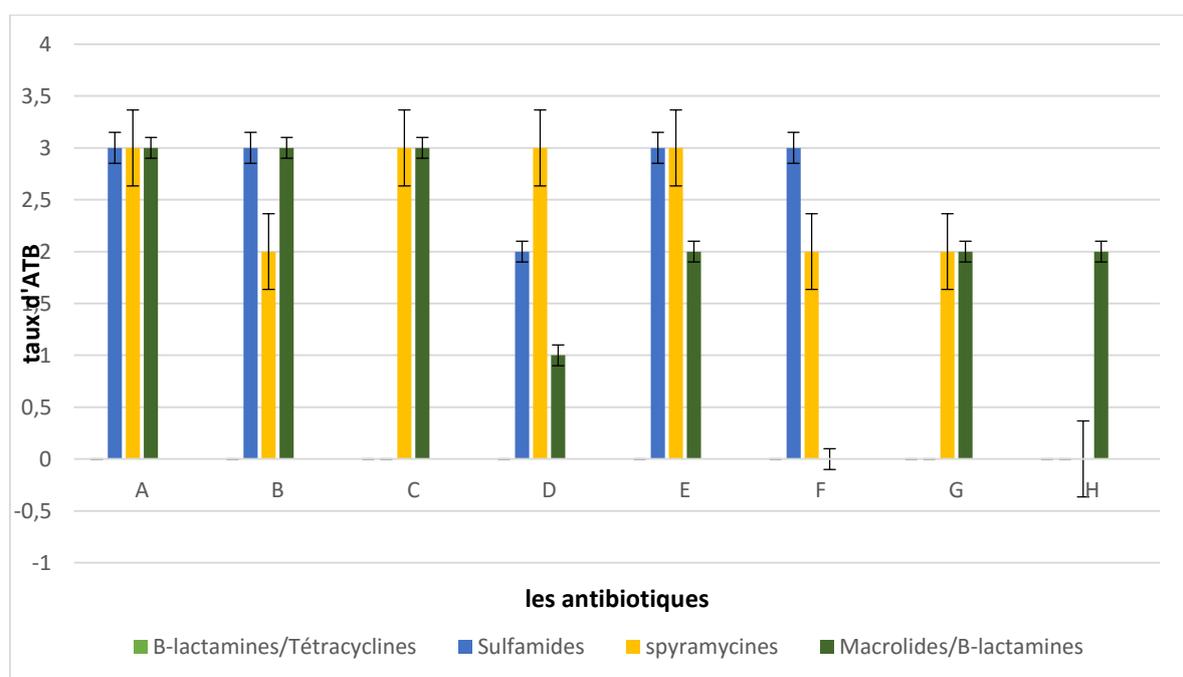
Nous remarquons l'absence total de  $\beta$ -lactamines et/ou tétracyclines dans tous les échantillons.



**Figure n°25 :** comparaison entre famille d'ATB présents dans le foie de poulet dans la totalité des échantillons

### 3-2-3- détection des résidus d'ATB dans toutes les tueries selon les familles :

Dans la figure suivante, nous montrons que les Spiramycines sont présents presque dans tous les tueries, les sulfamides et les macrolides/β-lactamines sont aussi abondantes, et les β-lactamines/Tétracyclines sont absents dans tous les échantillons.



**Figure n°26 :** répartition des résidus d'ATB dans le foie de poulet dans chaque tuerie

### **3-3 L'analyse des causes :**

En utilisant le diagramme d'ISHIKAWA, ou diagramme de cause à effet, nous avons pu représenter sur la figure (27) les principales causes qui conduisent à la présence des résidus d'antibiotiques dans le foie. Son intérêt est de permettre d'avoir une vision générale sur la situation réelle de tueries dans la région de Nédroma, en recombinaut les résultats de l'enquête et le taux de contamination présenté dans nos échantillons.

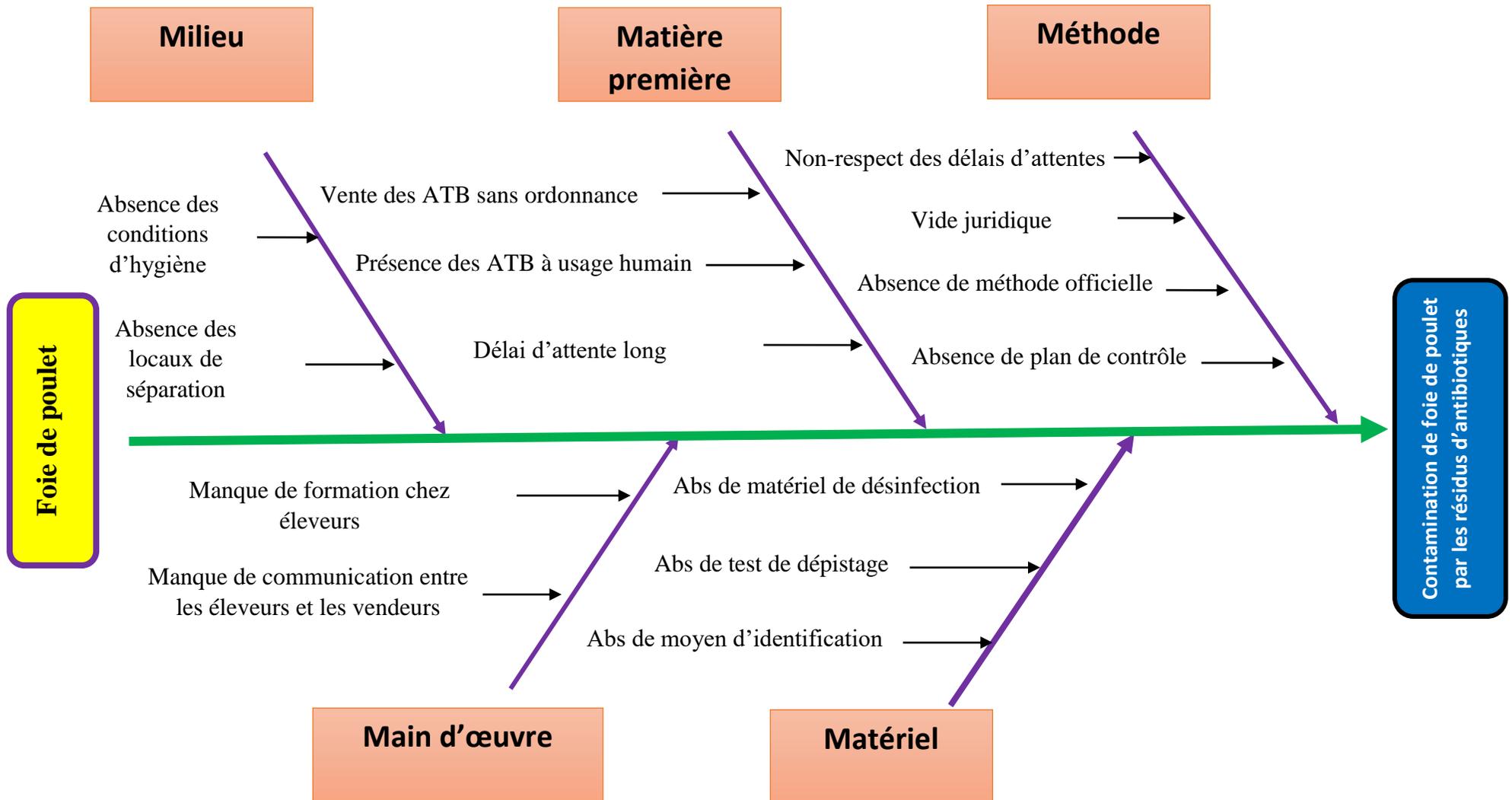


Figure n°27 : diagramme d'Hishikawa.

Grace à cet outil de qualité et après l'analyse des causes nous avons représenté les mesures préventives.

**Tableau n°10 : les causes et les mesures préventives**

étapes	dangers	Causes de dangers	criticité	Mesures préventives
<b>Eleveurs avicoles</b>	Physique : personnel	Mauvaise gestion des élevages avicoles (manque de personnel qualifié)	C=F*D*G C=5*5*5 C=125	La bonne gestion des élevages avicoles garantissant aux animaux un statut sanitaire de haut niveau
		Manque de formation des éleveurs		Renforcement de la législation
	Biologique : présence des résidus d'antibiotiques	Absence de moyens d'identification	C=F*D*G C=5*5*5 C=125	Installation d'un système de traçabilité des antibiotiques
		Manque de communication		Exigence de registre d'élevage
		L'utilisation anarchique des antibiotiques		Sensibiliser les éleveurs, les vétérinaires aux dangers liés à la présence des résidus d'antibiotique par le biais des campagnes de sensibilisation.
				L'utilisation de façon prudente et rationnelles des antibiotiques et ceux par un personnel qualifié
		Le non-respect du délai d'attente		L'antibiotique et l'application de la réglementation, de contrôle, des plans de surveillance et de sanction rigoureuses
		Absence de test de dépistage		Validation des tests de dépistages rapides avec la spécification des méthodes confirmatives officielles
		Absence de plan de contrôle		Mètre un plan d'action pour stopper la circulation de ces molécules
		Absence de méthode de détection de résidus d'antibiotiques		

Suivant le tableau (10); on révèle que le point le plus important est la quantité des antibiotiques donnée par les éleveurs et l'hygiène des tueries qui doit être établie de façon à assurer le respect des exigences de qualité du foie (réglementaires, interprofessionnelles et/ou définies en interne) et des normes.

# **Chapitre IV-**

# **Discussion**

## Chapitre IV- Discussion :

### 1. Limites de l'échantillonnage :

La zone de prélèvement, les abattoirs de Nédroma, ne nous renseigne pas sur l'exposition globale des consommateurs nédromiens aux résidus d'antibiotiques. Les informations recueillies ne concernent qu'une faible partie de la quantité de viandes consommées et ne prennent pas en compte tous les autres abattoirs du pays et les filières de commercialisations.

En outre, compte tenu de certaines contraintes, le nombre d'échantillons analysés (145) bien que représentatif de la population des poulets abattus quotidiennement aux abattoirs de Nédroma (1200 /j), laisse une marge d'erreur pour des critiques.

Enfin, on peut relever un biais lié à la saisonnalité. En effet, notre étude s'étant déroulée pendant l'automne, il aurait été intéressant de réaliser une étude avec un échantillonnage plus étalé sur toute l'année, les pratiques d'élevage n'étant pas identiques d'une saison à une autre.

### 2. Limites de la méthode d'analyse :

Ne sont considérés comme positifs que les échantillons dont les solutions témoins est positif et les échantillons avec une zone d'inhibition nette et supérieure ou égale à 8 millimètres.

Cette méthode ne va donc pas détecter des quantités très faibles de résidus.

Lorsque les résultats sont douteux, l'analyse est recommencée. Si elle est à nouveau douteuse, le résultat est considéré comme négatif.

Conclusion : la méthode a tendance à sous-estimer la présence de résidus.

### 3. Interprétations :

Pour les résidus de sulfamides, de B-lactamines/tétracyclines, d'Spiramycines et de macrolides, les échantillons positifs pourraient donc être déclarés «non consommables et potentiellement dangereux pour la santé humaine».

Cette présence pourrait s'expliquer par l'utilisation abusive des antimicrobiens probablement liés à un traitement des animaux suivi d'un délai d'attente insuffisant (**Corpet et Brugere, 1995**). L'hypothèse de l'ajout des antibiotiques comme additif alimentaire (facteur de croissance) de façon officieuse reste fortement suspectée malgré l'interdiction de cette pratique.

La contamination des denrées alimentaire d'origine animale a été rapportée par de nombreux auteurs. En effet en Algérie de nombreuses études ont rapporté la présence de résidus, dans la région de Tizi Ouzou selon **Hakem et al, (2015)** les analyses des échantillons ont dévoilé la présence de 124 échantillons positifs sur 145 prélevés, soit un pourcentage de 86,2 %. Dans la même région, **Ramdane (2015)** signale un taux de 60 % d'échantillons positifs. Dans la

région d'El Taref, **Mansouri (2007)** trouve que 65,7 % de ses échantillons contenant des résidus d'antibiotiques.

Au niveau International, le problème des résidus des médicaments vétérinaires dans les denrées d'origine animale particulièrement les viandes est un réel problème. En effet, en Irak **Shareef et al. (2009)** ont rapporté la présence de 39 échantillons positifs sur un total de 75. Au Sénégal **Bada-Alamedji et al. (2004)** ont mis en évidence 4 échantillons positifs sur un total de 41 échantillons prospectés soit un pourcentage de 9,8 %. En Suisse **Edder (2002)** a dévoilé 35 échantillons positifs sur un total de 293 échantillons analysés soit un pourcentage de 12 %.

Une étude réalisée en Suisse (**SISQA, 2003**) portant sur un effectif total de 55 échantillons de viande de volaille provenant de différentes régions du monde : Chine (19), Brésil (6), Hongrie (8), l'Europe de l'Ouest (12), Europe de l'Est (4) Thaïlande (3) et le Chili (2) a révélé que 20 échantillons sont positifs à la présence de résidus d'antibiotiques soit un taux de 36 %.

Deux études menées au Sénégal par **Châtaigner et Stevens(2003)** et **Bada-Alamedji et al. (2004)** ont rapporté des taux de positivité de 3 % et 9,8 % respectivement.

Un plan de surveillance des résidus d'antibiotiques dans la viande au Royaume-Uni a révélé un taux de positivité de 0,8 % en 2000, de 3,97 % en 2002 et 0,2 % en 2003 (**Mavis, 2003**).

Le pourcentage important des cas positifs est à cause du non-respect de délai d'attente, ainsi qu'à l'automédication des animaux par les éleveurs, chez lesquels les notions sur les conditions et les quantités administrées sont absentes.

La présence de ces résidus aux taux supérieurs au LMR fixées peut avoir des conséquences néfastes aussi bien sur la santé humaine que animale, en effet elles peuvent amener à une sélection de bactéries résistantes aux antibiotiques, cette résistance peut se manifester à l'égard d'un seul ou de plusieurs antibiotiques.

Dans la présente recherche, le taux de négativité est de 36 %, ne signifie probablement pas l'absence de résidus dans les échantillons analysés, car ces derniers peuvent contenir des molécules d'antibiotiques à une concentration inférieure à la CMI. Cette situation pourrait s'expliquer par l'usage d'antibiotiques à faible doses et pendant des périodes prolongées qui peut accélérer le gain de poids ou améliorer l'indice de conversion mais il faut savoir que l'importance de l'amélioration dépend de différents facteurs, dont la composition des aliments, les pratiques de gestion et l'état sanitaire du troupeau **Klotins (2006)**.

Concernant la répartition des familles d'antibiotiques, les pourcentages étaient variables ; pour les B-lactamines et/ou Tétracycline, nous avons remarqué une absence total de B-lactamines., ceci est égal au résultat trouvé en Egypte par **Abdelmoaty (2015)** qui signale

l'absence totale des B-lactamines et/ou Tétracyclines dans les échantillons, les investigations d'**Olatoye et al** en **2007** menées aux abattoirs municipaux d'Akure dans l'état de l'Ondo au Nigéria, par la même méthode, ont montré que sur 180 échantillons analysés, 98 (soit 54,44%) contenaient des résidus d' $\beta$ -lactamines.

La présence des sulfamides est enregistrée avec un pourcentage de 62,50 %. Les deux études faites à Tizi-Ouzou par **Hakem et al. (2013)** et **Ramdane (2015)** apportent des pourcentages des sulfamides respectivement de 36,29 % et 18,75 %. Une autre étude est réalisée en Egypte par **Abdelmoaty (2015)** qui souligne un pourcentage de 23 % de sulfamides.

Le plus important taux de positivité est celui obtenu par la famille des Spiramycines, avec un taux de 87,5%. Au Benin, **Mensah et al. (2013)** soulignent un taux de 21,43 % de Spiramycines. Avec 8 % des cas au Sénégal, selon les études d'**Abiola et al. (2005)**.

Nous avons noté aussi un taux de positivité très important des Macrolides et/ou B-lactamines avec 75 %. Selon **Hakem et al. (2013)** les Macrolides et/ou B-lactamines sont notés à un taux de 44,35 %. Par contre **Ramdane (2015)** signale l'absence totale de cette partie dans les échantillons.

#### **4. conclusion :**

Ces chiffres indiquent clairement que les foies de poulets sont contaminés par les résidus d'antibiotiques, aussi bien à l'Algérie que dans d'autres pays sur le continent. Dans le cas de notre étude, un certain nombre de raisons peuvent nous permettre d'expliquer cette augmentation de la prévalence des résidus d'antibiotiques.

La première raisons est la manière dont les antibiotiques sont utilisés par les acteurs de l'élevage. En effet, alors que les interventions des vétérinaires et techniciens sont contrôlées, l'accessibilité aux antibiotiques et leur usage par les paysans et les éleveurs échappent complètement à tout contrôle. L'abondance de ces médicaments sur le marché et la facilité d'accès, l'ordonnance n'étant plus une exigence nous conduit à poser l'hypothèse d'une utilisation abusive et très fréquente des antibiotiques. Les éleveurs préféreraient ainsi faire des traitements préventifs avant d'amener les animaux au foirail pour valoriser et protéger leur capital qu'est le bétail. Et cela, sans aucun respect des délais d'attente avant abattage.

De plus, le non-respect des délais avant abattage ne semble pas spécifique à la filière de poulet car même dans les filières mieux encadrées sanitaire, des études de **Biagui et al** en **2004** dans la zone de Dakar ont montré un pourcentage de non-respect des délais d'attentes de l'ordre de 29,27%

En outre, la période de notre échantillonnage (l'automne) correspond à la saison où on note en général une recrudescence des maladies infectieuses, et donc l'intensification des traitements médicamenteux (**Diallo, 1979**).

Le nombre d'échantillons analysés pourrait aussi avoir influencé ces résultats. En effet, dans notre étude et compte tenu de nos moyens limités, seulement 145 échantillons ont été analysés, tandis que dans l'étude de **Châtaigner et al** commanditée par la direction de l'élevage et disposant donc de plus de ressources, 231 échantillons avaient été analysés.

# Conclusion

## **Conclusion :**

La présence des résidus d'antibiotiques dans les foies de poulet à Nédroma précisément et en Algérie généralement est une réalité que notre étude vient de révéler une nouvelle fois encore. Après nos études de cette année 2017 réalisées au laboratoire de microbiologie de département d'agronomie portant sur 145 foies de poulet de 8 tueries, et d'autres études passées, de nombreuses mesures devraient probablement être prises par les acteurs des filières concernées. Ces mesures semblent être soit insuffisantes, soit n'ont pas encore été suivies d'effets. Et la présence des contaminants chimiques dans les foies de poulets, constitue un danger potentiel pour les consommateurs. Ainsi, avec cette prévalence de 81,25%, on peut parler de problème de santé publique surtout que la plupart des marchés de Nédroma sont ravitaillés en viandes par les abattoirs municipaux. Des études doivent être suivies par les méthodes quantitatives (HPLC par exemple) qui vont menées à identifier clairement la nature du ou des antibiotiques présent(s) dans cette denrée, ainsi que les teneurs exactes.

La finalité d'une étude telle que celle que nous avons réalisée reste donc la constitution de bases de données scientifiquement exploitables par les pouvoirs publics, pour l'élaboration de réglementations et des prises de décisions visant à protéger la santé des consommateurs. En effet, l'Algérie à l'instar de nombreux pays du continent accuse un retard par rapport au reste du monde en matière de réglementation des résidus d'antibiotiques dans les denrées et ne possède pas de véritables plans de surveillance de la commercialisation, de l'utilisation et de la présence des résidus d'antibiotiques dans les poulets de chair. Ce qui nous amène à formuler un certain nombre de recommandations :

- ✚ Aux pouvoirs publics pour l'adoption rapide des textes réglementant la présence des résidus d'antibiotique dans les denrées alimentaires et le renforcement des capacités des laboratoires de contrôle
- ✚ Aux éleveurs pour l'abandon des mauvaises pratiques, la santé animale devant incomber uniquement aux professionnels (vétérinaire et auxiliaires bien formés)
- ✚ Aux vétérinaires et pharmaciens vétérinaires pour une plus grande rigueur dans la délivrance des ordonnances et la vente des antibiotiques
- ✚ Aux associations de consommateurs pour plus de sensibilisation sur le sujet et une réelle implication dans les organismes de normalisation nationaux.

# **Annexes**

## **Inventaire des produits chimiques et des instruments utilisés :**

### **Milieux de cultures et produits chimiques :**

- ✓ Bouillon BHIB (PRONADISA)
- ✓ Gélose Muller Hinton (BIOKAR)
- ✓ Agar (PRONADISA)
- ✓ Bouillon Muller Hinton (BIOKAR)
- ✓ Hcl
- ✓ NaOH
- ✓ méthanol
- ✓ Rovamycine
- ✓ Erythromycine
- ✓ Sulfaprim S
- ✓ Pénicilline G (SAIDAL)

### **Appareillages et verreries utilisés :**

- ✓ Etuves MEMMERT à  $30 \pm 1$  °C, à  $37 \pm 1$  °C.
- ✓ Spectrophotomètre 6705UV/Vis JENWAY.
- ✓ Autoclave SANOCALV.
- ✓ Congélateur FRYKA à -80°C.
- ✓ Bains marie MEMMERT réglables à  $80 \pm 1$ ° C.
- ✓ Vortex VELP.
- ✓ Plaque chauffante avec agitateur électromagnétique VELP.
- ✓ Flacons col à vis d'une capacité de 125 ml à 250 ml.
- ✓ Fioles de 2000 ml.
- ✓ Fioles jaugées de 100 ml et de 1000 ml.
- ✓ Tubes à essai de 20 x 200 mm.
- ✓ Pipettes de 10 ml graduées en 0, 5 ou 0, 1 ml.
- ✓ Pipette pasteur.
- ✓ Micropipette à 1000 µl.
- ✓ Micropipette réglable de 10 - 200 µl.
- ✓ Baro magnétique.
- ✓ Ependorf.

- ✓ Embout.
- ✓ Cuvette.
- ✓ Boîtes de Petri, d'un diamètre de 100 mm, à fond parfaitement plat.
- ✓ Pince à bouts pointus.
- ✓ Balance de précision analytique OHAUS.
- ✓ pH mètre de marque AD1030 ADWA (permettant de mesurer le pH des milieux et réactifs préparés avec une précision de réglage de  $\pm 0,1$  unité de pH à 25°C).

# Références bibliographiques

### Références bibliographiques :

1. Abdelmoaty D. A. (2015) - Antibiotic Residues in beef and poultry meat. p.p: 5-6.
2. Abdelouahed O(2007) - Cours de nutrition humaine. Chapitre viandes, poissons et œufs, page 2-4. Magistère surveillance de la chaîne alimentaire de la filière viande. Laboratoire de recherche de pathologie animale, développement des élevages et surveillance de la chaîne alimentaire. Département des sciences vétérinaires El Khroub (UMC) (Année 2006/2007).
3. Abiola F.A., Diop M.M., Teko-Agbo A., Delepine B., Biau F.C., ROUDAUT B., GAUDIN V. et SANDERS P. 2005 - Résidus d'antibactériens dans le foie et le gésier de poulets de chair dans les régions de Dakar et de Thiès (Sénégal). *Revue Méd. Vét.*, 156 (5): 264-268.
4. AFNOR, 2006 - Rapport d'étude préliminaire pour la validation AFNOR du Premi®Test. Code d'étude : VV.
5. AFSSA, (2000) - Détection de résidus à activité antibiotiques dans le muscle méthode de quatre boîtes. Laboratoire d'études et de recherches sur les médicaments vétérinaires et les désinfectants. Ed. Laboratoire nationale de référence, la Haute – Marche JAVENE, France, p.p. 1-4.
6. Bada-Alambedji R., Cardinal E., Biagui C. et Akakpo A.J. 2004 - Recherche de résidus de substances à activité antibactérienne dans la chair de poulet consommée dans la région de Dakar (Sénégal). École Inter-États des Sciences et Médecine Vétérinaires (EISMV). Service de Microbiologie Immunologie, Pathologie Infectieuse, p. 4.
7. Belhadj. M-T (2008) – Contribution à l'étude de la qualité bactériologique des viandes blanches commercialisées dans la Wilaya de Bordj Bou Arreridj, page 7. Mémoire de magistère, école nationale vétérinaire El Harrach, Alger.
8. Benayad S, Bordes M, Daux A, Dufay-Leaneart C, Loannidis V, Levi S, Novello L, Sacaroglou V (2007) - Consommation de viande : un lourd tribut environnemental, page 4,13. Un dossier de l'Observatoire Bruxellois de la Consommation Durable – OBCD. [www.observ.be/v2/fr/pdf/2399fr.pdf](http://www.observ.be/v2/fr/pdf/2399fr.pdf) (Consulter le 12-04-2017).
9. Bergogne Bérézin E, Dellamonica P (2005) - Antibiothérapie 1 & 2, page 2-39. <http://ifsi.chyeres.fr/IMG/pdf/Antibiotherapie.pdf> (Consulter le 11-12-2016).
10. Boukhalfa, (2006) - L'aviculture en Algérie. Journées sur la grippe aviaire (Batna les 15-16/03/2006).

11. Bourin. M, Lievre. M, Allain. H (1993) - Cours de pharmacologie, 3<sup>ème</sup> édition, chapitre médicaments anti-infectieux, page 291-307.
12. Bruyère F, Cariou G, Boiteux J-P, Hoznek A, Mignard J-P, Escaravage L, Bernard L, Sotto C-J (2008) – Pharmacologie des Antibiotiques, page 2-60. Cours de Pharmacologie DCEM3. Centre d'Investigations Cliniques. [http://www.medecine.univ-paris7.fr/DCEM3/documents/pharmacologie\\_module17/Pharmacologie%20des%20Antibiotiques.pdf](http://www.medecine.univ-paris7.fr/DCEM3/documents/pharmacologie_module17/Pharmacologie%20des%20Antibiotiques.pdf) (Consulter le 12-02-2017).
13. Châtaigner. B et Stevens. A (2003) - Investigation sur la présence de résidus d'antibiotiques dans les viandes commercialisées à Dakar (Institut Pasteur de Dakar), page 3–15, 51. [http://www.redev.info/Doc/Polagri/III-Pol-Agri-securite-alimentaire/III-3-Dev-local/Enquete\\_residus\\_AB\\_Senegal.pdf](http://www.redev.info/Doc/Polagri/III-Pol-Agri-securite-alimentaire/III-3-Dev-local/Enquete_residus_AB_Senegal.pdf) (Consulter le 20-11-2016)
14. Chatellet. M-C (2007) - Modalités d'utilisation des antibiotiques en élevage bovin : enquête en Anjou, page 9-90. Thèse de docteur vétérinaire, École nationale vétérinaire d'ALFORT.
15. Clinquart. A, Fabry. J, Casteels. M (1999) – La viande. Chapitre la viande et les produits de viande dans notre alimentation, page 141-161.
16. Corpet D.E. et Burgere H.B. (1996) - Résidus des antibiotiques dans les aliments d'origine animale : conséquences microbiologiques, évaluation de la dose sans effets chez l'homme. Rev. Méd. Vét., (146) :72-82.
17. Cuq. J-L (2008) - Microbiologie alimentaire. Chapitre les agents antimicrobiens, page 125-130. <http://diffusiondessavoirs.uomlr.fr/balado/wp-content/uploads/2007/10/poly-cours-bio-stia2-007.pdf> (Consulter le 05-02-2017).
18. Danhaive. P (1986) – Détection d'antibiotiques de type B-lactames dans les viandes par la méthode Penzym<sup>®</sup>, page 61-63. Annales de médecine vétérinaire (périodique mensuel), ISSN 0003– 4118, 1986 – T.130 – N°1 (JANVIER).
19. De hoffmann E, Stroobant V (2005) - Cours spectrométrie de masse 2005, page 4-33. Laboratoire de Spectrométrie de Masse Bio Organique UMR 7512 (Dir : Alain Van Dorsselaer) CNRS - Université Louis Pasteur Strasbourg. [http://www-esbs.u-strasbg.fr/notesdecours/3eme-annee/gap/MmeSanglier05-10-05/Intro\\_SS.pdf](http://www-esbs.u-strasbg.fr/notesdecours/3eme-annee/gap/MmeSanglier05-10-05/Intro_SS.pdf). (Consulter le 20-04-2017).
20. Diallo. I, (1979). Contribution à la lutte contre les maladies contagieuses animales au Sénégal : le cas des Bovins, bilans et perspectives. Thèse de Médecine vétérinaire. EISMV-Dakar

21. Dusser. P (2005) – La réorganisation des échanges internationaux de produits agricoles, page 2-7. Quelles perspectives pour l'agriculture européenne ?[http://www.jle.com/en/revues/agro\\_biotech/ocl/e-ocs/00/04/12/16/article.md?type=text.html](http://www.jle.com/en/revues/agro_biotech/ocl/e-ocs/00/04/12/16/article.md?type=text.html). (Consulter le 29-04-2017).
22. Duval. J, Soussy. C-J (1990) - Antibiothérapie (4<sup>ème</sup> édition),page 3-58.
23. Edder P. 2002 - Analyse des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale. Club Lyonnais, 19 septembre 2002, Service de la protection de la consommation, Genève 4, p. 28.
24. Eloit. M (2004) - Plan de contrôle des résidus d'antibiotiques dans les viandes d'animaux de boucherie, de volailles, de gibiers ,de lapins et de poissons d'élevage, page 2. <IMG/pdf/dgaln20068240z-3.pdf> (Consulter le 20-04-2017).
25. Errecalde. J-O (2007) – Uso de antimicrobian osen animals de consumo Incidenciadeldesarrollode resistenciasensalud pública. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, Argentina, page 1-67.<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/007/y5468s/y5468s00.pdf>.(Consulter le 19-01-2017).
26. Fabre. J-M, Petit. C, Bosquet. G (2006) – Comprendre et prévenir les risques de résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale, édition 2006, page 4. [www.delvotest.com](http://www.delvotest.com) (Consulter le 13-02-2017).
27. Feliachi. K (2003) – Rapport National sur les Ressources Génétiques Animales : Algérie. Commission nationale AnGR, page 18-19. <http://www.fao.org/Ag/AGAInfo/programmes/en/genetics/documents/Interlaken/countryreports/Algeria.pdf>.(Consulter le 02-02-2017).
28. Fontaine. M(1992) - Vade-mecum du vétérinaire, formulaire vétérinaire de pharmacologie, de thérapeutique et d'hygiène, 15<sup>ème</sup> édition, page 106-119. Volume 1.
29. Fosse. J-A-S (2003) – Les dangers pour l'homme liés à la consommation des viandes. Evaluation de l'utilisation des moyens de maîtrise en abattoir .Thèse de l'Ecole nationale vétérinaire de NANTES, page 24-46. [http://wwwbibli.vet-nantes.fr/theses/2003/fosse3\\_148/frame.htm](http://wwwbibli.vet-nantes.fr/theses/2003/fosse3_148/frame.htm).(Consulterle22-04-2017).
30. Gaudin. V, Fabre. J-M, Rault. A (2006) – Validation AFNOR des méthodes alternatives d'analyse –Application à la détection des résidus d'antibiotiques et autres molécules à effet antibactérien dans les produits agroalimentaires,page5-9.Rapportd'étude préliminaire pour la validation AFNOR du Premi Test®. <http://www.afnor-validation.org/rapports-synthese/DSM/Synt%20DSM%2028-1%2006-06.pdf>(Consulterle 26-01-2017).

31. Gauthier. E (2006) - Les antibiotiques : l'envers du miracle, page 1-3. [\(http://agora.qc.ca/mot.nsf/Dossiers/Antibiotique\)](http://agora.qc.ca/mot.nsf/Dossiers/Antibiotique).(Consulter le 03-02-2017).
32. Gogny. M, Puyt. J-D, Pellerin. J-L(2001) – Classification des principes actifs. L'arsenal thérapeutique vétérinaire, page165-168.Editions le point vétérinaire 2001.
33. Guillemot. D (2006) - Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine, page10-214.(AFSSA Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments).[http://www.cndwebzine.hcp.ma/cnd\\_si/MG/pdf/35821/35822pdf](http://www.cndwebzine.hcp.ma/cnd_si/MG/pdf/35821/35822pdf).(Consulterle20-01-2017)
34. Hakem (ex Akam) A., Titouche Y., Houali K., Yabrir B., Malki O., Chenouf N., Yahiaoui S., LABIAD M., GHENIM H., KECHIH-BOUNAR S., CHIRILA F., LAPUSAN A. and FIT N.I. 2013 - Screening of Antibiotics Residues in Poultry Meat by Microbiological Methods. Bulletin UASVM, Veterinary Medicine, 70(1) :77-82.
35. Klotins. K (2006) - Utilisation des antibiotiques comme stimulateurs de croissance : controverse et solutions.<http://www.omafra.gov.on.ca/french/livestock/animalcare/amr/facts/05-042.htm> (Consulter le 12-11-2016).
36. Kolbener. P et al (2005) – Résidus de médicaments vétérinaires, page1-2. Manuel suisse des denrées alimentaires. Chapitre 55.[www.bag-admin.admin.ch/SLMB\\_Online\\_PDF/Data%20SLMB\\_MSDA/Version%20F/55\\_Residus%20de%20medi.%20veter..pdf](http://www.bag.admin.ch/SLMB_Online_PDF/Data%20SLMB_MSDA/Version%20F/55_Residus%20de%20medi.%20veter..pdf).(Consulterle 15-01-2017).
37. Kummerer K. 2009 - Antibiotics in the aquatic environment. A review, Part I, Chemosphere, **75** (4): 4170.
38. Le Paumier H (2008) – La chromatographie, page1.CE4 : Chimie Physique Expérimentale. UNIVERSITE PARIS7 DIDEROT. [http://134.157.73.76/spip/article.php?id\\_article=338](http://134.157.73.76/spip/article.php?id_article=338).(Consulterle 19-02-2017).
39. Lechat P (2006) – Cours de pharmacologie 2005-2006,Chimiothérapieanti-infectieuse.Institutde Pharmacologie et Toxicologie, page 3-46. [www.unil.ch/webdav/site/dpt/shared/BachelorMaster/8semestre/LS\\_antibiotiques1\\_06.pdf](http://www.unil.ch/webdav/site/dpt/shared/BachelorMaster/8semestre/LS_antibiotiques1_06.pdf). (Consulterle 04-02-2017).
40. Lopetz S (2007) - Les viandes de boucherie, page 26. [http://www.restena.lu/ltb/downloads/memoire\\_sauber/viandes.pdf](http://www.restena.lu/ltb/downloads/memoire_sauber/viandes.pdf) (Consulter le13-05-2017)
41. Maghuin-Rogister. G, Janosi. A, Helbo. V, Van Peteghem. C, Sanders.E, Van Eeckhout. N, Cornelis. M, Jouret. M (2001) - Stratégie intégrée d'analyse qualitative et quantitative des résidus de substances antimicrobiennes dans les denrées alimentaires 27 - 59.RapportFinalSSTC1998-

- 2001.[www.belspo.be/belspo/home/publ/pub\\_ostc/NP2/Rnp035s\\_fr.pdf](http://www.belspo.be/belspo/home/publ/pub_ostc/NP2/Rnp035s_fr.pdf).(Consulter le 15-02-2017).
42. Mansouri N. (2007) - La recherche de résidus de substances antimicrobiennes dans les wilayas d'Annaba, Constantine, EL-Taref et Skikda.
43. Mavis, (2003) - Bulletin d'information du Veterinary Medicine Directorate.
44. Mensah S.E.P., Koudande O.D., Sanders P., Laurentie M., Mensah G.A. et Abiola F.A. 2014 - Résidus d'antibiotiques et denrées d'origine animale en Afrique : risques de santé publique. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 33 (3).
45. Mevius. D-J, Rutter. J-M, Hart. C-A, Imberechts. H, Kempf. G, Laffont. J- P, Luthman. J, Moreno. M-A, Pantosti. A, Pohl. P, Wallasey. C-M (1999) Antibiotic resistance in the European Union associated with the therapeutic use of veterinary medicines. Report and qualitative risk assessment by the committee for veterinary medicinal products, page 1-57. Editions Le point vétérinaire 2001.
46. Mialot. M-M(2008) - Unenouvellefilièreaidéeviale'CAP'-Contratd'AppuiauxProjets-«filière viande blanche » :Marie-Madeleine MIALOT signe la convention d'application, page 2.<http://www.regionsmagazine.com/site/articles/centre/2008/02/2008-02-12-2/centre-capviandeblanche.pdf>.(Consulterle 02-01-2017).
47. Milhaud .G, Pinault. L(1999) – Législation de la pharmacie vétérinaire. Editions le point vétérinaire. Chapitre III : évaluation des médicaments vétérinaires : Autorisation de Mise sur le Marché (AMM), limites maximales de résidus (LMR),page 25-40. Editions Le point vétérinaire 2001.
48. Milhaud. G(1978) - L'utilisation rationnelle des médicaments vétérinaires et le temps d'attente, page177-185. Rec.Méd.Vét., 1978, 154 (2) ,177-185. École vétérinaire d'ALFORT (France).
49. Morin. R, Uhland. C, Lévesque. G (2005) - L'utilisation des antibiotiques en pisciculture au Québec, page 6.L'AQUICOLE Vol.9 no3.
50. Ndiaye. M-L (2002) – Contribution à l'étude de la contamination microbiologique de la viande de volailles, page2-4.MémoiredeDEUA, Faculté des sciences et techniques institut de technologie nucléaire appliquée I.T.N.A. Université CHEIKH Anta Diop de Dakar.
51. Olatoye.I, Ehinmowo.A .A.A, (2010). Oxytetracycline residues in edible tissues of cattle slaughtered in Akure, Nigeria. Nigerian Veterinary Journal. 31 (2) : 93-102
52. Ouali. A (1991) – Conséquences des traitements technologiques sur la qualité de la viande, page 196,197. INRA prod.Anim.1991, 4 (3), 195 – 208.

53. Oxoby. M (2002) - Etudes sur la synthèse totale des antibiotiques naturels de la famille des angucyclinones, page3-12. Thèse de docteur en chimie organique de l'université Bordeaux I, école doctorale des sciences chimiques.
54. Potil G, Caillon J, Jacqueline C, Navas D, Kergueris M-F, Batard E (2006) – Pharmacocinétique et modalités d'administration des antibiotiques, page2-4. Laboratoire de Pharmacocinétique et de Pharmacie Clinique EA 525 Université V. Segalen Bordeaux 2 et Pharmacie centrale hôpital Haut-Lévêque CHU de Bordeaux. <http://www.infectiologie.com/site/medias/JNI/JNI06/IDE/ati1-Saux.pdf>. (Consulter le 10-02-2017).
55. Pouliquen. H et Le Bris. H (2001) – Residues of antibacterial drugs in foods tuff of fish origin: risk assessment, page 676-677. *Revue Méd. Vét.*, 2002, 153,10,675-678.
56. Pujol-Dupuy. C (2004) – Accidents alimentaires d'origine bactérienne liés à la consommation de laits et produits laitiers, page38-39. Thèse de docteur vétérinaire de l'école nationale vétérinaire de Lyon.
57. Puyt. J-D, Guérin -Faublée. V (2006) – Médicament anti-infectieux en médecine vétérinaire. Bases de l'antibiothérapie. Edition 2006, page 1-27.
58. Ramdane M.S. (2015) - Etude qualitative et quantitative des résidus d'antibiotiques dans la viande de volaille et les œufs dans la région de la Mitidja. Utilisation des probiotiques comme alternative. Thèse de doctorat Es Sciences spécialité sciences biologiques. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, 89 p.
59. Règlement (CEE) No 2377/90, (1990). Procédure communautaire pour la fixation des limites maximales de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale, modifié par le règlement (CE) n°205/2006. JO L34.7.2.2006 p. 21
60. Règlement (CEE) No 2901/93, (1993). Modification des annexes I, II, III et IV du règlement (CEE) no 2377/90 établissant une procédure communautaire pour la fixation des limites maximales de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale
61. Scippo. M-L (2008) - Technologie, sécurité et qualité des aliments introduction à la qualité et la sécurité des aliments : aspects chimiques. Contrôle des résidus et des médicaments vétérinaires, page 2-36. Université de Liège, faculté de médecine vétérinaire. <http://www.adaoa.ulg.ac.be/>(Consulter le 19-01-2017).
62. Scippo. M-L, Maghuin-Rogister. G (2006) – Résidus et contaminants des denrées alimentaires : 25 ans de progrès dans leur analyse. Méthodes biologiques de dépistage, page 125-129. *Ann.Méd.Vét.*, 2006,150,125-130

63. Shareef A.M., Jamel Z.T. et Yonis K.M. (2009) - Detection of antibiotic residues in stored poultry products. Iraqi Journal of Veterinary Sciences, 23 (1): 45-48.
64. SISQA, 2003- Salon international de la qualité alimentaire “alimentation et santé”. Décembre 2003, organisé par le conseil régional Midi-Pyrénées. (cf. mps n 1441). “1<sup>er</sup> Carrefour des technologies de la sécurité et de la traçabilité des aliments”. (www.sisqa.org)
65. TALBERT.M WILLOQUET.G et GERVAIS.R (2009) – Pharmaco clinique, Wolters Kluwer France. P 641, 648,655
66. Vital, (2017) - [http://www.doctissimo.fr/html/dossiers/hepatites/sa\\_5059\\_foie\\_organe\\_multifonctions.htm](http://www.doctissimo.fr/html/dossiers/hepatites/sa_5059_foie_organe_multifonctions.htm)

## RESUME

La présente étude a été réalisée dans le but d'actualiser les données existantes sur la présence des résidus d'antibiotiques dans les foies de poulet provenant des abattoirs de Nédroma. L'approche méthodologique adoptée a consisté dans un premier temps à un échantillonnage au niveau des abattoirs. Ces échantillons de foie ont ensuite été analysés à l'aide d'un test biologique standardisé la méthode de référence (méthode de 4 boîtes)

A l'issue de cette étude, sur 145 échantillons analysés 118 se sont avérés positifs. 81,25% des échantillons contiendraient donc des résidus d'antibiotiques (Macrolides, Spiramycines, Sulfamides,  $\beta$ -lactamines).

En somme, les viandes provenant des abattoirs de Nédroma sont contaminées par des résidus d'antibiotiques, un danger chimique. Ce qui pose clairement un problème de santé publique vu l'importance des abattoirs dans le ravitaillement en viande des marchés de Nédroma. Des mesures doivent donc être prises à plusieurs niveaux par les acteurs de la filière (pouvoirs publics, vétérinaires, techniciens et éleveurs) pour garantir la sécurité sanitaire.

**Mots clés :** Résidus, Antibiotiques, foie de poulet, méthode de 4 boîtes.

## الملخص

هذه الدراسة تمت بهدف تحديث المعلومات الحالية عن وجود بقايا المضادات الحيوية في كبد الدجاج من مذابح ندرومة. كان الأسلوب المنهجي الذي اعتمد في البداية أخذ العينات من المذابح. هذه العينات من الكبد يتم تحليلها بمساعدة الاختبار البيولوجي القياسي الطريقة المرجعية (طريقة ال 4 علب).

أنت الدراسة ان من بين 145 عينة 118 كانت إيجابية. 81,25% من العينات تحتوي اذن على بقايا المضادات الحيوية (ماكروليد-سبيراميسين-سيلفاميد-بيتالاكتامين)

في الواقع اللحوم الاتية من مذابح ندرومة ملوثة ببقايا المضادات الحيوية خطر كيميائي من الواضح ان يخلق مشكل صحي عام نظرا لأهمية المذابح في تزويد أسواق ندرومة باللحوم. مقاييس يجب الاخذ بها على عدة مستويات من طرف ممارسي هذا النشاط (السلطة العامة، البيطرة، التقنيين والمربيين) الكلمات المفتاحية: بقايا، مضادات حيوية، كبد الدجاج، طريقة ال 4 علب.

## ABSTRACT

This study was conducted in order to update the existing data on the presence of antibiotic residues in liver from abattoirs of Nédroma. The methodological approach adopted was initially to sampling at the slaughterhouses. These samples of liver were then analyzed using a standardized bioassay: reference method (4 boxes method)

Test results show that 118 of 145 samples tested were positive. 81,25% of samples contained residues of antibiotics, (macrolides, spiramycin, sulfonamides,  $\beta$ -lactams)

In short, the meat from the abattoirs of Nédroma is heavily contaminated with residues of antibiotics, a chemical hazard. This is clearly a public health problem, given the importance of slaughterhouses in the supply of meat markets of Nédroma. Measures must be taken at various levels (public authorities, veterinarians, breeders and technicians) to ensure the food safety.

**Keywords :** Residues, Antibiotics, chicken liver, 4 boxes method.