

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE ET
BIOCHIMIE

N° :



DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE
ET DE LA VIE

FILIERE : SCIENCES ALIMENTAIRES

OPTION : NUTRITION ET SCIENCES
DES ALIMENTS

**Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique**

Par: AHMED Fatima Zahra et BEN HAMIDA Hadjer

Intitulé

**Détection des résidus d'antibiotiques dans la
viande du poulet de chair dans la région de M'sila**

Soutenu devant le jury composé de:

Mme. BOUAZIZ Samia	MAA	Présidente
Mme. ARIECH Mounira	MCB	Rapporteuse
M. BELABBES Elhadj	MCB	Examineur

Année universitaire : 2018 /2019

Remerciements

Nous tenons à remercier le Dieu tout puissant qui nous a accordé santé et courage pour mener ce travail jusqu'à son terme.

*Nous tenons à remercier notre promotrice **Mme. ARIECH Mounira** qui a accepté de nous encadrer et qui nous a toujours guidées dans la réalisation de ce mémoire, pour sa présence, sa patience, ses précieux conseils et sa grande disponibilité pour l'aboutissement de ce travail.*

*Nous remercions également la présidente **Mme. BOUAZIZ Samia** d'avoir présidé le jury, et l'examineur **M. BELABBES Elhadj** d'avoir accepté d'examiner notre mémoire.*

Nous remercions également tous les membres laboratoire de microbiologie, pour son aide technique.

Nous remercions chaleureusement nos familles et nos amis (es) pour leurs soutiens.

En fin Nous tenons à remercier également tous ceux qui ont participé de prêt ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail en signe de respect et d'amour à mes très chers parents qui ont partagés mes joies et mes peines, qui ont été toujours à mes cotés, et qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Que Dieu les garde toujours en bonne santé.

A mes chers frères, sœurs et familles.

A tous mes ami(e)s sans exception qu'ils soient proche ou loin.

A ma chère binôme Fatima Zahra et toute sa famille adorable.

A tous ceux qui me sont chers.

Hadjer.B

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mes parents. Pour tout ce que vous avez fait pour moi, tout ce que le mot « merci » ne pourra jamais exprimer, Vous m'avez préparé au monde et vous m'en avez ouvert les portes, et c'est avec émotion que je vous exprime toute mon affection

A mes frères Hamza, Yassine, Momen, Abdellah, Raouf, Mohemmed et Ibrahim, merci de remplir nos vies de joie et de bonheur

A toute ma famille

A mon fiancé Saddam Ouali et toute sa famille

A tous mes amies (Sabra, Fatima Zahra, Nadjat, Aicha, Khawla, Ibtissam) et ceux ou celles que j'ai oublié de citer, qu'il me pardonne.

A ma chère Binôme Hadjer ainsi qu'à sa famille adorable.

A tous ceux qui ont participé de loin ou de près à la réalisation de ce travail

A toute la promotion Nutrition et Sciences des Aliments 2018/2019 et à tous les

camarades de l'université que j'ai côtoyée tout au long de mon cursus dont la sollicitude et la chaleur humaine me font croire en un avenir meilleur

.

Fatima Zahra

Sommaire

Sommaire.....	I-III
Liste des figures.....	IV
Liste des tableaux.....	V
Résumé.....	VI
ملخص.....	VII
Abstract.....	VIII
Introduction	01

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Généralités sur les volailles

I.1. Viande blanche	02
I.1.1 Composition de la viande de volaille	02
I.1.2 Valeur nutritive de la viande	02
I.1.3 Principales espèces productrices de viande blanche.....	03
I.2 Evolution de la production de la viande blanche en Algérie	03
I.3 Facteurs susceptibles d'influencer la qualité des poulets	04
I.3.1 Effet de l'âge	04
I.3.2 Effet du génotype	04
I.3.3 Effet du sexe.....	04
I.3.4 Effet de l'alimentation	05
I.3.5 Effet des conditions d'élevage	05
I.3.6 Effet des conditions de transport et d'abattage	05
I.4 Infections bactériennes chez les volailles.....	05

Chapitre II : Usage des antibiotiques en élevage vétérinaire

II.1 Historique	07
II.2 Définition d'un antibiotique	07

II.3 Classification des antibiotiques	07
II.4 Mode d'action.....	09
II.5 Usage des antibiotiques.....	09
II.5.1 Usage des antibiotiques en élevage vétérinaire	09
II.5.3 Principaux antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire en Algérie.....	10
II.5.3.1 A titre curatif.....	10
II.5.3.2 Antibiotiques utilisés comme facteurs de croissance.....	11
II.5.4 Mode d'administration des antibiotiques.....	11
II.6 Résidus d'antibiotiques	11
II.6.1 Définition	11
II.6.2 Risques présentés par les résidus d'antibiotiques.....	11
II.6.3 Prévention des risques de la présence des résidus d'antibiotiques.....	12
II.7 Les Méthodes de Détection et de Quantification des résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale.....	14

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre III : Matériel et méthode

III.1 Matériel.....	15
III.1.1 Souches utilisées.....	15
III.1.2 Echantillonnage.....	15
III.1.3 Prélèvements et stockage.....	15
III.2 Expérimentation au laboratoire	16
III.2.1 Revivification et vérification des souches bactériennes utilisées	16
III.2.2 Détection les souches sensibles vis-à-vis certains antibiotiques	16
III.3 Méthodes de détection des résidus d'antibiotiques dans la viande de poulet de chair.....	18
III.3.1 Préparation des échantillons.....	18
III.3.2 Ensemencement sur milieu de culture MH	18

III.3.3 Lecture des résultats	19
III.4 Identification les résidus antibiotiques	19
III.4.1 Préparation des échantillons.....	19
III.4.2 Extraction à partir d'extrait.....	20
III.4.3 Antibiographie et choix de solvant d'extraction.....	20
III.4.4 Séparation et identification les résidus d'antibiotiques par chromatographie sur couche mince.....	21
III.4.4.1 Préparation d'antibiotiques témoins.....	22
III.4.4.2 Développement des plaques et sélection du système d'élution.....	22
III.4.4.3 Calcul des rapports frontaux et identification des taches	23
 Chapitre IV : Résultats et Discussions 	
IV.1 Résultats de vérification de la pureté des souches bactérienne utilisées	24
IV.2 Résultats de détection les souches sensibles vis-à-vis certains antibiotiques	25
IV.3 Résultats de détection des résidus d'antibiotiques dans la viande de poulet de chair.....	27
IV.3.1 Résultats selon les parties prélevées.....	29
IV.3.2 Analyse des causes.....	30
IV.4 Résultats d'Antibiographie et choix de solvant d'extraction	33
IV.5.Résultats de Séparation et d'identification les résidus d'antibiotiques par chromatographie sur couche mince.....	34
IV.6 Calcul rapports frontaux et identification des taches	34
Conclusion	36
Références Bibliographiques	i-v
Annexe	a-f

Liste des Figures

Figure 1.	Différents modes d'action des antibiotiques.....	09
Figure 2.	Etapas de préparation des échantillons de viande.....	19
Figure 3.	Méthode de puits réalisée sur boîte de pétri.....	19
Figure 4.	Schéma représentatif de la méthode de détection des résidus d'antibiotiques.....	20
Figure 5.	Protocole d'extraction des antibiotiques à partir d'extrait d'échantillon.....	21
Figure 6.	Mise en évidence de l'activité antibiotique d'extrait sur milieu MH par la méthode des puits.....	22
Figure 7.	Antibiogramme de souches utilisées.....	28
Figure 8.	Résultats de détection des résidus d'antibiotiques dans la viande de poulet de chair.....	28
Figure 9.	Pourcentage de contamination de la viande de poulet de chair par les résidus d'antibiotiques.....	29
Figure 10.	Diagramme d'Hishikawa.....	32
Figure 11.	Antibiographies des extraits.....	34
Figure 12.	CCM par le système B.A.E.....	35

Liste des Tableaux

Tableau 1.	Composition en lipides, cholestérol et la valeur énergétique du poulet ...	02
Tableau 2.	Evolution de production de la viande blanche en Algérie (1982-2007).....	04
Tableau 3.	Grandes familles d'antibiotiques	08
Tableau 4.	Liste de quelques antibiotiques utilisés en Algérie.....	10
Tableau 5.	Exemples de limite maximale de résidus.....	13
Tableau 6.	Exemples de temps d'attente.....	13
Tableau 7.	Comparaison entre les méthodes bactériennes et les méthodes physico-chimique et immunologiques pour la recherche des résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale.....	14
Tableau 8.	Caractéristiques macroscopiques des six souches cultivées sur milieu GN après incubation à 37°C.....	25
Tableau 9.	Caractéristiques microscopiques après coloration de Gram.....	26
Tableau 10.	Moyenne des diamètres des zones d'inhibition en mm de souches bactériennes.....	27
Tableau 11.	Phénotypes d'antibiogramme des souches bactériennes	28
Tableau 12.	Les causes et les mesures préventives.....	34
Tableau 13.	Diamètres des zones d'inhibition les deux phases.....	35
Tableau 14.	Rf de chromatographe sur couche mince de l'extrait hexanoïque.....	35

**« Détection des résidus d'antibiotiques dans la viande du poulet de chair
dans la région de M'sila »**

Résumé :

Dans cette étude, nous avons analysée vingt-sept prélèvements de poulet de chair de la région de M'sila. Dont neuf échantillons du cuisse, neuf du bréchet, et neuf du foie. Ces échantillons font l'objectif d'une détection des résidus d'antibiotiques par la méthode microbiologique d'inhibition.

Les résultats obtenues montre que 33% de ces échantillons ont été contaminées par les résidus d'antibiotiques et qui sont représenté totalement dans le foie.

L'analyse de l'extrait du foie par CCM à montré que ces molécules antibactériennes appartenant aux familles d'antibiotiques suivant : Béta-lactamines et Aminosides.

Mots clés : Antibiogrammes, CCM, Foie, Poulet de chair, Résidus d'antibiotiques

« الكشف عن بقايا المضادات الحيوية في لحم الدواجن في منطقة مسيلة »**ملخص:**

في هذه الدراسة، قمنا بتحليل سبعة وعشرون عينة من اللحم الأبيض من نوع لحم الدواجن من منطقة مسيلة. من بينها تسع عينات من الفخذ، تسع عينات من عظم الترقوة وتسع عينات من الكبد. الغرض من هذه العينات هو الكشف عن بقايا المضادات الحيوية بواسطة طريقة التثبيط الميكروبيولوجية .

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها ان 33% من هذه العينات ملوثة ببقايا المضادات الحيوية وتتمثل تماما في الكبد. أظهر تحليل مستخلص الكبد بواسطة التحليل اللوني ان هذه الجزيئات المضادة للبكتيريا تنتمي إلى عائلات البقايا الحيوية التالية: بيتالاکتامين و امينوسيد

الكلمات المفتاحية: التحليل اللوني، الكبد، بقايا المضادات الحيوية، تحليل حساسية بكتيريا للمضادات الحيوية، لحم الدواجن

« Detection of antibiotic residues in poultry meat in the M'sila region »

Abstract :

In this study, we analyzed twenty-seven samples of poultry meat from the M'sila region. Including nine samples of the thigh, nine of the keel of broiler, nine of liver. These samples serve the purpose of detecting antibiotic residues by the microbiological method of inhibition.

The results obtained explain that 33 % of these samples were contaminated with antibiotic residues and are totally represented in the liver.

Analysis of the liver extract by thin-layer chromatography showed that these antibacterial molecules belonging to the following families of antibiotics: Beta-lactams and Aminoglycosids.

Key words: Antibiogram, Antibiotic residues, Broiler, Liver, Thin-layer chromatography

Introduction

Introduction

La production de viande blanche a connu une progression majeure en Algérie durant les dernières années ce qui rend le prix de ce produit raisonnable et très attractif pour le consommateur et représente la principale source de protéines pour la population (**Allaoui, 2011**).

Dans l'élevage de volailles, les agriculteurs utilisent plusieurs variétés de produits tels que les stéroïdes anabolisants, les tranquillisants et en particulier des antibiotiques. Ils sont utilisés soit en tant que promoteurs de croissance pour augmenter les rendements de production ou en tant que remèdes thérapeutiques pour traiter et prévenir contre des maladies spécifiques (**Hakem et al., 2013**).

Les mêmes derniers auteurs soulignent que le non-respect du délai d'attente peut conduire à la contamination des aliments, pour ces produits la présence des résidus d'antibiotiques peut avoir des effets néfastes sur la santé des humains, ce qui provoque de telles réactions allergiques chez les personnes déjà sensibles. Ajoutant à cela, les mauvaises pratiques fondées sur l'utilisation d'antibiotiques peut sélectionner des souches de bactéries pathogènes multi-résistantes, qui peuvent être transmis aux humains par l'alimentation (**Andermont, 2000**).

En Algérie, l'utilisation curative et préventive des antibiotiques dans l'élevage n'est pas réglementée et le contrôle de la présence des limites maximales des résidus (LMR) dans les denrées alimentaires d'origine animale n'est pas appliqué, ce qui pose un risque potentiel pour les consommateurs. Peu d'études scientifiques et des données sur ce sujet sont disponibles en Algérie.

Dans cette thématique, l'objectif visé dans notre travail de fin de cycle a été :
La détection des résidus d'antibiotiques dans la viande de poulet de chair dans la région de M'sila.

Pour ce faire, ce manuscrit est organisé en quatre chapitres :

La première partie est une synthèse bibliographique subdivisée en deux chapitres, la première présentant l'essentiel d'information sur la viande blanche et la progression de sa production en Algérie, suivie d'un deuxième chapitre donnant un concept sur les antibiotiques utilisées en élevages vétérinaires et ses effets néfastes sur la santé du consommateur.

Le troisième chapitre est consacré pour citer le détail des manipulations qu'on a maîtrisées au cours de la réalisation de ce travail.

Les résultats obtenus et la discussion font l'objet du quatrième chapitre.

SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

Généralités sur les volailles

Le terme « volaille » englobe : les poulets, canards, oies, dindes, pintades...etc. De tous, ce sont les poulets dont l'élevage est le plus répandu. L'aviculture prend une place de choix dans les plans de développement de nombreuses nations tant pour des raisons nutritionnelles et économiques que de goût (**Stewart and Abbott, 1962**).

I.1 Viande blanche

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**).

La viande blanche est une source de protéines animales présentant autant de qualités nutritives que la viande rouge ; dans le passé cette viande était qualifiée de viande des pauvres ; actuellement et compte tenu des avantages qu'elle présente en matière des lipides, elle est conseillée aux patients au titre d'un régime alimentaire non gras pour la maîtrise du taux de cholestérol (**Boukhalfa, 2006**).

I.1.1 Composition de la viande de volailles

La composition globale de la viande est variable. Elle varie selon l'espèce d'un animal à un autre, et au sein d'un même animal d'un muscle à un autre (**Ouali, 1991**).

Les viandes de volailles sont peu caloriques, elles sont relativement pauvres en graisses, une partie importante se situe dans la peau et est donc facile à enlever (tableau 1) (**Brunel et al., 2006**).

Tableau 1. Composition en lipides, cholestérol et la valeur énergétique du poulet (**Favier et al., 1995**).

Composition	Filet			Cuisse		
	Min	Max	Moyenne	Min	Max	Moyenne
Lipides (g)	1,25	1,44	1,33	2,75	4,5	3,9
Cholestérol (mg)	50			91		
Energie (KJ)	525			525		

I.1.2 Valeur nutritive de la viande

La valeur nutritive de la viande peut être résumée dans les quatre points essentiels suivants :

- Tout d'abord, la viande est une source d'azote de grande valeur biologique. Cet azote est présent sous forme de protéines, sur 100g on compte 30g de protéines qui sont composées essentiellement de myosine, myoalbumine et de collagène (**Belhadj, 2008**).

- Elle est également une source d'énergie, une portion de 100g ne représente que 175 calories, son potentiel calorique dépend énormément de sa teneur en matières grasses. La teneur en glucides est négligeable car il n'y a pratiquement plus de glycogène dans la viande au stade de sa commercialisation (**Zeghilet, 2009**).
- Elle est aussi une bonne source de minéraux. Les viandes sont riches en phosphore et représentent la meilleure source alimentaire de fer héminique (**Belhadj, 2008**), par ailleurs le poulet est une source de zinc et de sélénium qui joue un rôle d'antioxydant (**Marie-claire, 2013**)
- Les viandes sont dépourvues de vitamines liposolubles. Elles sont plutôt riches en vitamines du groupe B, il est particulièrement riche vitamine B3 et B6 (**Zeghilet, 2009**).

I.1.3 Principales espèces productrices de viande blanche

Les viandes blanches les plus courantes sont, par ordre de masse décroissante :

- l'oie (le mâle est le jars, le petit l'oison) : possède une chair fine et délicate et sert à produire du foie gras,
- la dinde (le mâle est le dindon, le jeune mâle le dindonneau) : sert, également, à produire du foie gras,
- la poule (le mâle s'appelle le coq). La volaille élevée pour sa chair : le poulet. On vend aussi des petits poulets sous le nom de coquelets.
- le canard (la femelle est la cane, le petit le caneton),
- la pintade,
- Le chapon est un poulet mâle castré et spécialement élevé pour une plus grande tendreté. sa masse est plus élevée que celle d'un poulet normal (**Chougui, 2015**).

I.2 Evolution de la production de la viande blanche en Algérie

La production de viandes blanches a connu une progression appréciable passant de 24.000 tonnes en 1968 à 200.000 tonnes en 1999 soit une croissance moyenne annuelle de 7 %. Cette augmentation s'explique par les efforts accomplis dans le domaine avicole, notamment 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**).

L'évolution de la production nationale de la viande blanche est résumée dans le tableau 2.

Tableau 2. Evolution de production de la viande blanche en Algérie (**Ferrah, 2005**).

Années et périodes	Viandes blanches (Tonnes)
1982	116.000
1984-1989	200.000
1990-1995	220.000
1996-1999	185.585
2000-2004	174.454
2005-2007	330.000

I.3 Facteurs susceptibles d'influencer la qualité des poulets

Sauveur (1997), a repris les études analysant les principaux facteurs influençant la qualité du poulet. Au sens large, ils peuvent être classés en facteurs intrinsèques à l'animal (l'âge à l'abattage, le génotype et le sexe) et facteurs extrinsèques (l'alimentation, les conditions de transport et d'abattage).

I.3.1 Effet de l'âge

L'âge d'abattage exerce une influence essentielle sur les caractéristiques organoleptiques de la chair, la texture de la viande devient plus ferme avec l'âge (**Touraille et al., 1981**), s'accompagnent de modifications de la composition chimique (collagène, lipides) et du métabolisme du muscle, l'intensité de la flaveur augmente également avec l'âge (**Debut et al., 2003**).

Ce paramètre est à mettre en liaison avec la maturité sexuelle de l'animal. Un âge d'abattage de 81 jours semble un bon compromis car il est postérieur à la puberté mais évite que la viande ne devienne trop ferme, moins juteuse et de flaveur plus intense (**Sauveur, 1997**).

I.3.2 Effet du génotype

Etant donné l'importance de l'âge pour la qualité du poulet, le choix de souches à croissance lente se justifie totalement dans le cas de production, Il est en effet impossible d'élever jusqu'à 12 semaines des poulets à croissance rapide, car leur poids et leur engraissement seraient excessifs et entraîneraient des troubles locomoteurs et physiologiques.

Des lignées ont été sélectionnées et croisées pour aboutir à des individus présentant une croissance ralentie. la vitesse de croissance n'étant plus le critère recherché, la sélection s'est orientée vers des critères plus qualitatifs, tels que la rusticité des animaux, le rendement en muscle, la répartition des graisses, l'aspect de la peau, la finesse du squelette, la densité des plumes, la facilité de plumaison (**Sauveur, 1997 ; Rabot et al., 1999**).

I.3.3 Effet du sexe

Selon **Baeza et Brillard (2005)**, l'effet du sexe sur la croissance musculaire est très important. La différence sur le poids du muscle entre le mâle et la femelle pourrait donc être due à un

nombre et/ou une longueur plus importante des fibres musculaires chez le mâle que chez la femelle, donc La viande de mâles peut être plus dure que celle des femelles.

Même la jutosité et la flaveur sont supérieures pour les viandes de mâles en accord avec leur état d'engraissement plus élevé (**Salifou et al., 2013**).

I.3.4 Effet de l'alimentation

L'aliment de démarrage destiné au poulet de chair de 0 à 3 semaines d'âge, doit contenir une concentration de 3.200 Kcal et un pourcentage protéique de 22 à 23%, avec un apport de 10% de lipides alimentaires (**Larbier et Leclercq, 1992**).

La nature des apports alimentaires permet aussi de contrôler la croissance et la composition corporelle des volailles. Ainsi, l'augmentation des apports en lysine par rapport aux protéines totales constitue un levier particulièrement efficace pour améliorer les rendements en filet et diminuer l'adiposité des carcasses (**Tesseraud et al 2014**).

I.3.5 Effet des conditions d'élevage

Une température ambiante et un éclairage constant plutôt que fractionné pourrait également avoir une légère incidence notamment en influençant les quantités d'aliments ingérées (**Sauveur, 1997**).

I.3.6 Effet des conditions de transport et d'abattage

Le transport constitue une phase difficile pour les animaux. Les modifications d'environnement qui interviennent (température, humidité, bruit, nouveaux congénères...) conduisent à un stress plus ou moins important, avec des conséquences sur la qualité de la viande (**Chougui, 2015**).

I.4 Infections bactériennes chez les volailles

I.4.1 Colibacilloses

La colibacillose, causée par la bactérie *E. coli* pathogène, est une infection fréquente chez les troupeaux de poulets à griller, mais il arrive dans certains cas que des souches pathogènes les dominent et les envahissent, causant par conséquent un taux de mortalité élevé, des problèmes squelettiques, un faible rendement, un taux de condamnation élevé et des pertes économiques générales. Même si un traitement antimicrobien prescrit par votre vétérinaire est une intervention acceptable pour traiter une infection aiguë à *E. coli*, la colibacillose peut être déclenchée par de nombreux facteurs prédisposants comme par exemple des maladies virales telles qu'une bursite infectieuse (IBD), une infection par un réovirus, une bronchite infectieuse (IB), une mauvaise santé intestinale et des mauvaises conditions environnementales, telles qu'une forte teneur en ammoniacque et des amas excessifs de poussière (**Babak, 2018**)

I.4.2 Salmonelloses

Les salmonelles d'origine animale causent une infection intestinale chez l'homme et les principaux symptômes sont : douleurs abdominales, nausées, vomissement et diarrhées. L'émergence des salmonelloses présentant un risque important, notamment dans les élevages avicoles avec *Salmonella enterica* sérotype Enteritidis et *Salmonella enterica* sérotype Typhimurium. Les cas aigus montrent un agrandissement de la rate, du foie et de temps en temps une entérite et une péritonite. Les poules de race, parfois aussi les dindes, les faisans ou les pigeons sont le plus souvent touchés. Les animaux reproducteurs transmettent les bactéries aux poussins par l'intermédiaire de l'oeuf, ces poussins souffrent alors de diarrhées, quelquefois de dyspnées ou de troubles nerveux (**Herholz, 2006**).

I.4.3 Campylobactérioses

Les toxi-infections d'origine alimentaire dues à la bactérie *Campylobacter* constituent une des causes les plus fréquentes de maladies intestinales d'origine bactérienne chez l'homme, leur incidence dépassant désormais les cas de salmonelloses au sein des pays européens. Parmi les sources de contamination, on peut citer l'ingestion de viande crue ou insuffisamment cuite, dont la viande de volaille qui constitue un réservoir régulier de *Campylobacter* (**Puterflam et al., 2007**)

Campylobacter jejuni est considéré comme l'un des principaux agents bactériens causant l'entérite et la diarrhée chez l'homme, en particulier les pays développés où l'incidence est semblable à celle de l'entérite causée par salmonelles (**Alleyne et al., 2001**).

Différentes sources de contamination sont citées comme étant responsables de cette infection, telles que l'eau de boisson, l'environnement ou les flux humains, animaux ou matériel pénétrant dans le bâtiment (**Puterflam et al., 2007**).

Usage des antibiotiques en élevage vétérinaire

II.1 Historique

Les antibiotiques ont été découverts grâce aux études d'Alexander Fleming (1881-1955). En effet, il s'aperçut qu'un champignon *Penicillium notatum*, donnait naissance à une substance « la pénicilline » capable de détruire les bactéries. Cette découverte fut d'une grande importance et abouti à la commercialisation en 1940, de la pénicilline, la première forme d'antibiotique. Depuis, de nouvelles classes d'antibiotiques ont été développées contre la tuberculose, la pneumonie et les infections de la peau (**Rezgui, 2009**).

La découverte des antibiotiques fut un réel tournant pour la thérapeutique des maladies infectieuses humaines et animales (**Bonnet, 2014**). Ils ont une place importante dans l'élevage moderne d'aujourd'hui. Leur utilisation suscite toujours de nombreuses interrogations bien que des décisions aient conduites à la réduction de leur utilisation, notamment avec l'interdiction récente de presque tous les additifs antibiotiques alimentaires facteurs de croissance (**Stoltz, 2008**).

II.2 Définition d'un antibiotique

Un antibiotique est une substance antibactérienne d'origine biologique, c'est-à-dire produite par des micro-organismes (champignons microscopiques et bactéries) ou de synthèse chimique et qui est capable d'inhiber spécifiquement la vitalité d'autres micro-organismes par un mécanisme particulier jouant sur les mécanismes vitaux du germe (**Gauthier, 2006**).

II.3 Classification des antibiotiques

Il y a plusieurs façons de classer les antibiotiques (tableau 3). Il est possible de distinguer les différentes molécules en fonction :

- des familles : Tétracyclines, Nitrofuranes, Aminocyclitolides, Macrolides, Sulfamides, Bêta-Lactamines,... etc.
- des origines : naturelles et semi synthétiques (Bêta-Lactamines, Macrolides, Tétracyclines, Aminocyclitolides), synthétiques (Nitrofuranes, Sulfamides).
- de leurs activités antibactériennes : les bactériostatiques (Tétracyclines, Macrolides, Sulfamides), les bactéricides (Bêta-Lactamines, Aminocyclitolides).

Tableau 3. Grandes familles d'antibiotiques (Talbert *et al.*, 2009).

Bêtalactamines	Pénicillines (Pénames)	
	Carbapénèmes (pénèmes)	
	Céphalosporines (céphèmes)	Activité : bactéricide
	Monobactames	Mécanisme d'action : inhibition de la
	Inhibiteurs irréversibles des bêtalactamases (en association)	synthèse de la paroi des bactéries en phase de croissance.
	Acide clavulanique – Sulbactame-Tazobactam	
Aminosides	Néomycine	Activité : bactéricide
	Streptomycine	Mécanisme d'action : inhibition de la synthèse protéique.
Phénicoles	Chloramphenicol	Activité : bactériostatique.
	Thiamphenicol	Mécanisme d'action : inhibition de la synthèse protéique.
Cyclines	Tétracyclines	Activité : bactériostatique.
	Glycylcyclines	Mécanisme d'action : inhibition de la synthèse protéique.
Macrolides	Macrolides	Activité : bactériostatique.
	Macrolides apparentés	Mécanisme d'action : inhibition de la
	Macrolides associés	synthèse protéique.
Polypeptides	Bacitracine	Activité bactéricide :
	Colistine	Mécanisme d'action : inhibition de la
	Polymyxine B	synthèse de la membrane cytoplasmique.
Sulfamides	Sulfonamides	Mécanisme d'action : inhibition de la synthèse de l'acide folique.
Quinolones	Quinolones urinaires- Fluoroquinolones systémiques	Activité : bactéricide
	Quinolones dites antipneumococques	Mécanisme d'action : inhibition de la synthèse de l'ADN bactérien.
Antibiotiques divers	Rifamycines – Glycopeptides – Oxazolidinones- lipopeptides cycliques- Acide fusidique.	Activité bactéricide.
	Acide fusidique- Fosfomycine	Mécanisme d'action : inhibition de la synthèse protéique ; inhibition enzymatique du métabolisme bactérien ; inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne.

II.4 Mode d'action

L'action d'antibiotique est le résultat des interactions organisme-antibiotique d'une part et antibiotique-bactérie d'autre part (figure 1).

Le mécanisme d'action des antibiotiques antibactériens n'est pas toujours parfaitement élucidé mais on distingue cinq grands modes d'action :

- action sur la synthèse du peptidoglycane ;
- action sur la membrane cytoplasmique ;
- action sur l'ADN ;
- action sur la synthèse des protéines.
- action par inhibition compétitive (Selman, 2010).

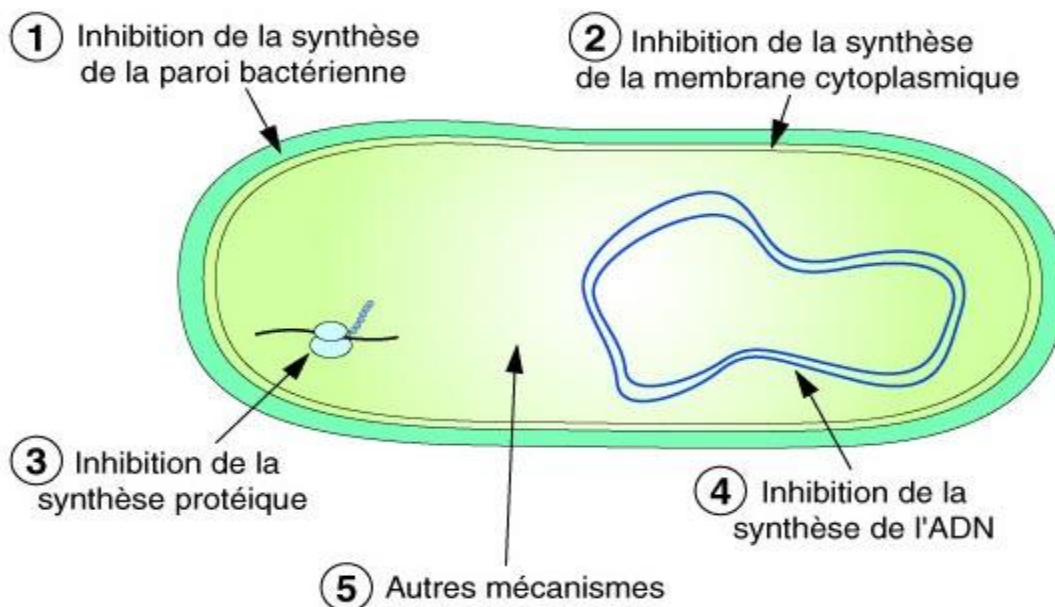


Figure 1. Différents modes d'action des antibiotiques (Singh et Barrett, 2006).

II.5 Usage des antibiotiques

II.5.1 Usage des antibiotiques en élevage vétérinaire

Ces médicaments sont utilisés soit en tant que traitement curatif appliqué de manière individuelle ou collective à des animaux atteints d'affections microbiennes, soit en tant que traitement préventif pour éviter l'apparition de certaines pathologies ou encore, dans certains cas extrêmes, pour pallier des insuffisances en matière d'hygiène dans l'élevage (Laurentie et Sanders, 2002).

L'utilisation des anti-infectieux en tant que médicaments est récente dans l'histoire contemporaine. Elle est considérée comme l'un des progrès majeurs de la médecine, car elle a permis de réduire de manière spectaculaire la morbidité et la mortalité due aux nombreuses maladies infec-

tieuses d'étiologie bactérienne. Cependant, elle modifie l'écologie des bactéries et contribue à la sélection des bactéries résistantes (Baquero et Garau, 2010).

II.5.2 Principaux antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire en Algérie

En théorie, les éleveurs et les vétérinaires sont tenus de remplir une fiche sanitaire d'élevage pendant toute la durée de vie du troupeau. Sur cette fiche doivent être signalés les différents traitements administrés aux volailles (Marie, 2008).

II.5.2.1 A titre curatif

La nomenclature algérienne est établie en 2004, les molécules suivantes sont les plus utilisées sur le terrain (tableau 4).

Tableau 4. Liste de quelques antibiotiques utilisés en Algérie (Kechih-Bounar, 2011).

	Antibiotiques	Espèce Animale	Observations particulières
B-lactamine	Ampicilline	Aviaire, bovine, caprine, Équine, ovins, piscicole	Sont utilisés pour traiter le cas de septicémie, d'infection respiratoire et urinaire chez de nombreux animaux.
	Pénicilline	Aviaire, bovine, caprine, Équine, ovins, cunicole, cameline	
	Céfriofur	Aviaire, bovine, caprine, Équine, ovins, cunicole	Sont utilisés pour le traitement des septicémies, des infections respiratoires et mammaires
Aminoside	Streptomycine	Apicole, aviaire, bovine, caprine, Equine, ovins, cunicole, piscicole	Sont utilisés dans le traitement des septicémies, des affections Digestives, respiratoires et urinaires.
	Néomycine	Apicole, aviaire, bovine, caprine, Equine, ovins, cunicole	
Cycline	Doxycycline	Avaire, bovine, caprine, cameline, Equine, ovins, cunicole, et piscicole	Antibiotiques très utilisées dans le traitement de nombreuses maladies bactériennes chez beaucoup d'espèces animales
	Tétracycline	Apicole, aviaire, bovine, cameline, Caprine, équine, ovins, cunicole	
Sulfamides	4.1. Sulfonamides		Les sulfamides seuls ou en combinaison avec les diaminopyrimidines sont très utilisés pour le traitement de nombreuses espèces animales
	Sulfadimérazine	Avaire, bovine, caprine, cameline, Equine, ovins, cunicole	
	4.2. Sufondamide + Diaminopyrimidine		
	Trimétho prime+sulfamide	Avaire, bovine, caprine, équine, Ovins,cunicole,et piscicole	
Quinolones	5.1 Quinolones de 1ere génération		Les Quinolones sont utilisées dans le cas des colibacilloses et de septicémie, et dans le traitement des maladies respiratoires chroniques chez les volailles.
	Acide oxolinique	Aviaire, bovine, cunicole, piscicole	
	5.2 Quinolones de 2ème génération (fluoroquinolones)		
	Danoflaxacine	Aviaire, bovine, cunicole, piscicole	
Macrolide	Erythromycine	Aviaire, bovine, apicole, Equine, ovins, cunicole, piscicole	Utilisés pour traiter les infections à mycoplasmes, les maladies digestives hémorragiques et les infections.
	Spiramycine	Aviaire, bovine, caprine, equine Ovins, cunicole, piscicole	

II.5.2.2 Antibiotiques utilisés comme facteurs de croissance

L'usage des antibiotiques à titre de facteur de croissance, ou promoteurs de croissance, est proposé à compter des années 1950 et 1960.

Antibiotiques utilisés à des doses sub-thérapeutiques quotidiennement (ration alimentaire) durant habituellement toute la phase de croissance active des animaux destinés à la production de viande. **(Pierre, 2011)**

Tous les antibiotiques utilisés comme facteurs de croissance ne sont plus incorporés dans l'alimentation animale car ils sont interdits depuis avril 2007. Seules les spécialités relatives aux coccidiostatiques bénéficiant d'une autorisation de mise sur le marché algérien, sont autorisées à être utilisés comme additifs.

II.5.3 Mode d'administration des antibiotiques

Les voies d'administration disponibles pour l'antibiothérapie vétérinaires peuvent être classées en trois catégories :

- La voie orale
- La voie parentérales : intraveineuse, intramusculaire, sous-cutané
- Les voies locales : les principales chez les animaux de rente étant la voie intra-mammaire et la voie intra-utérine. **(Alain, 2010)**

II.6 Résidus d'antibiotiques

II.6.1 Définition

Les résidus d'antibiotiques sont définis comme étant tous principes actifs ou leurs métabolites qui subsistent dans les viandes ou autres denrées alimentaires provenant de l'animal auquel le médicament en question a été administré (Directive 852/81/CEE, 1981) **(Mensah et al., 2014)**.

Tel que le règlement 2377/90/CEE modifie légèrement cette définition en la complétant. Les résidus sont définis comme toute substance pharmacologique active, qu'il s'agisse de principes actifs, d'excipients ou de métabolites présents dans les liquides et tissus des animaux après l'administration de médicaments et susceptibles d'être retrouvés dans les denrées alimentaires produites par ces animaux **(Stoltz, 2008)**.

II.6.2 Risques présentés par les résidus d'antibiotiques

Les résidus d'antibiotiques présents dans les viandes ont pour origine un traitement médicamenteux (antibiotique) reçu par l'animal. Leur présence dans les muscles et/ou certains tissus de l'animal dépend des caractéristiques pharmacocinétiques du médicament administré ainsi que de la voie d'administration **(Stoltz, 2008)**.

II.6.2.1 Risques allergiques

Certains antibiotiques peuvent être responsables d'accidents de type allergique à la dose thérapeutique : principalement les β -lactamines, les tétracyclines, les sulfamides, les quinolones et les macrolides ; les résidus d'antibiotiques sont parfois évoqués comme cause dans les réactions allergiques observées chez l'homme suite à la consommation de denrées d'origine animale (Stoltz, 2008).

II.6.2.2 Sélection de germes résistants aux antibiotiques

Toute utilisation d'antibiotiques en médecine vétérinaire ou en médecine humaine accroît les risques d'apparition de bactéries résistantes. Les risques les plus grands sont associés à certaines pratiques d'administration des antibiotiques, comme celles qui consistent à administrer simultanément le produit à tout un troupeau, à administrer le produit de façon prolongée ou de sur utiliser un même antimicrobien. Aucun lien direct n'a été établi entre l'usage d'antibiotiques comme stimulateurs de croissance dans les élevages et les antibio-résistances apparues chez les humains. Des chercheurs étudient cependant la possibilité qu'un tel lien puisse exister (Klotins, 2006).

II.6.2.3 Risques cancérigènes

Il semble être associé aux résidus issus de deux familles d'antibiotiques principalement : les nitrofuranes et les nitroimidazoles. En effet, les résidus provenant des réactions de nitro-réduction de ces antibiotiques sont fortement électrophiles et donc capables de réagir avec l'ADN (Stoltz, 2008). D'où l'apparition des effets mutagènes et cancérigènes (tumeurs). Pour éviter ces risques, les nitrofuranes sont aujourd'hui interdits en production animale dans de nombreux pays, dont tous ceux de l'Union Européenne depuis 1993 (Règlement CEE 2901/93).

II.6.3 Prévention des risques de la présence des résidus d'antibiotiques

Deux notions sont à respecter : la notion de la limite maximale des résidus (LMR), et la notion du temps d'attente.

II.6.3.1 Limite maximale des résidus (LMR)

Une LMR est la concentration maximale de résidus qui peut demeurer dans les tissus ou les produits alimentaires (lait, viande, œufs...) issus d'un animal destiné à l'alimentation humaine à qui l'on a administré des médicaments vétérinaires

Cette LMR ne doit pas être dépassée pour des aliments issus des productions animales (tableau 5) (Fabre et al, 2006)

Tableau 5 : Exemples de limite maximale de résidus (Fabre et al., 2006).

Principe actif	Espèces	Organes	LMR (ug/kg)
Danofloxacin	Volailles	Muscle	200
		Graisse	100
		Foie	400
		Rein	40
Deltaméthrine	Tous les ruminants	Muscle	10
		Graisse	50
		Foie	10
Abamectine	Ovins	Muscle	20
		Graisse	50
		Foie	25
		Rein	20
Avilamycine	Volailles	Muscle	50
		Graisse	100
		Foie	300
		Rein	200

II.6.3.2 Temps d'attente ou délai d'attente

le temps d'attente est défini comme étant le délai à observer entre la dernière administration du médicament à l'animal dans les conditions normales d'emploi et l'obtention des denrées alimentaires provenant de cet animal, afin de garantir qu'elles ne contiennent pas de résidus en quantités supérieures aux limites maximales (Milhaud et Pinault, 1999).

Le délai d'attente ou période de retrait représente donc le temps nécessaire à l'excrétion complète d'un médicament après sa dernière prise (Broes et al, 1999) (tableau 6).

Tableau 6. Exemples de temps d'attente (Fabre et al., 2006).

Principe actif	Espèces cibles	Temps d'attente
Pénicilline G	Bovine, ovine, caprine, porcine.	21 jours
Oxytétracycline	Bovine, ovine, caprine, porcine	21 jours
Erythromycine	Volailles	21 jours

II.7 Méthodes de détection et de quantification des résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale

Deux types de tests sont utilisés pour rechercher les résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale (tableau 7) :

- Des tests microbiologiques qui utilisent le principe de la croissance bactérienne, ce sont des méthodes bactériennes encore appelées méthodes d'inhibition.
- Des tests qui utilisent des méthodes physico-chimiques, tel que la chromatographie en couche mince, la chromatographie en phase liquide ou la chromatographie en phase gazeuse, des techniques enzymatiques ou des techniques immunologiques (**Stoltz, 2008**).

Tableau 7. Comparaison entre les méthodes bactériennes et les méthodes physico-chimique et immunologiques pour la recherche des résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale (**Stoltz, 2008**).

	Méthode bactériennes	Méthodes physico-chimiques et immunologiques
Principe	-Mise en évidence du pouvoir D'inhibition de la croissance des souches sélectionnées	Dosage des molécules (résidus)
Les différentes méthodes	-Méthode officielle des quatre Boîtes -Méthode des trois boîtes -Le « fast antibiotic screen test » -Le premiTest -Le delvotest -Le copan test P et S 100 -Le valio T101	-Spectrométrie de masse -Chromatographie en phase Liquide -Chromatographie en phase Gazeuse -Chromatographie en couche Mince -la méthode E.L.I.S.A -Tests enzymatiques : Exemple : le penzym -Tests immuno-enzymatiques
Particularites	-Large spectre de recherche de Molécule antibiotique -Première étape des plans de contrôle -Utilisés quand l'antibiotique Est inconnu	-Grande variabilité des seuils De détection -Utilisées pour doser un antibio-tique connu

PARTIE
EXPERIMENTALE

Matériel et méthode

Ce travail a pour objectif de détecter la présence des résidus d'antibiotiques dans la viande de poulet de chair, par la méthode microbiologique d'inhibition.

Les analyses des échantillons ont été réalisées au sein du laboratoire de Microbiologie du département de microbiologie et biochimie de la faculté des sciences à l'Université Mohamed Boudiaf M'sila.

III.1 Matériel

III.1.1 Souches utilisées : les six souches utilisées dans notre étude sont :

- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (ST2)
- *Staphylococcus aureus* ATCC 6536 (ST6)
- *E.coli* ATCC 8739 (EC)
- *Salmonella Enterica* ATCC 14028 (SE)
- *Pseudomonas* ATCC 15442 (PS)
- *Bacillus Subtilis Subsp.Apizizenti* ATCC 6633 (BS)

Ces bactéries nous permettent la mise en évidence des résidus de substances à activité antibactérienne, ces souches sont repiquées dans un milieu de conservation.

III.1.2 Echantillonnage

vingt-sept échantillons de viande blanche de type poulet de chair ont été prélevés des différents bâtiments d'élevage privés des régions de M'sila.

Les parties prélevées sont :

- Neuf cuisses
- Neuf foies
- Neuf bréchets

III.1.3 Prélèvements et stockage

Le prélèvement s'est effectué au niveau des différents bâtiments abattoirs, juste après l'abattage on a découpé à l'aide d'un couteau et une pince stérile 200g de la viande à analyser.

Chaque échantillon est mis dans un sachet stérile, fermé et numéroté puis transporté dans une glacière au laboratoire où il est conservé au congélateur à une température de -4°C pour une utilisation ultérieure.

III.2 Expérimentation au laboratoire

III.2.1 Revivification et vérification des souches bactériennes utilisées

Les six souches utilisées (ST6, ST2, BS, PS, EC, et SE) sont repiquées dans le Bouillon Nutritif (BN) (Annexe I) et incubées à 37°C pendant 24h, la revivification est suivie par une vérification de la pureté des souches.

La vérification de la pureté des souches se fait sur le milieu gélose Nutritif (GN) (Annexe I) par la méthode d'ensemencement en quadrant, cette pureté est confirmée par des tests macroscopique et microscopique jusqu'à l'obtention d'un aspect macroscopique pure, ainsi la coloration de Gram est réalisée pour compléter cette vérification de la pureté.

Ces derniers biotes ont servi pour la suite de travail.

➤ **Caractéristiques macroscopiques**

L'examen macroscopique permet d'observer visuellement des isolats sur gélose GN, pour caractériser la forme, la taille, l'aspect ainsi que la couleur des colonies et la pureté des bactéries utilisées.

➤ **Caractéristiques microscopiques**

Ce test est effectué sur des frottis auparavant colorés par une coloration différentielle (coloration de Gram), qui permet de diviser les bactéries en deux groupes : Gram+ et Gram-, et d'apprécier la forme et le mode de regroupement des cellules. La coloration est faite selon la méthode classique (**Guiraud et Galzy, 1980**). L'observation des cellules bactériennes est réalisée au microscope optique (G x100).

III.2.2 Détection des souches sensibles vis-à-vis certains antibiotiques

III.2.2.1 Mesure de la densité optique des bactéries utilisées

La mesure de la densité optique (DO) par un spectrophotomètre, permet de mesurer la biomasse de la culture et non directement sa concentration en cellules viables.

De chaque culture bactérienne, on a pris 1ml et on a mélangé avec 9 ml d'eau physiologique stérile, après l'agitation on a versé 1 ml à l'aide d'une micropipette dans une cuve à Spectrophotomètre (à 620 nm d'ondes) pour assurer que la DO entre 0.08-0.10.

III.2.2.2 Ensemencement en surface sur milieu Mueller Hinton (MH)

L'antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques supposés ou connus.

Le principe consiste à placer la culture de bactéries en présence du ou des antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci.

➤ **Technique utilisée d'ensemencement**

- Couler les boîtes de pétri par milieu MH (Annexe I)

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum contenant la souche, l'essorer en le tournant contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée sèche de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 90° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même, finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

Dans ce cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri pour les six souches, il faut changer l'écouvillon à chaque fois.

➤ **Application des disques**

Les disques d'antibiotiques contenus dans les cartouches sont déposés sur des boîtes collées par MH préalablement séchées, à l'aide d'une pince flambée et refroidie, tout en respectant la distance de 2 à 2,5 cm entre les disques et 1 cm du bord de la boîte.

Liste des antibiotiques testés pour chaque souche sont les suivants :

- Pénicilline G (P)
- Amoxicilline (AX)
- Gentamycine (CN)
- Colistine Sulfate (CS)
- Oxacilline 1 (OX)
- Streptomycine (S)
- Céfazoline (CZL)

Nous avons réalisé deux répétitions pour chaque souche, on a deux boîtes de Pétri, on dépose sur la première boîte quatre disques d'antibiotiques et les autres disques dans la deuxième boîte.

➤ **Incubation**

L'incubation des boîtes se fait à 37°C dans l'étuve pendant 18-24 heures.

➤ **Lecture d'antibiogramme**

Après incubation, autour de chaque disque on a une zone d'inhibition, la mesure du diamètre de ces zones nous permet de déterminer le comportement de souche vis-à-vis cet antibiotique dont on détermine si elle est sensible, intermédiaire ou résistante en se référant aux valeurs données par le comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.

Pour les répétitions, nous avons pris les deux valeurs pour calculer la moyenne.

III.3 Méthodes de détection des résidus d'antibiotiques dans la viande de poulet de chair

III.3.1 Préparation des échantillons

Les échantillons congelés sont décongelés à l'aire libre, après 5 g de chaque échantillon est prélevé, pesé et broyé avec un mortier stérile contenant 45 ml d'une solution Ringer stérilisé (Annexe I). Les échantillons sont déposés dans des tubes en verre stériles et ils sont centrifugés à 4.000 tours pendant 5 minutes. Une quantité de 100 µl du surnageant est récupéré pour remplir chaque puits (figure 2).



Figure 2. Etapes de préparation des échantillons de viande.

III.3.2 Ensemencement sur milieu de culture MH

Une fois le milieu MH coulé dans les boîtes de Pétri, sera ensemencé avec les germes les plus sensibles. Des puits de 8 mm de diamètre sont réalisés à l'aide d'un emporte pièce stérile.

Nous avons réalisé trois répétitions pour chaque échantillon, donc dans une boîte de Pétri, trois puits à gauche correspondant à la répétition d'un échantillon de cuisse, trois puits à droite correspondant à la répétition d'un échantillon de bréchet et dans autre boîte, trois puits correspondant à la répétition d'un échantillon de foie, avec un puits au centre correspondant au antibiotique témoin sensible (figure 3).

L'incubation des boîtes se fait à 37°C dans l'étuve pendant 18-24 heures.

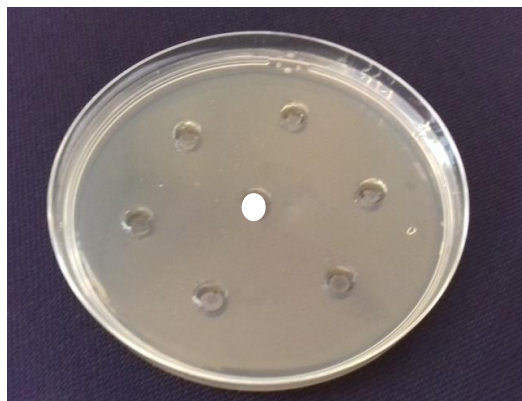


Figure 3. Méthode de puits réalisée sur boîte de pétri

III.3.3 Lecture des résultats

L'action inhibitrice des antibiotiques (présence de résidu d'antibiotique dans l'échantillon) se traduit par la formation d'une zone d'inhibition (halos) autour de chaque puits. La lecture est réalisée à l'aide d'une règle. Les échantillons de viande donnant des zones d'inhibition d'au moins 9 mm de diamètre sont considérés comme positifs, et ils sont considérés comme contenant des antibiotiques (figure 4).

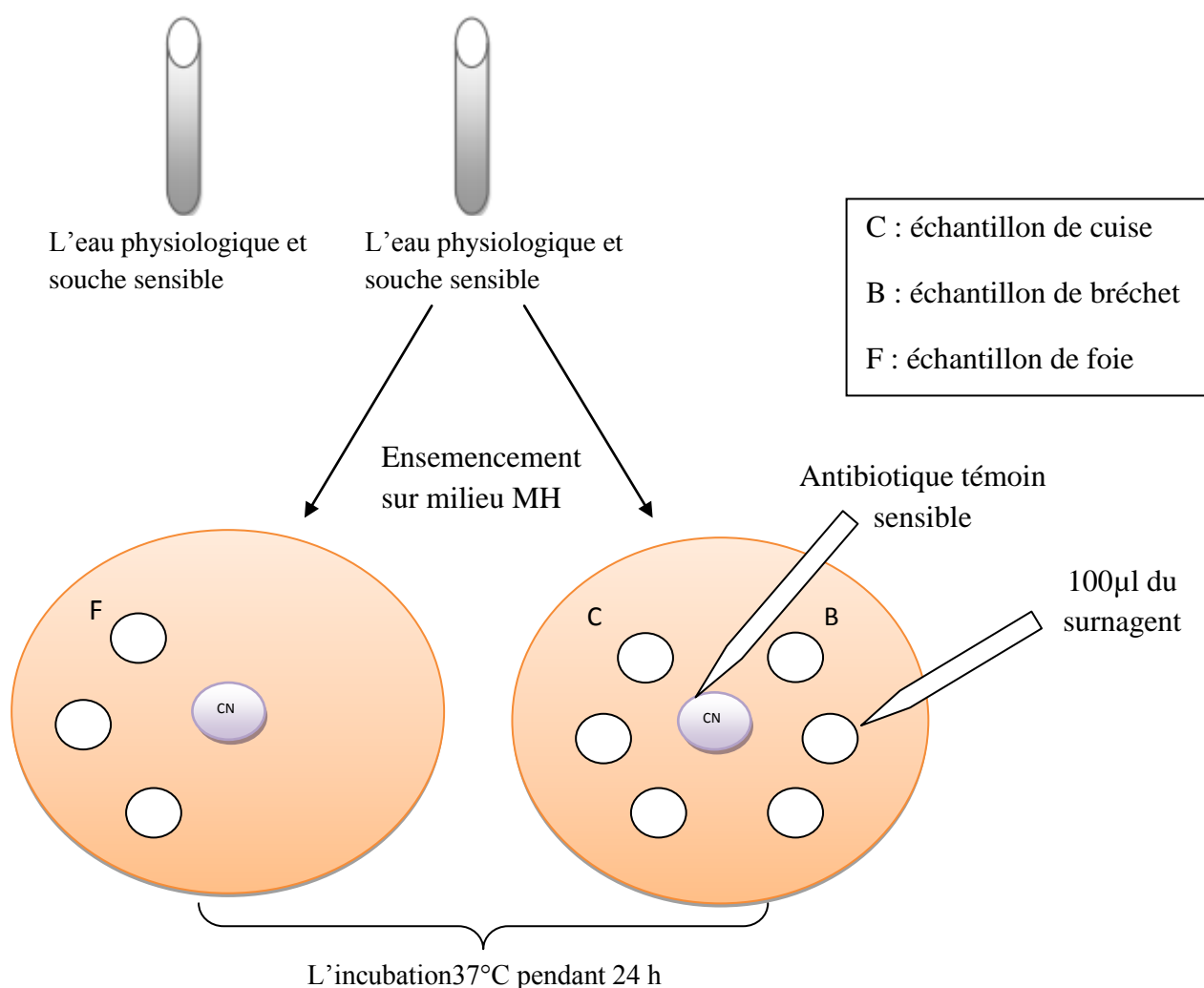


Figure 4. Schéma représentatif de la méthode de détection des résidus d'antibiotiques.

III.4 Identification des résidus d'antibiotiques

III.4.1 Préparation des échantillons

À partir de test d'antibiogramme, on a trouvé un échantillon contient des résidus d'antibiotiques, pour ce faire on pèse 15 g d'échantillon, puis on l'écrase avec 45 ml d'une solution Ringer stérile et centrifugé à 4.000 tours pendant 5 minutes.

III.4.2 Extraction à partir d'extrait

L'extraction des antibiotiques à partir d'extrait d'échantillon nécessite le choix d'un solvant non miscible à l'eau, quatre solvants de polarité croissante sont utilisés : le n- hexane, le benzène, l'acétate d'éthyle et le n- butanol. Afin de déterminer le meilleur solvant d'extraction (Valan Arasu, 2009), l'extrait est mélangé dans une ampoule à décanter avec un volume égal de solvant (25:25, v/v) (Annexe II), les deux phases organique et aqueuse sont récupérées séparément dans des flacons (figure 5).

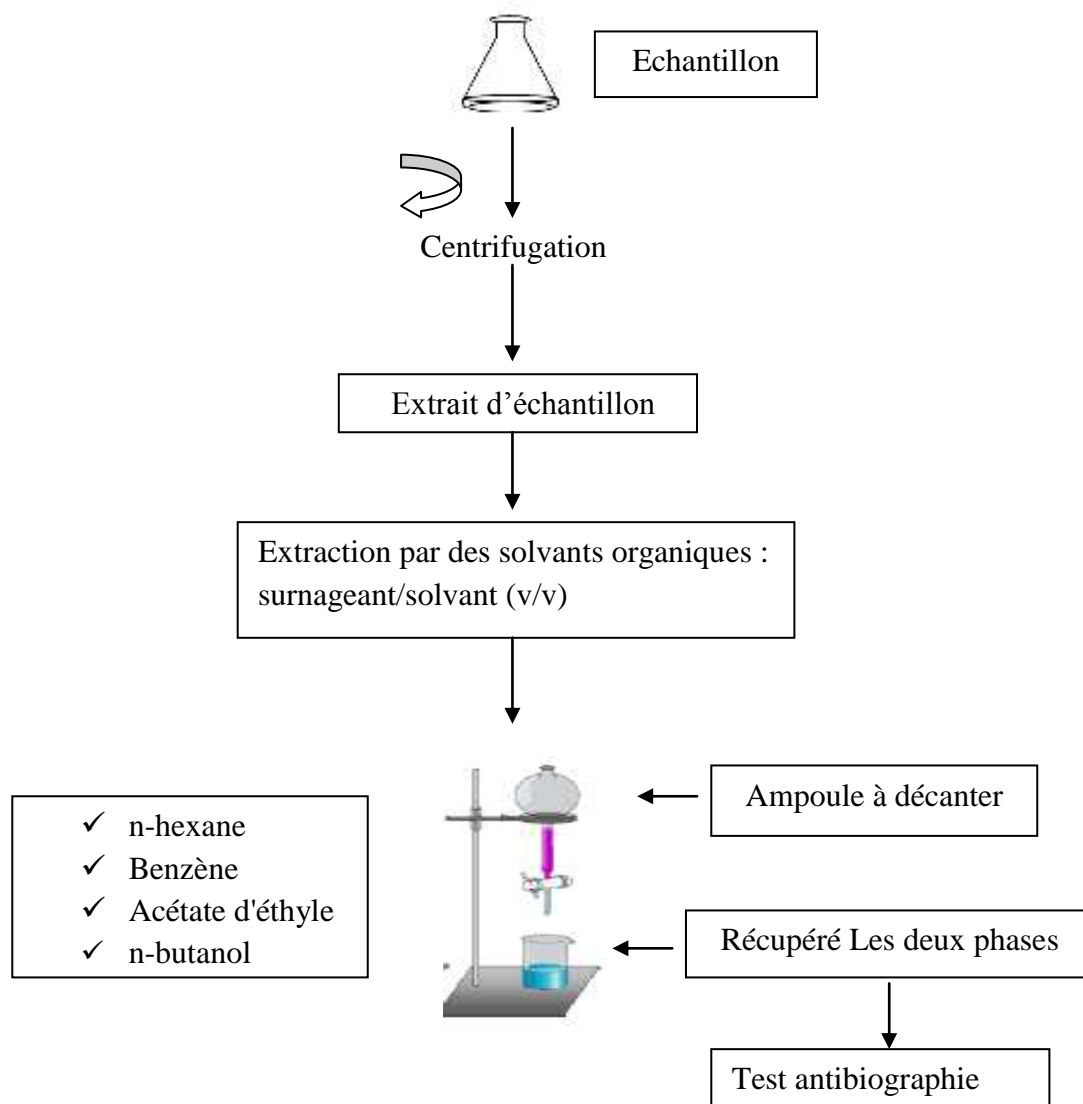


Figure 5. Protocole d'extraction des antibiotiques à partir d'extrait d'échantillon.

III.4.3 Antibiographie et choix de solvant d'extraction

L'activité inhibitrice des différentes phases obtenues est testée par antibiographie (méthode des puits).

III.4.3.1 Méthode des puits

L'activité antibactérienne de la phase organique et de la phase aqueuse est testée par antibiographie (méthode des puits), en utilisant le milieu MH qui est une fois coulé dans des boîtes de Pétri, est ensemencé avec les germes cibles, des puits de 8 mm de diamètre sont réalisés à l'aide d'un emporte pièce stérile.

De chaque phase, un volume de 100 μ l de surnageant est prélevé stérilement puis introduit dans des puits, et un autre puit on introduit le solvant organique utilisée, les boîtes sont incubées à 37°C, la lecture des résultats s'effectue en mesurant le diamètre des zones d'inhibitions autour des puits après 24 h d'incubation (figure 6).

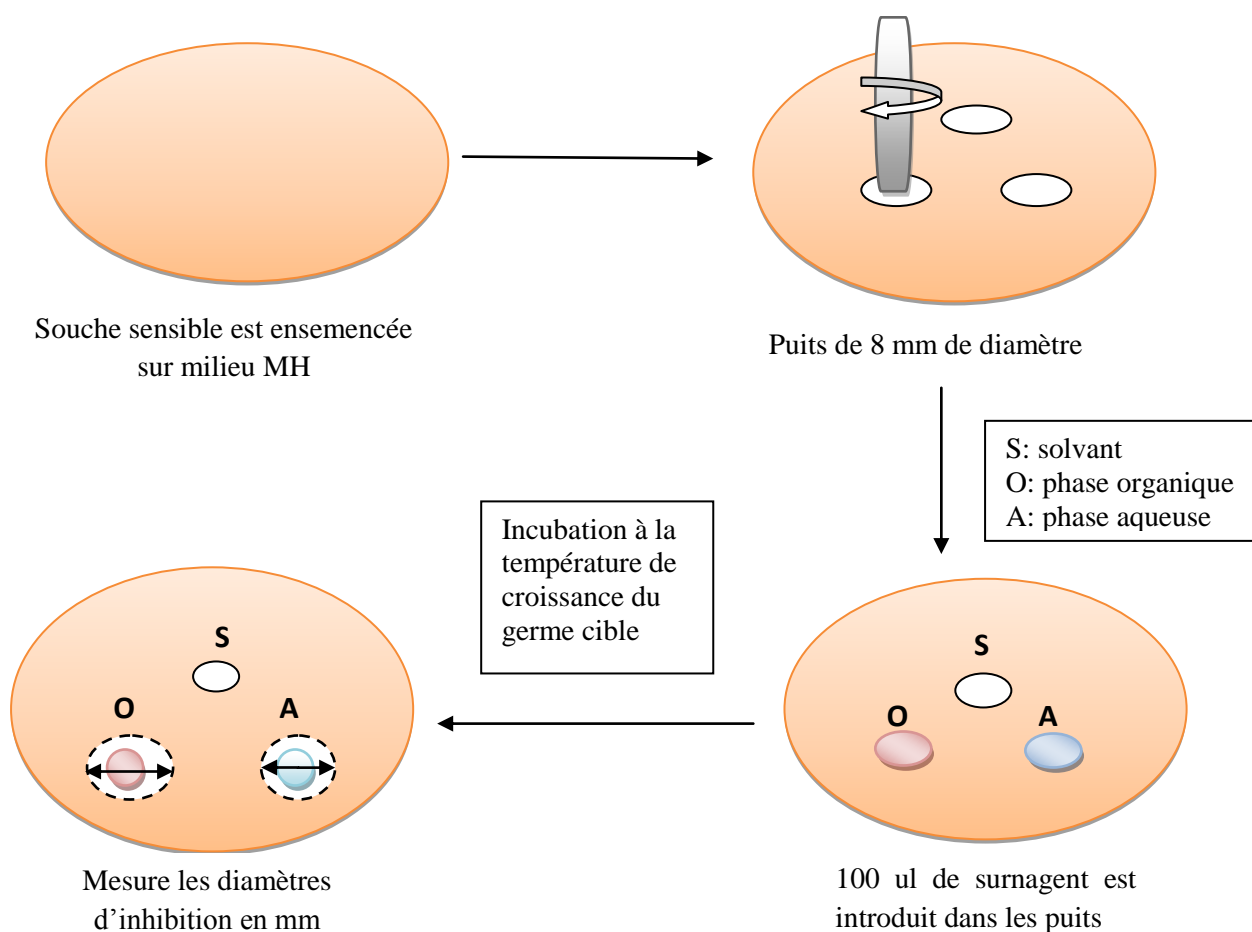


Figure 6. Mise en évidence de l'activité antibiotique d'extrait sur milieu MH par la méthode des puits.

III.4.4 Séparation et identification les résidus d'antibiotiques par chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie est une méthode physique de séparation de mélange en leurs constituants, elle est basée sur les différences d'affinité des substances à l'égard de deux

phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile, elle est effectuée en vue d'une analyse d'un mélange.

Une fois le meilleur solvant d'extraction pour la souche étudiée est choisi, il est nécessaire de déterminer le meilleur système de séparation par migration en réalisant une chromatographie sur plaques de gel de silice (Djinni, 2009).

III.4.4.1 Préparation d'antibiotiques témoins

On a Dissous les antibiotiques témoins dans une quantité suffisante au meilleur solvant (Annexe II).

Les différents antibiotiques témoins utilisés sont :

- Nifuroxazide (Nif)
- Amoxiciline-acide clavulanique (AUG)
- Péniciline-trihydratée (Pini)
- Erythromycine (Ery)
- Ampicilline (Am)
- Streptomycine (S)

III.4.4.2 Développement des plaques et sélection du système d'élution

Sur une plaque chromatographique, on trace au crayon de papier un trait à 1.5 Cm environ des bords inférieur et supérieur parallèlement à ces derniers, et on dépose sur le trait à l'aide de pipette pasteur à 1.3 Cm d'intervalle, une microgoutte de :

- L'extrait actif et,
- Les solutions des antibiotiques témoins

On laisse les taches sécher avant d'éluer, entre chaque application. Les cuves rectangulaires en verre utilisées, contiennent 50 ml d'éluant, puis on introduit les plaques, et on couvre les cuves à fin que l'atmosphère dans le cuve reste saturée en vapeurs d'éluant (Annexe II).

Les différents systèmes de solvant habituellement utilisés sont :

- N-Butanol-Acide acétique-Eau (60 : 20 : 20 , v/v/v)
- Acétate d'éthyle-Méthanol (100:15, v/v)
- Ethanol-Ammoniaque-Eau (40:30:30, v/v/v)
- Acétonitrile-Eau (50:50, v/v)

La chromatographie est arrêtée lorsque le front du solvant a parcouru une distance d'environ 7cm à partir du dépôt. Le solvant est éliminé de la plaque par simple évaporation à température ambiante. Le chromatogramme est observé à l'œil nu et sous la lumière ultraviolet ($\lambda=356$ nm) et les spots qui est apparaissent sont notés (Annexe II).

III.4.4.3 Calcul des rapports frontaux (Rf) et identification des taches

Cette méthode consiste d'une part, à détecter les principes actifs présents dans l'extrait et les comparer avec les taches de solutions des antibiotiques témoins en déterminant leurs nombres et leurs rapports frontaux (Rf) respectifs et d'autre part, à choisir le meilleur système de solvant de séparation.

les Rf calculés selon la formule :

$$\text{Rf} = \frac{\text{Distance parcouru par le spot}}{\text{distance parcouru par la phase mobile}}$$

Résultats et Discussions

Nous avons appliqué la méthode microbiologique d'inhibition, pour rechercher les résidus d'antibiotiques sur 27 échantillons de viande de poulet de chair (bréchet, cuisse et foie).

L'utilisation des disques d'antibiotiques témoins nous a permis de vérifier la fiabilité de la technique, c'est-à-dire la sensibilité de microorganismes testés vis-à-vis de l'antibiotique. La présence de la zone d'inhibition s'explique par la présence des résidus d'antibiotiques dans les échantillons analysés qui ont migré dans le milieu, inhibant ainsi la croissance des microorganismes testés autour du disque d'extraits de viande (Pavlov *et al.*, 2008).

IV.1 Résultats de vérification de la pureté des souches bactériennes utilisées

Notre travail est basé sur la vérification de la pureté des souches bactériennes testées de point de vue :

IV.1.1 Caractéristiques macroscopiques

La première étape du diagnostic bactérien et du biotypage d'une souche est la description macroscopique de ses colonies (Annexe II) ; parfois cette observation macroscopique permet de connaître le germe grâce à ses colonies typiques.

Les paramètres caractéristiques sont les suivants :

- La pureté : Elle se montre par la présence d'un seul type de colonie.
- La viabilité : C'est la capacité d'une bactérie à croître et à former une colonie visible sur la gélose nutritive, à l'exception des souches viables non cultivables.
- L'aspect des colonies : Compris la taille, la forme, le relief, et le contour.
- La pigmentation : Correspond à la teinte de la colonie (Solbi, 2013).

Les résultats de la caractéristique des six souches de références sont mentionnés dans le tableau 8.

Tableau 8. Caractéristiques macroscopiques des six souches cultivées sur milieu GN après incubation à 37°C.

Souche	Viabilité	Pureté	Pigment	relief	contours	Aspect	taille	Forme
ST2	Viables	pures	Jaune d'ore	bombé	réguliers	lisse	grande	ronde
ST6	Viables	pures	Jaune d'ore	bombé	réguliers	lisse	grande	ronde
EC	Viables	pures	blanc	bombé	irréguliers	métallique	petite	ronde
SE	Viables	pures	blanc	bombé	réguliers	métallique	petite	ronde
PS	Viables	pures	Bleu vert	bombé	réguliers	métallique	petite	ronde
BS	Viables	pures	blanc crème	bombé	irréguliers	brillante	grande	ronde

IV.1.2 Caractéristiques microscopiques

Après coloration de Gram qui met en évidence l'affinité tinctoriale (Solbi, 2013) (Annexe II), on a eu Les résultats de l'observation microscopiques qui sont mentionnés dans le tableau 9.

Tableau 9. Caractéristiques microscopiques après coloration de Gram.

Souche	Forme	Gram	Mode de regroupement
ST2	Coque	Gram +	Diplocoques, d'amas ayant la forme de grappes de raisin.
ST6	Coque	Gram +	
EC	Bâtonnet	Gram -	Isolés le plus souvent, en paire, en chaînes.
SE	Bâtonnet	Gram -	Diplobacilles, en chaînes.
PS	Bâtonnet Renflé	Gram -	Diplobacilles, en chaînes
BS	Bâtonnet	Gram +	Isolés, en paire, en chaînes

Après la Caractérisation macroscopiques et microscopiques des six souches de références utilisées dans cette étude (ST2, ST6, EC, SE, PS, BS), on a constaté qu'elles sont des souches pures.

IV.2 Résultats de détection les souches sensibles vis-à-vis certains antibiotiques

Un antibiogramme permet de tester sur milieu MH, l'action des molécules d'antibiotiques sur une souche bactérienne. Il existe trois interprétions différentes :

- **Sensible** : Les souches S sont celles pour lesquelles la probabilité de succès thérapeutique est acceptable. On doit s'attendre à un effet thérapeutique dans le cas d'un traitement à dose habituelle par voie générale.
- **Résistante** : Les souches R sont celles pour lesquelles il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique. On ne peut s'attendre à un effet thérapeutique quel que soit le traitement.
- **Intermédiaire** : Les souches I sont celles pour lesquelles le succès thérapeutique est imprévisible (Thierry F, 2011)

Les résultats de l'antibiogramme sont présenté dans la figure 7 .et les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés et mentionnés dans le tableau 10.

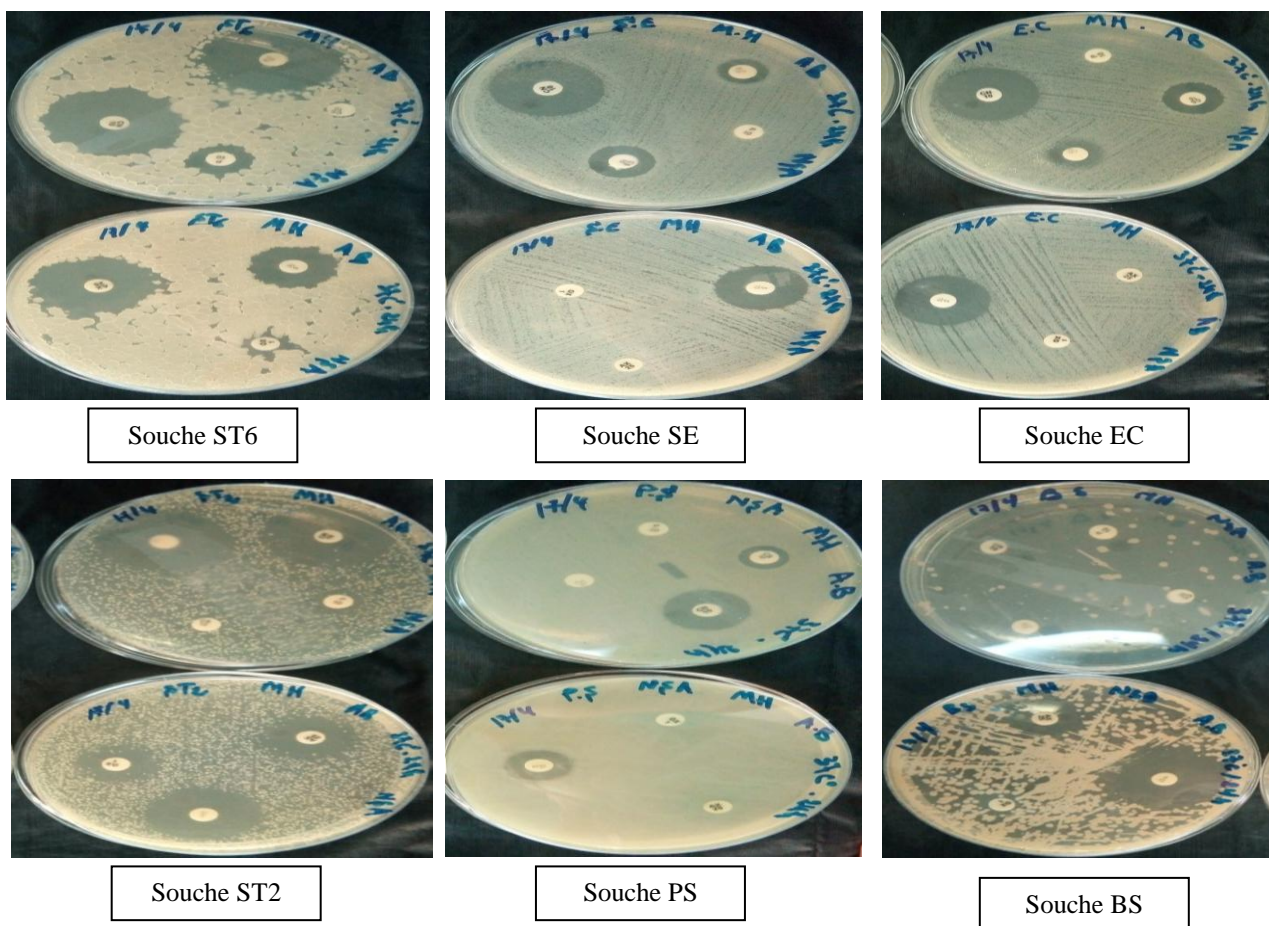


Figure 7. Antibiogramme de souches utilisées.

Tableau 10. Moyenne des diamètres des zones d’inhibition en mm de souches bactériennes utilisées.

antibiotique	Souche	ST6	SE	EC	ST2	PS	BS
CZL		32	10.5	10.5	29	06	32.5
AX		23.5	06	06	20.5	06	19.5
P		13	06	06	13	06	14
CS		06	14	15	06	12	9.5
S		19.5	20.5	21.5	20	15	27.5
OX		10	06	06	11	06	09
CN		29	24.5	24.5	31.5	19.5	35

En se référant aux valeurs données par le comité de l’antibiogramme de la société française de la microbiologie (Annexe III), on a pu attribuer aux six souches bactériennes testées des phénotypes d’antibiogrammes, qui sont mentionnées dans le tableau 11.

Tableau 11. Phénotypes d’antibiogramme des souches bactériennes testées.

Souche	PS	BS	ST2	ST6	EC	SE
Phénotype d’antibiogramme						
Sensible	CN, S	CZL, AX, CN	CZL, AX, S, CN	CZL, AX, S, CN	S, CN, CS	S, CN, CS
Intermédiaire		P	OX			
Résistante	OX, CS, P, AX, CZL	CS, OX, S	P, CS	CS, OX, P	CZL, AX, P, OX	CZL, AX, P, OX

D’après le tableau 11, on peut constater que Les deux souches ST2 et ST6, sont les souches les plus sensibles vis-à vis les antibiotiques suivant :(CZL, AX, S et CN), de ce faire, nous avons choisi les souches les plus sensibles à la plupart des antibiotiques Pour le test de détection des résidus d’antibiotiques dans les volailles qui sont :

- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- *Staphylococcus aureus* ATCC 6536.

IV.3 Résultats de détection des résidus d’antibiotiques dans la viande de poulet de chair

Après l’analyse des échantillons de viande de poulet de chair, les résultats obtenus montrent la présence des zones d’inhibitions qui témoignent de la présence des résidus d’antibiotiques (figure 8).

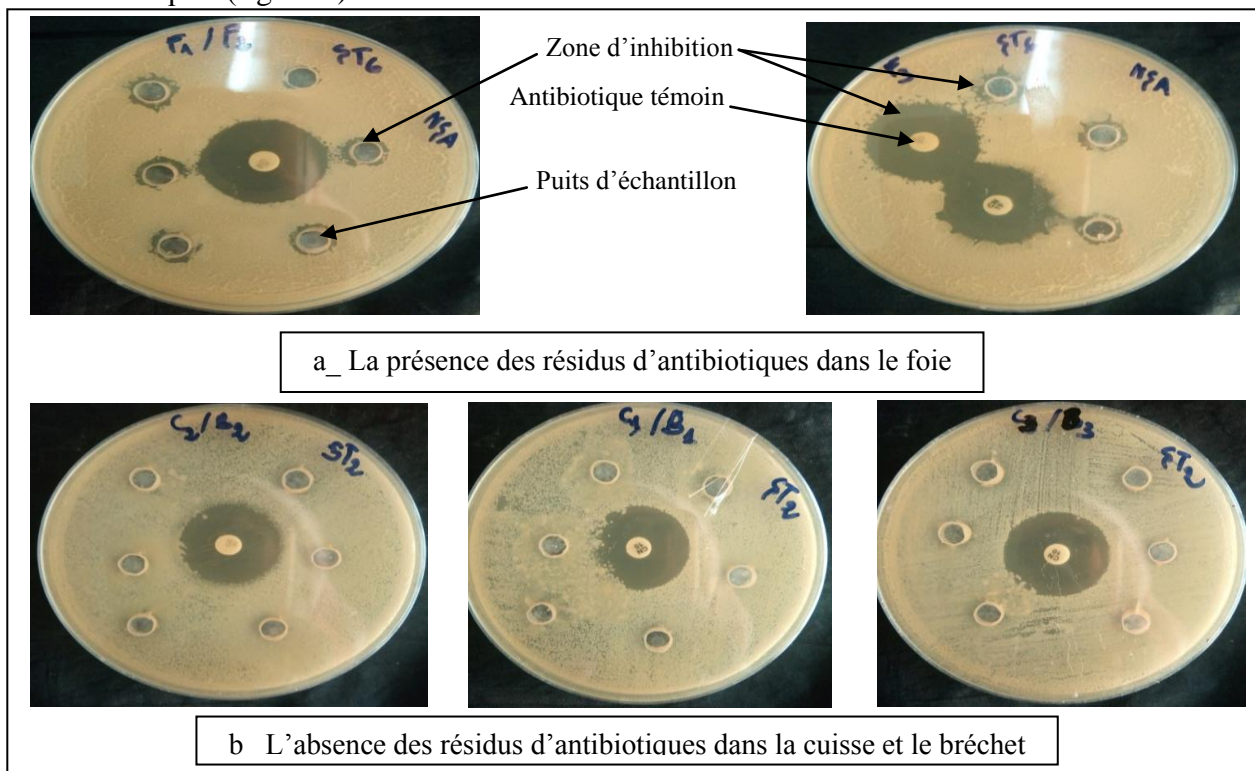


Figure 8. Résultats de détection des résidus d’antibiotiques dans la viande de poulet de chair.

La figure 9 montre que sur vingt sept échantillons de viande de poulets testés, neuf échantillons ont été trouvés positifs avec un pourcentage de 33%, dix-huit ont été trouvés négatifs avec un pourcentage de (67%).

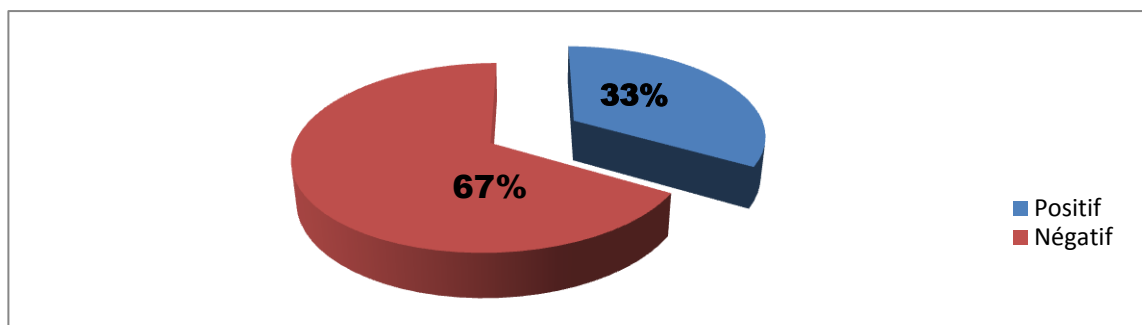


Figure 9. Pourcentage de contamination de la viande de poulet de chair par les résidus d'antibiotiques.

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 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., (2013)** les analyses des échantillons ont dévoilé la présence de cent vingt-quatre échantillons positifs sur cent quarante-cinq 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 trente neuf échantillons positifs sur un total de soixante-quinze. Au Sénégal **Bada-Alamedji et al., (2004)** ont mis en évidence quatre échantillons positifs sur un total de quarante-un échantillons prospectés soit un pourcentage de 9,8 %. En Suisse **Edder (2002)** a dévoilé trente-cinq échantillons positifs sur un total de deux cent quatre-vingt-treize échantillons analysés soit un pourcentage de 12 %.

Une étude réalisé en Suisse (**Sisqa, 2003**) portant sur un effectif total de cinquante-cinq échantillons de viande de volaille provenant de différentes régions du monde : Chine (dix neuf), Brésil (six), Hongrie (huit), l'Europe de l'Ouest (deuze), Europe de l'Est (quatre) Thaïlande (trois) et le Chili (deux) a révélé que vingt 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.

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 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 67 %, ne signifie probablement pas l'absence de résidus dans les échantillons analysés, car ces derniers peuvent contenir des molécules d'antibiotiques à une concentration faible. 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)**.

IV.3.1 Résultats selon les parties prélevées

Le résultat mentionne que les résidus d'antibiotiques sont présents dans les foies à un pourcentage plus élevé (neuf cas positifs) par contre ils sont absents dans les cuisses et les bréchets, ce qui montre que la dégradation des antibiotiques au niveau du cuisse et du bréchet est plus rapide que celle au niveau du foie.

Dans nos différents échantillonnages, les résultats ont montré que le foie a été l'organe le plus incriminé dans l'accumulation des résidus d'antibiotiques. Ces résultats rejoignent ceux de **Randrionomenjanahary (2006)**. En effet, les médicaments qui ont été utilisés sont métabolisés par le foie et éliminés par voie biliaire. C'est un facteur de persistance des molécules au niveau de cet organe. De plus, ces médicaments subissent un cycle entérohépatique qui ralentit leurs éliminations. Enfin, beaucoup de molécules ont une affinité pour les organes richement vascularisés dont le foie. Le foie est un aliment largement consommé, l'étude des résidus qu'il peut contenir n'est pas totalement dépourvue de sens. Elle doit même interpeller sur les délais d'attente pratiqués (muscles et/ou foie) si le foie est consommé ou non. En effet, **Ranaivo (2005)** a démontré que le temps d'attente fixé par les laboratoires pharmaceutiques et indiqué sur la notice et le conditionnement des médicaments n'est pas valable pour le foie mais uniquement pour les denrées indiquées (muscles, lait, oeuf).

IV.3.2 Analyse des causes

En utilisant le diagramme d'ISHIKAWA, ou diagramme de cause à effet, nous avons représenté sur la figure 10 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 M'sila, en recombinaison des résultats de l'enquête et le taux de contamination présenté dans nos échantillons.

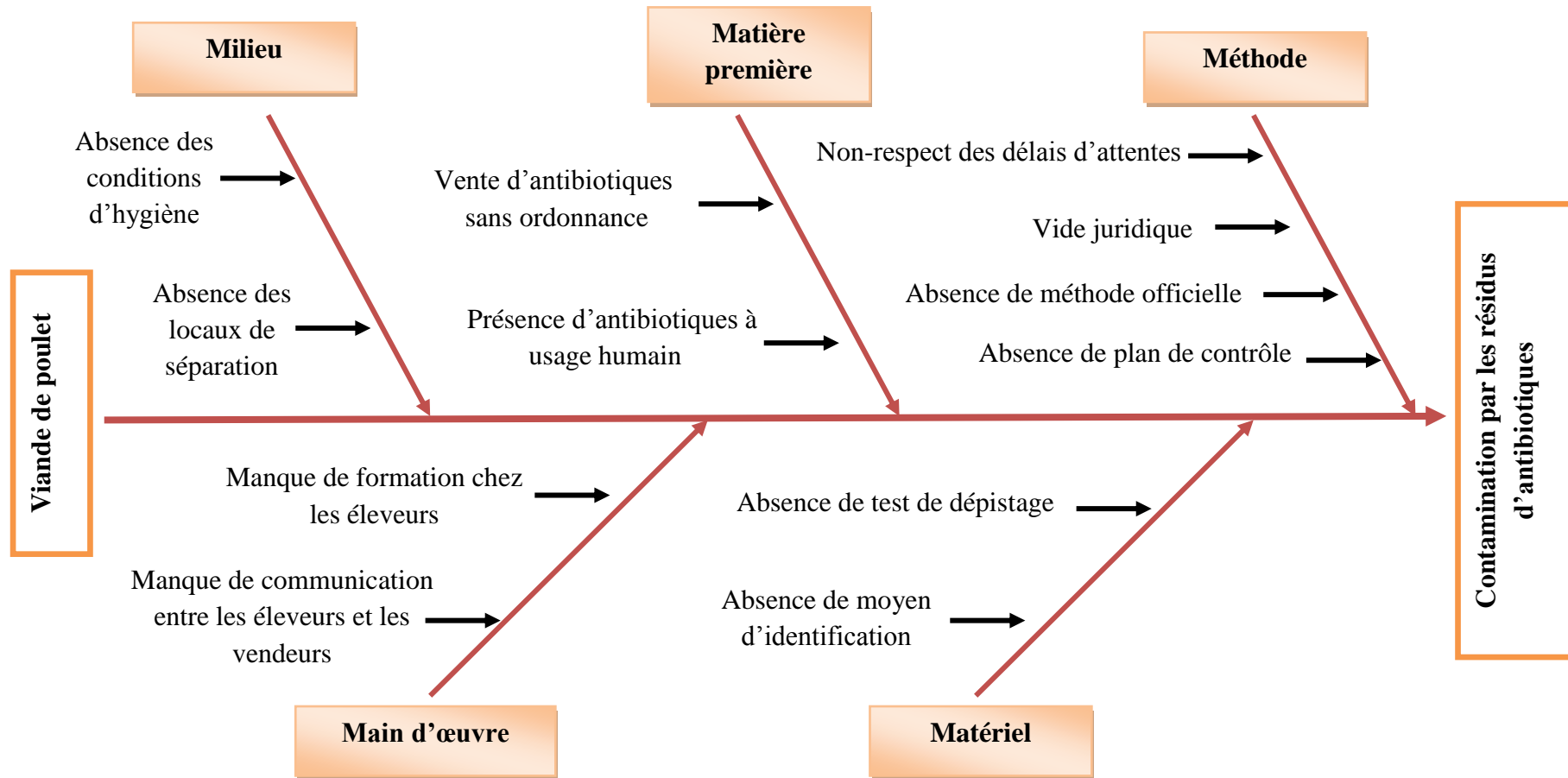


Figure 10: Diagramme d'Ishikawa

Grace à cet outil de qualité et après l’analyse des causes nous avons représenté les mesures préventives motionnées dans le tableau 13.

Tableau 12. Les causes et les mesures préventives

étapes	dangers	Causes de dangers	Mesures préventives
Éleveurs avicoles	Physique : personnel	Mauvaise gestion des élevages avicoles (manque de personnel qualifié)	* La bonne gestion des élevages avicoles garantissant aux animaux un statut sanitaire de haut niveau.
		Manque de formation des les éleveurs	* Renforcement de la législation.
		Absence de moyens d’identification	* Installation d’un système de traçabilité des antibiotiques.
		Manque de communication	* Exigence de registre d’élevage.
	Biologique : présence des résidus d’antibiotiques	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.
		Le non-respect du délai d’attente	* L’utilisation de façon prudente et rationnelles des antibiotiques et ceux par un personnel qualifié.
		Absence de test de dépistage	* L’antibiotique et l’application de la réglementation, de contrôle, des plans de surveillance et de sanction rigoureuses.
		Absence de plan de contrôle	* Validation des tests de dépistages rapides avec la spécification des méthodes confirmatives officielles.
	Absence de méthode de détection de résidus d’antibiotiques	* Mètre un plan d’action pour stopper la circulation de ces molécules.	

Suivant le tableau 12 ; 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.

IV.4 Résultats d'Antibiographie et choix de solvant d'extraction

Pour l'extraction d'antibiotiques à partir d'extrait de foie, quatre solvants organiques de polarités différentes ont été testés : n-hexane, benzène, acétate d'éthyle et n-butanol, les résultats des antibiographies des extraits sont illustrés dans la figure 11.

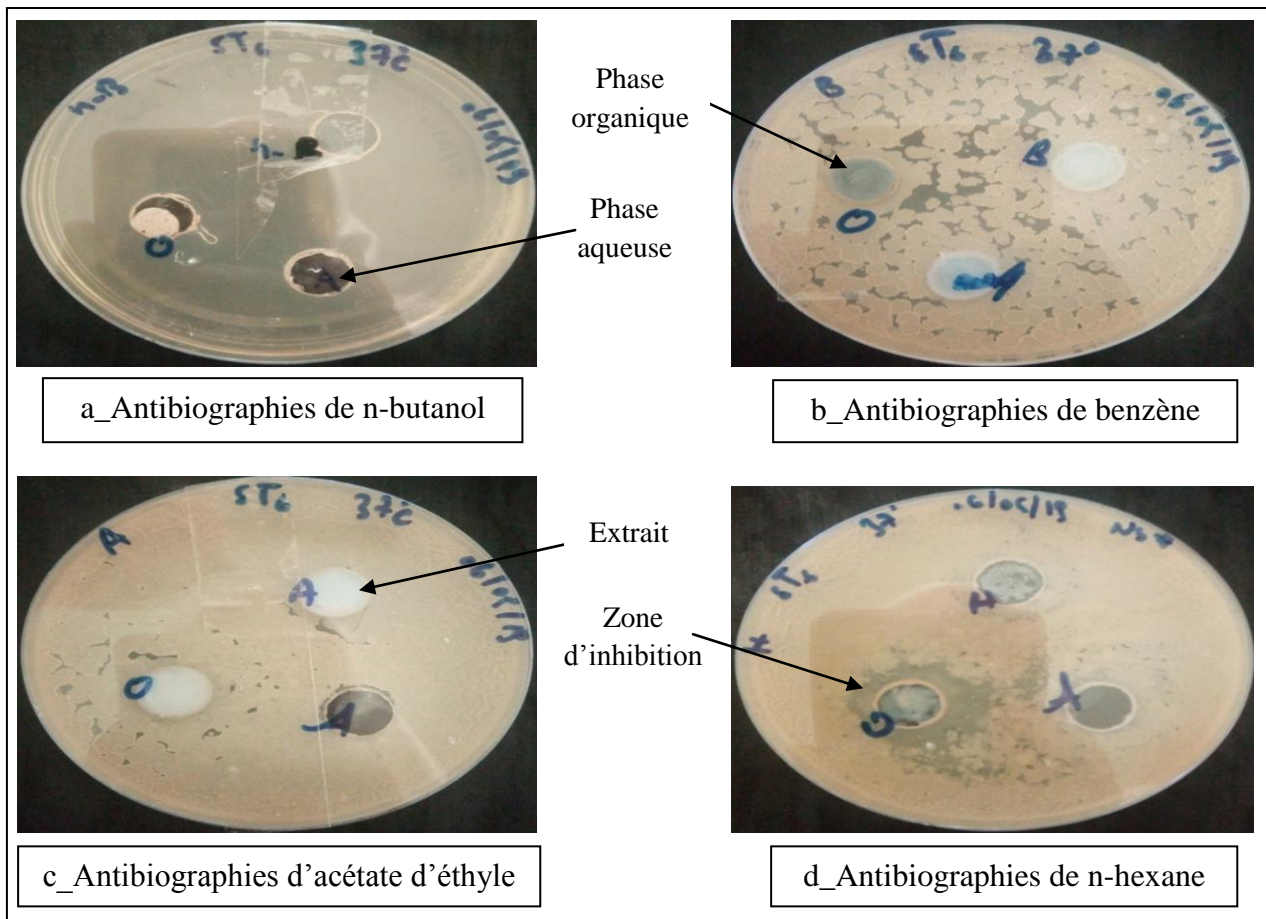


Figure 11. Antibiographies des extraits.

L'activité antimicrobienne est retrouvée dans les deux phases c'est-à-dire probablement il y a des substances antibactériennes (bioactive) solubles dans les solvants (tableau 13).

Tableau 13. Diamètres des zones d'inhibition les deux phases.

solvant	n-hexane		Benzène		acétate d'éthyle		n-butanol	
Les phases	A	O	A	O	A	O	A	O
Diamètres (mm)	0	20	0	16	14	0	18	0

A : Phase aqueuse / O : Phase organique

Le tableau montre que la n-hexane est le meilleur du point de vue extrahibilité avec une zone d'inhibition de diamètre de 20 mm autour de la phase organique.

Cela explique la solubilité des substances bioactifs (antibiotiques) dans le solvant n-hexane donc, elles ont une propriété physico-chimique apolaire.

IV.5 Résultats de séparation et d'identification les résidus d'antibiotiques par chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince a été effectuée pour séparer les substances actives et détecter le meilleur système de séparation. Quatre systèmes de solvants de migration ont été testés, ils s'agissent de : B.A.E (n-Butanol-Acide acétique-Eau, 60:20:20 et 6:1.5:2, v/v/v), A.M (Acétate d'éthyle-Méthanol, 100:15, v/v), E.A.E (Ethanol-Ammoniaque- Eau, 40:30:30, v/v/v), et A.N.E (Acétonitrile-Eau, 50:50, v/v) et cela pour l'élution de l'extrait par n-hexane. Le système B.A.E (6:1.5:2, v/v/v) a été retenu pour Calculer les rapports frontaux (RF) car il permet une meilleure séparation des taches qui sont localisées à l'œil nu et sous lumière ultraviolette ($\lambda=356$ nm), comparativement au système A.M, E.A.E et A.N.E (Annexe II) (figure 12).

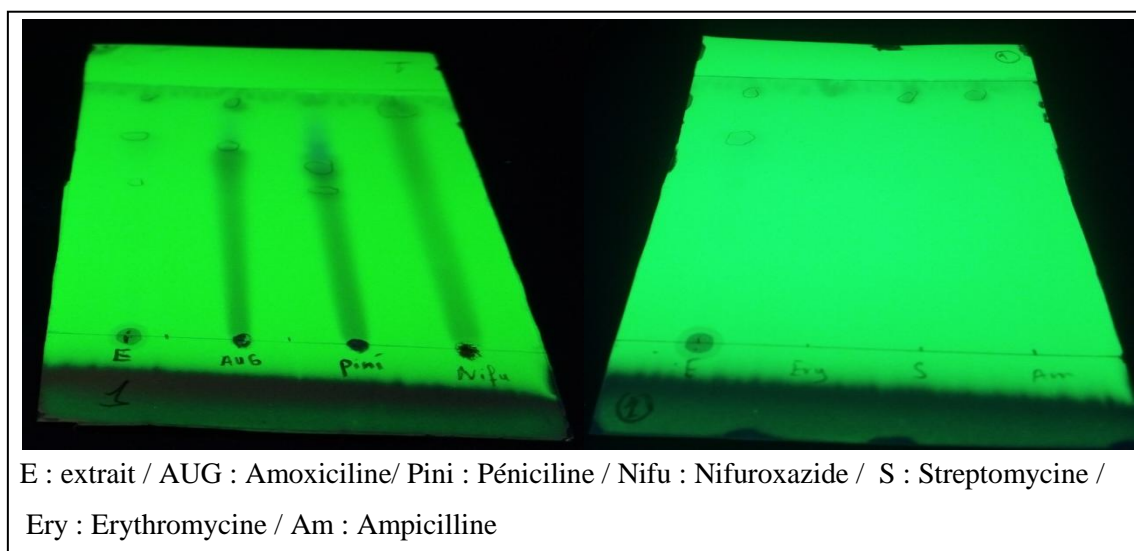


Figure 12. CCM par le système B.A.E.

IV.6 Calcul des rapports frontaux (Rf) et identification des taches

Le rapport frontal d'un produit donné dépend de nombreux paramètres : nature du revêtement de la plaque CCM (silice ou alumine), concentration de l'échantillon, nature des solvants d'élution...etc. C'est pourquoi il n'existe malheureusement pas de table de rapports frontaux pour tous les composés organiques, les résultats des rapports frontaux après séparation par CCM, sont mentionnés dans le tableau 14.

Tableau 14. Rf de chromatographe sur couche mince de l'extrait hexanoïque.

Les spots	Extrait	Nifu	S	Pini	AUG	Ery	Am
Rf	0.93	0,93	0,93	0,51	0,7	0,00	0.96
	0.53						
	0.74						
Couleur de tache	Transparent	jaune	Transparent	Transparent	Transparent	Transparent	Transparent

D'après le tableau 15, et comme, une même substance migre à la même hauteur dans des conditions opératoires identiques, c'est à dire, ont les mêmes rapports frontaux, on peut constater que l'extrait de foie, contient de 3 types de substances antibactériennes avec des rapports frontaux suivants :

(0.93, 0.53 et 0.74) qui sont identiques aux rapports frontaux des antibiotiques suivants : S (0.93), Peni (0.51) et AUG (0.74)

Ce résultat indique que l'échantillon d'extrait est constitué d'un mélange de molécules antibactériennes et que correspondant aux familles : Béta-lactamine, Aminoglycoside.

Conclusion

Conclusion

Notre travail nous a permis d'établir un protocole d'analyse avec la méthode microbiologique d'inhibition, dont le but de détecter la présence des résidus d'antibiotiques dans le foie, la cuisse et le bréchet de poulet de chair.

Les résultats obtenus dans notre étude révèlent la présence des résidus d'antibiotiques avec un pourcentage de 33% (le foie), qui peut être expliqué par l'utilisation abusive et anarchique des antibiotiques par les éleveurs, on a noté que les résultats de séparation et d'identification de l'extrait de foie après l'analyse par CCM, ont montré que les substances, sont des antibiotiques, appartenant les familles suivantes : Aminocyclitol et B-lactamine

Cette façon de faire a pour but de préserver la qualité microbiologique de la viande ou masquer les germes déjà présents, afin de permettre aux animaux de survivre aux mauvaises conditions de vie, et d'éviter les pertes économiques ainsi de remédier aux impératifs engendrés par l'industrialisation de la filière avicole notamment et les contraintes engendrés par le surpeuplement (**Chaslus-Dancla, 2003**).

Finalement, il convient de signaler que l'utilisation intensive des antibiotiques, particulièrement en médecine vétérinaire, pose de sérieux problèmes que chaque utilisateur doit connaître.

Souvent faite sans antibiogramme préalable, l'antibiothérapie animale continue à constituer un risque pour la santé humaine ; ce risque peut être de deux ordres :

L'un dû à la contamination de l'homme par des bactéries zoonotiques résistantes à des antibiotiques utilisés en médecine humaine, et l'autre posé par les résidus persistants dans les denrées alimentaires de consommation (**Chaslus-Dancla, 2003**).

Le contrôle de ces résidus dans les denrées alimentaires est un processus complexe et coûteux, mais il est indispensable pour garantir la protection de la santé publique, le respect des règles qui régissent le commerce, et la production de matières premières de qualité pour l'industrie agroalimentaire.

Nous aurions souhaité de compléter notre travail par une étude quantitative, plus sensible pour déterminer les concentrations des résidus d'antibiotiques présent dans les viandes analysés, car les risques sont tributaires de ces teneurs.

Vu les résultats obtenus dans notre étude et les conséquences néfastes sur la santé humaine, il semblerait que cela suscite un certain nombre de recommandations qui s'adressent aux pouvoirs publics, aux vétérinaires, aux éleveurs et aux consommateurs.

Les pouvoirs publics doivent

- Exercer leur rôle régalien en réglementant la qualité et la sécurité sanitaire des denrées alimentaires d'origine animale en veillant à l'application des recommandations dans le cadre de l'harmonisation de la législation de la pharmacie vétérinaire.
- La mise en pratique des normes en matière de résidus par des structures qualifiées.
- Réglementer les conditions d'utilisation des antibiotiques comme en Europe où celle-ci n'est autorisée que sous certaines conditions pour les animaux destinés à la consommation.
- Mettre en place un programme national de contrôle permanent de la qualité des viandes locales et importées.

Les éleveurs doivent

- être sensibilisés sur les dangers que présentent les résidus d'antibiotiques.
- Respecter les délais d'attente prescrits et tenir des fiches d'abattage facilitant le contrôle.
- Respecter les règles de bonnes pratiques d'élevage.

Les vétérinaires, prescripteurs des médicaments

- Il convient d'imposer à leur direction une plus grande rigueur à la prescription des médicaments et en sensibilisant à la base les éleveurs sur les règles à respecter pour une utilisation raisonnée des antibiotiques.

Les consommateurs doivent être informés et refuser les pratiques susceptibles de nuire à leur santé.

Références

Bibliographiques

Référence Bibliographique

1. **Alain B. (2010)** quelle voie d'administration des antibiotiques choisir. École nationale vétérinaire de Toulouse.
2. **Allaoui N. (2011)**. Situation actuelle et perspectives de modernisation de la filière avicole en Algérie. Service des Sciences Avicoles, Département Vétérinaire, Université Hadj Lakhdar de Batna, Algérie, p.1.
3. **Alleyne G.A.O., Acha P.N. et Szyfres B. (2001)**. Zoonoses and communicable disease common man and animals.P.A.H.O. V.1.1225P.
4. **Andremont A. (2000)**. Impact des antibiotiques sur l'écologie de la résistance bactérienne : rôle du tube digestif. Méd Mal. Infect., 30 (3): 178-184.
5. **Babak S. (2018)**. Gestionnaire, Services vétérinaires de vaccins aviaires et additifs médicamenteux pour aliments, Les producteurs de poulet sont fiers d'élever du poulet qui inspire la confiance des Canadiens. P. 38.
6. **Bada-Alamedji 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. **Baquero F. et Garau J. (2010)**. Prudent use of antimicrobial agents: revisiting concepts and estimating perspectives in a global world. Enferm.infec. Microbiol.clín., p.487-488.
8. **Baeza E. et Brillard P. (2005)**. Effet d'une réversion du sexe sur le développement musculaire du poulet. Sixièmes journées de la recherche avicole. Saint Malo, du 30 au 31 Mars 2005, p.1.
9. **Bastiaens A., Deroanne C., Carletti G. et Zayan R. (1992)**. In Proc. 37th Int. Cong. MeatSci. Technol., Kulmbach, Vol. 1, p.37.
10. **Bonnet J. (2014)**. Utilisation raisonnée des antibiotiques en élevage porcin, démarche d'accompagnement dans sept élevages. Mémoire du doctorat vétérinaire, Faculté de médecine de Créteil, École nationale vétérinaire d'Alfort, p.10.
11. **Boukhalfa L. (2006)**. L'aviculture en Algérie. Journée sur la grippe aviaire. Batna. Algérie. Les 15 et 16 mars 2006.
12. **Broes A., Boutin R. et Delorme M. (1999)**. Utilisation des médicaments. Guide porc, comité production porcine, page 4-6.
13. **Bruhn. (2007)**. Rapport Suisse sur les zoonoses.2006. Magazine de l'O.V.F.3.P.27-29.

14. Brunel V., Jehl N., Drouet T.L., Portneau M.C. (2006). Viandes devolailles. Science et technique. Viande prod. Carnés. V.25.N°1.P18-22.
15. Catherine G. et Jacques B. (2005). Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutique. Ed. Éclips. P14-15.
16. Chalus D. (2003). Les antibiotiques en élevage. Etat des lieux et problèmes posés. INRA.
17. Chataigner B. et Stevens A. (2003). Investigation sur la présence de résidus d'antibiotiques dans les viandes commerciales à Dakar. Projet Pacepa, p.p.4-15.
18. Chougui N. (2015). Technologie et qualité des viandes, p.39.
19. 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.
20. Demoly P., Bousquet J., Godard P. et Michel B. (2000). Actualité des allergies médicamenteuses issues des antibiotiques et médicaments antirétroviraux. Bull. Acad. Nationale Méd., 184 (4) : p.761-774
21. Dorrestein G.M. et Van Miert A.S.J.P.A.M. (1998). Pharmacotherapeutic aspect of medication of birds, J.Vet.pharmacol. V.11. P33-34.
22. Djinni I. (2009). Etude taxonomique de souches d'actinomycètes halophiles modérées productrices de substances antimicrobiennes isolées dans la région de Béjaia. Mémoire De Magister en Microbiologie Appliquée, Université A. Mira de Bejaia : p.154.
23. Debut M., Berri C., Baéza E., Sellier N., Arnould C., Guémené D., Jehl N., Bouten B., Jégo Y., Beaumont C. et Bihan-Duval E., (2003). Variation of chicken technological meat quality in relation with genotype and stress pre-slaughter conditions. Poult. Sci., 82, 1829-1838.
24. 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.
25. Fabre J-M., Petit C. et Bosquet G. (2006). Comprendre et prévenir les risques de résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale, édition 2006, page 4.
26. Favier J.C., Ireland-Rippert J., Toque C. et Feinberg M. (1995). Répertoire général des aliments. Ed. TEC & DOC-INRA, Paris, France, p.270.
27. Feliachi K. (2003). Rapport national sur les recoures génétiques animales. Algérie. Commission nationale. P18-19.

- 28. Ferrah A. (2005).** Aide public et développement de l'élevage en Algérie. Contribution à une analyse d'impact (2000-2005). P7.
- 29. Fontaine M. et Cadore J.L. (1995).** Vade-mecum vétérinaire vigot. Ed.16.
- 30. 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, p 24-46.
- 31. Gaudin V., Fabre J.M. et 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. Laboratoire d'étude et de recherches sur les médicaments vétérinaires et les désinfectants. Laboratoire communautaire de référence. FOUGERES. France. P.86.
- 32. Gauthier E. (2006).** Les antibiotiques : l'envers du miracle, p 1.
- 33. Hakem A., Titouche Y., Houali K., Yabrir B., Malki O., Chenouf N., Yahiaoui S., Labiad M., Ghenim H., Kechih-Bounar S., Chirila F., Lapusan A. et Fit N.I. (2013).** Screening of Antibiotics Residues in Poultry Meat by Microbiological Methods. Bulletin UASVM, Veterinary Medicine, 70(1):77-82.
- 34. Herholz C. (2006).** Les principales maladies de la poule. Magazine de l'O.V.F. 22p.
- 35. Joe-Berry G. et Delbert W. (2008).** Bacterial diseases of poultry. Division of agricultural science and naturalre sources. Oktalahoma state university cooperative extension fast sheets (VTMD-9190). Consulter le (01-04-2012).
- 36. Kechih-Bounar S. (2011).** Standardisation de l'antibiogramme à l'échel national. Médecine humaine et vétérinaire. Ed.6.Document édité avec la collaboration de l'OMS. P-133-134-135.
- 37. Klotins K. (2006).** Utilisation des antibiotiques comme stimulateurs de croissance, controverse et solutions.
- 38. Larbier M. et Leclercq B. (1992).** Nutrition et alimentation des volailles. Ed. INRA, Paris, p335.
- 39. Laurentie M. et Sanders P. (2002).** Résidus de médicament vétérinaires et temps d'attente dans le lait. Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires. P197-201.
- 40. Lulful-Kabi S.M. (2010).** Aviancolibacillosis and salmonellosis a closer look at epidemiology, pathogenesis, diagnosis, control and public health concerns, international, journal of environmental research and public health Int. J. Environ. Res. Public Health 2010.V. 7.N° 89.P 90.

- 41. Mansouri N. (2007).** La recherche de résidus de substances antimicrobiennes dans les wilayas d'Annaba, Constantine, EL-Taref et Skikda.
- 42. Marie B.P. (2008).** Étude de l'influence du nettoyage et de la désinfection et des procédés d'abattage en abattoir de volaille sur le niveau de résistance aux antibiotiques des campylobacters. Thèse de doctorat. Université de Rennes (France). P76.
- 43. Marieclaire F. (2013).** Bien-être et santé, nutrition, Le poulet, une viande blanche riche en vitamines.
- 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. Milhaud G. (1978).** L'utilisation rationnelle des médicaments vétérinaires et le temps d'attente, page 177-185. Rec.Méd.Vét., 1978, 154 (2) ,177-185. École vétérinaire d'ALFORT (France).
- 46. Ouali A. (1991).** "Conséquences des traitements technologiques sur la qualité de la viande." INRA Productions animales 4(3): 195-208.
- 47. Pavlov AL., Lashev L., Vachin I. et Rusev V. (2008).** residus of antimicrobial DRUGSIN chicken meat and offal's. Trakia journal of science. Vol.6.Supp.1.P 23-25.
- 49. Pierre C. (2011).** les antibiotique en production animale : les facteur de croissance, Institut national de santé publique du Québec.
- 50. Puterflam J., Bouvaral I., Ragot O. et Drouet M. (2007).** Contamination des élevages de poulet de chair par campylobacter: quels moyens de maîtrise ? Septicémie. Journée de la recherche avicole 28 et 29 mars. Tours (France).
- 51. 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.
- 52. Randrionomenjanahary RN. (2006).** Investigation sur les résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origines aviaires commercialisées à Antananarivo (Madagascar) : cas du muscle et du foie, Thèse, Université Cheik Anta Diop de Dakar (UCAD).
- 53. Ranaivo JL. (2005).** Mise en place d'un protocole de détection des résidus à activité antibiotique dans les denrées alimentaires d'origine animale. Antananarivo : Mémoire DEA – Biochimie, p.76.
- 54. Rehal. (2008).** Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échel national selon les recommandations de l'OMS. Ed 4. P95.

- 55. Remignon H. et Culioli J. (1995).** In Proc. 12th Europ. Symp. Poult. Meat, Zaragoza, p. 145-150.
- 56. Rezgui A. (2009).** Analyse des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires en Tunisie : Les tétracyclines, les quinolones, et les sulfamides-Mémoire de Licence appliquée en Biotechnologie. Université de la Manouba, Institut supérieur de Biotechnologie de Sidi Thabet, p. 9-12.
- 57. Salifou C.F.A., Youssao A.K.I., Ahounou G.S., Tougan P.U., Farougou S., Mensah G.A. et Clinquart A. (2013).** Critères d'appréciation et facteurs de variation des caractéristiques de la carcasse et de qualité de la viande bovine. *Ann. Med. Vet.*, 157, 27-42.
- 58. Sauveur B. (1997).** Les critères et les facteurs. Ed. INRA Prod. Anim., 10(3): 1-8.
- 59. Selman-Waksman A. (2010).** La chimiothérapie antimicrobienne dans la microbiologie. Ed. 3. P8318-839.
- 60. 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.
- 61. Singh SB, et Barrett JF. (2006).** Empirical antibacterial drug discovery – foundation in natural products. *Biochem. Pharmacol.* 71: 1006-1015
- 62. 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^{er} Carrefour des technologies de la sécurité et de la traçabilité des aliments". (www.sisqa.org)
- 63. Solbi S. (2013).** Effet du repiquage de *Pseudomonas Aeruginosa* sur les caractères morphologiques, biochimiques et sensibilité aux antibiotiques, p.45
- 64. Stewart G.F. et Abbott J.C. (1962).** "Commercialisation des oeufs et de la volaille." Collection FAO. N°4. P1.
- 65. Stoltz R. (2008).** Les résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale : Evaluation et maîtrise de ce danger. thèse de doctorat. Université Claude Bernard-Lyon I (France).P.9.152.
- 66. Talbert M., Willoquet G. et Gervais R. (2009).** Pharmacologie clinique le guide. Ed. le moniteur, Paris, p.p. 654-665
- 67. Tesseraud S., Bouvarel I., Frayssé P., Métayer-Coustard S., Collin A., Lessire M. et Berri C. (2014).** Optimiser la composition corporelle et la qualité des viandes de volailles en modulant le métabolisme par les acides aminés alimentaires. *INRA Prod. Anim.*, 27, 337-346.

- 68. Thierry F. (2011).** Les antibiotiques et l'antibiogramme, Bactériologie-Hygiène, Faculté de Médecine.
- 69. Touraille C., Lassaut B. et Sauvageo L. (1981).** Viandes Prod. Carnés, 6 (2): 67-72.
- 70. Van-Alestine W.G. et Dyer D.C. (1995).** Antibioticaerosolization: tissue and plasma oxytetracycline concentration in tukey poults. Avian diseases. V.29.P430-436.
- 71. Van-DenBogaor A.E.(2001).** Humanhealth aspects of antibiotic use in foodanimals. Reviewtjdc hritvoordiergenees kund.V.126.N°18.P590-595.
- 72. Zeghilet N. (2009).** Optimisation des paramètres de détection et de quantification des résidus d'antibiotiques de la viande blanche par chromatographie liquide haute performance (HPLC). Thèse de magister en médecine vétérinaire. Constantine. Algérie. P3.

Annexes

Annexe I :**Milieux utilisés et Réactifs utilisés**➤ **Gélose Mueller Hinton (MH) :**

L'utilisation de cette gélose est recommandée par le Comité de l'Antibiogramme de la société Française de Microbiologie. C'est un milieu utilisé pour tester la sensibilité des bactéries aux antibiotiques.

Composition: en grammes par litre d'eau distillée

Infusion de viande de bœuf...300 mL
Peptone de caséine.....17,5
Amidon de maïs.....1,5
Agar.....17

➤ **Gélose Nutritif (GN) :**

Milieu gélosé non sélectif permet donc à toutes souches bactériennes de pouvoir pousser, à condition qu'elles soient non exigeantes.

Composition: en grammes par litre d'eau distillée

Extrait de levure.....2
Extrait de viande.....1
Peptone.....5
NaCl.....5
Agar.....15

➤ **Bouillon Nutritif (BN) :**

Milieu largement utilisé pour la culture des micro-organismes peu exigeants. Il est recommandé dans de nombreuses méthodes standardisation d'analyses des aliments.

➤ **Solution Ringer :**

C'est une solution physiologique Pour 1 litre composée de 2,250 g chlorure de sodium, de 0,105 g potassium , de 0,120 g calcium et de 0,050 g Hydrogénocarbonate de sodium.

➤ **Eau physiologique**

L'eau physiologique est un diluant isotonique utilisé pour les dilutions ou la réalisation de suspensions bactériennes.

Composition : Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée

Chlorure de sodium : 8,50

➤ Antibiotiques témoins :

1/ antibiotiques sous forme de disque à usage de laboratoire :

- Pénicilline G
- Ampicilline
- Amoxicilline
- Gentamycine
- Colistine Sulfate
- Erythromycine
- Oxacilline 1
- Streptomycine
- Céfazoline

2/ antibiotiques sous forme de médicaments à usage en médecine vétérinaire :

- Nifuroxazide
- Amoxiciline-acide clavulanique
- Pénicilline-trihydratée

1.2. Réactifs et Produits Chimiques :

- N-Butanol-Acide acétique-Eau (60 : 20 : 20 , v/v/v)
- Acétate d'éthyle-Méthanol (100:15, v/v)
- Ethanol-Ammoniaque-Eau (40:30:30, v/v/v)
- Acétonitrile-Eau (50:50, v/v)
- n-hexane
- Benzène
- Acétate d'éthyle
- n-butanol

Annexe II :
Illustrations photographiques



Figure 1. Extraction des antibiotiques par des solvants organiques

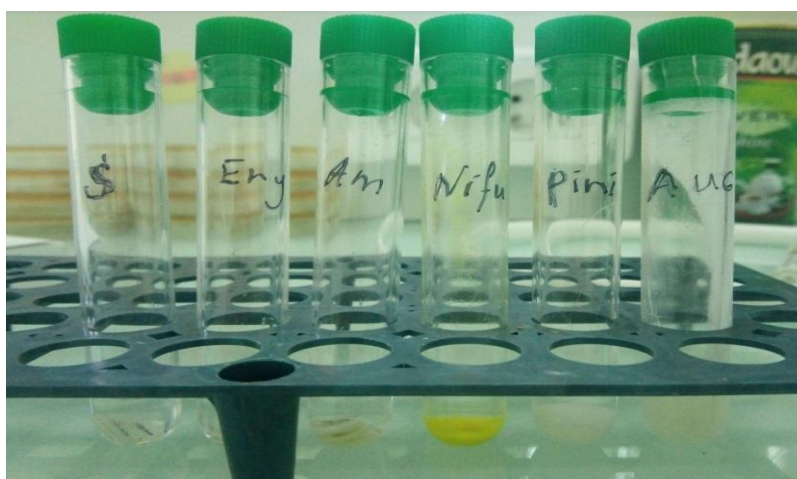


Figure 2. Préparation des antibiotiques témoins



Figure 3. Séparation par CCM

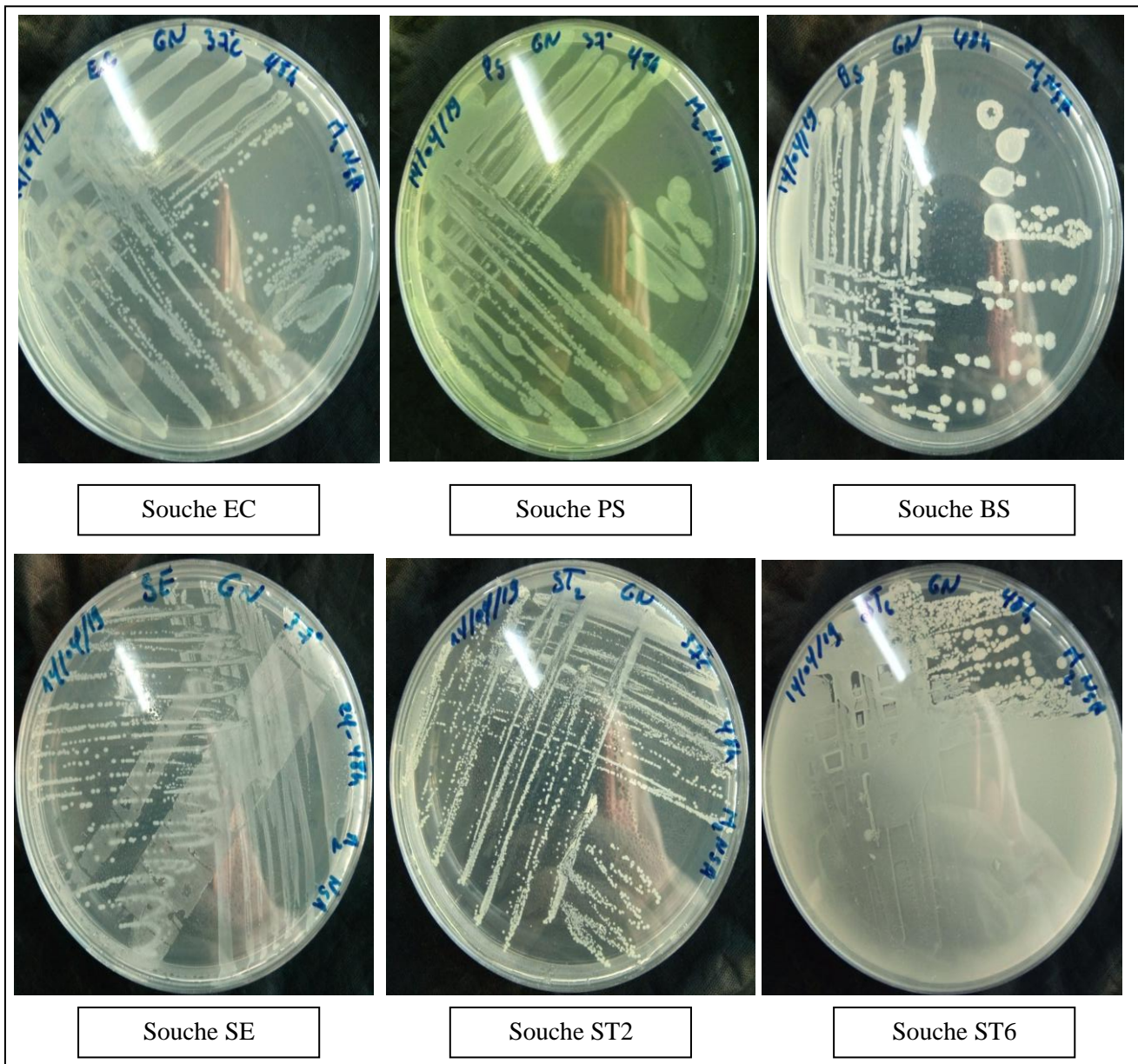


Figure 4. Aspect macroscopiques des colonies des souches de références utilisées

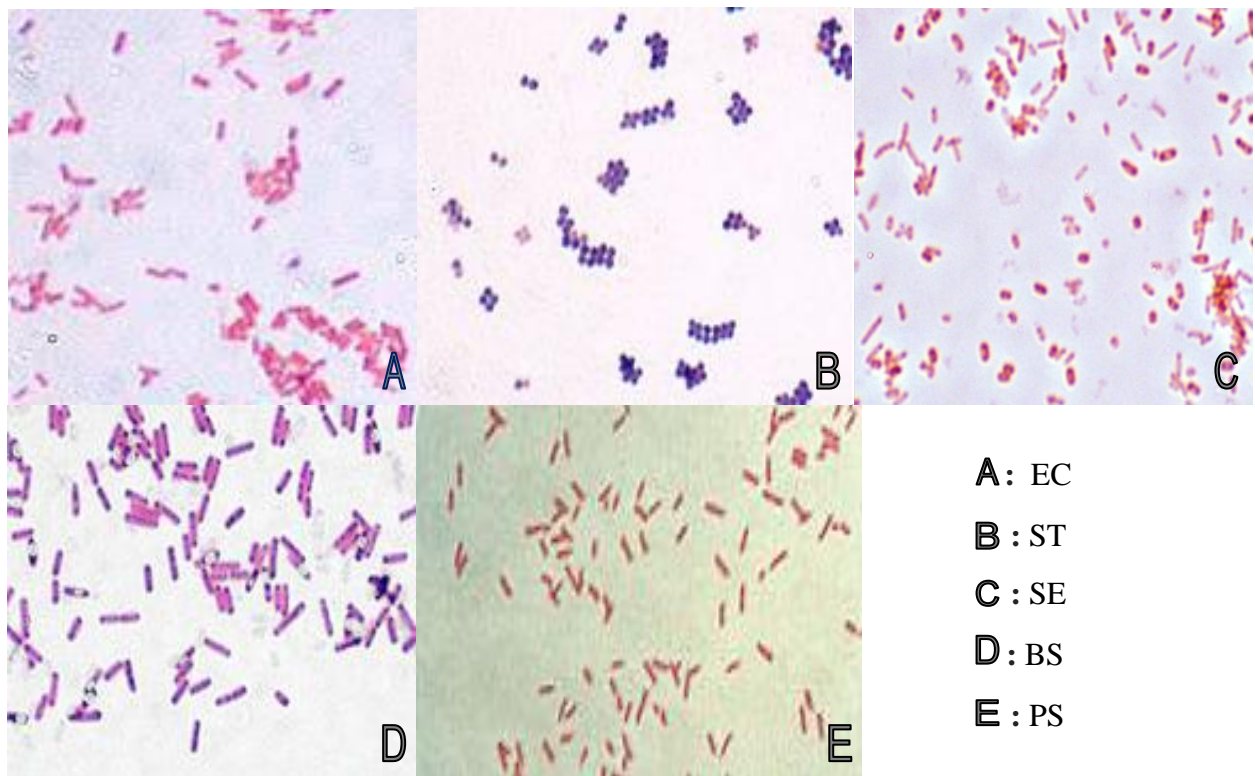


Figure 5. Aspect microscopiques des colonies des souches de références utilisées objectif *100

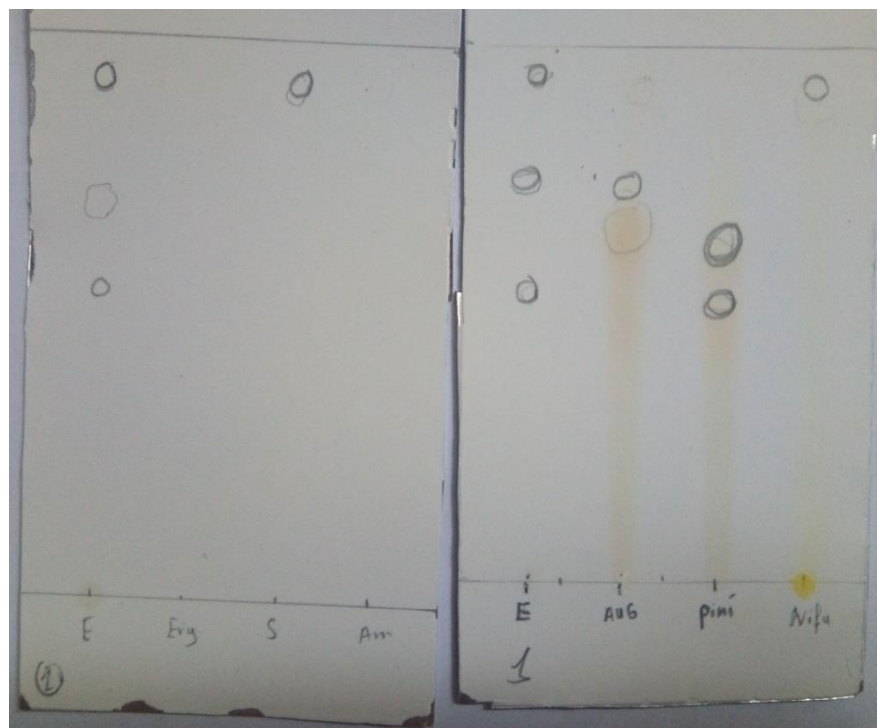


Figure 6. CCM par le système B.A.E.

Annexe III :

Valeurs données par le comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.

Souche Antibiotique	EC		ST2		ST6		BS		SE		PS	
	≤R	≥S	≤R	≥S	≤R	≥S	≤R	≥S	≤R	≥S	≤R	≥S
Pénicilline	R*	R*	28	29	28	29	28	29	R*	R*	R*	R*
Amoxicilline	13	18	19	20	19	20	14	21	13	18	13	18
Gentamycine	12	15	12	15	2	15	16	18	12	15	12	15
Oxacilline	R*	R*	10	13	11	13	20	20	R*	R*	R*	R*
Colistine	10	11	R*	R*	R*	R*	R*	R*	10	11	14	18
Streptomycine	13	15	13	15	13	15	R*	R*	13	15	13	15
Céfazoline	12	18	12	18	12	18	12	18	12	18	12	18

R* Résistant naturelle

« Détection des résidus d'antibiotiques dans la viande du poulet de chair dans la région de M'sila »

Résumé :

Dans cette étude, nous avons analysée vingt-sept prélèvements de poulet de chair de la région de M'sila. Dont neuf échantillons du cuisse, neuf du bréchet, et neuf du foie. Ces échantillons font l'objectif d'une détection des résidus d'antibiotiques par la méthode microbiologique d'inhibition.

Les résultats obtenues montre que 33% de ces échantillons ont été contaminées par les résidus d'antibiotiques et qui sont représenté totalement dans le foie.

L'analyse de l'extrait du foie par CCM à montré que ces molécules antibactériennes appartenant aux familles d'antibiotiques suivant : Béta-lactamines et Aminosides.

Mots clés : Antibiogrammes, CCM, Foie, Poulet de chair, Résidus d'antibiotiques

« الكشف عن بقايا المضادات الحيوية في لحم الدواجن في منطقة مسيلة »

ملخص:

في هذه الدراسة، قمنا بتحليل سبعة وعشرون عينة من اللحم الأبيض من نوع لحم الدواجن من منطقة مسيلة. من بينها تسع عينات من الفخذ، تسع عينات من عظم الترقوة وتسع عينات من الكبد. الغرض من هذه العينات هو الكشف عن بقايا المضادات الحيوية بواسطة طريقة التثبيط الميكروبيولوجية .

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها ان 33% من هذه العينات ملوثة ببقايا المضادات الحيوية وتتمثل تماما في الكبد. أظهر تحليل مستخلص الكبد بواسطة التحليل اللوني ان هذه الجزيئات المضادة للبكتيريا تنتمي إلى عائلات البقايا الحيوية التالية: بيتالاکتامين و امينوسيد

الكلمات المفتاحية: التحليل اللوني، الكبد، بقايا المضادات الحيوية، تحليل حساسية بكتيريا للمضادات الحيوية، لحم الدواجن

« Detection of antibiotic residues in poultry meat in the M'sila region »

Abstract :

In this study, we analyzed twenty-seven samples of poultry meat from the M'sila region. Including nine samples of the thigh, nine of the keel of broiler, nine of liver. These samples serve the purpose of detecting antibiotic residues by the microbiological method of inhibition.

The results obtained explain that 33 % of these samples were contaminated with antibiotic residues and are totally represented in the liver.

Analysis of the liver extract by thin-layer chromatography showed that these antibacterial molecules belonging to the following families of antibiotics: Beta-lactams and Aminoglycosids.

Key words: Antibiogram, Antibiotic residues, Broiler, Liver, Thin-layer chromatography