

*République Algérienne Démocratique et Populaire*

*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la  
Recherche Scientifique*

**UNIVERSITE DE JIJEL**



CQ 17/07

2  
29

**Faculté des Sciences  
Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire**

## **Mémoire**

**De Fin D'Etude En Vue de l'Obtention du Diplôme D'ingénieur d'Etat en  
Biologie**

**Option: Contrôle de Qualité et Analyses**

### **Thème**

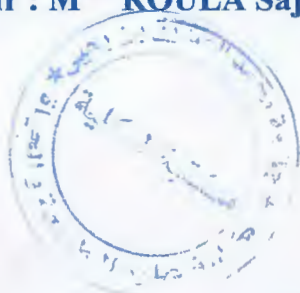
**Recherche de résidus d'antibiotiques  
dans certains denrées alimentaires**

**Membre du jury :**

- \* **Président : Dr BOUDJARDA Djamel**
- \* **Examinatrice: M<sup>me</sup> BENHAMADA Wahiba**
- \* **Encadreur : M<sup>me</sup> ROULA Sajja**

**Présenté par :**

- \* **BAZIA Mohammed Tahar**
- \* **BARGOUG Abdelhak**
- \* **MERADJI Sami**



**Promotion : juillet 2007**

Pour le Président:

تائب عميد كلية العلوم  
مكلف باليدأفوجية  
ع. تيلي



# Remerciement

*Nous tenons aujourd'hui à remercier Dieu tout puissant de nous avoir aidé et éclairé le chemin pour la réalisation de ce modeste mémoire,*

*Nous tenons à remercier tous ceux qui nous ont aidé de près ou de loin pour réaliser ce travail.*

*En particulier notre encadreur M<sup>me</sup> Roula Sajja qui nous a proposé ce sujet de recherche et qui nous a encadrée et soutenu par ses conseils et ses efforts et sa totale disponibilité durant la préparation de notre mémoire.*

*Nos remerciements s'adressent également au Mr Idoui Tayeb, Dr.*

*Lahouel Mesbah, Mr Boudjerda Djamel*

*M<sup>elle</sup> Asma cherbel, Mr Djeddar, M<sup>me</sup> Kitouni, Dr.vétérinaire*

*Benchemmem Kamel, Mr Laib, M<sup>elle</sup> Sonia,*

*Et, qui nous ont aidé durant la préparation de ce travail.*

*Nos remerciements vont aux membres du jury pour nous avoir honoré en acceptant de juger notre travail*

*Nous voudrions aussi remercier tous les enseignants du département de biologie de l'université de Jijel qui nous ont transmis leurs savoir durant nos années d'étude.*

*Sami*

*Mohammed*

*Abdelhak*

# Dédicace

*Je dédie ce modeste travail :*

*A l'homme le plus tendu au monde, a l'homme le plus  
Dose sur terre ; à l'homme qui exprime la gentillesse*

*En personne a toi mon père.*

*Les yeux et la lumière de ma vie, la plus humaine des humaines, qui a  
Toujours souhaité de me voir sur le bon chemin.*

*A ma douce mère.*

*A l'homme le plus patient dans le monde A mon grand-père.*

*A mon sourire et la plus perle de mes yeux ma grand-mère.*

*A mes frère : **Lamine** le plus gentil des frères, source de ma force,  
**Azzeddine, Mohammed, Rezki**, que dieu les gardes.*

*Mes chères sœurs : **Houda, Ibtissem, Loubna, Widad, Assia** et sans  
oublier ma nièce **Lamisse**.*

*A mes plus beaux et chère amis (ies),*

*A toute la promotion 2007 des ingénieurs de contrôle de qualité et  
analyses.*

*A tous mes collègues et surtout **Bazia M, Bergoug A, Ahmia A, et  
Baziniar M.***

*A tous ceux qui me sent chers (es), et qui m'ont  
Aide du près ou de loin,*

*Et qui ont une place dans mon cœur.*

*Sami*

# DEDICACE

*Je tien à remercier Dieu, avant tout, de m'avoir donné la force et la volonté pour continuer mes études et de réaliser ce modeste travail.*

*Je dédié ce mémoire  
A ma grande famille BAZIA, surtout à ma force morale ma mère*

*A tous les enseignants qui ont participé à ma formation, et particulièrement idoui tayeb*

*A tous mes collègues de ma démarche éducative, surtout Bargoug.A, Meradji.s, Ahmia.A, Aazeniare.L*

*A tous que j'ai connu, parlé, ou même vu dans la faculté des sciences*

*Dieu nous rassemble dans ces Paradies.. amène*

**BAZIA MOHAMMED TAHAR**  
*Was here*

# DEDICACE

*Au nom de DIEU je commence.*

*Je dédie ce petit travail :*

*A ma famille et surtout ma mère et mon père, mes frères : "Radouane, Anis", mes sœurs : "Nassima, Moufida, Dr. Ilhem" et les fleures de la famille : "Chilia, Gina" et ma force "Adam".*

*A mes grandes mères : "Sarhouda, Hafsia".*

*A tous les amies de l'université de Jijel, a tous les membres de l'Alliance pour Renouveau Estudiantine National et surtout : "Samir, Hichem, Hamza, Djamel et Siham".*

*A tous mes amies et en particulier : "Saleh, Sliman, Abdessamei, Mohamed".*

*A mes collègues: "MERADJI. S, BAZIA. Med T, BAZENIARE. L, AHMIA A".*

*A tous les étudiants de 5<sup>eme</sup> années Contrôle de Qualité et Analyses de la promotion 2007.*

**BARGOUG Abdelhak**

# Sommaire

Introduction.....	1
-------------------	---

## Première partie : synthèse bibliographique

### Chapitre I : Elevage et maladies

I-1 Elevage des volailles .....	2
I-1-1 Traçabilité .....	2
I-1-2 Les causes interfèrent la qualité .....	2
I-1-3 Les maladies aviaires d'origine bactériennes les plus répandues en Algérie .....	3
a) Les pasteurelloses (le cholera aviaire).....	3
b) Les colibacilloses respiratoire .....	3
c) Les salmonelloses .....	4
d) Tuberculose aviaire .....	4
e) Les mycoplasmes .....	4
I-2 Elevage des bovins .....	4
I-2-1 Pathologie et rentabilité .....	4
I-2-1 Les maladies bovines d'origine bactérienne en Algérie .....	5
a) Les mammites .....	5
b) Paratuberculose .....	5
c) Pasteurellose bovine .....	5
d) Salmonellose bovine .....	6
I-2-3 Différents stratégies de lutte .....	6

### Chapitre II : les antibiotiques

II-1 Définition .....	8
II-2 propriétés requises pour un antibiotique.....	8
II-3 Classification des antibiotiques.....	8
II-3-1 Les $\beta$ -lactamines .....	8
II-3-2 Les aminosides .....	9
II-3-3 Les phénicolos .....	9
II-3-4 Les cyclines .....	10
II-3-5 Les macrolides et apparentés .....	10
II-3-6 Les sulfamides .....	10
II-3-7 Les quinolones .....	10
II-4 Principes de l'activité antibactérienne .....	11
II-4-1 Par inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne .....	11
II-4-2 Par changement de la fonction membranaire .....	11
II-4-3 Par inhibition de la synthèse protéique .....	11
II-4-4 Par inhibition des acides nucléiques .....	12
II-4-5 Par inhibition des acides foliques .....	12
II-5 Utilité des associations d'antibiotiques .....	12
II-6 Mécanismes des résistances aux antibiotiques .....	13

II-6-1 La résistance naturelle .....	13
II-6-2 La résistance acquise .....	13
II-6-2-1 Résistance aux $\beta$ -lactamines .....	13
a) Résistance enzymatique : Les $\beta$ -lactamines .....	13
b) Les résistances non enzymatiques .....	14
II-6-2-2 Résistance aux aminosides .....	14
II-6-2-3 Résistance aux phénicolés .....	14
II-6-2-4 Résistance aux cyclines .....	14
II-6-2-5 Résistance aux macrolides et apparentés.....	15
➤ Résistance naturelle .....	15
➤ Résistance acquise .....	15
II-6-2-6 Résistance aux sulfamides .....	15
II-6-2-7 Résistance aux quinolones .....	15
➤ La modification de la cible .....	15
➤ La diminution de la perméabilité .....	15
II-7 Utilisation des antibiotiques en élevage .....	16
a) Utilisation de but curatif et préventif .....	16
b) Utilisation en tant que facteur de croissance .....	16

### Chapitre III :

#### Les résidus dans les aliments ; le risque pour le consommateur

III-1 Résidus de médicaments vétérinaires .....	17
III-2 Facteurs de persistance .....	17
III-3 Les risques présentés par les résidus.....	17
a) Les réactions allergiques .....	18
b) La foetotoxicité .....	18
c) Les autres effets dus à la présence de résidus .....	18

### Chapitre IV : Méthodes de Dosage des antibiotiques

IV-1 Méthodes microbiologiques .....	20
IV-1-1 Méthodes en milieux liquides .....	20
IV-1-2 Méthodes par diffusion en gélose .....	20
➤ Changements morphologiques .....	20
➤ Méthodes des cultures .....	21
IV-2 Méthodes électrophorétique .....	21
IV-3 Méthodes physico-chimiques .....	21
IV-3-1 Dosages radio enzymatiques .....	21
IV-3-2 Dosages radio immunologique .....	21
IV-3-3 Dosages immuno-enzymatique .....	22
IV-3-4 Dosages par fluorimétrie .....	22
IV-3-5 Dosages par bioluminescence .....	22
IV-3-6 Spectrophotométrie .....	22
IV-3-7 Techniques chromatographiques .....	22
➤ Chromatographie sur couche mince (CCM) .....	22
➤ Chromatographie en phase gazeuse .....	23



> Chromatographie liquide haute performance (HPLC) .....	23
IV-3-8 Autres Techniques .....	23

## Deuxième partie:étude expérimentale

II Matériel et méthodes .....	24
II-1 Matériel .....	24
II-1-1 Matériel biologique .....	24
II-1-2 Les milieux de cultures .....	24
II-1-3 Produits chimiques .....	25
II-1-4 Autre matériels .....	25
II-2 Méthodes .....	26
II-2-1 Repiquage et purification des cultures sur gélose .....	26
II-2-2 Détection des résidus d'antibiotiques par méthode microbiologique .....	26
II-2-3 Détection des résidus d'antibiotiques par CCM .....	28
II-2-3-1 Echantillonnage .....	28
II-2-3-2 Extraction des résidus d'antibiotiques .....	28
II-2-3-3 Préparation des plaques de silice .....	28
II-2-3-4 Préparation des étalons .....	28
II-2-3-5 Le dépôt, l'éluion (la migration), et la détection.....	28

## Troisième partie : résultats et discussion

III-1 Résultats .....	29
III-1-1 Détermination de la pureté des souches .....	29
III-1-2 Recherche des résidus par méthode microbiologique .....	29
III-1-3 Recherche des résidus d'antibiotiques par CCM .....	32
III-2 discussion .....	36
Conclusion.....	40

### Références bibliographiques

### Annexe

## ***Liste des abréviations***

GN : la gélose nutritive  
BCP: gélose lactosé au pourpre de bromocrésol  
St: *Staphylococcus*  
E.: *Escherichia*  
Kl: *Klebsiella*  
Ps: *Pseudomonas*  
T: témoin  
°C: degree Celsius  
g: gramme  
µg: microgramme  
ml: millilitre  
µl: microlitre  
mm: millimètre  
cm : centimètre  
% : pourcent  
(+) : Positif  
(-) : Négatif  
h : heure  
CCM : chromatographie sur couche mince  
CPG : Chromatographie en phase gazeuse  
HPLC : Chromatographie liquide haute performance  
CE : Comité Européen  
CMI : Concentration minimale inhibitrice  
LMR : limite maximale des résidus  
P.B.P : pénicillines Binding proteins  
PABP : l'acide phospho-aminobenzoïque  
ADN : acide désoxyribonucléique  
AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments  
EMIT : Enzyme Multiplied, immunoAssay Technique  
ATP : adénosine triphosphate  
ADP : adénosine diphosphate  
UV : ultra violet  
mA : milliampère  
Rf : rapport frontal  
A : abats  
L : lait  
T : témoin  
P : poule  
V : viande  
tyl : tylosine  
enro : enrofloxacin  
col : colistine  
dox : doxycycline  
Ex : échantillon n°x (x=1,2,...6)  
d : distance parcourue par l'échantillon  
D : distance parcourue par le solvant  
FAO : Food and Agriculture Organization of the United Nations  
ISO : organisation internationale de normalisation

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 1 : résultats de la 1<sup>ère</sup> CCM des abats.....</b>	<b>32</b>
<b>Tableau 2 : résultats de la 1<sup>ère</sup> CCM des viandes.....</b>	<b>32</b>
<b>Tableau 3 : résultats de la 1<sup>ère</sup> CCM des poules.....</b>	<b>33</b>
<b>Tableau 4 : résultats de la 1<sup>ère</sup> CCM de tylosine.....</b>	<b>33</b>
<b>Tableau 5 : résultats de la 1<sup>ère</sup> CCM de enrofloxacin.....</b>	<b>33</b>
<b>Tableau 6 : résultats de la 1<sup>ère</sup> CCM de doxycycline.....</b>	<b>33</b>
<b>Tableau 7 : résultats de la 1<sup>ère</sup> CCM du témoin.....</b>	<b>34</b>
<b>Tableau 8 : résultats de la 2<sup>ème</sup> CCM.....</b>	<b>35</b>

## ***Liste des figures***

<b>Figure 1 : détection des résidus d'antibiotiques par antibiogramme.....</b>	<b>2</b>
<b>Figure 2 : recherche des résidus d'antibiotiques dans la viande et le poule Avec <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....</b>	<b>29</b>
<b>Figure 3 : recherche des résidus d'antibiotiques dans la viande et le poule Avec <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300.....</b>	<b>30</b>
<b>Figure 4 : recherche des résidus d'antibiotiques dans la viande et le poule Avec <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.....</b>	<b>30</b>
<b>Figure 5 : recherche des résidus d'antibiotiques dans la viande et le poule Avec <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603.....</b>	<b>31</b>
<b>Figure 6 : résultats de la première CCM.....</b>	<b>34</b>
<b>Figure 7 : résultats de la deuxième CCM.....</b>	<b>35</b>
<b>Figure 8 : Screening (ou dépistage) Test rénal : inhibition du développement de souches bactériennes (<i>Bacillus subtilis</i>) (WIM ReybroeckCLO-DLO 2005).....</b>	<b>37</b>
<b>Figure 9 : recherche des résidus d'antibiotiques dans la viande avec <i>Bacillus stearothermophilus</i> (BERTHE, MOISON, CARRIE, 2006).....</b>	<b>37</b>

# **Introduction**

## **Introduction**

Dans les élevages, les antibiotiques ont tout d'abord un rôle de médicaments thérapeutiques mais certains sont également utilisés comme additifs alimentaires zootechniques. A partir des années 60, l'industrie agro-alimentaire s'est mise à utiliser régulièrement des antibiotiques dans l'alimentation animale comme facteur de croissance pour accroître sa productivité. (LOUISOT et BORIES, 1998).

La réglementation limite déjà le nombre d'antibiotiques utilisables comme additifs avec une liste positive qui ne présente pas de risques pour l'animal et l'homme de par leur mode d'action et leur non utilisation en thérapeutique. (RÈGLEMENT (CE) No 1831/2003 DU PARLEMENT EUROPÉEN).

Actuellement, les industries laitières et de charcuteries veillent à l'amélioration de la qualité de leurs produits, en donnant plus d'importance à la qualité de leurs matières premières, le lait et la viande. Toutefois elles veillent sur la qualité sanitaire, outre celle organoleptique afin de satisfaire la clientèle. (ROYER, GOURMELEN, ET RUGRAFF, 2001).

Le principal problème lié à ces antibiotiques utilisés actuellement est celui de leurs intérêts bénéfiques dans l'élevage et les effets néfastes sur la santé humaine qui peuvent être issus de la présence de leurs résidus dans les aliments. C'est dans cette optique que nous sommes proposés d'investir nos connaissances.

Notre présent travail se compose de deux parties : la première bibliographique.

La seconde partie sera réservée pour l'application de deux méthodes, l'une microbiologique, et l'autre chromatographique dans le but de détecter la présence des résidus d'antibiotiques dans nos échantillons à savoir : la viande, poule, abats, et le lait

**1<sup>ère</sup> partie**

**Synthèse bibliographique**

# **Chapitre I**

## **Elevage et maladies**



## **I-1. Elevage des volailles.**

L'Algérie est aujourd'hui, un des grands pays consommateurs de volailles au monde. On entend sous le vocable volailles : les poules, les coqs, poulets, les dindes, les oies et les canards. (TRIKI, 1996).

Selon la FAO, le niveau énergétique de la viande des volailles est relativement satisfaisant, il semblait que 96% des besoins seraient couvertes, ce qui justifie l'augmentation constante de la consommation de celle-ci.

Les perspectives de consommation de volaille sont très encourageantes, surtout pour le poulet grâce à sa bonne qualité nutritive, et sa haute valeur biologique, notamment sa teneur en acides aminés indispensables tel que la lysine, le tryptophane et l'acide linoléique. (SILIM, 1992).

### **I-1-1. Traçabilité.**

La filière d'un produit peut se définir comme la somme de toutes les opérations de production et de commercialisation qui ont été nécessaires pour passer d'une ou plusieurs matières premières de base à un produit parvenu au stade final.

Ainsi les filières avicoles intéressent toutes ces étapes, de l'accoupage aux denrées offertes aux consommateurs qui attendent des produits de « qualité ». (Salmi, 1996).

L'assurance de la qualité d'un produit s'intègre dans la notion de filière en basant sur les relations de confiance entre un client et son fournisseur dans l'aptitude du second à maîtriser ses produits selon les exigences du premier. (NORME ISO 9002).

### **I-1-2. Les causes interfèrent la qualité.**

Les volailles sont élevées en bandes peu nombreuses et multiples. Les pathologies respiratoires et parasitaires dominent, car les oiseaux vivent beaucoup en parcs extérieurs et les fautes d'élevage sont nombreuses. (DIDIER, 2001).

L'hygiène en élevage et la maîtrise des maladies ne sont que des maillons de la gestion générale d'une chaîne de production. En aviculture, les maladies résultent essentiellement d'agresseurs provenant de l'environnement et sont toujours la conséquence d'erreurs zootechniques :

- Les microbes : virus, bactéries, mycoplasmes et certains champignons microscopiques.
- Les parasites : vers ronds, vers plats, champignons et autres parasites microscopiques (coccidies, flagelles).
- Les stress divers :
  - sociaux : relations dominant-dominé, pecking-order.
  - physiques : poussières, températures, hygrométrie, ventilation.

- chimiques : gaz lourds issus du métabolisme des animaux et de la décomposition des déjections (ammoniac, dioxyde de carbone).

- extérieurs : prédateurs, commensaux, actions intempestives des éleveurs, technicien, vétérinaires,

- l'alimentation solide ou liquide :

- aliment : l'appétence, granulation, adaptations a la physiologies des oiseaux.

- abreuvement : qualité physique, chimique et bactériologique de l'eau.

(DIDIER ,2001).

### **I-1-3. Les maladies aviaires d'origine bactériennes les plus répandues en Algérie.**

Les maladies bactériennes sont liées au pouvoir pathogène des bactéries qui provoquent des perturbations de l'équilibre physiologique d'un organisme.

#### **a. Les pasteurelloses (le cholera aviaire).**

Le choléra aviaire ou pasteurellose est une maladie infectieuse, virulente, inoculable, contagieuse, d'évolution suraiguë, le plus souvent aigue, parfois chronique et susceptible d'affecter toutes les espèces d'oiseaux sauvages ou domestiques.

Elle est due à une bactérie à Gram négatif, qui se présente sous la forme de coccobacilles ovoïdes.

Le genre *pasteurella* est aujourd'hui classe dans la famille des *pasteurellacea* avec les *Actinobacillus* et les *Haemophilus*. Il contient de nombreuses espèces : *pasteurella mutlocida*, *P.haeolytica*, *P.gallinarum*, ...etc.

*Pasteurella mutlocida* est un germe pathogène majeur en aviculture. Le passage de la bactérie dans l'organisme se fait au travers des muqueuses. Le germe pénètre essentiellement par voie respiratoire, les voies orales, conjonctivales, et cutanées lors de blessures sont possibles. Les matières virulentes sont les sécrétions buccales, nasales, conjonctivales. Lors de la multiplication septicémique des pasteurelles, il y a production d'une grande quantité de hyaluronidase (enzyme lysant le tissu conjonctif).

(SCHERCHER, 1992).

#### **b. Les colibacilloses respiratoires.**

C'est une infection due à *Escherichia coli*. Ces formes sont surtout rencontrées sur de grandes bandes de jeunes oiseaux très concentrées.

Le colibacille est souvent un germe de surinfection d'un mycoplasme ou d'une virose, il est parfois l'agent étiologique primaire après de lourdes fautes d'élevage. La maladie s'observe à tout age avec une fréquence supérieure entre 6 et 10 semaines et des particularités spécifiques. (YAMANI, 1996).

### **c. Les salmonelloses.**

Maladies infectieuses, contagieuses, transmissibles à l'homme dues à la multiplication dans l'organisme des oiseaux d'un genre salmonella. On sait aujourd'hui que toutes les salmonelles sont pathogènes, et que la gravité de l'affection provoquée est fonction de la bactérie ingérées. (GORDON, 1979).

La présence de salmonelle dans l'environnement du bâtiment joue un rôle capital dans la propagation et la transmission de l'affection. De petites doses quotidiennes répétées de bactérie sont suffisantes pour provoquer et entretenir l'infection. La sensibilité des oiseaux aux salmonelles est corrélée aux degrés des stress d'élevage et à l'agressivité de la souche bactérienne. (YAMANI, 2006).

### **d. Tuberculose aviaire.**

C'est une maladie encore fréquente chez les volailles fermiers ou en élevage. Une infection par *Mycobacterium avium* et touche toutes les espèces d'oiseaux ou domestiques de façon chronique.

La très grande résistance de *Mycobacterium avium* dans le milieu extérieur fait qu'il est très difficile de se débarrasser de la tuberculose aviaire dans une exploitation. (DIDIER, 2001).

### **e. Les mycoplasmes.**

Les mycoplasmes aviaires sont cosmopolites. Leurs importances économiques tiennent aux manques à gagner du poids qu'elles provoquent dans les troupeaux infectés et aux surcoûts prophylactiques. (KEMPF., 1992).

Les mycoplasmes sont des procaryotes délimités par une simple membrane cytoplasmique. Ils sont donc sensibles à tous les désinfectants usuels mais insensibles aux antibiotiques altérant la paroi ou sa synthèse comme les bêtalactamines qui inhibent la synthèse du peptidoglycane. (KEMPF., 1992).

## **I-2. Elevage des bovins.**

La vache est depuis des millénaires, à la base de la subsistance de populations nombreuses à travers le monde, sous pratiquement toutes les latitudes, surtout du fait de sa faculté de s'accommoder à des conditions d'entretien variées. En raison de contexte économique de la production bovine, de la bonne résistance au froid et de la nécessité de valoriser les pâturages. Les bovines sont souvent à l'extérieur ou hébergés dans des bâtiments anciens. (SERIEYS, 2000).

### **I-2-1. Pathologie et rentabilité.**

De nombreux facteurs, agissant seuls ou en synergie, peuvent intervenir dans l'environnement des vaches pour favoriser l'apparition d'une affection ou provoque une diminution des productions à savoir ; la température ambiante, hygrométrie, vitesse de l'air, qualité de l'air, la lumière, sol et fumier, qualité de l'eau.

La pathologie a une action négative sur tous les paramètres qui déterminent la rentabilité. En effet, un mauvais état sanitaire entraine à la fois :

- une augmentation des charges par vache, liée notamment aux coûts des traitements.

- une diminution, de la production par vache qui est systématique, même si elle est plus ou moins marquée selon la nature de la pathologie, le moment où elle se déclare et son degré de gravité.

- une diminution du prix de la viande et de lait, notamment dans le cas des infections mammaires à l'origine de concentration cellulaires élevées dans le lait, et de diverses maladies métabolique qui réduisent les taux de matières utile. (SERIEYS, 2000).

## **I-2-1. Les maladies bovines d'origine bactérienne en Algérie.**

### **a. Les mammites.**

Les mammites sont des inflammations de la glande mammaire d'origine infectieuse. Elles sont provoquées par des microorganismes qui pénètrent dans le quartier en franchissant le canal du trayon, se multiplient dans le lait, colonisent la glande mammaire et produisent souvent des toxines qui l'irritent. Cette agression microbienne déclenche une réaction inflammatoire de défense, initiée par les macrophages et amplifiée par les lymphocytes présents dans le lait. Cette réaction inflammatoire est caractérisée par la sécrétion locale de substances immunomodulatrices (cytokines) et par l'augmentation de la perméabilité de l'épithélium des alvéoles, préalable à l'afflux dans le lait de cellules phagocytaires, les leucocytes polynucléaires neutrophiles, et de diverses substances effectrices ou facilitatrices de l'immunité (immunoglobulines, complément,...) en provenance de la circulation sanguine. (FONTAINE et CADORE, 1995).

### **b. Paratuberculose.**

Appelée aussi entérite paratuberculose, entérite chronique hypertrophiante maladie de Johne.

Maladie infectieuse chronique des bovines et des petits ruminants, contagieuse, due à un bacille acido- alcoolo-résistant : *Mycobacterium paratuberculose* ou bacille de Johne. Elle se manifeste par une diarrhée d'abord intermittente, apyrétique, séreuse, qui devient permanente en quelques semaines à quelques mois, s'accompagnant d'un amaigrissement intense évoluant vers la mort. (BERNARD, 2000).

### **c. Pasteurellose bovine.**

Maladie respiratoire aiguë due à *Pasteurella multocida* ou *Pasteurella haemolytica* évoluant généralement sur un mode enzootique. Elle se traduit par un syndrome fébrile associé à une bronchopneumonie parfois compliquée de pleurésie. Rarement primitive, elle se déclare à la suite d'un stress général (transport, ballottage : c'est la « fièvre de transport ») ou local (refroidissement, atmosphère chargée en ammoniac,...).

Ces bactéries peuvent aussi être à l'origine d'otites, d'arthrites, de méningo-encéphalites, d'avortement. La forme septicémique qui prédomine en climat tropical est encore dénommée septicémie hémorragique. (BERNARD, 2000).

#### **d. Salmonellose bovine.**

Maladie infectieuse due à différents sérovars de *Salmonella*, parmi lesquels prédomine *Salmonella typhimurium*, *Salmonella dublin*, autrefois important, tend à disparaître au profit d'autres sérovars, très divers selon les régions. La Salmonellose se traduit par des formes entériques chez les bovins de tous âges, la diarrhée séreuse, nécrotique ou hémorragique s'accompagnant de fièvre. L'évolution peut être fatale en quelques heures sur les animaux très sensibles (jeunes vaches à la mise bas...). Elle provoque aussi des avortements, des bronchopneumonies, des arthrites, des méningites... les lésions d'entérite et de pneumonie s'accompagnent d'une polyadénite. Les sujets convalescents restent porteurs et continuent de disperser les Salmonelles dans l'environnement. (FONTAINE et CADORE, 1995).

Les maladies résultent de l'interaction entre tous les agresseurs externes, l'individu et le troupeau. Plus les concentrations en volailles ou bovins augmentent, plus les risques de maladies s'amplifient, par la promiscuité, les stress divers et la concentration en éléments contagieux. Les espèces aviaires et bovines de rente (production du lait) ne peuvent vivre, se développer que par des apports humains indispensables (bâtiments, aliments, chaleur, protection...). Un élevage est toujours en équilibre instable par rapport à l'environnement. L'éleveur doit maintenir cet équilibre artificiel par son savoir-faire étayé, par des conseils. (DIDIER, 2001).

#### **I-2-3. Différents stratégies de lutte.**

Pour de multiples raisons, il est apparu utile et, dans certains cas indispensable, de contrôler le développement des microorganismes. La première est que certaines bactéries sont hautement pathogènes pour l'homme ou l'animal et qu'il fallait tout naturellement se protéger de leurs effets néfastes.

Il existe différents techniques tel que :

- Utilisation d'agents physiques à savoir la chaleur, radiation, élimination mécanique.
- Utilisation d'agents chimiques comme l'eau oxygénée, chlore et dérivés, iode, alcools...

Ces méthodes sont capables d'assurer la destruction des microorganismes et, de ce fait, d'empêcher la transmission des maladies infectieuses. Malheureusement, l'activité des antibactériens chimique s'exerce sans discernement à l'encontre des microorganismes pathogènes et autres cellules. Ils ne peuvent donc pas servir au traitement des infections, sinon, en application locales.

Cette raison donne l'avantage pour la technique d'utilisation des antibiotiques, qui sont des agents antimicrobiens non ou relativement peu toxiques pour l'organisme, de sorte que l'on peut, au moins pour la plupart d'entre eux, les administrer par voie générale, condition nécessaire au traitement de la majorité des infections. (DUVAL, 1990).

## **Chapitre II**

### **Les antibiotiques**

## **II-1. Définition.**

Toute substance chimique produite par un microorganisme, champignon ou bactérie pouvant inhiber la croissance ou détruire d'autres microorganismes. Cette définition est aujourd'hui trop restrictive et doit être obtenus par synthèse ou par hémisynthèse. Un antibiotique est donc actuellement défini comme une substance, d'origine biologique ou synthétique, agissant spécifiquement sur une étape essentielle du métabolisme des bactéries. (LECLERC, 1995).

## **II-2. Propriétés requises pour un antibiotique.**

Il doit avoir les propriétés « idéales » suivantes :

- L'agent doit avoir une activité anti-microbienne sélective et efficace sur l'agent pathogène, il doit être bactéricide plutôt que bactériostatique.
- Les bactéries ne doivent pas développer de résistance à son action.
- Son efficacité antibactérienne ne doit pas être diminuée par les liquides physiologiques de l'organisme, les exsudats, les protéines plasmiques, les enzymes tissulaires.
- Les concentrations plasmiques en antibiotique et par conséquent, les concentrations liquides céphalo-rachidien, des humeurs ainsi que tissulaires doivent présenter un niveau maximal très rapidement. Et le « Pic » de concentrations doit se maintenir pendant un temps relativement important. (HELALI, 2005).

## **II-3. Classification des antibiotiques.**

Il existe de nombreuses classifications en ce qui concerne les antibiotiques, elles sont fondées sur la formule chimique, le site d'action, l'origine, le mode d'administration, la répartition dans l'organisme....

L'usage dans le milieu médical a fait ressortir sept familles d'antibiotiques fondées sur des analogies structurales. (DUVAL, 1990).

### **II-3-1. Les $\beta$ -lactamines.**

Les  $\beta$ -lactamines forment un groupe homogène sur le plan biochimique puisqu'elles sont caractérisées chimiquement par un cycle  $\beta$ -Lactame.

Cette famille d'antibiotiques reste encore de nos jours la plus fréquemment prescrite en pathologie humaine ; de plus, elle ne cesse de s'entendre à de nouvelles molécules aux propriétés toujours améliorées.

Les recherches ultérieures permettent de classer les  $\beta$ -lactamines en deux groupes principaux selon la structure du cycle : les pénicillines et les céphalosporines. (ABRAHAM, 1981).

a) Les pénicillines ont en commun un noyau constituée par l'accolement de deux cycles : un cycle  $\beta$ -lactame et un cycle thiazolidine.

C'est par leur radical R que les pénicillines se différencient.



La pénicilline G présente plusieurs limites. Son spectre d'action est assez étroit. Elle est en principe active sur les coques Gram (+) et Gram (-), ainsi que sur les bacilles Gram (+), mais son activité sur les bacilles Gram (-) se limite à quelques germes particuliers tel que *haemophilus* ou *moraxella*.

En outre, la pénicilline présente l'inconvénient de ne pas supporter l'acidité de l'estomac. Elle est donc inactive par voie orale, ce qui rend son utilisation peu pratique puisqu'elle nécessite une injection intramusculaire ou intraveineuse. (FONTAINE et CADORE, 1995).

b) Les céphalosporines sont des produits hémisynthétiques dérivés de la céphalosporine C, antibiotique naturel isolé d'un champignon filamenteux : *cephalosporidium*. Tous les dérivés ont un noyau commun sur lequel sont fixés deux noyaux R et R'.

Les céphalosporines présentent plusieurs avantages par rapport aux pénicillines : Résistance aux pénicillinases et spectre d'activité plus large, notamment vis à vis des bacilles Gram (-). (FONTAINE, 1992).

Il existe une variété d'autres antibiotiques possédant un cycle  $\beta$ -lactame dans leur structure. On trouve parmi ces molécules l'acide clavulanique, substance obtenue naturellement à partir de *Streptomyces clavuligerus*, et les substances; ces deux molécules sont utilisées comme inhibiteurs des  $\beta$ -Lactames dans des traitements antibactériens ou elles sont associées à une  $\beta$ -lactame. (DUVAL, 1990).

### II-3-2. Les aminosides.

Cette famille regroupe les antibiotiques dont la structure chimique est à base de sucre, le plus souvent de sucres aminés. Le premier antibiotique de ce groupe a été isolé en 1944 ; il s'agit de la streptomycine qui fut produite à partir de *Streptomyces griseus*. Cet antibiotique permet de traiter de nombreux patients atteints de tuberculose et suscita de grands espoirs avant que l'agent infectieux ne devienne résistant. (EBERLIN, 1994).

Les aminosides sont parmi les antibiotiques les plus rapidement bactéricides. On retrouve dans ce groupe, outre que la streptomycine, la gentamicine, l'amikacine, la kanamycine .... (HELALI, 2005).

### II-3-3. Les phénicolés.

Ce groupe est relativement limité, son représentant le plus courant est le chloramphénicol dont la formule est relativement simple : cela explique que sa synthèse puisse être réalisée par voie chimique.

L'utilisation de chloramphénicol est assez complexe, car cette famille comporte des molécules à large spectre d'action, possédant une bonne diffusion tissulaire et un coût très réduit, sa toxicité limite sa prescription. Celle-ci a beaucoup diminué du fait de l'apparition d'antibiotiques moins toxiques tels que les céphalosporines de troisième génération et les nouvelles quinolones. (HELALI, 2005).

#### **II-3-4. Les cyclines.**

La famille des cyclines est une famille très homogène sur le plan biochimique puisque la structure des différents antibiotiques y est très proche. Ils ont en commun un noyau constitué de quatre cycles hexagonaux, d'où le nom de tétracyclines. L'intérêt des cyclines résulte du fait qu'elles puissent agir à l'intérieur des cellules eucaryotes, cependant les tétracyclines ont un effet uniquement bactériostatique, de sorte qu'elles ne tuent pas l'agent infectieux. On peut pallier cet inconvénient en associant un antibiotique bactéricide. (DUVAL, 1990).

#### **II-3-5. Les macrolides et apparentés.**

Trois groupes d'antibiotiques présentent des propriétés proches : les macrolides, les lincomycine et les streptomycines, c'est pourquoi on les regroupe dans une même famille. Tous les macrolides possèdent une structure chimique caractérisée par un macrocycle lactonique ; ce dernier constitue la partie aglycone de la molécule sur laquelle se greffent des sucres neutre ou amines.

Les macrolides présentent des caractéristiques pharmacocinétiques particulières. La distribution tissulaire dans les tissus bien vascularisés (foie, rein, rate, poumon) est remarquable. (HELALI, 2005).

#### **II-3-6. Les sulfamides.**

Les sulfamides sont des inhibiteurs compétitifs de l'acide para-amino-benzoïque. Ils ont donc une structure proche de cette molécule. Ils ont un effet uniquement bactériostatique. On utilise Les sulfamides pour des infections urinaires basses non compliquées, en cas de diarrhées non invasives ou pour éviter des rechutes suite à des rectocolites. Toutes les anciennes indications ne sont plus d'actualité du fait des résistances des germes et des effets indésirables associés.

L'hémisynthèse a permis la production d'une certaine de molécules dérivées du sulfamide, dont au total très peu ont un intérêt thérapeutique. (DUVAL, 1990).

#### **II-3-7. Les quinolones.**

Ce sont des agents antibactériens de synthèse, utilisés autrefois surtout dans le cas des infections urinaires à bacilles GRAM (-), l'exemple le plus typique de cette génération de quinolones est l'acide nalidixique.

Depuis une douzaine d'années sont apparues les fluoroquinolones, caractérisées par la présence d'un atome fluor en position 6 et d'un cycle azoté, le plus souvent une pipérazine en position 7. Leur spectre d'activité est large ; elles sont rapidement bactéricides et leur pénétration intracellulaire est excellente notamment dans les macrophages. (EBERLIN, 1994).

## **II-4. Principes de l'activité antibactérienne.**

Un antibiotique exerce une activité toxique sélective sur l'agent responsable de l'infection. Sans présenter de danger pour l'animal et l'homme. Les mécanismes par lesquels les antibiotiques exercent leurs effets anti-infectieux sont au nombre de cinq (HELALI, 2005).

### **II-4-1. Par inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne (pénicillines, céphalosporines, bacitracine, cyclosérine, vancomycine, ristocétine).**

L'inhibition de la formation de la paroi bactérienne ou tout autre type de lésion de celle-ci, fragilise la cellule bactérienne en la rendant plus préalable aux liquides du milieu ambiant, ce qui entraîne par conséquent son éclatement sous l'effet d'une pression liquidienne intracellulaire grandissante. (DUVAL, 1990).

- L'activité des bétalactamines au niveau de la paroi bactérienne s'opère en 3 étapes :

- pénétration par l'intermédiaire des protéines transmembranaires ou porines : les porines constituent des pores <<hydrophiles>> c'est-à-dire des canaux aqueux permettant la diffusion de solutés et de nutriments.

- attachement au récepteur : les récepteurs aux bétalactamines sont les pénicillines Binding proteins (P.B.P) qui se trouvent à la partie interne sur la membrane cytoplasmique. La conséquence de la liaison d'une molécule de bétalactamines au P.B.P, est une inhibition de la réaction de transpeptidation et un blocage de la synthèse du constituant essentiel de la rigidité de la paroi bactérienne, en l'occurrence le peptidoglycane.

- perturbation de la fonction bactérienne : outre l'inhibition des enzymes de transpeptidation, d'autres systèmes autolytiques interviennent par l'intermédiaire d'enzymes lytiques (hydrolases), qui accélèrent l'éclatement de la bactérie en milieu isotonique.

### **II-4-2. Par changement de la fonction membranaire.**

La membrane cytoplasmique a une perméabilité sélective qui permet un contrôle de la composition intérieure de la cellule. Si cette intégrité fonctionnelle de la membrane cytoplasmique venait à être détruite, les macromolécules et les ions s'échappent de la cellule, entraînant sa mort.

Les membranes cytoplasmiques de certaines bactéries et fongis (champignons), sont facilement altérées par certains médicaments (polymyxines, imidazoles), d'où leurs effets anti-infectieux. (COCITO, 1990).

### **II-4-3. Par inhibition de la synthèse protéique (aminoglycosides, tétracycline, chloramphénicol, macrolides, linomycines).**

Certains antibiotiques inhibent la synthèse protéique grâce à une action sur le ribosome bactérien. Le ribosome bactérien est constitué de ribonucléoprotéides au niveau desquelles s'effectue la synthèse des chaînes polypeptidiques (les ribosomes bactériens

sont constitués de deux sous unités de 50S et 30S contenant de l'ARN ribosomal et des protéines). (COCITO, 1990).

Les antibiotiques agissant par inhibition de la synthèse protéique sont :

- **Aminoglucosides** : ils exercent leur activité principale en inhibant la synthèse protéique au niveau de la phase d'inhibition de cette dernière.
- **Chloramphénicol** : se lie à la sous unité 50S du ribosome : il inhibe la peptidyl-transférase. Les microorganismes résistants au chloramphénicol produisent une enzyme appelée le chloramphénicol acétyl transférase, qui détruit l'activité antibactérienne, la production de cette enzyme est sous contrôle d'un plasmide.
- **Macrolides** : se lient à la sous unité 50S du ribosome bactérien.
- **Tétracyclines** : se lient à la sous unité 30S du ribosome bactérien. La résistance aux tétracyclines est due à des changements de la perméabilité de la paroi bactérienne. Ce phénomène est contrôlé par plasmide.

#### **II-4-4. Par inhibition des acides nucléiques (quinolones, novobiocine, pyriméthamines, rifamycine, sulfamides, triméthoprime).**

Les quinolones et fluoroquinolones sont de puissants inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques. Ils bloquent l'action la DNA-gyrase, DNA-polymérase et RNA-polymérase.

#### **II-4-5. Par inhibition des acides foliques.**

Les sulfamides se substituent à l'acide phospho-aminobenzoïque (PABP) qui est un métabolite essentiel utilisé comme précurseur de la synthèse d'acide folique.

Triméthoprime agit par l'inhibition de la dihydrofolate réductase qui est nécessaire à la synthèse de l'acide tétrahydrofolique à partir de l'acide dihydrofolique, cette étape est une séquence conduisant à la synthèse de purines et d'ADN. (DUVAL, 1990).

#### **II-5. Utilité des associations d'antibiotiques.**

L'administration de plusieurs antibiotiques en même temps ne doit pas être le fait du hasard, mais bien au contraire, dictée par des situations bien particulières, qui sont :

- Pour traiter une infection provoquée par plusieurs germes.
- Pour retarder l'apparition de résistance bactérienne.
- Pour accroître l'activité thérapeutique (synergismes).
- Pour traiter les infections sévères dont l'étiologie demeure inconnue. (HELALI, 2005).

## **II-6. Mécanismes des résistances aux antibiotiques.**

La résistance aux antibiotiques d'une espèce bactérienne n'est pas un phénomène stable dans le temps. L'évolution des résistances est extrêmement variable selon les antibiotiques ou les germes. La résistance aux antibiotiques peut être naturelle ou acquise. (EBERLIN, 1994).

### **II-6-1. La résistance naturelle.**

Il s'agit d'une propriété intrinsèque, préexistant chez le germe. C'est ce qui intervient lorsque la cible de l'antibiotique n'existe pas chez le germe. Les résistances naturelles peuvent être une propriété commune à l'ensemble de l'espèce voire d'un genre ou d'une famille comme pour les mycoplasmes. (DUVAL, 1990).

### **II-6-2. La résistance acquise.**

Ce type de résistance n'affecte initialement qu'une souche. La modification de cette souche provient d'une mutation ou d'une série de mutations chromosomiques (dans 10% de cas) ou d'un échange de matériel génétique par des plasmides (90% des cas).

Toutes les espèces bactériennes peuvent posséder un plasmide de résistance aux antibiotiques. On comprendra donc facilement que ce sont ces résistances acquises qui sont responsables de l'apparition de souche multi résistantes particulièrement difficiles à traiter. (DUVAL, 1990).

- Les résistances aux antibiotiques font appel à divers mécanismes :

- Inactivation de l'antibiotique.
- Tolérance de l'antibiotique soit par non pénétration, soit par la modification de la relation site antibiotique, soit par dérivation de la réaction bloquée par l'antibiotique.
- Mécanismes plus hypothétiques comme l'augmentation d'un métabolite inhibiteur ou la diminution des exigences d'un métabolite sur lequel agit l'antibiotique.

Les principes généraux s'appliquent différemment selon les familles d'antibiotiques, aussi envisagerons-nous ces résistances famille par famille.

#### **II-6-2-1. Résistance aux bêtalactamines.**

Les bêtalactamines étant les antibiotiques les plus utilisés en thérapie antibactérienne, la connaissance de leurs mécanismes de résistance est essentielle afin de prévoir leur évolution et éventuellement le palier.

##### **a) Résistance enzymatique : Les bêtalactamines.**

Ce type de résistance fait appel à un groupe d'enzymes appelées bêtalactamases. C'est le principal facteur de résistance bactérienne à l'égard des bêtalactamines. (DUVAL, 1990).

### **b) Les résistances non enzymatiques.**

Modification de la perméabilité, ce mode de résistance n'affecte que les bactéries Gram (-). Chez ces bactéries, la membrane externe constitue une barrière de diffusion extrêmement efficace. L'antibiotique ne peut traverser cette barrière qu'en empruntant des structures particulières, les porines. L'absence de passage ou l'augmentation du temps de passage des  $\beta$ -lactamines protège la bactérie et la rend résistante.

Des résistances naturelles dues à une modification des porines existent chez des entérobactéries telles que *Salmonella*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Enterobacter*. (GUTMANN, 1986).

#### **II-6-2-2. Résistance aux aminosides.**

La résistance aux aminosides est essentiellement enzymatique par acquisition d'enzyme modificateur des aminosides ; la modification de l'antibiotique induit son inactivation par modification des acides aminés touchés par l'enzyme. Les gènes de ces enzymes sont essentiellement portés par des plasmides.

Le niveau de résistance varie selon l'antibiotique et la bactérie. Parfois, la résistance se traduit par une perte de l'effet bactéricide sans atteinte de l'effet bactériostatique (ou une simple modification de la CMI) ; de ce fait il n'y a pas toujours modification de l'antibiogramme.

D'autres résistances semblent dues à des modifications des porines et entraînent une pénétration moindre des aminosides. (FONTAINE, 1992).

#### **II-6-2-3. Résistance aux phénicol.**

Les principales résistances aux phénicol sont essentiellement dues à une modification de l'antibiotique par acétylation d'une fonction alcool ; une acétyltransférase est responsable de cette résistance. Cette enzyme est codée par des petits plasmides multi copies. L'enzyme est inductible chez *Staphylococcus aureus* alors qu'elle est constitutive chez les bacilles Gram (-) ; toutefois les deux enzymes sont très proches, même si elles ne sont pas immunologiquement équivalentes. Par ailleurs, il y aurait des souches imperméables au chloramphénicol. (McKELLAR, 1998).

#### **II-6-2-4. Résistance aux cyclines.**

Deux types de résistances aux cyclines ont été mis en évidence :

- une excrétion excessive de l'antibiotique par la protéine TET à travers la membrane cytoplasmique, alors que les pénétrations actives et passives ne sont pas modifiées de ce fait, la concentration intracellulaire est fortement diminuée et peut passer sous la CMI. Le support génétique est plasmidique ; ces gènes confèrent une résistance aux tétracyclines, mais non aux monocyclines.

- le gène *tetM* protège le ribosome bactérien de l'inhibition de la synthèse protéique ; le support génétique est chromosomique et confère un haut niveau de résistance, lui aussi vis-à-vis des tétracyclines. (McKELLAR, 1998).

## II-6-2-5. Résistance aux macrolides et apparentés.

### ➤ Résistance naturelle.

La grande majorité des bactéries Gram (-) est résistante aux macrolides. La résistance de bactéries telles que les *Entérobactéries*, *Pseudomonas* ou *Acinetobacter* s'explique par la relative imperméabilité des enveloppes à ces antibiotiques hydrophobes. Toutefois, l'érythromycine est active contre les Entérobactéries. (DUVAL, 1990).

### ➤ Résistance acquise.

Peu après l'utilisation de l'érythromycine dans les années 1966-1967, l'apparition de résistance fut observée. La modification de la cible est le principal mécanisme observé. La modification de la cible est due à une altération spécifique du ribosome bactérien ; une méthylase est responsable de la diméthylation d'une « adénine » de l'ARN 23S de la sous unité ribosomale 50S. (DUVAL, 1990).

## II-6-2-6. Résistance aux sulfamides.

Les résistances chromosomiques font intervenir :

- une diminution de la perméabilité (chez *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Serratia*, la résistance est associée à l'acide nalidixique et au chloramphénicol).

- une hyperproduction de dihydrofolate- réductase.

- une modification par mutation de la dihydrofolate- réductase qui devient insensible.

Des résistances plasmidiques sont aussi retrouvées, elles sont dues à une modification de la cible, à savoir la dihydrofolate-réductase ou la dihydroptéroate-synthétase. On retrouve des enzymes additionnelles, comme par exemple chez *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*, où on a pu mettre en évidence des germes de résistance qui codent pour des dihydrofolate-réductases, proches des formes naturelles, mais peu sensibles à l'antibiotique ; toutefois, elles sont différentes de celles retrouvées chez les entérobactéries. (TRYSTRAM, 2002).

## II-6-2-7. Résistance aux quinolones.

La résistance aux quinolones fait appel à deux mécanismes :

➤ **La modification de la cible.** L'ADN-gyrase est modifiée ; on retrouve des mutations des sous unités alpha et bêta dues à des substitutions d'acides aminés. Selon leur localisation, la CMI est augmentée de 4 à 100 fois pour l'acide nalidixique. Ces mutations touchent surtout les Entérobactéries. (WHITE et al., 2000).

➤ **La diminution de la perméabilité.** La voie essentielle de pénétration des quinolones s'effectue au travers des porines, mais on ne peut pas exclure d'autres possibilités. Des mutations telles que *nalB* entraînent une

imperméabilité mais ces résistances ne sont pas toujours très fortes. (WHITE et al., 2000).

## **II-7. Utilisation des antibiotiques en élevage.**

L'utilisation d'antibiotiques en élevage de rente a deux objectifs :

### **a. Utilisation pour but curatif et préventif.**

Les antibiotiques ont tout d'abord une utilisation thérapeutique visant à l'éradication d'une infection présente (but curatif) ou à la prévention d'une infection possible, à l'occasion d'un transport, d'une vaccination ou d'un stress (but prophylactique). L'utilisation des antibiotiques thérapeutiques est sous le contrôle des vétérinaires. La voie d'administration la plus rapide pour traiter un grand nombre d'animaux, est l'eau de boisson ou l'incorporation dans l'aliment. Cet aliment de traitement est considéré comme un médicament. Les principales familles d'antibiotiques sont représentées mais le nombre de molécules est très restreint si on le compare avec celui des molécules à usage humain. (DUCLUZEAU, 2000).

### **b. Utilisation en tant que facteur de croissance.**

A côté de cette utilisation thérapeutique, on trouve une utilisation propre à l'élevage de rente : l'usage zootechnique c'est-à-dire comme facteurs de croissance sous forme d'additifs alimentaires. Cette pratique relève d'une observation qui date du début de l'utilisation des antibiotiques : si de faibles quantités d'antibiotiques étaient incorporées dans l'aliment pendant la période de croissance des animaux, on obtenait une amélioration du gain de poids que l'on pouvait estimer entre 2 à 5%. Cet effet zootechnique était principalement observé dans des élevages avec un niveau d'hygiène précaire, et tendait à diminuer avec l'amélioration sanitaire de l'élevage. (LOUISOT et BORIES, 1998).

Les doses utilisées (de  $\leq 50$  mg/kg d'aliment) ne sont ni bactéricides ni bactériostatiques en regard de celles (quelques centaines de mg/kg) mises en œuvre dans les aliments médicamenteux, mais elles exercent un effet métabolique chez certaines espèces bactériennes qui se traduit par une modification des conditions de compétition au sein de ces flores complexes. (ROYER, GOURMELEN, et RUGRAFF, 2001).



## **Chapitre III**

### **Résidus et risque aux consommateurs**

Les résidus sont des substances pouvant apparaître dans les denrées alimentaires par suite de l'utilisation de médicaments vétérinaires ou de produits phytosanitaires. Il s'agit de traces indésirables de médicaments ou de produits phytopharmaceutiques ou de dérivés de ceux-ci dans le produit final.

### **III-1. Résidus de médicaments vétérinaires.**

Au cours de leur vie, les animaux doivent parfois être traités avec des médicaments destinés à prévenir ou à guérir certaines maladies. Il arrive que des résidus de ces médicaments aboutissent dans des produits alimentaires (viande, lait ou oeufs, par exemple) provenant d'animaux producteurs d'aliments tels que bovins, volailles. Néanmoins, ces résidus ne doivent pas être nocifs pour les consommateurs.

Afin de garantir un niveau élevé de protection des consommateurs, la législation Algérienne subordonne l'autorisation d'utilisation d'une substance médicamenteuse chez des animaux producteurs d'aliments à l'évaluation de la toxicité des résidus potentiels. Lorsque cela s'avère nécessaire, des limites maximales de résidus (LMR) sont fixées et, dans certains cas, l'utilisation de la substance concernée est interdite.

Que se passe-t-il lorsqu'un échantillon est contrôlé positif, c'est-à-dire lorsque la présence d'une substance interdite est détectée ou qu'une LMR est dépassée ?

Si des tests démontrent que des produits sont dangereux pour la santé humaine, ces derniers sont saisis et détruits, et les tests réalisés sur les produits et les substances en question sont renforcés.

### **III-2. Facteurs de persistance.**

La persistance de résidus varie selon plusieurs facteurs :

- l'antibiotique lui-même ;
- la forme pharmaceutique ;
- les modalités d'injection ;
- le site d'injection ;
- la sévérité de l'irritation locale.

Il existe des différences notables sur ces points entre les différents antibiotiques. Ainsi pour réduire l'incidence de ces résidus, est conseillée sous forme de «liste positive», l'utilisation sélective de molécules et de certaines formes d'administration. (NOUWS & VERDIJK, 1991).

### **III-3. Les risques présentés par les résidus.**

Les effets sur l'organisme humain dépendent de deux facteurs :

- de la transformation in vivo de la molécule d'origine, conduisant à la formation d'un métabolite ayant perdu ses propriétés antibactériennes mais possédant un pouvoir allergène résiduel. La toxicité de ce résidu peut être augmentée ou diminuée par rapport à celle de la molécule d'origine. (WAL, 1979).

- de la « toxico disponibilité » qui correspond à la forme sous laquelle le résidu se trouve dans l'organisme. Il peut être libre ou lié à des molécules. (WAL, 1979). Il est

alors plus ou moins accessible à la réponse immune de l'organisme, plus ou moins prédisposé s'accumuler au niveau de certains organes ou bien à être éliminé.

Les effets des résidus sur l'organisme sont les suivants :

#### **a. Les réactions allergiques.**

En particuliers des beta-lactames. Quand aux macrolides, ils causent peu d'effets. En médecine humaine, l'allergie est un effet secondaire reconnu des antibiotiques et secondaires et seulement très peu d'entre eux semblent causés par des mécanismes allergiques. (DEWDNEY et al, 1991).

Cependant, compte tenu des très faibles taux de résidus présents dans l'organisme, comparés à la concentration d'antibiotique administrée lors de traitement ou de prophylaxie, il est très improbable qu'ils soient à l'origine d'une sensibilisation primaire de l'individu. (DEWDNEY et al, 1991).

D'autant plus que lorsque les antibiotiques sont administrés par voie orale, ils subissent des modifications qui tendent à diminuer leur pouvoir allergène. Les résidus de pénicilline en particuliers forment des complexes avec certaines protéines (albumines) par liaisons covalentes. Ils sont alors masqués par la structure tertiaire de l'albumine et deviennent inaccessible aux anticorps. Il est donc peu probable que des dérivés significativement immunogènes puissent être formés. (DEWDNEY et al, 1991) (WAL, 1979).

Des techniques très spécifiques et sensibles sont alors nécessaires pour les mettre en évidence. (WAL, 1979).

Cependant des cas d'allergies aux résidus de pénicilline dans les aliments d'origine animale ont été scientifiquement prouvés, mais ceux-ci restent extrêmement rares, (Dayan, 1993) ; même si les résidus de bêta lactames restent souvent incriminés dans les cas d'allergies alimentaires.

#### **b. La foetotoxicité.**

Les nitrofuranes sont soupçonnés de foetotoxicité. Certains sulfamides sont foetotoxiques à forte dose. Ces molécules passent dans le lait maternel, et sont toxiques pour les nourrissons de moins d'un mois.

#### **c. Les autres effets dus à la présence de résidus.**

Les autres effets potentiellement dus aux résidus sont d'ordres toxicologiques et pharmacologiques. On note entre autre une modification de la flore intestinale humaine. (BOISSEAU, 1993).

Ainsi certaines molécules comme le chloramphénicol, sont interdite en Europe sur les animaux de rente, en raison du risque potentiel d'apparition d'effet secondaires tels que des formes idiosyncrasiques d'anémie aplasique chez l'homme. Cet effet secondaire a été mis en évidence non seulement lors de traitements systémiques mais aussi lors d'application locale et même lors d'exposition professionnelle (PAGE, 1991).

La présence dans les aliments d'antibiotiques, de leurs résidus ou leurs produits de dégradation peuvent entraîner plusieurs risques pour les consommateurs :

L'induction de populations de bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques, chez l'homme : en effet, la présence d'antibiotique dans la viande signe un usage irraisonné de ces médicaments, entraînant chez l'animal des résistances bactériennes qui sont ensuite transmises à l'homme par ingestion ;

Le déclenchement de réactions allergiques : certaines personnes sont allergiques à certains médicaments et peuvent ainsi en ingérer à leur insu, ce qui peut déclencher des réactions, bénignes le plus souvent, parfois mortelles (oedème de Quincke, choc anaphylactique) ;

Action cancérogène : certains médicaments ou les produits de leur métabolisme sont cancérogènes. L'ingestion répétée et prolongée de ces produits peut induire le développement de tumeurs cancéreuses ;

Action toxique sur le fœtus et les nouveau-nés : certains médicaments sont nocifs pour les femmes enceintes du fait de leur toxicité pour le fœtus ; même si à l'heure actuelle il semble que le lien entre des malformations fœtales et la consommation de viande chargées en résidus n'ait pas été fait, le risque est à prendre en considération.

Les nouveau-nés sont aussi susceptibles d'ingérer des résidus nocifs par le biais de l'allaitement maternel.

## **Chapitre IV**

# **Méthodes de dosage des antibiotiques**

Les problèmes liés à la présence des résidus d'antibiotiques dans les aliments ont été très étudiés. La détection et le dosage de ces résidus constituent donc des éléments essentiels au niveau de l'étude du devenir des antibiotiques et sur le plan de la protection du consommateur. Les méthodes de dosage, actuellement utilisées, peuvent classées en trois groupes. (BOURGEOIS, 1991).

#### **IV-1. Méthodes microbiologiques.**

Les méthodes de détection les plus courantes employées sont celles utilisant la sensibilité de certaines souches bactériennes vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques.

La mise en évidence de cette inhibition est réalisée soit en milieux liquides (méthodes d'acidification), soit en milieux solides (méthodes par diffusion en gélose).

##### **IV-1-1. Méthodes en milieux liquides.**

Cette technique est beaucoup utilisée par la détection des antibiotiques dans le lait. Après pasteurisation, l'échantillon estensemencé à l'aide d'une souche sensible aux antibiotiques (*Bacillus*, *Streptococcus*,...). Après incubation, la production d'acide lactique, qui témoigne de la croissance du germe test en l'absence de résidus d'antibiotiques, est révélé soit par un indicateur de pH, soit par une coagulation du lait. La croissance bactérienne peut aussi être mesurée par néphélométrie.

Une culture témoin est réalisée avec un échantillon exempt d'antibiotiques.

Les méthodes de recherche des antibiotiques en milieux liquides permettent d'obtenir des résultats très rapidement. Tous les échantillons positifs ou douteux doivent être soumis à une épreuve de confirmation par la méthode de diffusion en gélose. (BOURGEOIS, 1991).

##### **IV-1-2. Méthodes par diffusion en gélose.**

Ces techniques ont été employées pour la recherche des antibiotiques dans tous les produits alimentaires.

Lorsqu'on ou plusieurs antibiotiques en solution sont mis en contact avec un milieu gélosé, ils diffusent à l'intérieur de celui-ci ; la diffusion étant proportionnelle au logarithme de leurs concentration.

Le développement d'un germe test,ensemencé dans la gélose, permet après l'incubation de déceler la présence d'une substance inhibitrice qui est matérialisée par une zone translucide au niveau de la zone de diffusion de l'antibiotique, alors que partout ailleurs le développement des microorganismes est visible. (JACQUET, 1976).

Il existe d'autres méthodes :

##### **➤ .Changements morphologiques.**

Par examen microscopique, après coloration au bleu de méthylène, les changements morphologiques dus à la présence d'antibiotiques, peuvent être mis en évidence chez certaines bactéries.

### ➤ **Méthodes des cultures.**

Cette technique a été décrite par KOSIKOWSKI.

Des disques de papier sont imprégnés de spores de *Bacillus subtilis*, de milieu nutritif et de CTT : l'ensemble est lyophilisé. Ces disques sont déposés individuellement au fond des cupules, et une quantité de l'ordre de 1ml de lait est ajoutée dans chacune d'elles. Le changement de couleur du disque dépend de la croissance ou non des spores indiquant la présence ou l'absence de substances inhibitrices.

### **IV-2. Méthodes électrophorétique.**

L'échantillon à tester est déposé dans des cavités creusées dans la gélose ou dans des cupules.

Sous l'effet d'un courant électrique approprié, les antibiotiques se séparent avec des vitesses et des sens de migration différents et spécifiques, ce qui permet à la fois d'éliminer les substances interférentes et de renseigner sur la nature des antibiotiques présentes dans l'échantillon.

Une deuxième couche de géloseensemencée avec un ou plusieurs microorganismes tests révèle, après étuvage, la diffusion des antibiotiques dans la gélose.

Une recherche positive se traduit donc, comme précédemment, par la formation de zones claires, le diamètre des zones d'inhibition est, dans une certaine limite de sensibilité, proportionnel à la concentration de l'antibiotique présent, ce qui permet son dosage. (BILLON et TAOS, 1976).

### **IV-3. Méthodes physico-chimiques.**

Ces techniques de recherche des antibiotiques se sont considérablement développées ces dernières années. Elles constituent des applications particulières de principes analytiques déjà employés pour le dosage d'autres types de molécules.

#### **IV-3-1. Dosages radio enzymatiques.**

Ils reposent sur une réaction biochimique spécifique entre la molécule d'antibiotique et un cofacteur marqué au carbone 14. D'après CHARM, le dosage s'effectue en 10 à 15 minutes, la limite inférieure de sensibilité est de l'ordre de 0.05UL/ml, pour la pénicilline (technique « Charm test »).

#### **IV-3-2. Dosages radio-immunologiques.**

Plusieurs firmes ont commercialisé un « Kit » de dosage comprenant l'anticorps spécifique et l'antibiotique marqué à l'iode 125. Malgré une sensibilité théorique élevée, cette technique ne permet pas d'atteindre des limites de détection inférieure à 1µg/ml de lait.

#### **IV-3-3. Dosages immuno-enzymatique.**

Le principe repose sur la mesure de la variation d'activité d'un enzyme sous l'influence de l'anticorps correspondant.

L'avantage de cette technique est d'éviter l'emploi des isotopes, tout en conservant une sensibilité proche de celle des méthodes précédentes.

La méthode connue sous le nom de «Enzyme Multiplied, immuno Assay Technique» ou EMIT permet de détecter et de doser des antibiotiques tels que : la pénicilline, la gentamycine, l'amikacine, la tobramycine, la sisomycine et le chloramphénicol. En 1988, TSUNEHIRO KITAGAWA et Coll., utilisent cette méthode pour rechercher la cephalexine, ainsi que Campbell pour le chloramphénicol.

#### **IV-3-4. Dosages par fluorimétrie.**

HAMANN et HEESCHEN ont décrit une technique de dosage par immunofluorescence dont le principe consiste en un marquage de l'antibiotique à la fluorescéine. Le dosage est réalisé par compétition en présence d'antibiotique non marqué et d'un antisérum spécifique. La mesure s'effectue par fluorimétrie en lumière polarisée ou non.

Cette technique a aussi été utilisée pour la détection des tétracyclines, qui, après chauffage en milieu neutre ou alcalin, forment des composés fluorescents (limites de détection : 2µg/g).

#### **IV-3-5. Dosages par bioluminescence.**

L'ATP (adénosine triphosphate) produit par des cellules bactériennes est transformée en ADP (adénosine diphosphate), en présence de luciférine et luciférase. L'émission photonique, qui accompagne la réaction, est mesurée par un photomètre.

Cette technique implique donc une étape bactériologique.

#### **IV-3-6. Spectrophotométrie.**

Utilisée dans les spectres ultraviolet, visible et infrarouge, elle permet l'identification et le dosage de la pénicilline (limite de détection : 10 µg/g), de la streptomycine, des tétracyclines, etc....

#### **IV-3-7. Techniques chromatographiques.**

##### **➤ .Chromatographie sur couche mince (CCM).**

HAMANN, HEESCHEN et TOLLE, utilisent la CCM pour identifier les résidus d'antibiotiques, dans le lait, avec ou sans extraction préalable. Les antibiotiques sont identifiés sur les plaques grâce à leur R<sub>f</sub>. Un dosage peut être réalisé par fluorescence. Les limites de détection sont les suivantes :



Tétracycline : 0.025 µg/ml.

Chloramphénicol : 1 µg/ml.

Néomycine : 15 µg/ml.

Streptomycine : 0.5 µg/ml.

BOSSUYT et RENTERGHEM ont également décrit une méthode de dosage par CCM après extraction des résidus d'antibiotiques avec de l'acétone. L'identification a été réalisée en utilisant des souches test de *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus flavus* et *Sarcina lutea*.

➤ **.Chromatographie en phase gazeuse.**

HAMANN, HEESCHEN et TOLLE décrivent différents protocoles d'extraction, d'identification et de dosage d'antibiotique dans le lait, par chromatographie en phase gazeuse. Les limites de détection sont les suivantes :

Tétracycline : 0.5 à 10 µg/ml.

Chloramphénicol : 0.01 µg/ml.

Pénicilline : 0.005 µg/ml.

➤ **.Chromatographie liquide haute performance (HPLC).**

Cette technique est actuellement très utilisée pour la détection et le dosage de la plupart des antibiotiques.

Dans de nombreuses méthodes, l'extraction des antibiotiques est suivie d'une purification (sur colonne séphadex par exemple) avant séparation par HPLC. La détection est souvent réalisée par spectrophotométrie UV mais d'autres moyens peuvent être envisagés.

#### **IV-3-8. Autres Techniques.**

Il existe d'autres méthodes pour le dosage des antibiotiques, parmi lesquelles on cite : la polarographie, la titrimétrie, la résonance magnétique nucléaire, la spectrométrie de masse (HAMANN et HEESCHEN détectent, avec cette méthode jusqu'à 0.01µg/ml de chloramphénicol et de pénicilline dans le lait), et l'électrophorèse à haute tension (3000 volts, 250mA), elle permet d'améliorer encore les résultats obtenus en utilisant l'électrophorèse basse tension.

**2<sup>ème</sup> partie :**

**Matériel et méthodes**

## **II. Matériel et méthodes.**

Notre travail a été réalisé dans le laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences de l'université de Jijel.

### **II-1. Matériel.**

Pour la réalisation de ce travail nous avons utilisé :

#### **II-1-1. Matériel biologique.**

- **Les souches bactériennes** : nous avons utilisé quatre (4) différentes souches de référence sensibles aux antibiotiques : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Staphylococcus aureus* ATCC 43300.
- **Viande et abats de poulet** : au cours de notre étude, on a effectué plusieurs prélèvements de viande et abats de poules au niveau de l'abattoir d'EL HADADA, et des boucheries de la ville de Jijel.
- **Viande bovine** : nous avons prélevé des échantillons de viandes des différentes boucheries de la ville de Jijel.
- **Le lait cru** : le lait utilisé a été prélevé directement au niveau de la ferme, ou bien des points de vente connus.

#### **II-1-2. Les milieux de cultures.**

Nous avons utilisé les milieux de cultures suivants (dont la composition est décrite en annexe) :

- **La gélose nutritive** : pour le repiquage des souches *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
- **La gélose Chapman** : pour le repiquage de la souche *Staphylococcus aureus* ATCC 43300.
- **La gélose BCP** : pour le repiquage de la souche *Escherichia coli* ATCC 25922.
- **La gélose Mueller-Hinton** : pour la réalisation du test d'antibiogramme.
- **Le bouillon nutritif** : pour la préparation des cultures sur bouillon.

### II-1-3. Produits chimiques.

Au cours de notre étude, nous avons utilisé :

- Des antibiotiques sous forme de disques commercialisés de marque « BIO-RAD » pour confirmer la sensibilité des souches utilisées (disques témoin), dans le test d'antibiogramme.
- Autre antibiotiques : on a utilisé quatre (4) antibiotiques, qui sont les plus utilisés dans le traitement des maladies animales, a savoir ; Tylosine, Colistine, Enrofloxacin, et Doxycycline dans le but de les considérer comme étalons dans le test de CCM.
- Méthanol } pour constituer la phase mobile de la CCM.
- Acétone }
- Ethanol 96°, pour l'extraction des résidus d'antibiotiques.
- Le violet de gentiane }
- La fuschine }
- Le lugol }
- L'alcool }

pour la coloration de GRAM

### II-1-4. Autre matériels.

Parmi le matériel utilisé, on cite :

- Une lampe à UV à 256 nm, pour la révélation de résultat de la CCM.
- Une spectrophotométrie de marque « Shimadzu » : pour ajuster la densité de la suspension bactérienne.
- Deux centrifugeuses, une de marque « Hettich » et l'autre « Bioblock » pour la séparation des molécules.
- Un four Pasteur de marque « Contrôls » pour l'activation des plaques de CCM.
- Une étuve de marque « Memmert ».
- Une cuve de chromatographie 20 x 20 x 10 cm.
- Une balance électrique de marque « Denver MXX-601 ».
- Des plaques de gel de silice F 256.
- Micropipette de marque « NICHIPET EX » pour effectuer les dépôts.

## **II-2. Méthodes.**

### **II-2-1. Repiquage et purification des cultures sur gélose.**

Pour obtenir des cultures jeunes et pures, nous avons mis un programme de repiquage. Nous avons repiqué les souches chaque 3 jours. Après incubation à 37°C pendant 24 à 48 h, nous avons procédé à un examen microscopique, et macroscopique pour déterminer la pureté des souches.

### **II-2-2. Détection des résidus d'antibiotiques par méthode microbiologique.**

Par manque de moyen biologique (*Bacillus stearothermophilus*), nous avons utilisé la méthode officielle de l'AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments) avec l'utilisation d'autres souches de référence.

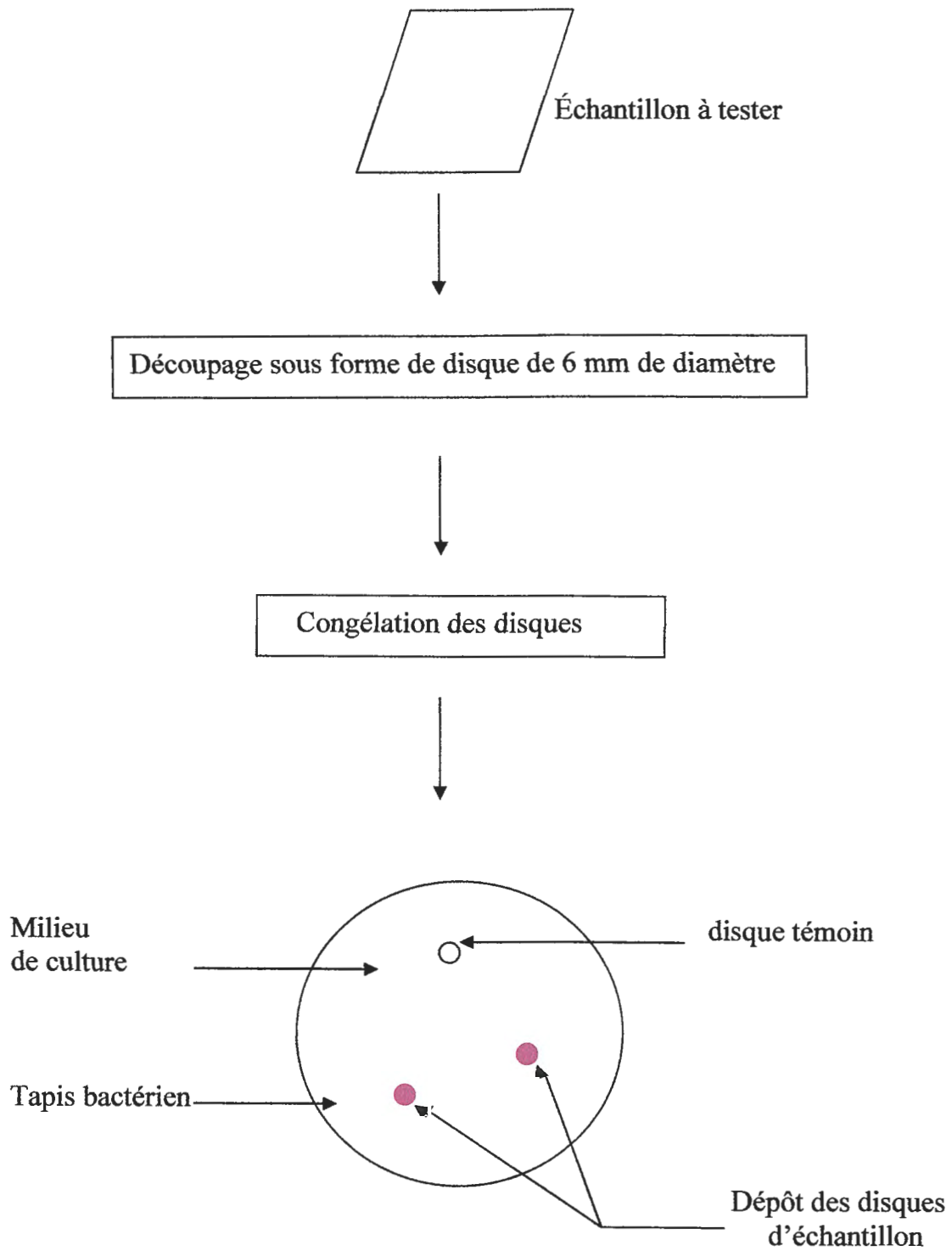
- Nous avons coupé les échantillons (poule, viande, abats), sous forme de disques de 6mm de diamètre, ensuite on les a mis au congélateur pour prendre la forme. Après congélation les disques ont été déposés deux par deux (en opposition) sur quatre (4) boîtes de pétri contenant la gélose Muller-hinton comme milieu de culture, et un germe sensible dans chacune d'elle à savoir : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Staphylococcus aureus* ATCC 43300.

La combinaison germe-milieu de culture permet de détecter une large gamme d'antibiotiques.

Si les disques de viandes et abats contiennent des résidus d'antibiotiques, ceux-ci migrent dans le milieu et inhibent la croissance du germe sensible autour du disque de viande.

Au milieu des boîtes, nous avons placé des disques de buvard imbibé d'une solution d'antibiotique de contrôle.

Sont considérés comme peut être positifs les échantillons dont les deux disques ont provoqué une inhibition du germe, et dont le disque témoin est lui-même positif. (AFSSA, 2005).



**Figure 1** : détection des résidus d'antibiotiques par antibiogramme.

## **II-2-3. Détection des résidus d'antibiotiques par CCM.**

### **II-2-3-1. Echantillonnage.**

Plusieurs échantillons de poules, viandes, abats de poules, et lait ont été sélectionnés de plusieurs boucheries, abattoirs, et points de vente, ainsi des échantillons de viande et abats des oiseaux migrateurs (hirondelles), ont été utilisés comme témoins.

### **II-2-3-2. Extraction des résidus d'antibiotiques.**

Nous avons pesé 10 g des différents tissus de carcasse de poules, de viande rouge, des abats de poules et des oiseaux migrateurs. Chaque échantillon a été écrasé dans 10 ml d'éthanol 96° à l'aide d'un mortier. Le solvant de chaque échantillon est ensuite centrifugé à 7000 tours par minute pendant 10 minutes, le lait a été directement centrifugé.

Par manque de moyens pour l'application de la technique d'évaporation des surnageants lipidiques en contact avec la vapeur d'azote (N<sub>2</sub>), nous avons mis les surnageants lipidiques dans des tubes en verre et on les a laissés s'évaporer et se précipiter à l'air pendant 24 heures ; les précipités obtenus ont été dissous dans 0.2 ml de méthanol. Les échantillons étaient prêts à être déposés sur la plaque. (TAJICK et al, 2002).

### **II-2-3-3. Préparation des plaques de silice.**

Par manque de moyen pour la préparation des plaques selon la technique décrite par BOYER(1993), nous avons utilisé des plaques de silice déjà préparées, avec des dimensions de 20x20 cm, et de 0.25 mm d'épaisseur. Avant chaque test, les plaques ont été activées à 120°C pendant 15 minutes. (BOYER, 1993).

### **II-2-3-4. Préparation des étalons.**

Pour la comparaison des résultats obtenus, nous avons préparé des solutions d'antibiotiques suivantes : Tylosine, Colistine, Enrofloxacin, et Doxycycline.

Pour cela, nous avons dilué 0.1g de chaque antibiotique dans 4ml de méthanol. (THANGADU et al, 2002).

### **II-2-3-5. Le dépôt, l'élution (la migration), et la détection.**

Pour chaque échantillon, nous avons déposé environ 50µl de méthanol contenant l'échantillon sur les plaques de silice, ainsi que pour les étalons, puis nous avons mis ces plaques dans des cuves contenant l'acétone-méthanol (1:1) comme phase mobile. Lorsque le front du solvant atteint la fin de chaque plaque, les chromatogrammes ont été observés sous U.V à 256 nm. (THANGADU et al, 2002)

Afin d'améliorer la séparation, nous avons procédé à une deuxième CCM, pour cela nous avons gratté les taches obtenues dans la première migration, puis on a dissous chacune d'elle dans 0.4ml de méthanol, on a aussi dilué les étalons dans le méthanol en raison de (1:4).

**3<sup>ème</sup> partie :**

**Résultats et discussion**



### III-1. Résultats.

#### III-1-1. Détermination de la pureté des souches.

La purification sur gélose Chapman, BCP, et GN montre le développement des colonies de même forme, même taille et même couleur et après examen microscopique des souches, on a constaté qu'il s'agit des cocci à Gram positif et bacilles à Gram négatif.

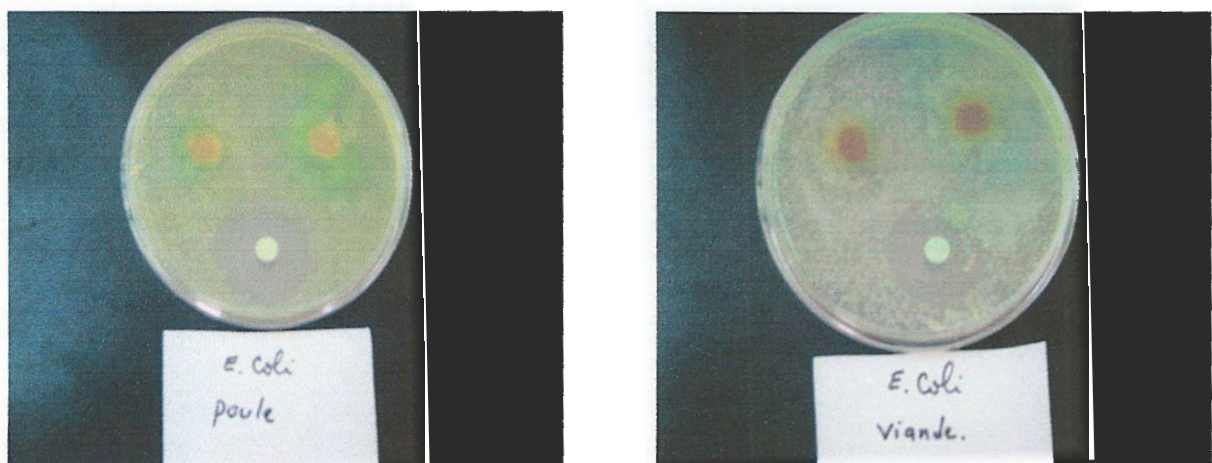
D'après ces observations on déduit qu'il s'agit de souches pures d'*E. coli*, *St. aureus*, *Kl. pneumoniae*, et *Ps. aeruginosa*.

#### III-1-2. Recherche des résidus par méthode microbiologique.

Les échantillons ne sont considérés comme positifs que ceux dont le disque témoin sont positif et les deux disques avec une zone d'inhibition nette et supérieure à 13 mm.

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

Nos résultats sont représentés dans les figures (3, 4, 5, et 6).



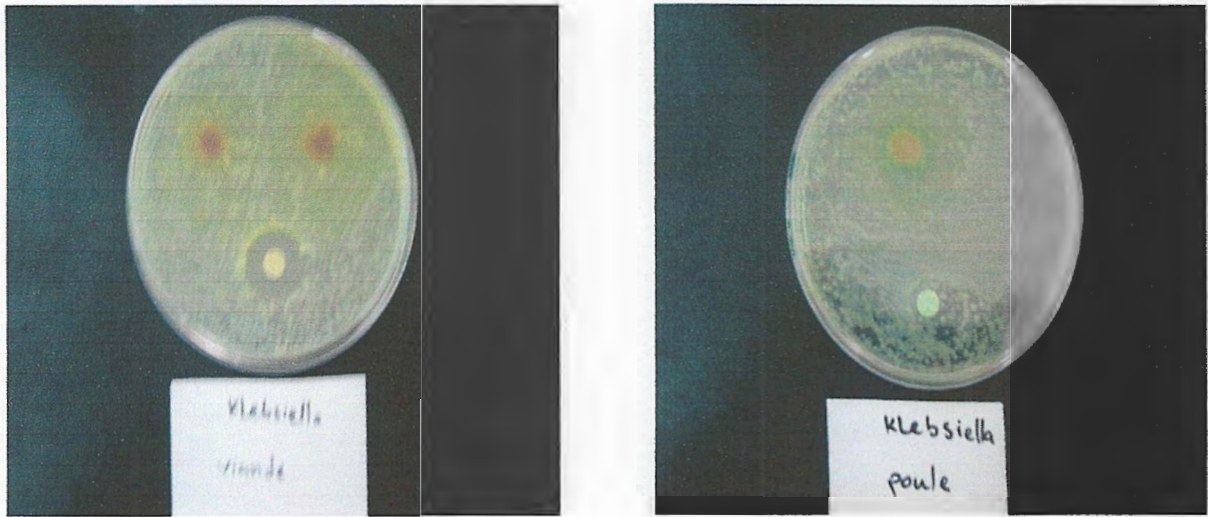
**Figure 2** : recherche des résidus d'antibiotiques dans la viande et le poule  
Avec *Escherichia coli* ATCC 25922.



**Figure 3 :** recherche des résidus d'antibiotiques dans la viande et le poule  
Avec *Staphylococcus aureus* ATCC 43300



**Figure 4 :** recherche des résidus d'antibiotiques dans la viande et le poule avec  
*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.



**Figure 5 :** recherche des résidus d'antibiotiques dans la viande et le poule  
Avec *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603

Les souches de référence sont sensibles aux disques témoin, par l'apparition des zones d'inhibitions. Cependant les disques des échantillons ne présentent aucune zone d'inhibition.

Pour la souche *E. coli*, nous avons observé l'apparition d'une zone d'inhibitions claires de plus de 18 mm de diamètre autour des disques témoins, alors qu'on n'a rien observé autour des disques des aliments.

Pour la souche *St. Aureus*, nous avons observé l'apparition d'une zone d'inhibition d'environ 10 mm de diamètre autour des disques témoins, on a marqué aussi une auréole discontinue autour du disque de la viande.

Pour la souche *Ps.aeruginosa*, la culture a été un peu dense mais ça n'a pas empêché l'apparition des zones d'inhibition autour des disques témoins, et une auréole douteuse autour du disque poule.

Pour la souche *Kl. Pneumoniae*, on a constaté une zone d'inhibition autour du disque témoin, et l'absence de cette dernière autour des autres disques.

### III-1-3. Recherche des résidus d'antibiotiques par CCM.

La migration des échantillons et étalons dépendent de leurs affinités vis-à-vis les deux phases stationnaire et mobile.

Au vu des résultats représentés dans les tableaux (1, 2, 3, 4, 5, 6, et 7) et illustrées par la figure (9), on a observé l'apparition des taches correspondent aux étalons avec des Rf différents. Ainsi des taches correspondent aux échantillons avec des Rf qui se rapprochent à celle des étalons.

➤ **Abats :**                    **Tableau (1):** résultats de la 1<sup>ère</sup> CCM des abats.

Abats	E1	E2	E3	E4	E5	E6
d	9.3	11.2	9.8	9.6	11	8.4
D	13.6	15	15.4	16.2	15.7	14.9
Rf	0.68	0.74	0.63	0.59	0.7	0.56

Pour les abats les Rf ont été comprise entre [0.56 – 0.74], en fonction du temps de migration.

➤ **Viande :**                    **Tableau (2):** résultats de la 1<sup>ère</sup> CCM des viandes.

Viande	E1	E2	E3	E4	E5	E6
d	10	10.9	9.9	10	10.8	10.4
D	13.6	15	15.4	16.2	15.7	14.9
Rf	0.73	0.72	0.64	0.61	0.68	0.69

Pour la viande les Rf ont été comprise entre [0.61 – 0.73], selon le facteur temps.

➤ **Poule :** **Tableau (3):** résultats de la 1<sup>ère</sup> CCM des poules.

Poule	E1	E2	E3	E4	E5	E6
d	9.3	10.9	9	10.7	10.9	9.4
D	13.6	15	15.4	16.2	15.7	14.9
Rf	0.68	0.72	0.58	0.66	0.69	0.63

Pour les poules les Rf ont été comprise entre [0.58 – 0.72], en fonction du temps.

➤ **Tylosine :** **Tableau (4):** résultats de la 1<sup>ère</sup> CCM de tylosine.

Tylosine	E1	E2	E3	E4	E5	E6
d	9.2	9.9	9.1	9.7	11.1	12.6
D	13.6	15	15.4	16.2	15.7	14.9
Rf	0.67	0.66	0.59	0.59	0.7	0.84

Pour l'étalon tylosine ces Rf ont été comprise entre [0.59 – 0.84], en fonction du temps et de sa concentration.

➤ **Enrofloxacin :** **Tableau (5):** résultats de la 1<sup>ère</sup> CCM de l'enrofloxacin

Enrofloxacin	E1	E2	E3	E4	E5	E6
d	5.3	6	5.5	/	5.5	4
D	13.6	15	15.4	16.2	15.7	14.9
Rf	0.38	0.4	0.35	/	0.35	0.26

Pour l'étalon enrofloxacin les Rf ont été comprise entre [0.26 – 0.4], en fonction du temps et de sa concentration.

➤ **Doxycycline :** **Tableau (6):** résultats de la 1<sup>ère</sup> CCM de la doxycycline.

Doxycycline	E1	E2	E3	E4	E5	E6
d	10	11	10.4	/	11.4	3
D	13.6	15	15.4	16.2	15.7	14.9
Rf	0.73	0.73	0.67	/	0.72	0.7

Pour la doxycycline les Rf ont été comprise entre [0.67-0.73], tout dépend du temps et de sa concentration.

➤ **Témoin :**

**Tableau (7):** résultats de la 1<sup>ère</sup> CCM du témoin.

Témoin	E1	E2	E3	E4	E5	E6
d	10.2	10	10.5	10	9.6	10
D	13.6	15	15.4	16.2	15.7	14.9
Rf	0.75	0.66	0.68	0.61	0.61	0.67

Pou le témoin les Rf ont été comprise entre [0.61 – 0.75], selon le facteur temps

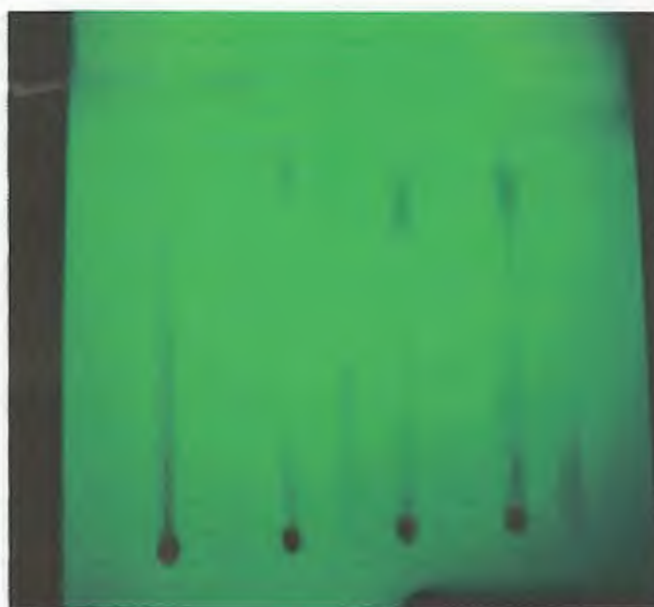
**Figure 6 :** résultats de la première CCM.



A tyl V enro P col T dox L

A : abats  
P : poule  
T : témoin

V : viande  
L : lait



On a constaté que Rf d'abat égal à 0.68, et Rf poule est 0.68, ces derniers sont presque au même niveau que celui de tylosine qui est 0.67, tous ça a été noté dans le premier échantillonnage (E1), ainsi dans E2 on a marqué une ressemblance aux résultats entre Rf des abat, poule, et tylosine. D'autre part nous avons les Rf du doxycycline qui est de 0.73, qui a été proche à celui du témoin 0.75, et viande 0.74 en E1, en E3 on a marqué des ressemblances entre témoin, doxycycline, et entre poule, tylosine pour E5 les résultats ont été proches entre viande, poule, abat, et tylosine. Dans E4 le niveau des Rf a été presque le même entre abat, viande, témoin, et tylosine.

Les résultats nous ont montré aussi l'absence de la tache correspondante au lait tout au long de nos essais, outre que colistine.

Cependant, l'apparition de la tache du témoin a permis d'ouvrir la porte des hypothèses. Il se peut que les taches ne représentent pas les résidus d'antibiotiques, comme il se peut que ces taches constituent un mélange de résidus d'antibiotiques avec d'autres molécules.

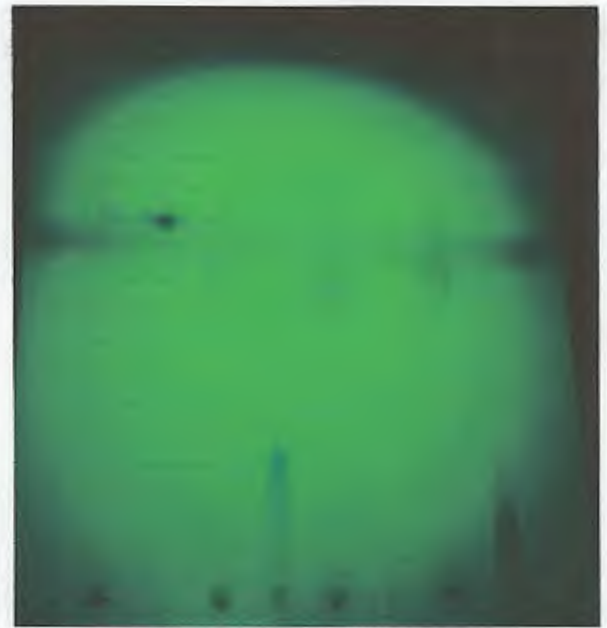
La réalisation d'une deuxième CCM après grattage des taches obtenues dans la première CCM, nous a permis d'obtenir des résultats plus évidents.

D'après les résultats représentés dans le tableau (8), et illustres par la figure (10), nous avons observé une amélioration de séparation, avec l'apparition de plus d'une tache

par échantillon, mais les résultats restent toujours imprécise, nous avons observé toujours absence de la tache du lait et colistine.

**Tableau 8** : résultats de la deuxième CCM

Echantillon	d (cm)	D (cm)	Rf (d/D)
Témoin	7.7	11	0.7
	8.5		0.77
	9.6		0.87
Poule	7.9	11	0.71
	8.7		0.79
	9.7		0.88
Viande	7.6	11	0.69
	8.4		0.76
	9.7		0.88
Abats	8.7	11	0.79
	9.7		0.88
Tylosine	9.8	11	0.89
Enro-floxacin	2.9	11	0.26
Doxy-cycline	4	11	0.36
Colistine	/	11	/
Lait	/	11	/



**Figure 7** : résultats de la 2<sup>ème</sup> CCM.



A tyl V enro P col T dox L

A : abats                      V : viande  
P : poule                      L : lait  
T : témoin

### **III-2. Discussion.**

Plusieurs hypothèses peuvent être émises pour expliquer les résultats obtenus sur la présence des résidus dans les viandes analysées malgré l'utilisation courante qui en est faite en élevage :

- les doses utilisées sont trop faibles pour faire apparaître des résidus (mais dans ce cas les conséquences en terme de création de résistance sont considérables).

- les souches de référence utilisées ne sont pas spécifiques pour ce type de contrôle.

- les animaux reçoivent un traitement juste avant l'abattage.

- Ou, de manière plus probables, ce traitement est utilisé de manière raisonnée (implication des vétérinaires, respect des doses et des délais d'attente).

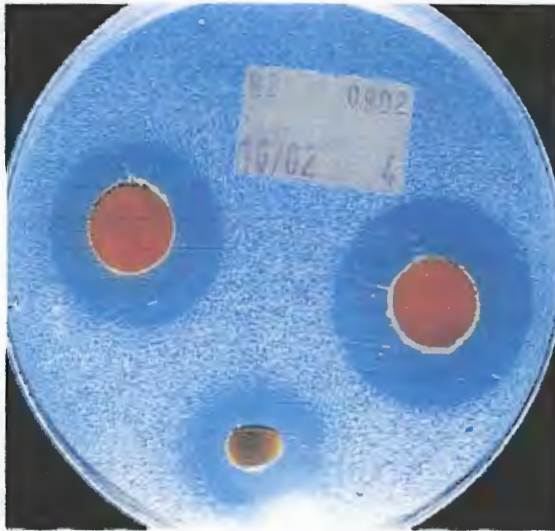
Quoi qu'il en soit ces hypothèses ne pourront être vérifiées que par une enquête de terrain sur les pratiques de médications des animaux d'élevage. (BRISABOIS et al, 1997-1999).

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

Etant donné le faible nombre de données concernant les résultats positifs en résidus pour les familles d'antibiotiques, nous ne pourrions pas analyser séparément chaque famille étudiée. Nous utiliserons donc seulement le critère « positif » ou « négatif » en résidus.

En revanche, il existe des études effectuées selon la méthode officielle (AFSSA, 2005), qui ont permis la détection des faibles quantités d'antibiotiques. Les résultats sont illustrés par les figures (8 et 9). (BERTHE, MOISON, et CARRIE, 2006), (WIM REYBROECK CLO-DLO, 2005).





**Figure 8 : Screening (ou dépistage)**  
 Test rénal : inhibition du développement de souches bactériennes (*Bacillus subtilis*)  
 (WIM REYBROECK CLO-DLO 2005)



**Figure 9 : recherche des résidus d'antibiotiques dans la viande avec *Bacillus stearothermophilus***  
 (BERTHE, MOISON, CARRIE, 2006)

D'après ces résultats on déduit que la méthode adoptée a tendance à sous estimer la présence de résidus.

Pour les résultats obtenus par CCM et selon la méthode adoptée, on peut déduire que :

- le gel utilisé n'est pas adéquat pour obtenir une séparation significative, puisque sa porosité n'est pas spécifique à ce type de test, et ça ce qui a été prouvé avec l'absence de la tache du lait et de colistine.
- Les étalons employés ne sont pas suffisamment purs, ce qui ne permet pas d'avoir des résultats précis.
- L'étape d'exposition des échantillons à la vapeur d'azote joue peut être un rôle pour l'élimination des molécules protéiques (peuvent être la source des taches) et qu'on l'a pu effectuer à cause de manque de moyen.

Les prélèvements ont été effectués dans l'abattoir d'EL-HADADA et quelques boucheries. Les résultats obtenus nous donnent surtout des informations sur la qualité de la viande de ces fournisseurs. Pour obtenir des informations sur l'exposition du

consommateur, il serait plus pratique d'étendre l'étude à toute la filière de commercialisation.

Il sera également important d'étendre l'étude à toutes les régions de l'Algérie.

L'étude a été réalisée pendant une courte période (deux mois). De plus :

- Les pathologies sont différentes en fonction de la saison, donc les traitements différents probablement en quantité et en qualité.
- Il faut prendre en considération l'influence de certaines périodes sur l'utilisation intense de ces antibiotiques (facteur de croissance, traitements), afin de garantir des quantités suffisantes d'animaux pour enrichir le marché (but économique), telles que : ramadan, fêtes religieuses, fêtes de mariage,...
- pour les bovins : les races sont différentes en fonction des saisons, avec peut-être une sensibilité différentes aux pathologies infectieuses.
- En période sèche, les bêtes sont souvent épuisées. Il sera intéressant d'étendre l'étude à toutes les périodes de l'année.

Des études *in vivo* sur des modèles animaux visant à évaluer les effets de doses thérapeutiques et de résidus de tétracycline sur la flore intestinale humaine ont mis en évidence les modifications engendrées sur la flore intestinale. Il y a effectivement eu une sélection de bactéries résistantes à la tétracycline, ainsi qu'un effet sur les populations fécales aérobies et anaérobies, sans compter les modifications de certains paramètres métaboliques de la microflore. Par contre, la barrière contre les salmonelles exogènes a été maintenue. (PERRIN-GUYOMARD et al, 2001).

Au niveau des opérations technologiques, la présence de résidus à activité antibiotique dans le lait ou la viande rend ces denrées impropres à certaines utilisations en fromagerie et en charcuterie.

Pourquoi retrouve-t-on des antibiotiques dans la viande ? Pourquoi doit-on respecter un délai avant d'abattre les animaux ?

Les médicaments administrés aux animaux, pour bon nombre d'entre eux, sont véhiculés par le sang et diffusent dans l'organisme. Le processus biologique de dégradation et d'élimination de ces produits est lent. C'est pourquoi, longtemps après les avoir administrés, on peut les retrouver dans l'organisme et notamment dans le muscle (mais aussi le lait). C'est aussi pourquoi il est impératif qu'il y ait un délai entre l'administration d'un médicament et l'abattage de l'animal. Ce délai à respecter est appelé « temps d'attente » ; il représente le délai au-delà duquel on estime que le risque pour le consommateur est devenu acceptable. Ce temps d'attente est particulier à chaque médicament

Il est à noter que la contribution des résidus dans la sélection de résistances aux antibiotiques chez l'homme apparaît comme faible comparé à l'importance des contaminations bactériennes des aliments d'origine animale. (CORPET, 1993).

En effet, prenons par exemple, les antibiotiques utilisés comme promoteurs de croissance, ils sont analogues à ceux utilisés en médecine humaine et comportent des résistances croisées avec eux.

Les animaux qui les consomment rejettent donc une grande quantité de bactéries résistantes dans leurs fèces. Et celles-ci sont transférées aux hommes par voie direct ou indirecte via les aliments d'origine animale. Elles colonisent ainsi directement le tube digestif de l'homme ou échangent leurs gènes de résistance avec des bactéries commensales de l'intestin (qui sont elles mêmes potentiellement pathogènes). (VAN DEN Bogaard, 2001).

Mais cet exemple est également applicable à tous les antibiotiques utilisés à des fins thérapeutiques ou chimioprophylactiques. Et ce phénomène risque de compromettre gravement l'efficacité des antibiothérapies entreprises en médecine humaine basées sur les mêmes principes actifs que ceux utilisés en médecine vétérinaire.

## **Conclusion**

## **Conclusion**

Dans notre travail, et afin de mettre en évidence la présence des résidus d'antibiotiques dans les aliments testés : la viande, le poulet, l'abat, et le lait, nous avons utilisé une technique microbiologique basée sur les interactions entre un complexe germe-milieu avec les résidus.

Les résultats du test ont révélé que les souches de référence utilisées ne présentent pas une sensibilité vis-à-vis les faibles quantités des résidus qui peuvent être dans les échantillons.

En outre, nous avons testé la présence des résidus par CCM. Les résultats ont montré la présence des taches correspondent aux échantillons et aux étalons à des niveaux un peu proche, mais les résultats restent chevauchés, et ne nous permet pas de juger qu'ils sont vraiment des résidus d'antibiotiques. Il est nécessaire de les confirmer par d'autres méthodes plus approfondies telles que HPLC, CPG,....

Du fait de l'échantillonnage et des méthodes d'analyses adoptées, nos résultats sont probablement sous estimé, nous espérons que d'autre études seront effectués pour enrichir le sujet.

Il reste à noter que, notre étude nous a permet de sortir par des recommandations :

- Il semble nécessaire de mettre en place un plan de surveillance permanent de la qualité des viandes (résidus d'antibiotiques et résistances bactériennes).

- Il convient de surveiller particulièrement les pratiques lors de l'étape d'embouche des animaux, toutes espèces confondues.

- Une sensibilisation des opérateurs sur les doses à administrer et les délais d'attente avant l'abattage paraissent indispensables. Pour ce faire, il semble possible de s'inspirer de la filière aviaire.

- La surveillance des filières d'approvisionnement en médicaments vétérinaire doit impérativement être accrue.

- Enfin, les consommateurs doivent être informés, exiger des contrôles et des produits de qualité et refuser toute pratique suspecte.

**Références  
bibliographiques**

## Références

1. **Aarestrup F.M., Wegener H.C.**, 1999. The effects of antibiotic usage in food animals on the development of antimicrobial resistance of importance for humans in *Campylobacter* and *Escherichia coli*. *Microbes and Infect.*, 1:639-644.
2. **Aarestrup F.M., Seyfarth A.M., Emborg H.D., Pedersen K., Hendriksen R.S., Al-Mostafa, H.Z., and Al-Ghamadi M.S.**, 2000. Use of norfloxacin in poultry production in the eastern province of Saudi Arabia and its possible impact on public health. *Int. J. Environ. Health Res*, 10:291-299.
3. **Abraham E.**, 1998. Des antibiotiques: Les beta-lactamines. *pour la science*, 46:92-105.
4. **Andremont R.**, 2000. Impact des antibiotiques utilisés chez les animaux sur les bactéries potentiellement pathogènes pour l'homme. *La Lettre de l'Infectiologie sept* ; tome XV, n° 7 : 268-271.
5. **Bager F.**, 2001. Effect of abolishment of the use of antimicrobial agents for growth promotion on occurrence of antimicrobial resistance in fecal enterococci from food animals in Denmark. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 45(7):2054-2059.
6. **Bell J.G.** MAGHREB vétérinaire : Les dominantes pathologies en aviculture, 15.
7. **Bernard A.**, 2000. Manuel pratique:maladies des bovins, ed. France agricole, 3<sup>e</sup> ed.
8. **Bertini S., Fierrero S. and Berny P.**, 2003. A new improved high performance thin layer chromatography (HPTLC) method for detection of ionophore antibiotics in feed and animal tissues. *J. Liquid Chromat. Relat. Tec.*, 26:147-156.
9. **Breuil J., Casin I., Hanau-Bercot B., Dublanche A., Collatz E.**, 2001. Troisième enquête nationale sur la sensibilité aux antibiotiques des salmonelles et shigelles : résultats de l'étude 2000 du collège de bactériologie, virologie et hygiène des hôpitaux. *BEH.*, n°43 :203-205.
10. **Bodeis S., McDermott P. English L.L., White D.G., Walker R.D., Zhao S., Simjee S. and Wagner D.**, 2002. Ciprofloxacin resistance in *Campylobacter jejuni* evolves rapidly in chickens treated with fluoroquinolones. *The J. of Inf. Dis.*, 185:837-840.
11. **Bouzouba K., Moahid M., El houdfi M., Amara A., Jouazi T.**, 1992. Les dominantes pathologies en aviculture au Maroc, *Maghreb vétérinaire*. Vol 6.N° 26 ,15-19.
12. **Boyer R.F.**, 1993. *Modern experimental biochemistry*. 2ed Ed. Benjamin Cummings Publishing Company, Redwood City, CA, 550.
13. **Brisabois A., Fremy S., Moury F., Goncalves M., Lailier R., Oudart C., Piquet C., Pires Gomes C.**, (1997-1999). Sensibilité aux antibiotiques des *Salmonella* d'origine non humaine. Copyright Editions AFSSA BP 19 F-94701 Maisons-Alfort cedex.

14. **Choma M.I.**, 2003. TLC separation of fluoroquinolones: searching for better selectivity. *J. Liquid Chromato. Relat. Tec.*, 26: 2673-2685.
15. **Cocito C., Di Giambattista M.**, 1990. Les antibiotiques inhibiteurs de la synthese proteique. *Médecine/Science*, 6 :46-54.
16. **Diddier V.**, 2001. Maladies des volailles, édition France agricole, 2<sup>e</sup> édition.
17. **Ducluzeau R.**, 2000. L'utilisation des antibiotiques en agriculture et les dangers pour le consommateur. *Antibiotiques*, 2 :76-85.
18. **Duval J. et Soussy C.J.**, 1990. antibiothérapie. 4<sup>e</sup> édition. Paris.
19. **Eberlin T.**, 1994. Les antibiotiques, édition NATHAN. Paris.
20. **Engberg J., Aarestrup F.M., Taylor D.E., Gerner-Smidt P. and Nachamkin I.**, 2001 .Quinolone and macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *C. coli*: Resistance mechanisms and trends in human isolates. *Emerg. Inf. Dis.*, 1:2433.
21. **Fontaine M. et Cadoré J.L.**, vade-mecum du vétérinaire, 16<sup>e</sup> édition.
22. **Fontaine M.**, 1992: VADE-MECUM du vétérinaire, 15<sup>ème</sup> édition. Vol 2. Ed. Office national des publications universitaires, 1026.
23. **Francis S.**, le tarissement des vaches laitières, édition France agricole.
24. **Gordon R.**, 1979 .Pathologie des volailles. Ed. Maloine. S-A-Editeur.
25. **Gustavson E., Bjurling P., Deglean J. and Strrensjo A.**, 2002. Analysis of  $\beta$ -lactam antibiotics using a microbial receptor protein based biosensor assay. *Food and Agri. Immunol.*, 14: 121-131.
26. **Gutmann L.**, 1986. Mecanisme de résistance non enzymatique aux beta-lactamines et épidimiologie de la résistance. *Méd. Mal. Infect.* 11bis, 655-660.
27. **Henri L., Gaillard J. L., MICHEL S.**, 1995. Microbiologie générale la bactérie et le monde bactérien .paris, 505.
28. **Helali A.**, 2005. Pharmacologie fondamentale et clinique à usage des étudiants en médecine. Alger, 135-140.
29. **Kempf I.**, 1992. Mycoplasmoses aviaires en manuel de pathologie aviaire. Ed. Chaire de pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour. France, 205-213.
30. **Kotrestu S.I.**, 2004. Determination of aminoglycosides and quinolones in food using tandem mass spectrometry: A review, *Crit. Rev, Food Sci. Nurr.*, 44: 173-184.
31. **Lechat P. et al.**, 1975. abrégé de pharmacologie médicale. 2<sup>ème</sup> éd., 86-99.



32. Lee W., Li Z.H., Vakulenko S. and Mobasner S., 2000. A light inactivated antibiotic. *J. Med. Chem.*, 43: 128-132.
33. Lesbouyries G., 1965. *Pathologie des oiseaux à basse cour*. Ed. Vigot frères, 241-242.
34. Levy B.S., 1998. Antimicrobial resistance: bacteria on defence. *BMJ*, 317: 612-613.
35. Louisot P., et Bories G., 1998. Rapport concernant l'utilisation d'antibiotiques comme facteurs de croissance en alimentation animale, Paris : commission interministérielle et interprofessionnelle de l'alimentation animale, Conseil supérieur d'hygiène publique de France, 3-21
36. Mckellar Q.A., 1998. Antimicrobial resistance: a veterinary perspective. *BMJ*, 317: 610-611.
37. **MINISTERE DE L'ELEVAGE, SERVICE DE COOPERATION ET D'ACTION CULTURELLE ET INSTITUT PASTEUR DE DAKAR.**, 2003. Investigation sur la présence de résidus d'antibiotiques dans les viandes commercialisées à Dakar. Dakar, Direction de l'Elevage.
38. Noble W.C., Virani Z., Cree R.G., 1992. Co-transfert of vancomycin and other resistance genes from *Enterococcus faecalis* NCTC 12201 to *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbial Lett.*, 93:195-198.
39. Pavia M., Nobile C.G.A., Salpietro L. and Angelillo I.F., 2000. Vancomycin resistance and antibiotic susceptibility of enterococci in raw meat. *J. Food Protec.*, 7: 912- 915.
40. Ramos M., Amanda A., Pozuelo M.M. and Reuvers T., 2003. Chloramphenicol residues in food samples, their analysis and stability during storage. *J. Liquid Chromat. Relat. Tec.*, 26: 2535-25-449.
41. Royer E, Gourmelen C., Rugraff Y., 2001. Bannissement des facteurs de croissance antibiotiques en Europe.
42. Sack D.A., Lyke C., McLaughlin C. and Suwanvanichkij V., 2001. Antimicrobial resistance in shigellosis, cholera and campylobacteriosis. WHO/CDS/CSR/8.
43. Salmi R., 1996. Filière avicole en Algérie, *Afrique agriculture*, n°237, 30-33.
44. Schercher F., 1992. Pasteurellose aviaire, in *Manuel de pathologie aviaire*. Ed. Chaire de pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour. France, 241-248.
45. Standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaire à l'échelle national selon les recommandations de l'OMS. 1<sup>ère</sup> édition. 2001.

46. Standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaire à l'échelle national selon les recommandations de l' OMS.2<sup>ème</sup> édition.2003.
47. **Steurdeur P., Mainil J.**, 2000. La colibacillose aviaire, bactériologie et pathologie des maladies bactériennes. Faculté de médecine vétérinaire. Université de Liège, 10-12.
48. **Swartz M.N.**, 2002. Human diseases caused by food borne pathogens of animal origin. Clin. Inf. Dis., 34:111-122.
49. **Swann M.**, 1969. Joint Committee on the use of antibiotics in animal husbandry and Veterinary medicin. London: Her Majesty's Stationary Office.
50. **Tajick M.A., Rahimian H., Alizadeh A. and Rezaeian V.**, 2002. Analysis of isolated lipids from sclerotia of *Rhizoctonia solani* AG-1-1A using TLC. Proceeding of 14<sup>th</sup> Iranian Plant Protection Congress KERMANSHAH, IRAN, 291.
51. **Teuber M.**, 1999. Spread of antibiotic resistance with food-borne pathogens. Cell. Mol. Life Sci, 56:755-763.
52. **Thal L.A. and Zervos J.M.**, 1999. Occurrence and epiemiology of resistance to virginiamycin and streptogramins Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 3: 171-176.
53. **Thangadu S., Shukla S.k. and Anjaneyulu Y.**, 2002. Separation and detection of certain  $\beta$ -lactams and floroquinolone antibiotics drugs by thin layer chromatography. Analytical Sciences, 18: 97-100.
54. The medical impact of the use of antimicrobials in food animals, Berlin, Germany, 13-17 October 1997. WHO/EMC/ZOO/97.4.
55. **Threlfall E.J., Ward L.R., Frost J.A. and Willshaw G.A.**, 2000. The emergence and spread of antibiotic resistance in food-borne bacteria. Int. J. of Food Micro., 62:1-5.
56. **Trystram D.**, 2002. Résistance aux antibiotiques : réseau Européen de surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques (EARSS). Résultats, 142-143.
57. Use of quinolones in food animals and potential impact on human health. Geneva, Switzerland, 2-5 June 1998. WHO/EMC/ZDI/98.10.
58. **Wegener H.C.**, 1999. The consequences for food safety of the use of fluoroquinolones in food animals. New Engl. J. Med., 340:1581-1582.
59. **White G.D., Piddock L.J.V., Maurer J.J., Zhao S., Ricci V. and Thayer G.**, 2000. Characterization of flouroquinolone resistance amony veterinary isolates of avian *Escherichia coli*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 44: 2897-2899.
60. **Yamani T.**, 1996. Surveillance épidémiologique de la colibacillose du poulet de chair en Algérie. Maghreb vétérinaire. Vol n° ; 13-17.
61. **Yamani T.**, 2006. Pathologie aviaire. Les maladies courantes. Les maladies émergentes, les maladies menaçantes .Maghreb vétérinaire vol n° 54., 5-19.

**Annexe**

## *Composition des milieux de culture*

### **- Milieu de CHAPMAN :**

Proteose peptone N°3	10g
Bacto-Etroit de viande de bœuf	1g
Bacto-D.Mannitol	10g
Chlorure de Sodium	75g
Bacto-Agor	15g
Rouge de phénol	0.025g
Eau distillée q.s.p	1000ml
Stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 15 mn.	
pH final	7.4 ± 0.2 à 25°C.

### **-Milieu de Mueller-Hinton Agar :**

Infusion de viande de bœuf déshydratée	300g
Hydrolysate de caséine	17.5g
Amidon de maïs	1.5g
Agar agar	13g
Eau distillée	1000ml
pH final	7.2-7.4

### **-Milieu BCP (gélose lactosé au pourpre de bromocrésol) :**

Peptone	5g
Extrait de viande	3g
Lactose	10g
Pourpre de bromocrésol	25g
Gélose	15g
Stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 20 mn	
pH final	7

### **- Gélose nutritive ordinaire :**

Peptone	10g
Extrait de viande	5g
Chlorure de sodium	5g
Gélose	15g
Stérilisé à l'autoclave à 120°C pendant 20 mn	
pH final	7.2

## ***CALCUL***

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par l'échantillon (d)}}{\text{Distance parcourue par le solvant (D)}}$$

## Résumé

L'utilisation des antibiotiques dans l'élevage est à double tranchons, elle permet d'améliorer la qualité des produits d'une part, d'autre part il y a une répercussion néfaste sur la santé du consommateur.

Dans notre travail, et afin de mettre en évidence la présence ou l'absence des résidus d'antibiotiques dans les aliments testés : la viande, le poulet, l'abat, et le lait, nous avons utilisé une technique microbiologique et une autre chromatographique.

Les résultats du test microbiologique ont révélé que les souches de référence utilisées ne présentent pas une sensibilité vis-à-vis les faibles quantités des résidus qui peuvent être dans les échantillons.

Les résultats de la CCM ont montrés la présence de taches qui peuvent probablement correspondre à la présence de résidus d'antibiotiques. Cependant ces résultats restent chevauchés, et ne nous permet pas de juger efficacement la présence de ces résidus. Il est nécessaire de les confirmer par d'autres méthodes plus approfondies telles que HPLC, CPG,....

**Mots clés:** résidus d'antibiotiques, souches de référence, CCM, antibiogramme.

## Summary

The use of antibiotics in the breeding is with double slice, it makes it possible to improve quality of the products on the one hand, on the other hand there is a harmful effect on the health of the consumer.

In our work, and in order to highlight the presence or the absence of the antibiotic residues in food tested: the meat, the chicken, the slaughtering, and milk, we used a microbiological technique and another chromatographic.

The results of the microbiological test revealed that the stocks of reference used do not have a sensitivity opposite the small quantities of the residues which can be in the samples.

The results of the TLC showed the presence of spots which can probably correspond to the presence of antibiotic residues. However these results remain overlapped, and does not allow us to effectively judge the presence of these residues. It is necessary to confirm them by other thorough methods such as HPLC, CPG,....

**Key words:** antibiotic residues, stocks of reference, TLC, antibiogramme

## ملخص

يعتبر استخدام المضادات الحيوية في التربية الحيوانية سلاح ذو حدين، فانه يجعل من الممكن تحسين نوعية المنتجات من ناحية، ومن ناحية أخرى يمكن أن يسبب آثار ضاره على صحة المستهلكين.

في عملنا، ومن أجل ابراز وجود أو عدم وجود بقايا المضادات الحيوية في المواد التي تم تحليلها: اللحم، الدجاج، الأحشاء والحليب، استخدمنا تقنيه ميكروبيولوجية وأخرى كروماتوغرافية.

نتائج الاختبار الميكروبيولوجي أظهرت أن البكتيريا المرجعية المستخدمة ليست لديها حساسية مقابل كميات قليلة من بقايا المضادات الحيوية التي يمكن أن توجد في العينات.

نتائج الاختبار الكروماتوغرافي أظهرت وجود البقع التي يمكن أن تتفق على الأرجح مع وجود بقايا المضادات الحيوية. بيد أن هذه النتائج لا تزال متداخلة، وأنها لا تسمح لنا بالتأكد على وجود هذه البقايا. ومن الضروري استعمال تقنيات أخرى أكثر دقة مثل : HPLC، CPG,....

**الكلمات المفتاح :** بقايا المضادات الحيوية، البكتيريا المرجعية ، انتيبيوغرام، CCM.