

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI OUZOU

FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES

**THESE DE DOCTORAT**  
Es Science  
Spécialité : Sciences Biologiques

Présentée

par Ramdane MOHAMED SAID

sous le thème

**Etudes qualitatives et quantitatives des résidus  
d'antibiotiques dans la viande de volaille et les  
œufs dans la région de la Mitidja.  
Utilisation des probiotiques comme alternative.**

Soutenu publiquement le 27/12/2015

**Devant le jury composé de :**

Nom et Prénom	Grade	Lieu d'exercice	Qualité
ZERROUKI Nacira	Professeur	Université de Tizi Ouzou	Présidente
GUETARNI Djamel	Professeur	Université de Blida	Directeur de Thèse
AMROUCHE Tahar	M .C . A	Université de Tizi Ouzou	Examineur
HOUALI Karim	Professeur	Université de Tizi Ouzou	Examineur
NABTI El Hafidh	Professeur	Université de Bejaia	Examineur
RAHAL Karim	Professeur	Université de Blida	Examineur

## REMERCIEMENTS

Le mérite de ce travail revient à toutes les personnes qui ont participé à sa réalisation et auxquelles d'ailleurs j'exprime ma profonde reconnaissance. La réussite de ce travail ne saurait être possible sans le grand apport de mon directeur de Thèse le Professeur Djamel Guetarni de l'Université de Blida<sup>1</sup>. Je le remercie de m'avoir offert l'opportunité de réaliser ce projet au sein de son équipe, pour ses conseils précieux, ses orientations scientifiques, ainsi que son optimisme affiché malgré toutes les contraintes. Aussi pour son encadrement tant apprécié lors de la rédaction de la thèse, sa rigueur scientifique, ses encouragements et ses conseils judicieux.

Je tiens à remercier sincèrement le Professeur Nacira Zerrouki de l'Université Mouloud Maameri de Tizi-Ouzou d'avoir accepté de présider ce jury après tant de péripéties tant soit peu justifiées, merci encore une fois pour ce geste. Je remercie également le Professeur Karim Houali de l'Université Mouloud Maameri de Tizi-Ouzou auquel je rends hommage pour son sens de responsabilité, le Docteur Tahar Amrouche de l'Université Mouloud Maameri de Tizi-Ouzou, le Docteur El hafidh Nabti de l'Université de Bejaia et le Professeur Karim RAHAL de l'Université de Blida, d'avoir bien voulu faire parti de ce jury pour évaluer et juger ce travail. Que ces membres soient rassurés que leur évaluation apportera certainement un plus à ce travail.

Mes remerciements vont aussi aux équipes de Saidal de Médéa , de Mohammedia ainsi que celle de l'Institut Pasteur d'Alger pour leur coopération manifesté tout au long de ce projet. Je remercie toutes les personnes qui ont contribué dans la réalisation de ce travail et en particulier Mme Ben habiles de nous avoir aider pour la réalisation de l'essai expérimentale à Baba Ali.

## Résumé

L'objectif de notre étude est la recherche de résidus d'antibiotiques dans la viande de volaille et les œufs et l'évaluation de l'impact de la supplémentation alimentaire en probiotique (bactérie *Pediococcus acidilactici*) sur les performances zootechniques du poulet de chair, et sur sa microflore digestive. Pour la 1<sup>ère</sup> partie, l'étude a été faite sur des poulets pris au hasard de différents points de ventes et même des fermes privés et étatiques. Pour la 2<sup>ème</sup> partie nous avons pris 3 lots de 150 poussins de chair (souche Hubbard f15) qui ont été élevés séparément durant 60 jours dans les mêmes conditions d'élevages, une même source d'aliment et d'eau. Le premier lot (probiotiques) recevait un aliment additionné d'un probiotique à raison de  $10^9$  UFC /kg d'aliment soit 100 g/tonne d'aliment. Le deuxième lot (antibiotiques) recevait un aliment avec antibiotique. Le troisième (témoin) recevait un aliment sans probiotiques ni antibiotiques. Les résultats 1<sup>ère</sup> partie montrent la présence de l'antibiotique recherché (oxytétracycline) dans tous les échantillons analysés à une concentration variant de 610 à 960 ng/g pour la viande crue et de 90 à 370 ng/g pour la même viande après cuisson avec un taux dépassant les limites maximales de résidus (**100 ng/g**). Les résultats des échantillons analysés de **Guerrouaou, Chebli et Soumaa.**, montrent la présence de colistine, l'érythromycine et/ou les tétracyclines. Par conséquent, nous pouvons dire qu'il y a présence de résidus d'antibiotiques aussi bien dans les prélèvements issus d'organes que de viandes, soit un taux de positivité de 60%. Les résultats des 24 échantillons d'œufs frais analysés n'ont pas montré de zones d'inhibition cependant la présence de résidus à une concentration inférieure à la CMI est possible. Il faut noter que la mise en évidence de ces résidus dans les œufs (jaune d'œuf et le blanc) aussi bien frais que cuits nécessite une technologie plus moderne et adéquate qui est l'HPLC. Les résultats de la 2<sup>ème</sup> partie montrent que l'utilisation des probiotiques permet une amélioration des performances pondérales tout en préservant l'état sanitaire des animaux à partir de l'installation de la flore lactobacillaire. L'inhibition compétitive, la synthèse d'acide lactique et la baisse de pH induite ou encore la stimulation de l'immunité locale ou systémique figurent parmi les modes d'actions agissant favorablement sur l'état sanitaire de l'hôte. L'incidence économique de l'utilisation des probiotiques comme alternative aux antibiotiques est quasiment certaine car elle apporte un gain de poids, de temps et elle diminue le taux de mortalité..

Mots clés : probiotique, antibiotique, poulet, résistance, paramètres zootechniques

## Abstract

The objective of our study is looking for antibiotics residues in poultry meat and eggs and the assessment of the impact of dietary supplementation in probiotic bacteria (*Pediococcus acidilactici*) on the zootechnical performance of chicken flesh, and its digestive microflora. For the first part, the study made on chickens taken randomly different points of sales and even private and State farms. For the 2nd part we took 3 batches of 150 chicks of flesh (strain Hubbard f15) which have been raised separately during 60 days under the same conditions of farms, a common source of food and water. The first batch (probiotics) received a supplemented food a probiotic at the rate of 109 cfu/kg of food is 100 g per tonne of food. The second batch (antibiotics) received a food with antibiotic. The third (control) received a food without probiotics and antibiotics.

The results part 1 show the presence of the sought-after antibiotic (oxytetracycline) in all samples analyzed at a concentration ranging from 610 to 960 ng/g for raw meat and 90 to 370 ng/g for the same meat after cooking with a rate exceeding the maximum limits of résidus(100 ng/g) the results of the samples analyzed in Guerrouaou Chebli et Soumaa, show the presence of colistin, erythTherefore, we can say that there is presence of antibiotic residues as well in samples from of organ meat, or a 60% positivity rate. The results of the 24 samples analyzed fresh eggs showed no inhibition zones however the presence of residues at a concentration lower than the CMI is possible. It should be noted that the highlight of these residues in that as well fresh (yellow egg and white) eggs requires a more modern and adequate technology which is HPLC. The results of the 2nd part show that probiotics used a weight performance improvements while maintaining the health status of the animals from the installation of the lactobacillary flora. Competitive inhibition, the synthesis of lactic acid and the decrease of induced pH or the stimulation of local immunity or systemic are among the modes of actions positively affecting the health status of the host.

The economic impact of the use of probiotics as an alternative to antibiotics is virtually certain because she brings a gain of weight of time and it decreases the mortality rate...

**Key words:** probiotic, antibiotic, chicken, resistance, zootechnical parameters

## ملخص

والهدف من هذه الدراسة تبحث عن بقايا المضادات الحيوية في لحوم الدواجن والبيض وتقييم أثر مكملات غذائية في ( على أداء تقنيات العناية بالحيوان من لحم الدجاج، وأن تبدل *Pediococcus acidilactici* البكتيريا بروبيوتيك ) الجهاز الهضمي.

لدراسة عصر جزء 1 أجريت على الدجاج أخذ النقاط المختلفة عشوائياً من مزارع التوريد وحتى القطاع الخاص والدولة. ( التي أثيرت بشكل منفصل خلال 60 يوماً في f15 أخذنا 3 دفعات من الفراخ 150 من اللحم (سلالة هوبارد<sup>nd</sup> الجزء 2 نفس ظروف المزارع، ومصدر مشترك للغذاء والماء. الدفعة الأولى (البروبيوتيك) تلقي أغذية وتستكمل مع الكائنات الحية المجهرية بمعدل  $10^9$  زيمبابوي/كغ من المواد الغذائية 100 غرام للطن الواحد من المواد الغذائية الدفعة الثانية (المضادات الحيوية) تلقي غذاء مع المضادات الحيوية. الثالث (تحكم) تلقي غذاء دون البروبيوتيك، والمضادات الحيوية. إظهار النتائج 1 عصر الحزب وجود المضادات الحيوية (أوكسي تتراسيكلين) رواجاً في جميع العينات التي تم تحليلها بتركيز تتراوح ما بين 610 إلى 960 نانو غرام/غرام للحوم النيئة و 90 إلى 370 نانو غرام/غرام للحوم نفسه بعد الطبخ بنسبة تتجاوز الحدود القصوى للمخلفات (100 نانو غرام/غرام)

تحليل نتائج العينات **جويراوا والشبلي وسوما**، وتبين وجود كوليستين أو الاريثرومايسين أو تتراسيكلين. ولذلك، يمكن أن نقول أن هناك بقايا للمضادات الحيوية على حد سواء في عينات من اللحوم الجهاز، أو بمعدل 60% الإيجابية.

وأظهرت نتائج البيض الطازجة 24 من العينات التي تم تحليلها أية مناطق تثبيط ولكن من الممكن وجود بقايا بتركيز أقل من اللجنة البحرية الدولية. تجدر الإشارة إلى أن تسليط الضوء على هذه المخلفات في البيض الطازجة (البيض الأصفر والأبيض) كذلك أن يتطلب تقنية أكثر حداثة والكافي الذي هو [هبلك].

أن البروبيوتيك المستخدمة تحسينات في أداء وزن مع الحفاظ على الحالة الصحية للحيوانات من<sup>nd</sup> وتظهر نتائج الجزء 2 تركيب فلورا لاكتوباسيلاري. تثبيط المنافسة، الناجم عن تخليق حامض اللاكتيك والانخفاض درجة الحموضة أو تنشيط الحصانة المحلية أو التنظيمية بين وسائط الإجراءات التي تؤثر إيجابياً على الحالة الصحية للبلد المضيف. الأثر الاقتصادي لاستخدام البروبيوتيك كبديل للمضادات الحيوية لأنه شبه متأكد من أن يجلب مكسب وزن للوقت وأنه يقلل من معدل الوفيات..

الكلمات الرئيسية: الكائنات الحية المجهرية، المضادات الحيوية، والدجاج، والمقاومة، ومعلومات تقنيات العناية بالحيوان

# **Liste des tableaux:**

## **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

**Tableau 4.1** : Liste des probiotiques utilisés en alimentation animale .....26

## **PARTIE EXPERIMENTALE**

**Tableau 1.1** : Nombre d'années d'expériences des praticiens vétérinaires. 38

**Tableau 1.2** : Fréquence d'intervention en élevage aviaire. 38

**Tableau 1.3** : Les antibiotiques les plus fréquemment prescrits en 1<sup>ère</sup> intention. 38

**Tableau 1.4** : Durées de traitement en moyenne 38

**Tableau 1.6** : Tableau représentant les durées de traitement anticoccidien 39

**Tableau 2.1** : Absorbances mesurées pour les étalons et les témoins. 45

**Tableau 2.2** : Absorbances mesurées et concentrations obtenues par extrapolation pour les échantillons de viande crue analysés des colonies . 46

**Tableau 2.3** : Diamètres des zones d'inhibition obtenus pour les antibiotiques testés avec les souches de références et normes. 50

**Tableau 2.4** : Diamètres moyens des zones d'inhibition obtenues pour les séries d'échantillons analysés (viande crue et cuite). 51

**Tableau 2.5** : Diamètres des zones d'inhibition pour les souches de référence testées. 54

**Tableau 2.6** : Diamètre moyen des zones d'inhibition (mm) obtenues. 56

**Tableau 2.7** : Zones d'inhibition obtenues pour les échantillons analysés. 64

**Tableau 2.8** : mesure de l'absorbance de la solution d'oxytétracycline dans chacun des 06 tubes 70

**Tableau 2.9** : Les zones d'inhibition obtenues pour la solution d'oxytétracycline soumise à l'effet thermique 72

**Tableau 3.1** : Température et l'hygrométrie ambiantes durant la période d'expérimentation 76

**Tableau 3.2** Composition des trois types d'aliments. 77

**Tableau 3.3** : Programme de prophylaxie médicale pour les animaux du lot antibiotiques 80

**Tableau 3.4** : Nombre de sujets sacrifiés durant la période de l'étude. 82

**Tableau 3.5.** Poids moyens enregistrés pour les lots et poids théorique

pour la souche utilisée.	87
<b>Tableau 3.6</b> : Indices de consommation pour les trois lots et ceux du standard de la souche utilisée.	89
<b>Tableau 3.7</b> : Indices de consommation comparatifs.	90
<b>Tableau 3.8</b> - Evolution des 3 germes dans le tube digestif des poulets durant la période d'élevage	94
<b>Tableau 3.9</b> : Evolution moyenne d' <i>E Coli</i> dans le tube digestif des poulets des trois lots au cours de la période d'élevage.	95
<b>Tableau 3.10</b> Evolution moyenne de <i>Staphylococcus aureus</i> dans le tube digestif des poulets des trois lots au cours de la période d'élevage	95

## LISTES DES FIGURES

Figure n°2.1 : Traitement du prélèvement	48
Figure 2.2 : Courbe d'étalonnage de l'oxytétracycline	70
Figure 2.3 : Cinétique de l'effet de la chaleur sur la molécule d'ATB « Oxytétracycline »	71
Figure n° 2.4 : Courbe des zones d'inhibition obtenues pour la molécule d'oxytétracycline soumise à l'effet thermique.	74
Figure. N° 3.1 : Dessin représentatif de bâtiment « Ourak » :	79
Figure 3.2 : Logigramme.	82
Figure 3.3 : Evolution de l'indice de consommation	92
Figure3.4 : Représentation graphique de la courbe d'évolution d' <i>E. coli</i> durant la période d'élevage	98
Figure 3.5 : Représentation graphique de la courbe d'évolution de <i>Staphylococcus aureus</i> durant la période d'élevage.	99

## **LISTES DES PHOTOS**

Photo n°2.1 : Zones d'inhibition des antibiotiques (témoin).	63
Photo 3.1 : Poussins au démarrage	76
Photo3.2 : Réalisation de la pesée	80
Photo 3.3. Dépouillement de la carcasse	82
Photo 3.4 : Ouverture de la carcasse	83
Photo 3.5 : Examen des viscères.	83
Photo 3.6. Extraction des organes (Prélèvement d'organes).	84
Photo 3.7. Mise de la masse digestive dans un sac stérile de congélation	84

## **PUBLICATIONS**

**1- Ramdane MOHAMED SAID**, Dj. GUETARNI. « *EFFETS DES PROBIOTIQUES SUR 3 GERMES DE LA FLORE INTESTINALE POULET DE CHAIR* » Bulletin UASVM, Horticulture 65(2)/2008 :614-620.

Print ISSN 1843-5254; Electronic ISSN 1843-5394

**2- MOHAMED SAID R.**, GUETARNI Dj. « Effects of the Probiotiques on the Parameters Zootechnic of the Flesh Chicken » Bulletin UASVM, Veterinary Medicine 66(1)/2009 : 390-397.

print ISSN 1843-5270; Electronic ISSN 1843-5378

**3-M. BACHIR PACHA**, RR TRIKI-YAMANI, **R. MOHAMED SAID**, M. Stella. ABDUL HUSSAIN “Evaluation of Animal Performance in Broiler Farming in the Central Region of Algeria”

Bulletin UASVM, Veterinary Medicine 68(1)/2011:62-68

print ISSN 1843-5270; Electronic ISSN 1843-5378

**4-R.R. TRIKI-YAMANI**, **R. MOHAMED SAID**, F. BENAÏSSA, M. BACHIR-PACHA, A. BOUYOUCHEF “The Coccidiosis of the Broiler in the Sub-Saharan Regions (Biskra - Algeria)”

Bulletin UASVM Veterinary Medicine 71 (1) / 2014, 237-241.

Print ISSN 1843-5270; Electronic ISSN 1843-5378

**5- R. Djezzara**, K. Benamiroucheb, D. Baazize-Ammib, **R. Mohamed Said** et D. Guetarni - Etude préliminaire sur l'utilisation combinée du probiotique 'Pediococcus acidilactici' et de l'anticoccidien -a base de l'extrait naturel de 'Yucca schidigera' en élevage de poulet de chair (Algérie)

JRA-JRPFG2013/98 ;2013

## Liste des abréviations

**µg**: Microgramme

**ADH**: Arginine DéHydrogenase

**AMM**: Autorisation de Mise sur le Marché.

**ATB** : Antibiotique

**BGT**: Bouillon Glucosé Tamponné.

**CEE**: Communauté Economique Européenne

**CMI**: Concentration Minimale Inhibitrice.

**CMV**: Compliment Minéraux et Vitamines.

**D/C**: Démarrage et Croissance.

**DJA**: Dose Journalière Admissible.

**DM**: Dilution Mère

**EPT**: Eau Peptonée Tamponnée.

**FAO**: Food and Agriculture Organization

**INRA**: Institut National de la Recherche Agriculture

**IPA**: Institut Pasteur d'Alger

**ITEFE**: Institut Technique des petits Elevages «Ferme Expérimentale»

**LDC**: Lysine DéCarboxylase

**LMR**: Limite Maximale des Résidus d'antibiotiques.

**MO**: Micro-Organismes

**Mob**: Mobilité

**NPP**: Nombre le Plus Probable

**OMS**: Organisation Mondiale de la Santé

**ONPG**: O. Nitrophényl. Pyrano. Galactoside

**RM**: Rouge de Méthyle

**TA**: Temps d'Attente.

**TDA**: Tryptophane DésAminase

**TSE**: Bouillon Eau Physiologique Peptonée.

**TSI**: Triple Sugar Iron

**UFC**: Unité Formant Colonie

**VR**: Bouillon Vert Rappaport.

**VRBL**: Gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre

**Remerciements**  
**Résumes(français, anglais, arabe)**  
**Liste des Tableaux**  
**Listes des Figures**  
**Listes des Photos**  
**Abréviations**  
**Publications**

# **Table des matières**

<b>Introduction</b>	<b>1</b>
<b>PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>Chapitre I : La filière avicole en Algérie</b>	<b>5</b>
I. Evolution de l'aviculture en Algérie	5
II. Performances de la filière avicole	6
<b>Chapitre II : Les Antibiotiques (usage thérapeutique)</b>	
II- Les Antibiotiques	9
II.1. Définition et caractéristiques	9
II.2. Les antibiotiques les plus utilisés en aviculture	9
II.3-Conséquences de leur utilisation, LMR et non respect des délais d'attente	16
<b>Chapitre III : Les Antibiotiques Facteurs de croissance</b>	
III-1. Utilisation des antibiotiques facteurs de croissance	19
III-2. Mode d'action	19
III-3. Implication des AFCs dans l'apparition de résistances bactériennes aux antibiotiques	22
III-4. AFC et Réglementation	23
III-5. Conséquences de l'interdiction de l'utilisation des AFCs	24

III-5.1 Conséquences sur la résistance bactérienne	24
III-5.2 Conséquences sur les performances et la santé des animaux	25

## **Chapitre IV : Les Additifs Alimentaires**

IV-Les additifs alimentaires	26
------------------------------	----

## **PARTIE EXPERIMENTALE**

### **Partie I : Etude descriptive**

#### **I.1 –Enquête auprès des consommateurs 34**

I. 1.1- Matériel et méthodes :	35
--------------------------------	----

I.1.2- Résultats :	35
--------------------	----

I.1.3- Discussion :	37
---------------------	----

#### **I.2- Enquête auprès des praticiens vétérinaires 39**

I.2.1. Matériel et méthodes :	39
-------------------------------	----

I.2.2. Résultats :	39
--------------------	----

I.2.3-Discussion	43
------------------	----

### **Partie II : Etude Analytique**

#### **II.1- Recherche de résidus d'antibiotiques**

II.1.1- Recherche de résidus d'antibiotiques par la méthode turbidimétrique (Etude 1).	45
--	----

II.1.1.1- Matériel et méthodes :	47
----------------------------------	----

II.1.1.1.1-Materiel:	47
----------------------	----

II.1.1.1.2-Methodes :	47
-----------------------	----

II.1.1.2- Résultats et discussion :	48
-------------------------------------	----

II.1.2-Recherche de résidus d'antibiotiques par la méthode de diffusion (ETUDE 2).	51
--	----

II.1.2.1- Recherche de résidus d'antibiotiques par la méthode de diffusion à partir de prélèvements de viande crue et cuite (ESSAI 1) :	52
---	----

II.1.2.1.1-Methode :	53
II.1.2.1.2-Résultats et Discussion :	54
II.1.2.2- Recherche de résidus d'antibiotiques par la méthode de diffusion à partir de prélèvements de viande et organes de poulet de chair et les œufs (ESSAI 2) :	58
II.1.2.2.1-Méthode : Cf. essai 1.	58
II.1.2.2.2-Résultats et discussion :	59
II.1.3- Recherche des résidus d'antibiotiques par la méthode de référence (Etude 3).	64
II.1.3 .1- Matériel et méthodes	65
II.1.3 .1.1- Matériel	65
II.1.3 .1.2- Méthode de recherche des résidus d'antibiotiques.	66
II.1.3.2- Interprétation des zones d'inhibition	68
<b>II.2- Effets de la température sur la molécule d'oxytétracycline.</b>	73
II.2.1-Traitement thermique appliqué à la molécule d'oxytétracycline :	75
II.2.2- Résultats :	78
 <b>Partie III : Essai expérimentale</b>	
<b>III. Essai expérimental d'utilisation des probiotiques comme alternative aux antibiotiques.</b>	
	80
III.1- Matériel et méthodes	81
III.1.1- Animaux et bâtiment	83
III.1.2- Protocole expérimental	84
III.1.3- Evaluation des performances zootechniques	86
III.1.4- Evaluation de l'action des probiotiques sur la flore digestive.	87
III.1.5- Analyses microbiologiques	90

III.2- Résultats et Discussion	93
III.2.1- Paramètres zootechniques :	93
III.2.2- Analyses microbiologiques :	93
<b>Discussion générale</b>	<b>103</b>
Conclusion	112
<b>Annexes</b>	

INTRODUCTION  
GENERALE

## Introduction générale

Durant les trois dernières décennies, la filière avicole algérienne a connu l'essor le plus spectaculaire parmi les productions animales. L'engouement des algériens pour les viandes blanches et particulièrement le poulet de chair est devenu important ; L'offre en viandes blanches est passée de 95000 à près de 300 000 tonnes entre 1980 et 2010, soit une progression de +212 % en 30 ans (MADR, 2011). Parmi les différentes catégories d'aliments qui ont contribué à la réduction des problèmes de malnutrition, les protéines animales ont le plus progressé des dernières années, développement en grande partie lié à la filière avicole. Le dynamisme de l'aviculture s'explique par la nature des espèces concernées. La volaille est une source de protéines animales acceptée à l'échelle mondiale et ne subit pas de tabous religieux et ethniques. Les cycles très courts, de 45 à 60 jours, et la croissance de la capacité des poulaillers permettent une très grande productivité (Kaci, 2014).

L'aviculture est indéniablement la branche des productions animales qui a enregistré en Algérie le développement le plus remarquable au cours de ces quinze dernières années. Au lendemain de l'indépendance (1962) et jusqu'à 1969, l'aviculture était essentiellement fermière sans organisation particulière. La filière avicole algérienne a atteint un stade de développement qui lui confère désormais une place de choix dans l'économie nationale en général (1,1% du PIB national) et dans l'économie agricole (12 % du Produit agricole brut), en particulier ; Sur le plan organisationnel, le processus de remontée de la filière avicole ne s'est réalisé que partiellement et est resté bloqué, au stade des reproducteurs "Chair" et "Ponte". (KACI ; 2013).

Les produits d'origine animale et particulièrement avicoles (poulet de chair et les œufs) occupaient une place très modeste dans la structure de la ration alimentaire de l'Algérien. Sur la base d'une première enquête nationale réalisée en 1966-67, il apparaissait que la ration contenait 7,8 gr/jour de protéines animales; mais une seconde enquête effectuée en 1979-1980 estimait à 13,40 gr/jour la quantité de protéines animales dans la ration, ce qui est en dessous des recommandations de la FAO-OMS fixées pour les pays en voie de développement à 76 gr/jour. Ceci a permis d'améliorer la ration alimentaire moyenne en protéines animales de près de 35 millions d'algériens. Cependant, avec 6Kg de viande de poulet par personne et par an (MADR, 2011), l'algérien demeure parmi les plus faibles consommateurs, loin derrière l'Européen avec ses 23,7 Kg, le brésilien (37 Kg), ou encore l'américain (52,6 Kg) (OFIVAL, 2011).L'augmentation de l'apport protéique d'origine animale dans la ration obtenue est due essentiellement à l'intérêt accordé au développement de l'aviculture à travers les différents plans de développement (Fenardji ; 1990). Ainsi, dès le début des années 1970, les pouvoirs publics ont initié un programme de

développement à long terme qui a abouti à la suppression des importations en produits finis à partir de 1979. En effet, après avoir importé annuellement jusqu'à 1,5 milliard d'œufs de consommation au cours des premières années de la décennie 1980, soit la quasi-totalité des besoins et un appoint en poulet prêt à cuire, il a été mis un terme définitif dès 1975 pour le poulet, et en 1985 pour l'œuf de consommation, à l'exception des importations des souches parentales. En dépit des nombreux programmes initiés par les pouvoirs publics algériens pour le développement de la production avicole, la consommation de poulet de chair en Algérie reste faible: 6 kg/habitant/an (Kaci et Boudouma 2011). Parmi les facteurs responsables de cette situation, figure la baisse de la production consécutive à l'arrêt des élevages dès l'apparition des premières chaleurs. Cette mesure est prise par de nombreux éleveurs qui ne disposent pas de matériel de maîtrise de l'ambiance des bâtiments pour contrer les effets de l'augmentation de la température qui persiste durant une période relativement longue (de mai à septembre) et qui entraînent chez les animaux un état de stress thermique chronique qui est à l'origine de la baisse des performances observées ( Boudouma et Tefiel,2012). Par ailleurs, le passage de vents chauds (siroccos) aux mois de juillet et d'août aggrave cette situation puisqu'il soumet les poulets particulièrement en fin d'élevage, à un fort stress thermique aigu qui entraîne d'importantes mortalités (60 à 80 %) (Boudouma et Tefiel ,2012).

La productivité et la rentabilité des élevages avicoles a contraint l'utilisation d'une alimentation industrielle de qualité qui puissent répondre à deux exigences principales à savoir la couverture suffisante des animaux et un effet bénéfique sur la santé animale .Cet état de fait a contraint l'utilisation des antibiotiques comme facteurs de croissance. Les antibiotiques comptent parmi les additifs les plus utilisés pour améliorer l'indice de consommation, la vitesse de croissance et augmenter par conséquence la productivité et la rentabilité des élevages avicoles. Cependant, ils ont favorisé l'apparition de résidus d'antibiotiques dans la chaîne alimentaire, un nombre important de souches bactériennes résistantes d'origine animale (Ungemach et *al.*, 2006 et Aggad et al. ,2010) et des réactions allergiques chez le consommateur, ainsi que des échecs de traitements aux antibiotiques chez l'homme (Corpet, 1996 ; Mathlouthi et al., 2002).

Il est utile de rappeler que dans les années cinquante, on s'est rendu compte que l'administration de faible dose d'antibiotique dans l'alimentation animale donnait des résultats surprenants. Ces antibiotiques utilisés, depuis lors à doses subthérapeutiques, ont modifié la flore intestinale, stimulé la croissance des animaux et réduit leur taux de mortalité et de morbidité. Il faut cependant préciser que l'utilisation de ces antibiotiques est faite en

fonction de l'espèce, de l'âge de l'animal, et des conditions d'élevage. Ceci dit les produits de volaille constituent une source importante d'agents pathogènes qui peuvent passer dans la chaîne alimentaire. Un grand nombre d'espèces de bactéries potentiellement pathogènes pour l'homme est retrouvé sur la viande de volaille (Van Immerseel et al., 2002a ,2002b). La cause la plus importante d'infections humaines due à la consommation de denrées alimentaires d'origine avicole est Salmonella (Gomez et al., 1997). Des études épidémiologiques, comme celle menée en Irlande (Crilly et al., 2001), démontrent que la volaille constitue une source très importante, voire la plus importante, d'infection par les Salmonelles pour l'homme. Par ailleurs, à travers les différentes réactions d'oxydation, des changements organoleptiques apparaissent, perte de valeur nutritive et dans certains cas, la présence de substances toxiques (Azeredo et al 2004)]. Ces altérations seraient plus significatives dans le cas des produits élaborés à base de la viande fraîche (Djenane et al ,2006) ; Cette situation rend le consommateur vulnérable et exposé à des risques de santé publique. Ceci dit il est unanimement admis que les résidus d'antibiotiques sont retrouvés dans la viande et les œufs de poulet ; leur commercialisation ne peut avoir lieu qu'après un délai d'attente. Cette durée est fonction de la cinétique de dégradation de l'antibiotique dans l'organisme et de la préparation galénique dans laquelle il est inclus.

Le souci de maintenir un niveau satisfaisant de production et surtout de consommation exige la recherche de solutions non thérapeutiques de substitution aux antibiotiques en tant que facteurs de croissance devant être à la fois efficaces sur le plan zootechnique, sanitaire et économique. Parmi les additifs proposés, nous citons les enzymes, les acides organiques, les extraits des plantes naturelles, les probiotiques et les prébiotiques (Dorman et Deans, 2000). Les plantes et leurs constituants chimiques biologiquement actifs, parfois appelées métabolites secondaires bioactifs, présentent de nombreuses possibilités pour l'amélioration de la production animale par l'inclusion dans le régime alimentaire. Beaucoup de ces matériaux d'origine végétale sont à usage thérapeutique ; Cependant, leur potentiel en tant qu'additifs alimentaires dans la production animale, en particulier de la volaille, reste largement inexploité. Leurs effets dans la lutte contre les maladies ne sont pas encore bien établis. Les composés bioactifs végétaux semblent influencer les paramètres de production à travers la transformation des nutriments et aussi la qualité des produits. Il a été signalé qu'ils peuvent même reproduire certains effets de facteurs de croissance des antibiotiques interdits d'utilisation en Europe depuis 2006 (Wallace, 2010). Toutefois, l'apport de probiotiques dans l'alimentation du poulet montre une amélioration des performances de croissance, de rendement de carcasses et agit sur le taux

de lipides plasmatiques (Idoui et al ,2009) . cependant la classification d'un probiotique est stricte et organisée : elle dépend de son genre, de son espèce et de sa souche.

Cette classification est importante car les effets décrits dépendent de la souche et non de l'espèce ou du genre ( Laffargue,2015).

Pour répondre à la problématique posée, nous avons organisé ce travail en deux parties : Une partie bibliographique retraçant l'évolution et la place de l'aviculture en Algérie avec ses répercussions socio-économiques au vu de l'engouement des algériens aux viandes blanches et aux œufs ainsi qu'un aperçu sur l'utilisation des antibiotiques comme facteur de croissance en élevages aviaires, particulièrement le poulet de chair et l'utilisation des probiotiques comme alternative.

La partie expérimentale du présent travail s'articule sur trois parties, à savoir :

**Partie I : Une étude descriptive** basée sur deux enquêtes par questionnaire :

1. Une enquête auprès des consommateurs qui vise à nous renseigner sur la place de la viande de poulet dans la ration alimentaire.
2. Une enquête auprès des praticiens vétérinaires qui vise à nous renseigner sur la gestion et l'utilisation des antibiotiques en élevages aviaires, particulièrement, le poulet de chair.

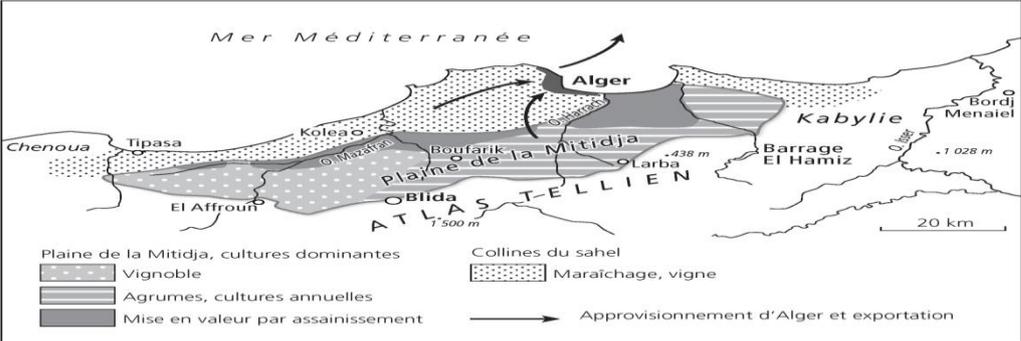
**Partie II : Une étude analytique** portant sur la recherche des résidus d'antibiotiques<sup>1</sup> dans la viande et les œufs (crus et cuits) et l'effet de la température<sup>2</sup> sur la molécule d'antibiotique.

1. La recherche de résidus d'antibiotiques dans la viande (cru et cuite) et les œufs
2. L'étude de l'effet de la température sur la molécule d'antibiotique.

**Partie III : Un essai expérimental** d'utilisation des probiotiques comme alternative aux antibiotiques.

**NB Localisation Géographique de la Mitidja.**

La plaine de la Mitidja est une vaste plaine qui couvre une superficie de 1450 km<sup>2</sup> avec une longueur moyenne de 100 km et une largeur moyenne de 14 km. Elle est répartie entre les wilayates d'Alger, Blida, Tipaza et Boumerdès. Elle est limitée au Sud par les piémonts de la chaîne montagneuse de l'Atlas de Blida et au Nord par le Sahel, bande accidentée de quelques kilomètres de large qui borde la mer méditerranée et sur laquelle se situe la ville d'Alger. La baie d'Alger, l'Est de la ville, incise le Sahel, et le divise ainsi en deux parties : le sahel Ouest et le sahel Est. Cette plaine est scindée en deux zones géographiques : la Mitidja Est et la Mitidja Ouest.



# **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

## **CHAPITRE I**

### **FILIERE AVICOLE EN ALGERIE**

## **I. 1. Evolution de l'aviculture en Algérie**

Au lendemain de l'indépendance (1962) et jusqu'à 1970, l'aviculture était essentiellement fermière sans organisation particulière. Les produits d'origine animale et particulièrement avicoles occupaient une place très modeste dans la structure de la ration alimentaire de l'Algérien. La production avicole ne couvrait qu'une faible partie de la consommation de l'ordre de 250 g/habitant/an de viande blanche. En effet, l'enquête nationale de 1966-67, a fait apparaître que la ration contenait 7,8 g/j de protéines animales et celle de 1979-1980 estimait 13,40 g/j de protéines animales dans la ration, ce qui se rapproche des recommandations de la FAO-OMS fixées pour les pays en voie de développement (76 g/j). Cette augmentation de l'apport protéique d'origine animale dans la ration est due essentiellement à l'intérêt accordé au développement de l'aviculture.

La période 1969 – 1979 constitua l'amorce du programme de développement des productions animales, dont l'aviculture. C'est à travers l'Office National des Aliments du Bétail (ONAB) qui fut créé en 1969 et qui avait pour missions : la fabrication des aliments du bétail, la régulation du marché des viandes rouges et le développement de l'élevage avicole (Djezzar, 2008)

A partir de 1974, il y a eu création de six coopératives avicoles de Wilaya qui devaient assurer : la distribution des facteurs de production, le suivi technique des producteurs et l'appui technique et la vulgarisation des aviculteurs. Malheureusement, ces coopératives n'ont pu jouer pleinement le rôle qui leur fut attribué en raison du manque de cadres spécialisés en aviculture et de moyens matériels. Ces structures avaient été mises en place grâce à des initiatives locales et n'avaient de ce fait pas reçu tout le financement et l'encadrement nécessaires (Fenardji, 1990). La production avicole était assurée par le secteur étatique (offices et coopératives) et le secteur privé (éleveurs) couvrait, à lui seul, 75% et 55% des besoins nationaux, respectivement, en poulets de chair et oeufs de consommation (Fenardji, 1990).

Au cours de la décade 1980-1990, les filières avicoles ont connu un développement considérable en relation avec les politiques avicoles incitatives mises en œuvre. A l'origine, leur mise en place a reposé sur une approche volontariste de l'état qui a opté pour le développement d'une production avicole intensive. La mise en œuvre de cette politique a été confiée dès 1970 à l'ONAB et depuis 1980 aux offices publics issus de la restructuration de

ce dernier (ONAB, ORAC, ORAVIO, ORAVIE). Ce processus a mis, certes, fin aux importations de produits finis mais a accentué le recours aux marchés mondiaux pour l'approvisionnement des entreprises en intrants industriels (input alimentaires, poussins reproducteurs, produits vétérinaires, équipements) (Ferrah, 2005).

La période 1990 – 2000 fût caractérisée par la mise en œuvre de réformes économiques dans le sens du passage d'une économie planifiée à une économie de marché. Au plan des structures, la filière avicole a connu, depuis 1997, une restructuration profonde dans le sens de l'émergence d'entreprises et de groupes intégrés (aliments de bétail, reproduction du matériel biologique, abattage). Une étape importante a été franchie dans ce sens avec l'intégration de l'ensemble des offices publics impliqués dans la production avicole au sein du holding public « Agroman » (sphère de décisions stratégiques) c'est ainsi que les unités de production des offices (ONAB et groupe avicoles) ont été érigés en filiales (EURL) sous l'égide de groupes industriels régionaux (GAO, GAE, GAC) dont l'actionnaire principal n'est autre que l'ONAB. Ce dernier exerce, en outre, les fonctions de centrale d'achat au profit des entreprises de la filière (Ferrah, 2005).

Depuis 2001, les entreprises publiques impliquées dans les filières avicoles font de nouveau l'objet d'une troisième restructuration orientée vers la concentration des actifs envisagés dans le cadre de l'application de l'ordonnance du 20 août 2001 relative à l'organisation, la gestion et la privatisation des entreprises publiques. Dans ce contexte les holdings publics ont été dissous et remplacés par des minis holding (société de gestion des participations) au pouvoir de décision fort limités. Par ailleurs, cette ordonnance a permis le regroupement des actifs publics en groupes industriels. Dans cette optique les entreprises publiques furent fusionnées pour donner naissance à des groupes industriels.

La nouvelle approche de l'Etat en matière de restructuration industrielle voit la création d'un conseil des participations de l'Etat (CPE) en remplacement du CNPE. Le CPE jouit de prérogatives plus importantes puisqu'il récupère les attributions des holdings et du CNPE en matière de privatisation (Ferrah, 2005). La filière avicole algérienne a atteint un stade de développement qui lui confère désormais une place de choix dans l'économie nationale en général (1,1% du PIB national) et dans l'économie agricole (12 % du Produit agricole brut), en particulier (Kaci et Cheriet, 2013)

## I.2 Performances de la filière avicole

Le principal moteur de l'augmentation de la productivité du poulet standard a été la progression du potentiel génétique de croissance. La réduction concomitante de l'âge à l'abattage a été rendue possible grâce aux progrès de la nutrition (qui permettent de satisfaire les besoins des poulets à moindre coût), de la zootechnie et de la médecine vétérinaire (Beaumont, 2004). Lorsqu'on compare les performances enregistrées dans la production de poulet de chair, dans les pays industrialisés (notamment la France) avec celles de la norme des souches de poulet de chair utilisées, on constate qu'il n'y a pas de différence notable. Ainsi, et à titre d'exemple, pour ce qui est de la souche du poulet de chair Hubbard F15, les performances enregistrées dans ce pays sont très proches de celles de la norme de la souche. C'est ainsi qu'on note un poids moyen de l'ordre de 3400g au 56<sup>ème</sup> jour d'âge, un indice de consommation de l'ordre de 2,00 au même âge.

En Algérie la situation est différente, car les performances enregistrées dans cette production et pour la même souche (Hubbard F15 est la souche la plus utilisée) sont significativement inférieures à celles enregistrées dans les pays développés (France) et à celles de la norme de la souche. C'est ainsi qu'on note un poids moyen nettement plus faible, de l'ordre de 2900-3100 g au 60<sup>ème</sup> jour d'âge et un indice de consommation assez élevé, de l'ordre de 3,00 au même âge (Djezzar, 2008). Cet écart de production est dû éventuellement à plusieurs facteurs, dont les plus importants sont :

- **Facteurs liés à l'équipement (matériel) :** la quasi totalité des bâtiments avicoles (notamment ceux de la production chair) souffrent de sous équipement flagrant, ce qui retentit négativement sur les performances zootechniques enregistrées (poids moyens, gains de poids, indice de consommation, etc.). Ainsi, on rencontre à titre d'exemple des élevages mal conçus, un matériel (mangeoire et/ou abreuvoir, etc.) incompatible avec l'âge des animaux ou même parfois au type de la production, un matériel insuffisant par rapport à la taille de l'élevage.
- **Facteurs liés à l'homme :** Le manque de techniciens spécialisés et qualifiés dans ce domaine de l'aviculture, pour gérer les ateliers avicoles, influe négativement sur le niveau des performances, particulièrement par le fait d'une mauvaise maîtrise de l'hygiène et du microbisme à l'intérieur des élevages.
- **Facteurs liés à l'alimentation :** L'alimentation s'avère parmi les problèmes majeurs qui compromettent les performances souhaitées dans la production de poulet de chair. Cela est le résultat de plusieurs problèmes dont les plus importants sont :

- Mauvaise qualité (valeur nutritive et/ou problèmes de mycotoxines, etc.) des matières premières utilisées dans l'aliment de volaille (importées de plusieurs pays).
- Manque d'une maîtrise réelle de la formulation des aliments de volailles, par les usines qui les fabriquent. Ce faisant, les besoins des poulets ne sont pas totalement satisfaits (Djezzar, 2008).

## **I.2-Alimentation en Aviculture**

En Algérie, les rations destinées à la volaille sont essentiellement composées de tourteau de soja et de maïs, matières premières totalement importées. Selon l'office national du bétail, en 2003, ces importations ont été de l'ordre de 516 072 tonnes de maïs et 175 015 tonnes de tourteau de soja. Pour le seul poste «matières premières» destinées à la fabrication des aliments, et seulement pour les deux matières dominantes dans la formule, à savoir le maïs et le soja, la valeur des importations enregistrée en 2010 est de l'ordre de 1,080 milliards de dollars US, soit 13% du total des importations agroalimentaires algériennes, estimées à 8,614 milliards de dollars en 2010. (CNIS,2011 ;Kaci et Cheriet,2013). Cette situation entraîne un coût élevé de l'aliment et la substitution partielle de ces deux matières. Dans cette optique, le son de blé est devenu un des composants classique des rations destinées à la volaille (Boudouma ,(2007).

La flore digestive peut être modifiée par le type de céréales, en particulier la présence de polysaccharides non amyliques hydrosolubles, ou par leur mode de présentation. Ainsi, Mathlouti *et al* (2002) observent une augmentation des populations bactériennes anaérobies facultatives, dont les lactobacilles et les coliformes, avec un régime à base de blé et d'orge au lieu de maïs. La consommation d'un régime contenant du blé sous forme de graines entières par rapport à du blé broyé entraîne une modification de la flore (Apajalahti *et al* 2001, Gabriel *et al* 2003, Engberg *et al* 2004). La granulation de l'aliment, entraîne d'après Engberg *et al* (2002) une augmentation des coliformes et des entérocoques dans l'iléon, ainsi qu'une baisse de *Clostridium perfringens* et des lactobacilles en fin de tube digestif (caeca et rectum). De même, l'origine des matières grasses (Knarreborg *et al* 2002), de l'amidon (Weurding 2002) ou des protéines (Jansman *et al* 2003) peut modifier la flore. Les minéraux et vitamines peuvent avoir un effet sur la flore. Ainsi, Orban *et al* (1997) ont observé une augmentation des bifidobactéries avec un apport doublé en oligo-minéraux et vitamines (1% au lieu de 0,5%).



# **CHAPITRE II**

## **LES ANTIBIOTIQUES (usage thérapeutique)**

## **II- LES ANTIBIOTIQUES**

Les antibiotiques biologiques sont produits par des micro-organismes (bactéries, champignons) et sont dirigés « contre la vie » des bactéries mais aussi des champignons ou des cellules humaines, alors que les agents chimiothérapeutiques proviennent d'une synthèse chimique. Cette distinction n'est aujourd'hui plus utilisée dans le langage courant (Lüllmann *et al.*, 2001).

### **II.1. Définition et caractéristiques**

Un antibiotique est une substance chimique naturelle produite par un micro-organisme qui, à faible concentration, a le pouvoir d'inhiber la croissance ou de détruire certaines bactéries ou d'autres micro-organismes.

Cette définition implique une origine strictement naturelle des antibiotiques : la majorité des antibiotiques sont en effet produits par les moisissures (champignons inférieurs). Elle exclut donc les composés artificiels de synthèse que l'on regroupe en général sous le terme d'antibiotiques de synthèse ; néanmoins, si au départ, tous les antibiotiques sont des substances naturelles, de nombreux « dérivés de semi-synthèse » ont été obtenus par modification des composés initiaux.

D'après cette définition, l'action d'un antibiotique peut :

- Soit inhiber la croissance, la multiplication des bactéries : effet bactériostatique.
- Soit de détruire les bactéries : effet bactéricide (Fontaine, 1992).

Selon qu'une substance est capable d'atteindre seulement un petit nombre ou bien de très nombreuses espèces bactériennes, on parlera donc d'un antibiotique à spectre étroit (par ex. pénicilline G) ou bien à spectre large (ex. tétracycline) (Lüllmann *et al.*, 2001).

Donc l'Antibiotique toute substance naturelle d'origine biologique élaborée par un organisme vivant, substance chimique produite par synthèse ou substance semi synthétique obtenue par modification chimique d'une molécule de base naturelle ayant les propriétés suivantes :

- Activité antibactérienne
- Activité en milieu organique
- Une bonne absorption et bonne diffusion dans l'organisme (Poyart ,2006)

### **II.2. Antibiotiques les plus utilisés en aviculture**

Les antibiotiques, en fonction de leur structure chimique, sont regroupés en plusieurs grandes familles.

### **II.2.1. Les Béta-lactamines**

Les bêta-lactamines constituent la famille la plus diversifiée et la plus importante parmi les antibiotiques, caractérisée par une activité bactéricide, avec un spectre d'activité d'étendue variable, centré sur les germes à Gram positif, de très faibles toxicité mais à pouvoir allergène assez marqué (Fontaine, 1992).

#### **II.2.1.1. Les pénicillines**

La plupart des pénicillines sont des dérivés de l'acide 6-amino-pénicillanique et ne diffèrent l'une de l'autre que par la chaîne latérale fixée au groupe aminé. Le mécanisme d'action des pénicillines n'est pas encore entièrement élucidé. Leur structure ressemble à celle de la D-alanyl-D-alanine terminale présente à l'extrémité de la chaîne peptidique de la sous-unité du peptidoglycane. On a émis l'hypothèse que les pénicillines inhibent l'enzyme catalysent la réaction de transpéptidation (en raison de la similarité présenté ci-dessus) ce qui bloquerait la synthèse d'un peptidoglycane complet, totalement ponté et conduirait à une lyse osmotique. Le mécanisme est en accord avec l'observation selon laquelle les pénicillines n'agissent que sur les bactéries en voie de croissance rapide et de synthèse du peptidoglycane. On a découvert, également, que les pénicillines se fixent sur plusieurs protéines liant la pénicilline et peuvent détruire les bactéries en activant leurs propre enzymes autolytiques. Les pénicillines diffèrent l'une de l'autre de diverses manières :

- **Les pénicillines du groupe G**

La pénicilline G est efficace contre les gonocoques, les méningocoques et certaines bactéries Gram positifs telles que les streptocoques et les staphylocoques mais elle doit être administrée par voie car elle est détruite par l'acide stomacale. La pénicilline V est similaire à la pénicilline G mais elle est plus résistante à l'acide et peut être donnée par voie orale (Bacq-Calberg *et al*, 1995).

Chez le poulet et le dindon, la demi-vie d'élimination ( $T_{1/2B}$ ) de la pénicilline G est d'environ 0,5 h après une administration IV et IM. La  $T_{1/2B}$  de la pénicilline procaines est de 5,8 h chez le dindon (Brugère, 1992).

- **Les pénicillines du groupe A**

- **L'ampicilline :**

Elle a un spectre d'activité plus large puisqu'elle est active contre les bactéries à Gram négatif telles que Haemophilus, Salmonella et Shigella. Chez le poulet, la concentration thérapeutique est située dans l'intervalle 0,5-2,5 mg/l, c'est une dose 2 à 8 fois supérieure à celle des mammifères. De plus, par voie orale, l'ampicilline est très peu absorbée, et il est pratiquement impossible d'atteindre le niveau thérapeutique.

○ **L'amoxicilline :**

Elle a une demi-vie un peu plus longue que celle de l'ampicilline (0,75 h contre 0,65 h) chez le pigeon. Par voie orale, sa biodisponibilité est le double de celle de l'ampicilline (Brugère, 1992).

● **Les pénicillines du groupe M**

Elles sont nettement plus actives que la pénicilline G sur de nombreuses souches de staphylocoques devenues résistantes aux autres bêta-lactamines, par sécrétion de bêta-lactamases (résistance importante aux bêta-lactamases des staphylocoques résistants), mais résistantes également, à d'autres antibiotiques comme les tétracyclines, cloramphénicol, etc (Fontaine, 1992 ; Bacq-Calberg *et al*, 1995).

**II.2.1.2. Les céphalosporines**

Les céphalosporines sont une famille d'antibiotiques dont le premier, produit par un mycète du genre Cephalosporium, fut isolé en 1948. Ces molécules possèdent un cycle bêta-lactame comme les pénicillines. En raison de similarité structurale, les céphalosporines agissent comme les pénicillines en inhibant la réaction de transpeptidation pendant la synthèse du peptidoglycane (Bacq-Calberg *et al*, 1995 ; Lüllmann *et al.*, 2001).

Ce sont des agents à large spectre (plus large que celui des pénicillines) (Fontaine, 1992 ; Bacq-Calberg *et al*, 1995). Il y a trois groupes ou générations de ces antibiotiques différant par leur spectre d'activité :

- Les céphalosporines de première génération, sont plus efficaces contre les bactéries Gram positives que contre les Gram négatives.
- Les céphalosporines de seconde génération, agissent contre de nombreuses bactéries Gram négatives et Gram positives.
- Les céphalosporines de troisième génération, sont particulièrement efficaces contre les bactéries Gram négatives.

Les céphalosporines présentent une brève durée de vie (0,3 h chez la caille, 0,6 h chez le canard après IM). Leur concentration thérapeutique occupe une large marge, de 0,004 à

16mg/ml. La plus intéressante des céphalosporines par sa faible toxicité et son activité antibactérienne est la céphalosporine C, à partir de laquelle ont été obtenus par semi-synthèse, les dérivés utilisés en thérapeutique : la céfalotine, céfaléxine, et la céfaloridine (Fontaine, 1992 ; Brugère, 1992).

Les céphalosporines sont résistantes à la pénicillinase ; mais il existe des germes synthétisant des céphalosporinases. Quelques dérivés sont cependant insensibles aussi à cette bêta-lactamase (Lüllmann *et al.*, 2001).

### **II.2.2. Les tétracyclines**

Les tétracyclines constituent une famille d'antibiotiques très homogènes, caractérisée par une activité bactériostatique à spectre très large (actifs contre les bactéries Gram négatives, Gram positive, les rickettsies, les chlamydiae et les mycoplasmes) et par une excellente fixation tissulaire : la distribution se fait préférentiellement dans le rein, et qu'une fraction notable (environ 10 %) est éliminée par la bile. Chez le poulet la demi-vie d'élimination de la tétracycline est de l'ordre de 2,77 h après une administration veineuse. (Fontaine, 1992 ; Brugère, 1992 ; Bacq-Calberg *et al.*, 1995). Elles se caractérisent par la présence dans leur structure de 4 cycles juxtaposés sur lesquels sont fixées diverses chaînes latérales (Bacq-Calberg *et al.*, 1995). Ces antibiotiques la synthèse protéique en se fixant sur la petite sous-unité (30S) du ribosome et inhibent la fixation des molécules d'aminoacyl-ARNt sur le site A du ribosome. Donc les tetracyclines sont bactériostatique elle arrête la prolifération bactérienne en se liant au ribosome bactérien et en inhibant la synthèse des protéines (**Gilbert D., 2013**). Du fait que leur action n'est que bactériostatique, l'efficacité du traitement dépend de la résistance active de l'hôte à l'agent pathogène. On peut y distinguer 3 groupes : les aminosides, les macrolides et les quinolones.

### **II.2.3. Les aminosides**

Les aminosides sont des antibiotiques à caractères ionisés doués d'une puissante activité bactéricide et tendent à être plus actifs contre les bactéries Gram négatives (Fontaine, 1992 ; Bacq-Calberg *et al.*, 1995). Comme leur nom indique, ces antibiotiques sont formés d'oses (ou

sucres) aminés (à fonction NH<sub>2</sub> basiques). Ces composés ont donc extrêmement polaires et traversent mal les membranes (Lüllmann *et al.*, 2001).

La streptomycine, la kanamycine, la néomycine, et la tobramycine sont synthétisées par des streptomycètes, alors que la gentamicine, provient d'une bactérie apparentée : *Micromonospora purpura*. Les aminosides se fixent sur la petite sous-unité ribosomiale et interfèrent avec la synthèse protéique de deux façons au moins :

- Inhibent directement la synthèse protéique.
- Provoque, également, des erreurs de lecture du message génétique porté par ARNm (Bacq-Calberg *et al.*, 1995).

Les aminosides ont une action bactéricide. Le point fort de leur spectre d'action porte sur les bactéries Gram négatives. Streptomycine et kanamycine servent principalement au traitement de la tuberculose (Lüllmann *et al.*, 2001).

Les aminosides sont assez toxiques et peuvent entraîner une surdité (particulièrement chez le chat), des dommages rénaux, des pertes d'équilibre, des nausées et des réactions allergiques. Ils ne sont envisagés que par voie parentérale (car ils sont peu ou pas absorbés per os) (Brugère, 1992 ; Bacq-Calberg *et al.*, 1995). Deux groupes peuvent être distingués à la fois sur le plan chimique et sur le plan biologique et toxicologique.

#### **II.2.4. Les macrolides**

Les macrolides sont en aviculture synonymes de traitements de maladie respiratoire chronique. Leur caractéristique pharmacocinétique la plus intéressante est l'importante fixation dans les tissus et dans certains liquides biologiques, notamment pour la spiramycine. Les macrolides ont un grand cycle lactone de 12 à 22 carbones associés à un ou plusieurs sucres (Fontaine, 1992 ; Brugère, 1992 ; Bacq-Calberg *et al.*, 1995).

Le spectre d'activité des macrolides est en générale relativement peu large, portant sur les germes Gram positifs et les mycoplasmes.

##### **II.2.4.1. L'érythromycine**

Le macrolide le plus fréquemment employé, est synthétisée par *Streptomyces erythraeus*. Elle est habituellement bactériostatique et se fixe sur l'ARNr23S de la sous-unité 50S du ribosome pour inhiber l'élongation de la chaîne peptidique pendant la synthèse protéique (Bacq-Calberg *et al.*, 1995). Elle a une courte demi-vie chez le pigeon, environ 0,9 h, mais son apport par

voie orale donne lieu une grande irrégularité de l'absorption qui ne permet pas d'obtenir un taux thérapeutique suffisant (Brugère, 1992).

L'érythromycine est un antibiotique à spectre relativement large, efficace contre les bactéries Gram positives, les mycoplasmes et quelques micro-organismes Gram négatifs (Bacq-Calberg *et al*, 1995).

#### **II.2.4.2. La tylosine**

Antibiotique spécifiquement vétérinaire, extrait de la culture de *Streptomyces fradiae*. C'est un macrolide de courte demi-vie. Après injection, les teneurs tissulaires les plus fortes sont trouvées dans les reins et le foie. Dans la pathologie aviaire, cet antibiotique est utilisé dans les traitements et les préventions de la maladie respiratoire chronique des gallinacées, sinusite infectieuse du dindon, etc. (Fontaine, 1992 ; Brugère, 1992).

#### **II.2.4.3. La spiramycine**

Elle possède une forte fixation tissulaire, en particulier dans le poumon, assure une rémanence beaucoup plus longue, ce qui est un avantage dans le cas de traitements de longue durée, mais ceci au détriment de plus longs délais d'attente (Brugère, 1992).

### **II.2. 5.Les quinolones**

Les quinolones forment une famille d'antibactériens de synthèse présentant en commun :

- Sur le plan physico-chimique, une structure hétérocyclique N-éthyl pyridone à fonction acide carboxilique.
- Sur le plan pharmacologique, une activité bactéricide. Elles sont caractérisées, également, par une toxicité relativement faible (Fontaine, 1992).

Les quinolones sont classées en 3 générations selon la chronologie de leur découverte et selon activité antibactérienne :

- Les quinolones de première génération sont représentées par l'acide nalidixique et l'acide oxolinique.
- Les quinolones de deuxième génération ou fluoroquinolones (le substituant R6 est un atome de fluor), sont représentées principalement par la fluméquine.
- Les quinolones de troisième génération, qui sont aussi de fluoroquinolones sont représentées par l'enrofloxacin, la marbofloxacin, la danofloxacin, la difloxacin en médecine vétérinaire. D'autres molécules ne sont utilisées qu'en médecine humaine comme la péfloxacin, la norfloxacin, etc.

Les quinolones agissent en inhibant l'ADN-gyrase bactérienne ou topoisomérase II. Cette enzyme provoque des torsions négatives de l'ADN et facilite la séparation des chaînes. L'inhibition de l'ADN-gyrase perturbe la réplication et la réparation de l'ADN, la transcription, la séparation du chromosome bactérien durant la division et d'autres processus cellulaires impliquant l'ADN (Bacq-Calberg *et al*, 1995).

Les quinolones sont des antibiotiques à large spectre. Elles sont très efficaces contre les bactéries Gram négatives comme *E coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus*, *Neisseria*, *Pseudomonas aeruginosa*. Les quinolones sont également actives contre les bactéries Gram positives telles que *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, etc. Elles sont efficaces lorsqu'elles sont administrées par voie orale (Fontaine, 1992 ; Bacq-Calberg *et al*, 1995).

### **II.2. 6. Le chloramphénicol**

C'est un antibiotique de la famille des phénicolés. Obtenu initialement à partir des moisissures du genre *Streptomyces venezuelae*, préparé actuellement par synthèse chimique. La structure chimique du chloramphénicol est simple, caractérisée par un groupement nitro-benzénique. Comme l'érythromycine, le chloramphénicol se fixe à l'ARNR 23S sur la sous-unité 50S du ribosome. Il inhibe la peptidyltransférase avec un effet bactériostatique. (Bacq-Calberg *et al*, 1995 ; Lüllmann *et al.*, 2001).

Cet antibiotique a un large spectre d'action (actif contre les salmonelles, les pasteurelles, et les coliformes) mais malheureusement il est assez toxique. Il induit des réactions allergiques ou neurotoxiques. L'effet secondaire le plus fréquent est abaissement temporaire ou permanent de la fonction de moelle osseuse, conduisant à une anémie aplasique et à une réduction du nombre des leucocytes sanguins. Il n'est plus utilisé en médecine humaine du fait de cette toxicité (Fontaine, 1992 ; Bacq-Calberg *et al*, 1995).

### **II.2. 7. Les antibiotiques polypeptidiques**

Les antibiotiques polypeptidiques sont formés d'acides aminés particuliers reliés par des liaisons peptidiques, formant de grosses molécules. On peut les regrouper en deux grandes séries très distinctes, tant par leur structure que par leurs propriétés biologiques :

- Les polypeptides à spectre d'activité Gram positif agissent en perturbant la synthèse de la paroi bactérienne. Ils ne sont pas utilisés par voie générale car trop toxique : la Bacitracine et la Tyrothricine.

- Les polypeptides à spectre d'activité Gram négatif agissent sur la membrane cytoplasmique en la désorganisant. Ils sont utilisés par voie générale bien que relativement toxiques : la Polymyxine et la Colistine.

### **II.2. 8. Les sulfamides**

Les sulfamides constituent le groupe d'antibactériens le plus ancien : ils sont apparus en thérapeutique avant la pénicilline (en 1935), à la suite de travaux sur des colorants dérivés de l'alanine (Heskia, 2004). Ce sont des composés organiques de synthèse caractérisés par la fonction sulfonamide (Fontaine, 1992).

Ils sont doués d'une activité antibiotique bactériostatique à spectre large dirigée aussi contre les bactéries à Gram positif (staphylocoques, streptocoques, clostridium) qu'à Gram négatif (pasteurella, salmonella, *E coli*), ainsi que des propriétés anticoccidiennes, intérêt particulier dans le traitement de l'entérite nécrotique due à *Clostridium perfringens* (Bacq-Calberg *et al*, 1995).

Les sulfamides agissent sur le métabolisme de l'acide folique et bloquent la synthèse des acides foliques, précurseurs de co-enzymes indispensables à la synthèse des acides nucléiques. En raison d'une similitude structurale avec l'acide para-amino-benzoïque (PAB), élément de base dans la synthèse de l'acide déhydrofolique (DHF) par les bactéries. Les sulfonamides, en tant que faux substrat, bloquent de façon compétitive la transformation du PAB et inhibent la synthèse de DHF. Comme la plupart des bactéries ne peuvent pas capter l'acide folique du milieu environnant, elles s'appauvrissent en DHF (Lüllmann *et al.*, 2001).

La plupart des sulfonamides sont bien absorbés par voie orale. Ils seront métabolisés en proportions variables et éliminés par les reins. La vitesse d'élimination ainsi que la durée d'action peuvent varier de façon importante. Cependant, il faut noter que seule la sulfaguanidine et des dérivés mixtes sont mal absorbés, parce qu'ils sont ionisés dans l'estomac (Lüllmann *et al.*, 2001 ; Heskia, 2004). Les sulfamides, plus particulièrement les formes hétérocycliques ont une activité anticoccidienne. Ils sont coccidicides à partir du stade schizontes de 2<sup>ème</sup> génération (Heskia, 2004).

### **II.2. 9. Les nitrofuranes**

Composés organiques de synthèse caractérisés sur le plan chimique par une structure hétérocyclique dérivée des furanes et doués de propriétés anti-microbiennes (agissent sur les Gram négatifs) et anti-coccidiennes.

Les principaux dérivés utilisés sont les suivants : le Nitrofurantoin, le Furazolidone, le Furaltidone, le Nitrofurantoin et le Nifurpirinol. Les nitrofuranes provoquent assez régulièrement des intoxications graves, notamment, chez les veaux (Fontaine, 1992).

### **II.3-Conséquences de leur utilisation, LMR et non respect des délais d'attente**

Au cours de leur vie, les animaux doivent être traités avec des médicaments destinés à prévenir ou à guérir certaines maladies. Il arrive que les résidus de ces médicaments, notamment, les antibiotiques aboutissent dans des produits alimentaires (viande, lait, œufs, etc.) provenant d'animaux producteurs d'aliments tels que ; bovins, porcins, volailles et poissons (Chataigner et Stevens, 2002).

Le non respect du délai d'attente aura comme conséquence la présence des résidus dans les denrées alimentaires d'origines animales. Potentiellement toxiques, ces résidus sont évidemment indésirables dans l'alimentation humaine (Eurin, 2008).

La législation actuelle a conduit depuis le 1er janvier 1997, à la définition des Limites Maximales de Résidus (LMR), et toute utilisation d'antibiotiques thérapeutiques en dépend (temps d'utilisation, période d'arrêt de traitement avant l'envoi de l'animal à l'abattoir). Des antibiotiques pour lesquels aucune LMR n'était acceptable ont été retirés par décision européenne. C'est le cas du chloramphénicol et des nitro-imidazoles (Devie, 2006 ; Gatermann et Silke, 2007).

#### **II.3.1-Risques attribués à la présence des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale**

Les risques attribués à la présence des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origines animale (particulièrement les viandes), dépendent de deux facteurs :

- 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 métabolite peut être augmentée ou diminuée par rapport à celle de la molécule d'origine.
- 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).

Ils sont classés en trois catégories : Le risque de toxicité directe, le risque allergique et le risque bactériologique.

##### **II.3.1.1. Risque de toxicité directe**

Il est provoqué par le médicament lui-même ou l'un de ses métabolites lors d'un contact unique. Les manifestations de cette toxicité dépendent de la dose administrée et de la voie d'administration. Ce risque est inexistant en ce qui concerne les résidus d'antibiotiques dans le lait car les quantités retrouvées dans le lait sont toujours trop faibles (Labie, 1981 ; Gaudin, 1999). Il faut, cependant, faire une exception pour le chloramphénicol, car la littérature médicale comprend quelques rares observations d'accidents d'anémie grave par aplasie médullaire, à la suite de traitements médicaux par de faibles doses de cet antibiotique, pendant un temps bref (Labie, 1981). Toutefois, depuis l'interdiction en 1994 du chloramphénicol chez les animaux producteurs de denrées alimentaires, ce risque est désormais exclu. Les nitrofuranes sont soupçonnés de foetotoxicité, ainsi que certains sulfamides à forte dose. ces molécules passent dans le lait maternel, et sont toxiques pour les nourrissons de moins d'un mois (Wal, 1979).

### **II.3.1.2- Risque allergique**

Les résidus antibiotiques utilisés en thérapeutique animale sont parfois incriminés en allergologie humaine. Les antibiotiques le plus souvent incriminés sont les pénicillines, suivis des sulfamides et, dans une moindre mesure les tétracyclines et la spiramycine.

Pour qu'une allergie se déclare, il faut que l'organisme ait été en contact au moins deux fois avec l'allergène. Un premier contact sensibilisant, généralement asymptomatique, permettant à l'organisme de reconnaître l'allergène, et un deuxième contact déclenchant qui va provoquer la crise allergique, et ce pour des doses d'allergène même très inférieures à celles ayant provoqué la sensibilisation (Gaudin, 1999 ; Form, 2003).

Toutefois, les antibiotiques qui sont administrés par voie orale, subissent des modifications qui tendent à diminuer leur pouvoir allergène ; c'est le cas des résidus de pénicilline en particuliers, qui forme 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 immunogènes puissent être formés (Wal, 1979 ; Dewdney *et al.*, 1991).

### **II.3.1.3. Risque bactériologique**

Il peut être attribué à deux phénomènes :

- la modification de la flore digestive humaine pouvant entraîner des troubles et une symptomatologie indésirables : Des études *in vivo* sur des modèles animaux visant à évaluer les effets de doses thérapeutiques et de résidus de tétracyclines sur la flore

intestinale humaine ont mis en évidence les modifications engendrées sur la flore intestinale. (Poul, 2000).

- La sélection chez l'homme de souches de germes pathogènes résistantes à ces antibiotiques (Gaudin, 1999).

**CHAPITRE III**  
**LES ANTIBIOTIQUES FACTEURS DE**  
**CROISSANCE**

### **III-1. Utilisation des antibiotiques facteurs de croissance**

Chez les animaux d'élevage, l'utilisation des antibiotiques en tant que facteurs de croissance (AFCs) a débuté dans les années 1940. L'effet promoteur de croissance de ces produits a été découvert chez les poulets peu après l'introduction des antibiotiques à usage thérapeutique. Les travaux de Moore et al., (1946) ont permis de mettre en évidence l'effet promoteur de croissance chez les poulets où des antibiotiques (sulfonamides et streptomycine) ont été utilisés pour stériliser le tractus gastro-intestinal, alors que ceux de Luecke (1950) ont montré le même effet chez les porcs nourris avec des déchets fermentaires de la production d'oxytétracycline par *Streptomyces aureofaciens*.

L'utilisation des antibiotiques comme additifs alimentaires sans prescription vétérinaire fut approuvée par l'administration américaine des denrées alimentaires et des médicaments (United States Food and Drug Administration) en 1951 (Jones et Ricke, 2003) alors qu'en Europe, il a fallu attendre les années 1950 et 1960. A partir de cette époque, l'utilisation de plusieurs antibiotiques comme promoteurs de croissance est devenue courante en production animale, en particulier dans les élevages intensifs.

### **III-2. Mode d'action**

D'après l'Office National de Santé Vétérinaire de Londres, les AFCs sont utilisés pour aider les animaux en cours de croissance à digérer leur nourriture de façon plus efficace, à en tirer le maximum de bénéfices et à rester en pleine santé, non pas comme stimulateurs d'appétit (House-of-Lords, 1998). Les AFCs, utilisés à des concentrations largement inférieures à celles utilisées en thérapeutique, permettent une digestion des nutriments plus efficace, diminuant ainsi la quantité d'aliment nécessaire à l'engraissement des animaux (Samanidou et Evaggelopoulou, 2008). Ceci constitue la principale raison pour laquelle les AFCs ont été largement utilisés en élevage intensif. De plus, l'efficacité des AFCs est d'autant plus importante dans des conditions où le risque d'infection est plus élevé, à des âges particuliers, lors d'un changement d'alimentation ou encore dans certaines conditions d'élevage peu hygiéniques (Page, 2006).

Le mode d'action des antibiotiques comme facteurs de croissance n'est pas encore précisément connu à ce jour. Ils affecteraient l'activité métabolique de certains microorganismes intestinaux, ou entraîneraient un changement de l'équilibre de l'écosystème intestinal (Samanidou et Evaggelopoulou, 2008). Cette hypothèse repose sur le fait que la microflore intestinale aurait un impact négatif sur la croissance animale, directement ou indirectement, et que le mécanisme des AFCs dépendrait de leurs propriétés antibactériennes.

De plus, le fait que les AFCs n'aient pas d'effet chez des poulets axéniques conforte cette idée (Coates et al., 1963). Collier et al. (2003) ont également montré en 2003 que des traitements aux AFCs entraînaient une réduction de la diversité des espèces ainsi qu'une réduction du nombre total de bactéries de la microflore intestinale de porcs castrés.

De nombreuses explications ont été avancées pour étayer l'action des AFCs (Dibner et Richards, 2005 ; Niewold, 2007 ; Page, 2006 ; Samanidou et Evaggelopoulou, 2008). Dans les paragraphes qui suivent, nous ne rapporterons que les cinq principales hypothèses.

### **III-2.1 Diminution de la prévalence des infections endémiques sub-cliniques**

L'utilisation des AFCs permettrait l'inhibition des infections endémiques sub-cliniques et par là même réduirait les coûts métaboliques du système immunitaire. En effet, la multiplication de certaines bactéries pathogènes dans l'intestin des animaux est inhibée par les antibiotiques promoteurs de croissance. Ces bactéries ne provoqueraient pas forcément de maladie apparente, mais simplement un ralentissement de la croissance. Il a en effet été démontré que les AFCs sont plus efficaces dans de mauvaises conditions d'hygiène. Par exemple, pour l'élevage de poulet, il est établi que la croissance des animaux est meilleure dans un bâtiment d'élevage neuf ou très propre que dans un bâtiment ancien non nettoyé et donc source d'infections et il a été montré que l'administration d'antibiotiques à faible dose restaure la croissance optimale des poulets des bâtiments considérés « sales » (Coates et Fuller, 1977 ; Fuller et al., 1979). Les travaux de Fuller et al (1983 et 1984) ont montré ce type de mécanisme chez le poulet où le pathogène *Streptococcus faecium* provoque une dépression de croissance transitoire, laquelle est annulée par apport de suppléments de pénicilline.

Les additifs antibiotiques peuvent aussi contrôler de réelles pathologies intestinales, même aux faibles doses utilisées (20-60 ppm). Ainsi, l'entérite nécrotique des volailles due à *Clostridium perfringens* est réprimée par la pénicilline à faible dose (Powell et al., 1974), et par l'avoparcine, l'avilamycine, et le monensine (Elwinger et al., 1998). Un aliment supplémenté par 30 ppm de salinomycine prévient cette diarrhée (Kyriakis et al., 1995). Cependant, certains auteurs comme Niewold n'adhèrent pas à l'hypothèse d'un effet direct des AFCs sur la microflore, ils pensent que les AFCs ne peuvent pas inhiber les infections sub-cliniques dans la mesure où ils sont utilisés à des concentrations inférieures au MIC (Minimum Inhibitory Effect i.e. concentration minimale ayant un effet inhibiteur).

### **III-2.2 Réduction de la production de métabolites toxiques**

L'utilisation des AFCs permet de réduire la production microbienne de métabolites toxiques et donc les coûts énergétiques engendrés par la détoxification de l'organisme. En effet, les uréases bactériennes libèrent dans l'intestin de l'ammoniaque (Okumura et al., 1976), toxique pour les cellules de la muqueuse et pour l'organisme (Visek, 1978a). Le foie détoxifie l'ammoniaque en synthétisant de l'urée. Ce cycle est coûteux en énergie. Les travaux (in vitro et in vivo) de Visek (1964, 1978b) ont montré que les antibiotiques à faible dose inhibent fortement les uréases bactériennes, et donc le catabolisme de l'urée. Il est à noter que l'inhibition de l'uréase améliorerait la croissance des animaux autant que la supplémentation en antibiotiques.

Les antibiotiques à faible dose inhibent également le catabolisme des acides aminés par les bactéries. Il a notamment été observé que les antibiotiques les plus efficaces pour inhiber le catabolisme de l'arginine par du contenu cæcal de porc étaient également les plus efficaces sur les performances zootechniques du porc (Dierick et al., 1986a, 1986b).

### **III-2.3 Augmentation de la disponibilité des nutriments pour l'hôte**

Les AFCs réduiraient l'utilisation microbienne des nutriments entraînant une proportion plus importante disponible pour l'animal. Samanidou et Evaggelopoulou (2008) ont rapporté que 6% de l'énergie nette de l'alimentation des porcs est « perdue » à cause de la fermentation microbienne intestinale. Les antibiotiques augmentent donc la disponibilité des nutriments et de l'énergie pour l'animal (Vervaeke et al., 1978, 1979). Cet effet d'épargne est particulièrement net pour les acides aminés et se traduit par une amélioration de la rétention azotée (Dierick et al., 1978 ; Rerat, 1965). De plus, les antibiotiques à faible dose peuvent aussi inhiber dans l'intestin la fermentation des glucides, notamment la production d'acide lactique à partir du glucose (Nagaraja et al., 1987), laissant donc plus de glucose disponible pour l'animal.

Enfin, l'abaissement des concentrations intestinales d'ammoniaque et d'amines diminue le taux de renouvellement de l'épithélium intestinal (Visek, 1978a). Cette moindre prolifération épargne les nutriments nécessaires à la synthèse des protéines, des acides nucléiques et des lipides membranaires des cellules intestinales desquamées (Visek, 1978b).

### **III-2.4 Amélioration de l'absorption intestinale**

Les AFCs entraîneraient une diminution de l'épaisseur de la paroi intestinale et amélioreraient donc l'absorption et l'utilisation des nutriments pour l'animal. En effet, certains travaux

montrent que l'absorption des nutriments est améliorée chez les animaux recevant des antibiotiques comme facteurs de croissance (Decuyper et al., 1991). Ceci serait dû à l'augmentation de la surface d'absorption intestinale (i), à la diminution de l'épaisseur de la muqueuse (ii) et à la diminution de la vitesse du transit digestif (iii).

Les changements d'épaisseur résulteraient de la diminution de la prolifération de la muqueuse. Le ralentissement du transit digestif serait lié à la diminution de la concentration en acide lactique dans le contenu intestinal (Decuyper et al., 1991).

### **III-2.5 Inhibition de la réponse inflammatoire**

Selon Niewold (2007), les AFCs n'agissent pas sur la microflore et leur action n'est pas liée à leurs propriétés antibactériennes. En effet, tous les antibiotiques n'ont pas un effet promoteur de croissance alors qu'ils devraient tous avoir un effet sur le microbiote intestinal en tant qu'antibiotique. De plus, différentes classes d'antibiotiques ayant une action ciblée sur un type de microorganisme précis sont utilisés en tant qu'AFCs et ils ont tous le même effet de promotion de la croissance. Enfin, certains sont également utilisés chez une grande variété d'espèces animales ayant des microflore intestinales différentes et ils ont un effet similaire chez tous ces animaux.

L'hypothèse de Niewold repose sur un effet anti-inflammatoire des antibiotiques. Les AFCs seraient capables de s'accumuler dans les cellules inflammatoires pour atteindre des concentrations entre 10 et 100 fois supérieures à celles observées dans la lumière intestinale, entraînant alors une inhibition de la réponse inflammatoire. Cette inhibition entraînerait une diminution du nombre de cellules inflammatoires dans la muqueuse. Ce changement serait alors la cause de la réduction de l'épaisseur de la paroi intestinale et du ralentissement du catabolisme musculaire, permettant alors une meilleure utilisation de l'énergie fournie par les aliments. La modification du microbiote intestinal observée lors de l'utilisation des AFCs serait donc une conséquence de l'altération du statut immunitaire des animaux et non un effet direct des AFCs. Cette hypothèse est cependant beaucoup moins confirmée par la communauté scientifique que celle impliquant le microbiote intestinal.

### **III-3. Implication des AFCs dans l'apparition de résistances bactériennes aux antibiotiques**

Malgré tous les avantages apportés par les AFCs à l'industrie de production animale, en termes de santé, mais aussi d'économie, une conséquence inquiétante de l'utilisation de ces produits est apparue, dès les années 1950. En effet, les AFCs sont proches de ou identiques

aux antibiotiques utilisés en médecine humaine, comme les  $\beta$ -lactames, les tétracyclines, les sulphonamides, les macrolides, les lincosamides et les quinolones (Samanidou et Evaggelopoulou, 2008). Il est reconnu et établi que l'utilisation d'antibiotiques, à but thérapeutique, prophylactique ou en tant qu'additifs alimentaires, dans les différents écosystèmes (animaux, hommes) a conduit à la sélection de souches bactériennes résistantes, par élimination des souches sensibles (Davies, 1994 ; Levy, 1994). Ces souches résistantes apparaissent suite à des mutations dans leur ADN, leur conférant un gène de résistance. L'émergence de ces résistances est observée quel que soit l'antibiotique utilisé et quels que soient le mécanisme biochimique et le support génétique de la résistance (Bories et Louisot, 1998). Le transfert de ces résistances, des bactéries commensales ou bactéries pathogènes entraîne alors un problème sanitaire important. Bien que les antibiotiques utilisés en tant qu'additifs aient un pouvoir sélectionnant faible comparativement à certains antibiotiques utilisés en thérapeutique, il est prouvé que des réservoirs de résistance se constituent là où les antibiotiques sont utilisés en quantité importante et/ou en quantité plus faible mais de façon prolongée.

L'apparition de résistance bactérienne due à un AFC a été rapportée pour plusieurs autres antibiotiques : les macrolides (tylosine and spiramycine), l'avilamycine, la virginiamycine et la bacitracine (Aarestrup et al., 2000). Un exemple a été étudié plus en détails, celui des *Enterococcus faecium* glycolipide-résistants (GREF). Ces GREF ont tout d'abord été isolés dans les fèces de porcs et de poulets issus d'élevages utilisant de l'avoparcine, alors que l'espèce résistante n'était pas ou peu présente dans les élevages n'utilisant pas cet AFC (Klare et al., 1995b). Cette observation a démontré que l'utilisation de l'avoparcine (de type glycolipide) en tant qu'additif alimentaire entraîne la création d'un réservoir de GREF dans les élevages. De plus, la présence de GREF dans les carcasses de volailles et dans la viande de porc a démontré la possibilité de contamination des viandes à destination de l'alimentation humaine (Chadwick et al., 1996 ; Klare et al., 1995a ; Klare et al., 1995b). La transmission des GREF résistants aux humains a été confirmée (Klare et al., 1995a ; Schouten et Voss, 1997). Des résultats similaires ont été obtenus pour d'autres AFCs comme la virginiamycine avec les Entérocoques (DANMAP, 1998 ; Welton et al., 1998 ; Werner et al., 2000 ; Werner et al., 1998), ou la bacitracine avec les Streptocoques, les Enterocoques et les Staphylocoques (Everett et al., 1995 ; Stuart et Ferretti, 1978). Ces études démontrent bien toute l'importance de contrôler l'apparition de résistances bactériennes chez l'animal afin de limiter ensuite le transfert de ces résistances chez l'homme (Witte et al., 1999).

### **III-4. AFC et Réglementation**

Quoique l'association entre la résistance bactérienne et l'apport d'antibiotiques facteurs de croissance chez les poulets a été rapportée par Barnes en 1958 et Elliott et Barnes en 1959, la prise de conscience de l'impact du développement de résistances chez les pathogènes de l'homme a eu lieu dès 1969 grâce au rapport de Swann au parlement britannique (Swann-Committee, 1969). Ce rapport proposait des recommandations pour l'utilisation des AFCs afin de limiter les risques pour l'homme. L'utilisation des AFCs a ainsi été restreinte aux antibiotiques entraînant un impact économique significatif dans les élevages (i); n'ayant pas ou peu d'application comme agents thérapeutiques, chez l'homme comme chez l'animal (ii) et n'affaiblissant pas l'efficacité des médicaments thérapeutiques via le développement de souches résistantes (iii) (Butaye et al., 2003).

Ces critères furent ensuite repris par l'Union Européenne pour les protocoles d'obtention des autorisations de commercialisation des AFCs (Helmut et Bulling, 1985). Ainsi, les antibiotiques à large spectre n'ont plus été utilisés et à partir des années 1970, seuls les AFCs ayant un spectre d'activité envers les bactéries Gram-positives étaient autorisés. La totalité des AFC n'a pas été interdite à ce moment là car le possible transfert à l'homme des germes résistants à ces produits n'était pas démontré. La Suède avait cependant interdit l'utilisation de tout antibiotique comme additif alimentaire dans l'alimentation humaine ou animale dès 1986. La position politique européenne a changé lors de la découverte du transfert des GREF en 1993. Depuis cette date, un grand nombre d'interdictions, nationales ou européennes ont été mises en place. L'avoparcine a été interdite au Danemark (1995) et en Allemagne (1996). La spiramycine a été interdite en Finlande et la virginiamycine au Danemark (1998). A la suite de ces initiatives nationales, la directive européenne 97/6 annula l'autorisation d'utilisation de l'avoparcine en 1997 et la directive 2821/1998 interdit la spiramycine, la virginiamycine et la bacitracine en 1999. Début 2006, la totalité des antibiotiques fut interdite en Europe pour l'utilisation en tant qu'additif alimentaire par la loi 1831/2003 (The-European-parliament-and-the-council, 2003), leur utilisation étant alors réservée à un usage thérapeutique.

### **III-5. Conséquences de l'interdiction de l'utilisation des AFCs**

Les conséquences de l'interdiction de l'utilisation des AFCs a certes entraîné une intensification de l'utilisation des antibiotiques à usage thérapeutique consécutive à l'accroissement des infections chez l'animal, mais a tout de même favorisé la diminution de l'usage global (Casewell et al., 2003). Toutefois, les avis des scientifiques sur les

conséquences de cette interdiction qui sont de deux ordres, sont mitigés (Collignon, 2004 ; Hammerum et al., 2007 ; Phillips, 2007).

### **III-5.1 Conséquences sur la résistance bactérienne**

Les objectifs assignés à l'interdiction des AFCs se résumaient à la réduction globale de la quantité d'antibiotiques utilisés, et donc la diminution du risque de transfert à l'homme de germes résistants. En effet, une diminution des niveaux de résistance chez l'animal à la tétracycline a été constaté suite à son interdiction en Europe dans les années 1970 (van Leeuwen et al., 1979).

En effet, de nombreuses études ont porté sur l'évolution des résistances des Entérocoques dans le réservoir animal. Après l'interdiction de l'avoparcine, de la virginimycine, de la tylosine, de la spiramycine et de l'avilamycine, de nombreux auteurs ont rapporté la réduction du nombre d'entérocoques résistants aux glycopeptides, aux macrolides et à l'evernimycine (Aarestrup et al., 2001 ; Bager et al., 1999 ; Boerlin et al., 2001 ; Klare et al., 1999). Les travaux de Del Grosso et al., (2000) et Emborg et al., (2003) ont rapporté une réduction des résistances bactériennes dues aux AFCs dans les viandes. Cette diminution a été corrélée avec une baisse de la contamination aux *Enterococcus faecium* glycolipide-résistants (GREF) des hommes en Allemagne, aux Pays-Bas et en Belgique (Bruinsma et al., 2003 ; Klare et al., 1999 ; van den Bogaard et al., 2000 ; Witte, 1997). Toutefois, il est à noter que ces diminutions n'ont pas mené à la disparition totale des souches résistantes. Selon Borgen et al., (2000, 2001) et Heuer et al., (2002), si la probabilité de trouver une souche résistante a diminué, ces souches sont toujours présentes dans l'environnement agricole, dans le réservoir animal et même dans les aliments. Selon une vaste enquête internationale, 64% des 10 000 personnes interrogées dans 12 pays pensent que les antibiotiques peuvent être utilisés pour soigner les rhumes et la grippe, bien qu'ils n'aient aucun impact sur les virus. Environ un tiers (32%) des personnes pensent qu'elles doivent cesser de prendre les antibiotiques lorsqu'elles se sentent mieux, plutôt que de terminer le traitement prescrit ( **Jureidini N.,2015**).

### **III-5.2 Conséquences sur les performances et la santé des animaux**

L'interdiction des AFCs a engendré une détérioration de la production et de la santé animales. Au Danemark, l'interdiction des AFCs avait favorisé le développement des problèmes de peau et de pattes dans l'industrie du poulet à la fin des années 1990 (Petersen, 2002) ainsi qu'une augmentation des maladies associée à des infections entériques (Verner Wheelock et Foster, 2002). Une baisse de la prise de poids et une recrudescence de la mortalité des porcs et

porcelets ont également été observées au Danemark et en Espagne après l'interdiction des AFCs (Callesen, 2002; Wegener, 2002 ; Verner Wheelogk et Foster, 2002)

Des solutions de remplacement des AFCs sont donc nécessaires afin de permettre aux éleveurs de retrouver les performances de croissance de leurs animaux tout en limitant les pathologies gastro-intestinales dont la fréquence s'est accrue depuis l'interdiction des AFCs.

## **CHAPITRE IV**

# **LES ADDITIFS ALIMENTAIRES**

### **Les probiotiques**

## **IV-LES ADDITIFS ALIMENTAIRES**

Les additifs alimentaires sont définis comme des substances, microorganismes ou préparations, autres que la nourriture elle-même, qui sont additionnés intentionnellement à l'eau ou aux aliments dans l'objectif d'accomplir une ou plusieurs des fonctions citées ci-dessous. Ils doivent affecter favorablement les caractéristiques de l'aliment, la flore gastro-intestinale ou la digestibilité des composants de l'aliment et les produits animaux (i), satisfaire les besoins nutritionnels des animaux et leur bien être (ii), améliorer les performances de production animale sans conséquences sur l'environnement (iii); avoir un effet coccidiostatique ou histomonostatique (iv). Cependant, les additifs ne doivent pas avoir un effet inverse sur la santé animale (i), humaine ou sur l'environnement (ii) et nuire au consommateur en détériorant les caractéristiques distinctives des produits animaux (iii).

De nombreux produits dont les enzymes, les acides organiques, les extraits des plantes naturelles, les probiotiques et les prébiotiques, dont certains sont déjà commercialisés, ont été proposés par les scientifiques et les industriels de l'alimentation animale en remplacement des AFCs. Même s'ils permettent une amélioration des performances de croissance, le mode d'action de la majorité de ces produits n'est pas encore précisément connu. Beaucoup d'études ont été réalisées chez la volaille, le porc et les poissons qui sont des élevages à gros volume de production.

### **IV-1 Les probiotiques**

L'Organisation des Nations Unies pour l'Agriculture et l'Alimentation (FAO) et l'Organisation Mondiale pour la Santé (OMS), ont défini les « probiotiques » comme des microorganismes vivants qui lorsqu'ils sont administrés dans l'eau ou l'aliment en quantités adéquates sont bénéfiques pour la santé de l'hôte (Fuller, 1984) en modifiant l'équilibre de la microflore intestinale (Fuller, 1989 ; Fooks et al, 1999).

Chez la volaille, de nombreuses espèces microbiennes ont été utilisées en tant qu'agents probiotiques. Ces micro-organismes appartiennent aux bactéries du genre : *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus* et aux levures comme : *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces boulardii*. (Kabir et al, 2004 ; Mountzouris et al, 2007 ; Gaggia et al, 2010).

Afin que les probiotiques aient un impact positif sur l'animal, plusieurs points doivent être contrôlés. Les microorganismes doivent avoir un taux de croissance élevé dans

l'environnement digestif (i); produire des métabolites ayant un effet suppresseur sur les pathogènes (ii) et être capables de survivre dans l'alimentation des animaux (iii).

Les principaux probiotiques utilisés en alimentation animale sont rapportés dans le Tableau 4.1

Tableau 4.1 : Liste des probiotiques utilisés en alimentation animale (Gaggia et al, 2010).

Genres	Espèces	Genres	Espèces
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. animalis</i> subsp. <i>animalis</i> ( <i>B. animalis</i> )	<i>Lactococcus</i>	<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> ( <i>Streptococcus cremoris</i> )
	<i>B. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ( <i>B. lactis</i> )		<i>L. lactis</i> subsp. <i>Lactis</i>
	<i>B. longum</i> subsp. <i>longum</i> ( <i>B. longum</i> )	<i>Streptococcus</i>	<i>S. infantarius</i>
	<i>B. pseudolongum</i> subsp. <i>pseudolongum</i> ( <i>B. pseudolongum</i> )		<i>S. salivarius</i> subsp. <i>salivarius</i>
			<i>S. thermophilus</i> ( <i>S. salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i> )
<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecalis</i> ( <i>Streptococcus faecalis</i> )	<i>Leuconostoc</i>	<i>L. citreum</i>
	<i>E. faecium</i> ( <i>Streptococcus faecium</i> )		<i>L. lactis</i>
			<i>L. mesenteroides</i>
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. acidophilus</i>	<i>Pediococcus</i>	<i>P. acidilactici</i>
	<i>L. amylovorus</i>		<i>P. pentosaceus</i> subsp. <i>Pentosaceus</i>
	<i>L. brevis</i>	<i>Propionibacterium</i>	<i>P. freudenreichii</i>
	<i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i> ( <i>L. casei</i> )	<i>Bacillus</i>	<i>B. cereus</i> var. <i>toyoi</i>
	<i>L. crispatus</i>		<i>B. licheniformis</i>
	<i>L. farmicinis</i>		<i>B. subtilis</i>
	<i>L. amylovorus</i>	<i>Saccharomyces</i>	<i>S. cerevisiae</i> ( <i>S. boulardii</i> )
	<i>L. brevis</i>		<i>S. pastorianus</i> ( <i>S. carlsbergensis</i> )
	<i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i> ( <i>L. casei</i> )	<i>Kluyveromyces</i>	<i>K. fragilis</i>
	<i>L. crispatus</i>		<i>K. marxianus</i>
<i>L. farmicinis</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>A. orizae</i>	
<i>L. fermentum</i>		<i>A. niger</i>	
<i>L. murinus</i>			
<i>L. plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> ( <i>L. plantarum</i> )			
<i>L. reuteri</i>			
<i>L. rhamnosus</i>			

Les probiotiques ont des propriétés antimicrobiennes intéressantes : l'inhibition des germes potentiellement pathogènes dans le tractus digestif (i), la stimulation des défenses immunitaires et de la sécrétion d'enzymes antimicrobiennes (ii) et la régulation de la flore endogène (iii).

De nombreuses bactéries utilisées comme probiotiques produisent des bactériocines, substances antibiotiques leur conférant un avantage compétitif vis-à-vis de la flore intestinale complexe. Cependant, l'efficacité des probiotiques doit être étudiée au cas par cas.

cas à la fois selon le microorganisme et selon l'animal hôte. Lan et al, (2004) ont testé deux souches de *Lactobacillus* comme probiotiques chez des poulets. Ces probiotiques ont permis un enrichissement de la diversité en Lactobacilles dans le jéjunum et le cæcum des animaux. Néanmoins, certains de ces critères sont remis en question, comme le caractère vivant et les propriétés d'adhérence (Melmed et Thomas, 2003). La plupart des notions de probiotiques, soulignent que les micro-organismes devraient être viables et atteindre leur site d'action vivant (Ouwehand et al, 1999). Toutefois, des études récentes, ont clairement démontré que même les souches non viables de probiotiques sont capables d'exercer certains effets positifs sur la santé entre autres la stimulation de certaines fonctions immunitaires (Mottet et Michetti, 2005), l'inhibition de l'adhésion et de l'invasion de certains pathogènes (Ouwehand et al, 1999). Par ailleurs, la survie des bactéries probiotiques *in vitro* est influencée par la présence de métabolites tels que l'acide lactique, l'acide acétique, le peroxyde d'hydrogène et les bactériocines (Saarela et al, 2000). Par conséquent, La non-survie n'implique pas nécessairement l'absence d'effets bénéfiques (AFSSA, 2005).

#### **IV-1.1 Mécanismes d'action**

Les mécanismes par lesquels les probiotiques exercent leurs effets bénéfiques sur l'hôte sont en grande partie inconnus (Ahmad, 2006). En général, ils agiraient d'une part de manière directe sur la santé et sur la physiologie de l'animal ou d'autre part de façon indirecte par la modification de l'écosystème digestif ou par l'optimisation de la réponse immunitaire face aux agressions (Marteau et Shanahan, 2003).

En effet, l'action des probiotiques serait influencée par de multiples interactions entre les éléments constitutifs de la biocénose et par les interactions entre la biocénose et le biotope ou l'hôte. D'après Salminen et al. (2010), on distingue des interactions "cellules bactériennes et épithélium" (Adhérence à cellules épithéliales de la muqueuse, stimulation de la sécrétion du mucus, production des molécules défensives) (i) ; "bactéries et système immunitaire" (Stimulation du système immunitaire) (ii) et "bactéries - bactéries" (Exclusion et inhibition des microbes pathogènes par prévention d'adhérence, sécrétion des substances antimicrobiennes, compétition vis-à-vis des nutriments) (iii).

#### **IV-1.2 Modulation du système immunitaire**

De nombreuses études chez l'animal ont montré que l'administration orale de certaines souches probiotiques pouvait moduler la barrière et les mécanismes immunitaires aux niveaux muqueux et systémiques . Elles pouvaient introduire des réponses spécifiques et non

spécifiques (Vitini et al, 2000). En effet, les cellules intestinales sont capables de détecter la présence de bactéries *via* les récepteurs membranaires TLR et NOD et d'y répondre en modifiant la transcription de certains de leurs composants et activités (Rochat et Langella, 2009). Ainsi, l'effet immunomodulateur des probiotiques pourrait réaliser par leur métabolites et pourrait même exécuter avec les bactéries probiotiques mortes ou des dérivés des composants comme les peptidoglycanes (Oelschlaeger, 2010). Selon Ahmad (2006) l'amélioration du système immunitaire par les probiotiques chez les poulets peut être de trois manières différentes :

- Stimulation de l'activité phagocytaire des macrophages : Une augmentation de la fonction phagocytaire dans le sang périphérique de souris nourries avec *Lactobacillus rhamnosus* (HN001), *Lactobacillus acidophilus* (HN017) et *Bifidobacterium lactis* (HN019) à raison de  $10^9$  UFC/jour est apparue significative après 10 jours d'alimentation et a été maintenue à un niveau semblable pendant toute la période d'alimentation (Gill et al, 2000) ;
- Augmentation de la production des anticorps protecteurs IgG et IgM et de l'interleukine : Une activation du système immunitaire spécifique (immunité humorale) a été démontré en réponse contre l'infection; soit par *Eimeria acervulina*, *E. tenella* chez des poulets de chair traités avec deux probiotiques *Pediococcus acidilactici* et *Saccharomyces boulardii* (Rochat et Langella, 2009), soit par *Eimeria maxima* chez des poulets de chair traités par *Bacillus*-based (Lee et al, 2010).
- Augmentation de la production des IgA chez le poulet de chair traité avec *Lb.*-based probiotic avec une diminution des taux d'invasion intestinale et du développement d'oocytes d'*Eimeria acervulina* (1),

#### **IV-1.3 Production des facteurs «antimicrobiens»**

L'effet antagoniste des bactéries probiotiques contre les germes indésirables est particulièrement accru par la production des substances antimicrobiennes. C'est probablement le mode d'action le plus fréquemment suggéré dans la littérature. Des études *in vitro* ont montré l'inhibition des microorganismes pathogènes par l'intermédiaire des substances de faible poids moléculaire tel les acides gras à chaîne courte (exemple : acide lactique), le peroxyde d'hydrogène. En outre, des bactériocines de faible poids moléculaire et bactériocines à poids moléculaire élevé (classe III) sont produites par des lactobacilles (Oelschlaeger, 2010).

Les acides lactique et acétique sont les principaux acides organiques produits pendant la croissance des probiotiques qui implique une diminution du pH gastro-intestinal traduisant un effet bactéricide ou bactériostatique (Villate, 2001). En effet, certaines souches de *Lactobacillus* empêchent la croissance de *Salmonella enterica* seulement par la production de l'acide lactique (Weurding, 2002).

Les bactéries probiotiques peuvent produire des acides de bile par dé-conjugaison des sels biliaires, ayant un pouvoir antimicrobien plus fort comparée aux sels de bile synthétisés par l'hôte (Oelschlaeger, 2010).

#### **IV-1.4 Compétition vis-à-vis les nutriments et les sites d'adhésion**

L'efficacité des bactéries probiotiques contre les pathogènes peut être également liée à l'existence d'une compétition entre microorganismes, qu'elle soit nutritionnelle (Oelschlaeger, 2010) ou pour les sites d'adhésion aux cellules épithéliales intestinales (Hamilton-Miller et al, 2003). En effet, la capacité des souches à adhérer aux cellules épithéliales et à la muqueuse gastro-intestinale est l'une des plus importantes propriétés des bactéries probiotiques (Collado et al, 2007) permettant de bloquer de ce fait l'adhérence des germes pathogènes.

Un phénomène d'exclusion compétition a été mis en évidence entre *Lactobacillus johnsonii* (FI9785) et *Clostridium perfringens* chez des poulets âgés d'un jour ou de 3 semaines (La Ragione et al, 2004). Plusieurs souches de lactobacilles ou de bifidobactéries peuvent concurrencer les bactéries pathogènes, incluant *Bacteroides vulgatus*, *Clostridium histolyticum*, *C. difficile*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* (Collado et al, 2007) et *E. coli enterotoxinogène* (Roselli et al, 2006 ; Collado et al, 2007) pour l'attachement aux cellules épithéliales intestinales, et peuvent les déplacer même si ces germes pathogènes sont attachés aux cellules épithéliales intestinales avant le traitement probiotiques.

#### **IV-1.5 Neutralisation des produits toxiques**

Les probiotiques provoqueraient une atténuation du catabolisme intra-digestif et une orientation de la microflore intestinale pour réduire l'absorption des substances toxiques telles que l'ammoniac, les amines (i) et diminuer les biotransformations des sels biliaires et des acides gras en produits toxiques (ii) et auraient aussi la capacité de produire des métabolismes susceptibles de neutraliser *in situ* certaines toxines bactériennes (iii) (Percival, 1997 ; Kung, 2001). L'efficacité des probiotiques pour la désintoxication biologique des mycotoxines chez

les poulets est prouvée dans des conditions *in vitro* (Biernasiak et al, 2006) et *in vivo* (Slizewska et al, 2010).

#### **IV-1.6 Amélioration de la digestibilité de la ration alimentaire**

La production d'enzymes par les souches probiotiques serait une des possibilités pour favoriser la digestibilité de la ration alimentaire. En effet, certaines bactéries probiotiques excrètent la  $\beta$ -galactosidase, souvent déficiente dans le tractus digestif de l'hôte, qui facilite la digestion du lactose. Chez le poulet, l'utilisation des probiotiques permet d'augmenter la vitesse d'amylolyse et la production d'acide lactique (Gournier-Château et al, 1994).

#### **IV-1.6 Effets sur la qualité des produits**

La supplémentation des probiotiques dans la ration alimentaire des poulets de chair améliore la qualité microbiologique et la qualité organoleptique de la viande (Kabir et al, 2005).

Certains probiotiques augmentent la teneur en protéines de la viande et diminuent sa teneur en lipides dont le cholestérol (Wambeke, 1995 ; Haddadin, 1996). L'étude de Zhang et al. (2005) a rapporté que la tendreté de la viande pourrait être améliorée par la levure *Saccharomyces cerevisiae* entière ou seulement par son extrait. La surface de l'œuf ainsi que son contenu sont modifiés par les changements de microflore intestinale liés à l'utilisation d'antibiotiques ou de probiotiques. Certains probiotiques augmentent l'épaisseur de la coquille (à poids d'œuf identique), sa teneur en calcium, ainsi que sa résistance (Ouweland et al, 1999). La teneur en cholestérol du jaune d'œuf est réduite par l'utilisation de certains probiotiques (Mohan, 1995).

#### **IV-2 Les prébiotiques**

Un prébiotique est un ingrédient alimentaire non digestible qui exerce une action bénéfique sur la santé en stimulant sélectivement la croissance et/ou l'activité métabolique d'un nombre limité de microorganismes de l'intestin (Gibson et Roberfroid, 1995). L'apport de substrats spécifiques favorise le développement de groupes bactériens favorables à l'hôte (classiquement les Lactobacilles et les Bifidobactéries), empêchant ainsi la prolifération d'espèces pathogènes.

Les oligo-saccharides constituent la catégorie la plus importante des prébiotiques, les principaux étant les fructo-oligosaccharides (FOS), les gluco-oligosaccharides (GOS), les mannan-oligosaccharides (MOS) et les galacto-oligosaccharides (GAS). Leur inclusion dans l'alimentation se fait à de faibles concentrations (0,1 à 0,3 %) et permet l'amélioration du GMQ, de la conversion alimentaire et du statut sanitaire des animaux (Piva et Rossi, 1999).

Baurhoo et al, (2007) ont démontré que l'apport de MOS (0,2%) chez des poulets entraîne une augmentation, dans leur contenu caecal, de la concentration en Lactobacilles de 0,8 logs (UFC/mL) et en Bifidobactéries de 0,6 logs, comparativement à un régime contrôle avec AFC (virginiamycine). L'apport de GOS (20 g/kg d'aliment), comparativement à un régime sans additif, engendre aussi des modifications (Piva et Rossi, 1999) dans le profil des AGCC produits (réduction des pourcentages en acides butyrique, isobutyrique et isovalérique et augmentation du pourcentage en acide caproïque), ainsi que dans la production des gaz de fermentation (teneurs en H<sub>2</sub> et en CH<sub>4</sub> produits multipliées par 2 et 3, respectivement). De plus, l'apport de prébiotiques limite la prolifération des espèces pathogènes.

Divers prébiotiques ont été testés chez le veau. Les performances de croissance des veaux ont été améliorées par l'ajout de galactosyl-lactose (GAS), qui a également permis de réduire la sévérité des diarrhées des animaux (Quigley et al, 1997). Enfin, l'ajout de MOS (4g/jour) dans l'alimentation de veaux de leur naissance jusqu'à l'âge de 6 semaines, a également conduit à une augmentation de 10% de la consommation alimentaire et à une diminution de 20% de l'apparition des diarrhées, comparativement à un régime sans additif alimentaire (Heinrichs et al, 2003).

#### **IV-3 Plantes et extraits de plantes**

De nombreux produits d'origine végétale sont déjà utilisés dans l'alimentation animale. Il s'agit principalement de plantes ou d'extraits de plantes, d'épices et d'huiles essentielles dont les principes actifs sont bénéfiques pour les animaux, mais aussi de produits analogues de synthèse.

Guo et al, (2004) ont testé l'efficacité d'extraits de *Lentinus edodes*, de *Tremella fuciformis* et d'*Astragalus membranaceus Radix*, deux champignons et une légumineuse, sur des poulets infectés à *Mycoplasma gallisepticum*. Bien que moins efficaces que l'AFC testé (apramycine), ces extraits ont néanmoins permis une amélioration des performances de croissance des animaux comparativement à celles des animaux nourris avec un aliment contrôle (sans AFC). De plus, ils ont stimulé le développement des Lactobacilles (+1 log) et des Bifidobactéries (+0,5 log), et inhibé les bactéries pathogènes telles qu'*E. coli* (-0,6 log), alors que l'antibiotique n'avait pas d'action, voire même une influence inverse, sur l'ensemble de ces groupes bactériens.

Parmi tous les produits d'origine végétale, les huiles essentielles semblent être les plus prometteuses. Elles stimulent d'une part l'appétit grâce à leur odeur typique, et d'autre part

les sécrétions digestives. Elles ont aussi, selon les différentes huiles, des propriétés antimicrobiennes et antiseptiques (Piva et Rossi, 1999), certainement dues à un changement de la solubilité des lipides membranaires bactériens (Stein et Kil, 2006). Il a également été démontré *in vitro* que les constituants hydrophobes des huiles essentielles sont capables de désintégrer les membranes d'*E. coli* ou de *S. typhimurium* (Lambert et al, 2001). Parmi les huiles essentielles utilisées, l'ail, l'origan et le thym ont été particulièrement étudiés. En plus de son activité antimicrobienne (Ross et al, 2001), l'ail réduit la production de radicaux libres et de lipides peroxidés (Close, 2000). L'addition d'extrait d'origan à l'alimentation de poulets a entraîné une réduction de la sévérité des coccidioses (Giannenas et al, 2003). Il a également été démontré *in vitro* qu'un apport simultané de plusieurs huiles essentielles ou extraits d'huiles essentielles entraînait une réponse antimicrobienne plus importante que si une seule huile était utilisée (Piccaglia et al, 1993).

Jamroz et al. (2005) ont démontré que l'apport d'X-tract<sup>TM</sup>, un additif commercialisé par Pancosma SA contenant un mélange de 5 % de carvacrol, 3 % de cinnamaldéhyde et 2 % d'oléorésine de capsicum conduisait à une augmentation de l'efficacité de conversion des aliments, à une réduction des niveaux d'*E. coli*, de *Cl. perfringens* et des champignons, et à une augmentation des concentrations en Lactobacilles dans l'iléon de poulets. Cette diminution des espèces pathogènes s'expliquerait par des propriétés de protection des villosités intestinales du mélange aromatique (Jamroz et al, 2006), limitant l'attachement des bactéries pathogènes.

#### **IV-4 Les enzymes**

L'incorporation d'enzymes digestives dans les aliments vise à renforcer la digestibilité de certains constituants des matières premières, en particulier les polysaccharides. Les enzymes permettraient également de limiter les effets négatifs de certains facteurs antinutritionnels et de réduire les diarrhées. Selon la définition officielle, les additifs sont des ingrédients naturels ou de synthèse, ajoutés aux aliments ou aux boissons dans un but technologique de fabrication, mais aussi pour améliorer leur conservation, leur couleur, leur saveur et leurs qualités nutritives (André ; 2013).

#### **IV-5 Les acidifiants**

Les acides organiques et leurs sels, regroupés sous le nom d'acidifiants, possèdent des avantages zootechniques et sanitaires substantiels : un excellent pouvoir bactéricide, une régulation de la flore digestive, une forte appétence et un pouvoir d'activation des enzymes

digestives. Ainsi, les performances de croissance progressent et parallèlement, les troubles digestifs régressent.

L'apport d'acidifiants dans l'alimentation aide à maintenir un pH bas dans l'estomac et l'intestin, favorisant ainsi l'activation des enzymes protéolytiques et augmentant le temps de rétention gastrique (Partanen et Mroz, 1999). Ils favorisent également la flore acidophile. L'emploi d'acide butyrique à 0,4% dans l'alimentation de poulets a permis une amélioration de la conversion alimentaire de 8% (Leeson et al, 2005).

Comparativement au régime standard européen, cet apport a engendré une prise de poids des animaux plus importante ainsi que l'allongement des villosités et le rétrécissement des cryptes de la paroi du jéjunum, conduisant à une meilleure absorption des nutriments Il faut trouver le bon dosage d'acide organique, le bon mélange de différents acides organiques et voir la couverture de la totalité du système digestif. Le but recherché est de réduire la croissance des bactéries indésirables dans l'intestin (Dion, 2001).

# **PARTIE EXPERIMENTALE**

La démarche que nous avons adoptée dans la partie expérimentale du présent travail s'articule sur trois parties, à savoir :

**Partie I : Une étude descriptive** basée sur deux enquêtes par questionnaire :

3. Une enquête auprès des consommateurs qui vise à nous renseigner sur la place de la viande de poulet dans la ration alimentaire.
4. Une enquête auprès des praticiens vétérinaires qui vise à nous renseigner sur la gestion et l'utilisation des antibiotiques en élevages aviaires, particulièrement, le poulet de chair.

**Partie II : Une étude analytique** portant sur la recherche des résidus d'antibiotiques<sup>1</sup> dans la viande et les œufs (crus et cuits) et l'effet de la température<sup>2</sup> sur la molécule d'antibiotique.

3. La recherche de résidus d'antibiotiques dans la viande (cru et cuite) et les œufs
4. L'étude de l'effet de la température sur la molécule d'antibiotique.

**Partie III : Un essai expérimental** d'utilisation des probiotiques comme alternative aux antibiotiques.

## **Partie I : Etude descriptive**

## **I.1 –Enquête auprès des consommateurs :**

Cette enquête, par questionnaire, réalisée durant le premier semestre 2004 vise à montrer la place qu'occupent la viande de poulet et les œufs dans les habitudes alimentaires de notre société.

### **I. 1.1- Matériel et méthodes :**

#### Questionnaire :

Le questionnaire (cf. annexe1 et suite annexe 1) a été préparé de manière simple pour tenter de comprendre la consommation de ces denrées animales au niveau d'un échantillon représentant la population. Ce questionnaire comporte 15 questions réparties en cinq rubriques plus ou moins simples et accessibles pour le grand public, à savoir :

- La consommation par type de viande et par classe d'âge.
- Le mode de cuisson
- Le lieu d'achat et le type de poulet.
- La consommation des œufs.
- Les intoxications, les allergies et les problèmes liés à la consommation de viande de poulet et des œufs.

#### Collecte et traitement des données :

L'ensemble des données recueillies a été saisi dans un fichier Microsoft Excel. Le traitement des données a été restreint à une analyse statistique descriptive sans réalisation de tests statistiques.

### **I.1.2- Résultats**

Sur les 190 exemplaires distribués, nous n'avons récupéré que 97, soit 51,05%. Les réponses obtenues pour chacun des paramètres ciblés sont rapportées et/ou présentées sous forme de tableaux ou graphes.

#### Question 1 : « Taux de consommation des différents types de viandes »

Les réponses relative à la consommation de viande se distribuent comme suit : volaille (poulet) (67%) ; viande ovine (20,22%) et bovine (11,46%). Il est à noter que 1,32% des personnes questionnées ont déclarés ne pas consommer de viandes.

#### Question 2 : « taux de consommation de la viande de poulet par famille et par semaine»:

La consommation est estimée majoritairement à 01 fois par semaine

#### Question 3 : « Qui consomme cette viande de poulet »

La viande de poulet est consommée majoritairement par les adultes (49,48%) suivie par les enfants (35,05%) et les nourrissons (15,47%).

Question 4 : « Mode de cuisson » :

Le mode de cuisson en sauce est le plus fréquent (68%), suivi par le rôti (30%) et la demi cuisson (2%).

Question 5 : « Lieu d'achat de la viande de poulet »

La boucherie demeure le lieu d'achat majoritaire pour les familles algériennes (78,13%), suivi par la ferme (élevage) (13,54%) et la voie publique (8,33%).

Question 6 : « Type de poulet consommé (ferme ou élevage)

Le poulet le plus consommé provient de l'élevage industriel ou intensif (70,21%) suivi de celui de l'élevage traditionnel (29,79%).

Question 7 : « Signes d'intoxications liés à la consommation de la viande de poulet »

La majorité des sujets questionnés (85,11%) déclarent ne pas avoir eu d'intoxications alimentaires par consommation de la viande de poulet contre 14,89% seulement. 63,29% de ces derniers l'ont présenté une seule fois.

Question 8 : « Consommation des œufs »

Les œufs sont consommés par la presque totalité des sujets questionnés (97,89%).

Question 9 : « La forme de consommation des œufs »

Les œufs sont consommés préférentiellement sous la forme d'omelette (55,0%), d'œufs durs (41,8%) et à l'état crû (sportifs) (8,1%) (Cf. figure 1.1, annexe I.1).

Question 10 : « Fréquence de consommation hebdomadaire des œufs par famille »

La fréquence de consommation hebdomadaire des œufs par famille se distribue comme suit : plusieurs fois (67,03%), deux fois (27,47%) et une fois (3,2%) et aucune (2,2%).

Question 11 : « Qui consomment les œufs et les produits à base d'œufs ? »:

Les œufs sont consommés majoritairement par les adultes (59,6%), suivi par les enfants (33,3%) et les nourrissons (7,1%). Aussi 90,4% des personnes questionnées consomment des produits à base d'œufs contre seulement 9,6% qui n'en consomment pas.

Question 12 « signes d'intoxication alimentaire liés à la consommation des œufs »

La majorité des sujets questionnés (92,5%) déclarent ne pas avoir eu d'intoxications alimentaires par consommation d'œufs contre 7,5% seulement.

Question 13 : « Signes d'intoxications liés à la consommation de produits à base d'œufs »

La majorité des sujets questionnés (89,4%) déclarent ne pas avoir eu d'intoxications alimentaires liées à la consommation de ces produits contre 10,6%.

Question 14 : « type d'œufs consommés produits en élevage traditionnel ou intensif »

Les œufs les plus consommés proviennent d'élevages industriels ou intensifs (94,74%) suivi de ceux d'élevages traditionnels (5,3%).

Question 15 : « Signes de désagréments ressentis après consommation de viande de poulet et d'œufs »

Le ballonnement et l'allergie représentent les principaux signes de désagréments. Ils ont été rencontrés au même taux de 20% chez les sujets questionnés. Le taux restant (60%) n'a exprimé aucun signe.

### **I.1.3- Discussion :**

Dans les familles algériennes, la viande de poulet est consommée majoritairement une seule fois par semaine par rapport à la viande ovine et bovine. Ceci semble s'expliquer par son faible prix. Le classement des consommateurs par catégorie d'âge donne en premier les adultes, suivis par les enfants et les nourrissons.

Le mode de cuisson le plus fréquemment utilisé est celui en sauce. Ceci semble être un avantage pour le consommateur car lorsque la viande est cuite en grillade ou en rôti, la chaleur ne pénètre pas à une température suffisante au centre du morceau.

Les boucheries représentent le lieu d'achat prédominant en raison des conditions d'hygiène et de contrôle de cette viande. Le poulet d'élevage industriel ou intensif est le plus consommé car disponible sous la forme de carcasses dans les boucheries alors que celui de ferme nécessite une préparation (sacrifice, déplumage et éviscération)

De par leur faible prix et leur valeur nutritionnelle élevée, les œufs sont très largement consommés (plusieurs fois par semaine) sous la forme cuite.

Les intoxications et les désagréments liés à la consommation de la viande de poulet et d'œufs ne semblent toucher qu'une minorité de consommateurs. Le ballonnement et l'allergie représentent les principaux signes de désagréments.

Il est important de noter que socialement la population algérienne a connu d'une part une évolution rapide dans les habitudes alimentaires depuis notre enquête à ce jour et d'autre part un nivellement du niveau de vie qui pourrait être la raison d'une consommation plus importante et plus variée des viandes blanches et les œufs.



## **I.2- ENQUETE AUPRES DES PRATICIENS VETERINAIRES**

Cette enquête, par questionnaire (Cf. annexe 1), réalisée durant l'année 2004 vise à faire le constat sur la gestion et l'utilisation des antibiotiques en élevages aviaires.

### **I.2.1. Matériel et méthodes :**

#### Questionnaire :

Un questionnaire, adressé aux vétérinaires praticiens de la région de Mitidja, a comporté 16 questions réparties en 07 rubriques :

- L'ancienneté dans la profession et la fréquence d'intervention du praticien en élevage aviaire.
- Les principaux antibiotiques utilisés dans l'élevage aviaire.
- L'utilisation des antibiotiques dans les différentes pathologies aviaires (fréquence, durée du traitement et changement de traitement).
- L'utilisation des anti-coccidiens (fréquence, durée du traitement et rappel).
- L'envoi de prélèvements et ou de carcasses au laboratoire pour autopsie.
- Le respect des recommandations par l'éleveur (type d'antibiotique après la 7<sup>ème</sup> semaine et le respect ou non du délai d'attente par les éleveurs.
- Les anti-stress et les additifs dans l'aliment et alternative des probiotiques aux antibiotiques.

Il a été distribué par voie postale et/ou par voie directe, c'est à dire remis par nos soins ou par nos étudiants aux vétérinaires praticiens de la région de Mitidja ou lors du Salon International de la Production et de la Santé Animale (SIPSA) ; par le biais des distributeurs de produits vétérinaires et de certains éleveurs.

#### Collecte et traitement des données :

L'ensemble des données recueillies a été saisi dans un fichier Microsoft Excel. Le traitement des données a été restreint à une analyse statistique descriptive sans réalisation de tests statistiques.

### **I.2.2. Résultats : (Voir annexe 2)**

Sur les 150 exemplaires distribués, nous n'avons pu récupérer que 65, soit 43,33%. Les réponses obtenues pour chacun des paramètres ciblés sont rapportées et/ou présentées sous forme de tableaux ou graphes.

#### Questions 1 : « Depuis quand exercez-vous ?

La distribution des praticiens questionnés par rapport à l'expérience professionnelle en élevage aviaire est rapportée dans le Tableau 1.1.

Tableau 1.1 : Nombre d'années d'expériences des praticiens vétérinaires.

Nombre années	< 2 ans	2 – 5 ans	5 – 8 ans	8 – 11 ans	11 ans et plus
% praticiens	13,8%	30,8%	26,2%	16,9%	12,3%

Plus de la moitié des praticiens questionnés (57%) ont une expérience professionnelle de moins de huit ans contre un peu plus du quart (29,2%) qui ont une expérience de plus huit ans.

Question 2 : « Fréquence d'intervention en élevage aviaire »

La fréquence d'intervention des praticiens en élevage aviaire est rapportée dans le Tableau 1.2.

Tableau 1.2 : Fréquence d'intervention en élevage aviaire.

Fréquence d'intervention	Hebdomadaire		Mensuelle		Autres
	Une Foix	Plusieurs Foix	Une Foix	Plusieurs Foix	
% des praticiens	21,67%	45,00%	11,67%	18,33%	3,33%

Presque la moitié des praticiens questionnés (45%) interviennent plusieurs fois par semaine.

Questions 3 : « Nombre d'élevages aviaires que vous suivez »

Les praticiens questionnés dont l'expérience professionnelle est "< 8 années" interviennent sur un nombre important d'élevages (63%) contre ceux dont l'expérience est "> 8 années" et assurent le suivi d'un nombre d'élevages plus faible (37%).

Question 4 : « Quels sont les antibiotiques que vous prescrivez- en 1<sup>ère</sup> intention »

Les antibiotiques les plus fréquemment prescrits en 1<sup>ère</sup> intention sont rapportés dans le Tableau 1.3.

Tableau 1.3 : Les antibiotiques les plus fréquemment prescrits en 1<sup>ère</sup> intention.

Antibiotiques	Tetracyclines	Enrofloxacine	Erythromycine	Colistine	Autres
Taux (%)	24 ,3	23,7	21,6	18,4	12,0

Les Tétracyclines, l'Enrofloxacin, l'Erythromycine et la Colistine sont les antibiotiques les plus prescrits en élevage aviaire.

Question 5 : « Durée du traitement en moyenne »:

Les durées de traitement sont rapportées dans le Tableau 1.4

Tableau 1.4 : Durées de traitement en moyenne

Durée	2 Jours	3 Jours	4 Jours	5 Jours	6 Jours
Taux (%) de Praticiens	00.00	26.56	32.82	39.06	1.56

La durée moyenne de traitement de quatre (04) jours est préconisée par le tiers des praticiens. La durée de cinq (05) jours est retenue par un peu plus du tiers des praticiens. Presque, le quart des praticiens questionnés traitent pendant trois jours seulement.

Question 6 : « Lorsque les résultats ne sont pas satisfaisants, au bout de quel délai changez-vous d'antibiotique » :

Les réponses relatives aux délais de changement de traitement sont rapportées dans le Tableau 1.5.

Tableau 1.5 : délai de changement de l'antibiotique quand le traitement n'est pas efficace

Nombre de jours	1 J	2 J	3 J	4 J	5 J	> 5 J
% de praticiens	3,18%	1,59%	14,28%	31,75%	11,11%	28,57%

Le tiers des praticiens questionnés attendent la fin de la durée moyenne de traitement préconisée (4 jours) pour changer d'antibiotique. Plus du quart des praticiens questionnés n'opèrent de changement d'antibiothérapie qu'au delà de cinq (05) jours, ce qui dénote de l'incompétence et aussi de l'absence de stratégie dans le suivi d'élevage.

Question 7 « A quelles périodes prescrivez-vous les anti-stress ?

Période	Vaccinale	Phase démarrage	Semaine 1	Semaine 2	Semaine 3	Semaine 4	Semaine 7
% de praticiens	100	77,8	22,2	11,1	11,1	11,1	0,0

Les anti-stress sont prescrits lors de vaccination et un peu moins en période de démarrage.

Question 8 : « Quels anticoccidien prescrivez-vous en 1<sup>ère</sup> intention en cas d'apparition de signes révélateurs de coccidiose »:

Les Sulfamides, la Toltrazuril et l'Amprolium sont les anticoccidiens les plus fréquemment utilisés aux taux respectifs de 41,6%, 29,2% et 20,5%.

### Question 9 : « Durée du traitement anticoccidien »

Les réponses à cette question sont représentées dans le Tableau 1.6.

Tableau 1.6 : Tableau représentant les durées de traitement anticoccidien

Durée	1 J	2 J	3 J	4 J	5 J	6 J	> 6J	Alterné (3J2R3J)	Nombre de réponses
Toltrazuril (%)	2,50	22,50	22,50	7,50	40,00	2,50	0,00	2,50	40
Amprolium (%)	0,00	3,75	17,86	14,28	50,00	0,00	0,00	14,28	28
Sulfamides (%)	0,00	1,75	7,02	7,02	40,35	1,75	0,00	42,10	57
Autres (%)	0,00	0,00	8,33	8,33	58,33	0,00	0,00	25,00	12

La durée requise est respectée par moins du quart des praticiens questionnés pour le Toltrazuril (2 jours) contre la moitié de ces derniers pour l'Amprolium (5 à 7 jours). En ce qui concerne les Sulfamides, un peu moins de la moitié des praticiens questionnés respectent le protocole d'usage et la durée du traitement alterné (3jours - 2jours repos-3jours). Cette situation ne trouve d'explication que dans l'ignorance des protocoles des traitements.

### Question 10 : « Nombre de rappels d'anticoccidien » :

A travers les réponses des praticiens, il apparaît que cette pathologie est récurrente dans nos élevages et que les épisodes sont fréquents. De ce fait, un seul rappel est prescrit par 39% des praticiens, deux rappels par 36% et trois rappels et plus par le reste.

### Question n°11 : « Envoyez-vous des carcasses au laboratoire pour autopsie? »:

Près de 80% des praticiens interrogés affirment qu'ils ne procèdent aux prélèvements et à l'envoi au laboratoire que rarement ou pas du tout avec des taux respectifs de 60% et 20%. Cependant, il n'y a que 20% qui déclarent effectuer des envois pour contrôle et ceci une fois sur 10.

### Question 12 : « Quels sont les Antibiotiques qu'utilise l'éleveur après la 7 semaine »:

La majorité des vétérinaires (72.73%) affirment que les éleveurs administrent encore des antibiotiques après la 7<sup>ème</sup> semaine (période de vente).

### Question 13 : « Est-ce que l'éleveur suit vos recommandations par rapport au délai d'attente ? »

La réponse des praticiens à cette question est plutôt mitigée : 56% de oui contre 44% de non.

### Question 14 : « Origine de l'aliment qu'utilise l'éleveur »:

L'ONAB (secteur étatique) est le principal fournisseur d'aliment de volaille (64,7%), suivi par le secteur privé (35,3%).

### Question 15 « Additifs à l'aliment »:

Les praticiens questionnés font la confusion dans la composition des additifs. Ces derniers avancent un taux en Antibiotiques de 46,2% (Erythromycine, Oxytétracycline, Terramycine et Anticoccidiens) et autres produits de 53,8% (CMV, phosphate bi-calcique, calcaire et sel).

Question 16 : « Etes vous favorable à l'utilisation des probiotiques comme alternative aux antibiotiques ? »

Les praticiens questionnés sont favorables à l'utilisation des probiotiques au taux de 76,5%.

### **I.2.3-Discussion**

Sur la base des informations recueillies, nous pouvons dire qu'il y a absence de professionnalisme aussi bien chez le praticien vétérinaire que chez l'éleveur. Pour ce qui est du praticien vétérinaire, il fait fonction en même temps de clinicien prescripteur (diagnostic et suivi) et de pharmacien vétérinaire (officine). Cette situation dénote du manque de professionnalisme d'abord du clinicien qui occulte de manière volontaire l'usage des analyses de laboratoire dans le diagnostic et le suivi et du pharmacien vétérinaire qui permet à l'éleveur de s'approvisionner en médicaments vétérinaires sans prescription.

A travers les réponses collectées, il en ressort que :

- les antibiotiques sont utilisés dans nos élevages pour le traitement des pathologies (antibiothérapie), dans les programmes de prophylaxie médicale (préventive dans l'eau de boisson) et aussi comme facteurs de croissance (additifs dans l'aliment). Les molécules les plus fréquemment utilisés sont : les tetracyclines (oxytétracycline), l'Enrofloxacin, les macrolides (Erythromycine) et un peu moins la Colistine. La presque totalité de ces molécules sont aussi utilisées en médecine humaine. Leur présence dans les denrées alimentaires d'origine animale peut entraîner plusieurs risques pour les consommateurs à savoir: des modifications de la flore intestinale, des effets toxiques ou allergènes et la sélection de bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques.
- En pratique courante, l'éleveur ne respecte pas la durée du traitement car, d'une part les praticiens vétérinaires font de l'intervention dans les élevages aviaires et rares sont ceux qui font le suivi et d'autre part l'éleveur peut changer de traitement sans prescription.

En conclusion de l'étude descriptive, il en ressort que la viande de poulet et les œufs sont effectivement des produits de large consommation. Ils proviennent dans la majorité des cas d'exploitations qui se caractérisent par de mauvaises pratiques d'élevages, un non respect de

l'antibiothérapie et des délais d'attente. Cette situation favorise le risque de présence de résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires issus de ces élevages. Ces résidus appartiennent aux quatre familles d'antibiotiques les plus usuellement utilisés, à savoir : les bêta-lactamines (oxacilline, ampicilline et amoxicilline) ; les sulfamides (sulfamidine) ; les macrolides (érythromycine) et les aminosides (gentamycine), quinolones (acide oxolinique) ou fluoroquinolone (enroflaxacine).

## **Partie II : Etude Analytique**

En vue d'apporter les éléments de réponse à la situation décrite, nous avons réalisé dans cette seconde partie, dénommée "étude analytique", la recherche des résidus d'antibiotiques par la méthode turbidimétrique (étude 1), d'une part et par la méthode microbiologique de diffusion (étude 2) et la méthode des quatre boîtes (étude 3), d'autre part ; ainsi que l'effet de la température sur la molécule d'antibiotique.

### **II.1- Recherche de résidus d'antibiotiques :**

- Etude 1 : Méthode turbidimétrique.(Jorgensen et Schulz 1985 ; Pharmacopée 2001)
- Etude 2 : Méthode de diffusion (Privat, 1989), à partir de :
  - ESSAI 1 : Exsudat de viande (crue et cuite).
  - Essai 2 : Exsudat de viande (dos, cuisse, poitrine), organes (foie) et œufs ().
- Etude 3 : Méthode microbiologique de référence (méthode des quatre boîtes, (Bogaerts et col, 1980 ; AFSSA, 2000)

### **II.2-Etude de l'effet de la température sur la molécule d'antibiotique.**

## **II.1.1- Recherche de résidus d'antibiotiques par la méthode turbidimétrique (Etude 1).**

### **II.1.1.1- MATERIEL ET METHODES :**

C'est un test quantitatif, son principe est d'ensemencer un milieu approprié avec une suspension du microorganisme, choisi à cause de leur sensibilité à l'antibiotique à examiner de façon à obtenir une diminution importante de la culture microbienne dans les conditions du titrage. (Pharmacopée européenne-2001). Le principe de cette méthode est que la densité optique d'une suspension est proportionnelle à la masse des particules en suspension. On mesure l'adsorption lumineuse de la suspension et par comparaison à une gamme de référence on déduit la concentration de biomasse. (Larpent Gouraud S.,1992)

#### **II.1.1.1.1-MATERIEL:**

##### **Matériel biologique :**

A partir des élevages, en fin de bande, de Guerrouaou ; de Chebli et de Médea, nous avons pris aléatoirement trois poulets d'un élevage de chaque localité, soit un total de 9 poulets correspondant à trois élevages.

Les échantillons correspondant aux témoins positif et négatif proviennent de poulets élevés séparément par nos soins. Celui ayant reçu des antibiotiques (Oxytétracycline) par voie orale dans l'eau de boisson pendant 24 heures correspond au témoin positif. Celui qui n'a reçu aucun traitement d'antibiotiques correspond au témoin négatif.

##### **Appareillage et réactifs :**

- Spectrophotomètre JENWAY, modèle 6300.
- Acétonitrile
- 2-methyl-2-propanol
- Acide chlorhydrique
- Chlorure de méthylène éther de pétrole
- Formaldéhyde
- Oxytétracycline (standard)

#### **II.1.1.1.2-METHODES :**

**Technique turbidimétrique :** elle consiste à incuber des tubes calibrés contenant à la fois le milieu de culture inoculé avec une bactérie sensible et les solutions d'un antibiotique. Après la période d'incubation, l'effet de l'antibiotique sur la croissance bactérienne est mesuré par le changement de l'absorbance mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre

Extraction des prélèvements de viande (crue et cuite), des témoins positif et négatif :

- Une carotte de viande (crue et cuite) de 2,5 cm<sup>3</sup> est prélevé du muscle du bréchet à l'emporte pièce (Cf. figure 01a) et déposé dans un flacon stérile. pour être broyer dans un mortier puis additionné de 7,5 ml d'eau distillé.
- Prélever le contenu et écumer par l'ajout de 6,5µl de 2-methyl-2-propanol et laisser reposer 5min.
- Agiter le mélange pendant 5 min.
- Prélever 5ml de mélange et additionner avec 0,625 ml du Hcl (1N) et 20ml d'acétonitrile. Laisser reposer 10min et filtrer sous vide.
- Ajouter 20ml de chlorure de méthylène et 20 ml d'éther de pétrole puis secouer le mélange vigoureusement et laisser reposer 10 min.
- Récupérer la phase inférieure et ajuster le volume avec 20% d'Hcl (0,01N).

#### **Dosage turbidimétrique :**

- Prélever 1 ml de chaque extrait ainsi obtenu, déposer dans un tube stérile et ajouter 9ml de milieu inoculé (milieu 3 spécifique Voir composition en annexe 2 milieux).
- Homogénéiser et placez les tubes dans un bain marie à 37°C pendant 3h.
- Après incubation, arrêtez la croissance des micro-organismes par adjonction de 0,5ml de formaldéhyde dans chaque tube.
- Lire l'absorbance au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 530nm.

#### **Courbe d'étalonnage :**

Préparer une gamme d'étalons aux concentrations finales de 0,7 ; 0,4 et 0,1 µg/ml à partir d'une solution mère à 1000 µg/ml obtenue par dissolution de 25 mg d'oxytétracycline dans 25 ml d'Hcl à 0,01 N. 1 ml de chaque solution de la gamme étalon est traité de la même façon que les échantillons pour le dosage turbidimétrique.

#### **II.1.1.2- Résultats et discussion :**

Les résultats obtenus sont rapportés dans le Tableau 2.1 et 2.2

Tableau 2.1 : Absorbances mesurées pour les étalons et les témoins.

Témoins et étalons	Concentration		Absorbance
	µg/ml	ng/g	
Etalon 1	0.7	700	0.111
Etalon 2	0.4	400	0.227
Etalon 3	0.1	100	0.341
Témoin positif	0.92	920	0.023

Témoign négatif	0.00	000	0.377
-----------------	------	-----	-------

Les résultats obtenus montrent la présence de l'antibiotique recherché (oxytétracycline) dans tous les échantillons analysés à une concentration variant de 610 à 960 ng/g pour la viande crue et de 90 à 370 ng/g pour la même viande après cuisson. Cette situation pourrait s'expliquer par le fait que les tétracyclines soient d'anciennes molécules et qu'elles demeurent parmi les antibiotiques les plus utilisés en médecine vétérinaire en Algérie (Cf. enquête praticien) et que leur délai d'attente soit assez important (7 jours).

Dans nos conditions expérimentales, l'oxytétracycline a été détectée à une concentration supérieure à la limite maximale de résidus (LMR) de **100 ng/g** pour la viande de volailles (RUYCK R et al, 1999) dans tous les échantillons analysés de viande crue. Cette concentration semble baisser lorsque l'échantillon de viande est traité thermiquement (cuisson) mais demeure supérieure à la LMR dans les 2/3 des échantillons analysés. Selon LEDERER J (1986), la destruction de la molécule d'antibiotique dépend de plusieurs facteurs, à savoir : le pH, la température, la durée de chauffage, la nature des protéines et le taux d'antibiotiques. Sur la base de ce qui précède, nous pouvons dire que la diminution de la concentration de l'oxytétracycline dans les échantillons de viande après cuisson pourrait être due à l'action de la chaleur sur la molécule d'oxytétracycline par modification ou dénaturation.

**Tableau 2.2 :** Absorbances mesurées et concentrations obtenues par extrapolation pour les échantillons de viande crue analysés.

Localité	Viande	Echantillons	Absorbance	Absorbance moyenne	Concentration par extrapolation
Guerouaou	Crue	1	0.148	0.147	610
		2	0.144		
		3	0.149		
	Cuite	1	0.347	0.347	90
		2	0.346		
		3	0.348		
Chebli	Crue	1	0.010	0.010	960
		2	0.011		
		3	0.009		
	Cuite	1	0.329	0.330	140
		2	0.334		
		3	0.328		
Médea	Crue	1	0.035	0.035	890
		2	0.036		
		3	0.034		

	Cuite	1	0.237	0.237	370
		2	0.238		
		3	0.238		

Comme l'action de la chaleur s'exprime par rapport à l'effet du couple "température – temps" ; que peut devenir la molécule d'oxytétracycline lorsqu'elle est soumise à ces deux paramètres (température et durée de cuisson) et quel est son impact sur la santé du consommateur ?

## **II.1.2-Recherche de résidus d'antibiotiques par la méthode de diffusion (ETUDE 2).**

Dans la partie turbidimétrique, nous avons pris aléatoirement trois poulets de 3 localités, soit un total de 9 poulets correspondant à trois élevages. Dans la partie suivante « méthode de diffusion » nous avons pris 2 mêmes localités et une 3<sup>ème</sup> différente avec 27 poulets pour neuf élevages. Ceci nous permettra de vérifier la présence ou absence de ces résidus par une autre méthode.

### **II.1.2.1- Recherche de résidus d'antibiotiques par la méthode de diffusion à partir de prélèvements de viande crue et cuite (ESSAI 1) :**

#### **Période et lieu de l'étude**

Le présent travail a été réalisé durant la période d'octobre 2005 à mars 2006 au laboratoire de recherche et développement du groupe SAIDAL de Médéa.

#### **ANIMAUX :**

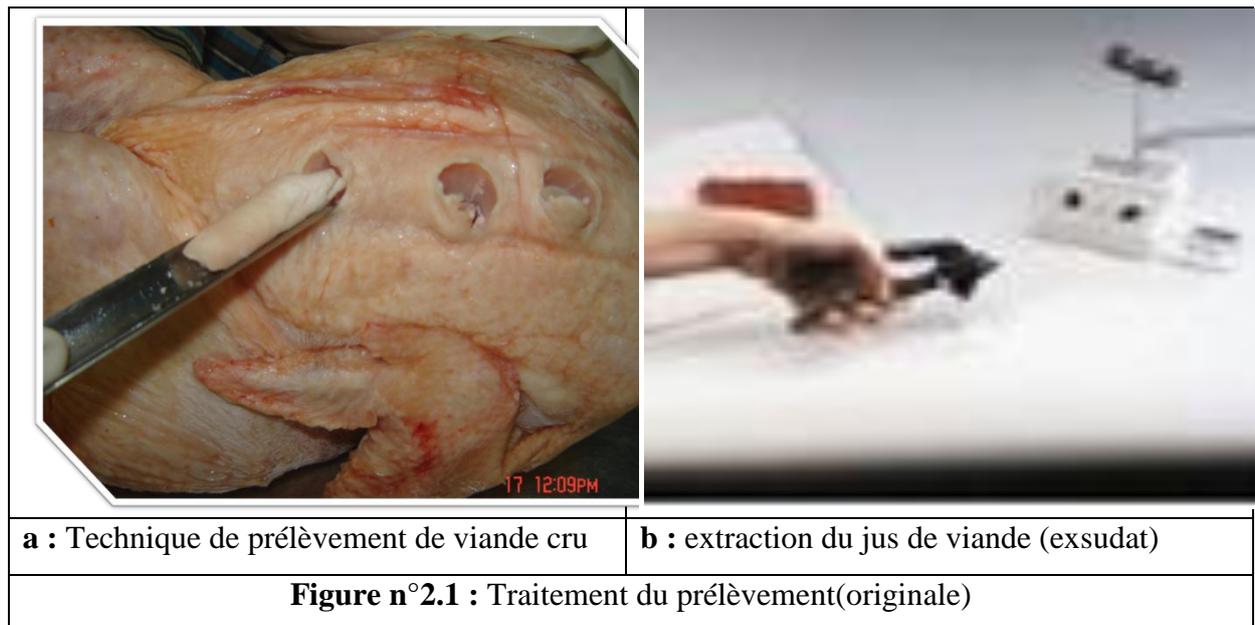
A partir d'élevages en fin de bande des localités de Guerrouaou, de Chebli et de Soumaa, nous avons pris aléatoirement trois (3) poulets de trois élevages de chaque localité, soit un total de 27 poulets correspondant à neuf élevages différents.

#### **Préparation des prélèvements :**

Après sacrifice de l'animal et en vue d'assurer une aseptie superficielle de la région à inciser, nous avons humidifié le plumage et la peau avec une solution aqueuse contenant de l'eau de javel. On pratique une incision cutanée médiane au sommet du bréchet sur la paroi abdominale, sans la perforer. Cette incision médiane est complétée par des incisions (du côté droit et gauche) de la peau des plis de l'aîne. Le revêtement cutané est alors séparé avec étirement en avant.

Un morceau d'environ 2,5 cm<sup>3</sup> de muscle du bréchet (viande crue et viande cuite) est prélevé à l'emporte pièce (Cf. figure 2.1a) et déposé dans un flacon stérile. Environ 250µl d'exsudat de viande est obtenu au moyen d'une presse à viande (Cf. figure 2.1b).

Les prélèvements ainsi réalisés sont stockés au congélateur (-18°C) du Centre Recherche et Développement Saidal (Médéa et Mohammadia) jusqu'au moment de leurs analyses.



### II.1.2.1.1-METHODE :

Nous avons utilisé la méthode microbiologique de diffusion (PRIVAT, 1989) qui se déroule en deux étapes :

1. Etape 1 : Etude de la sensibilité des souches de référence aux antibiotiques recherchés (ciblés).

Nous avons eu recours à quatre (4) souches de références : *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Pseudomonas auruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klepsiella pneumoniae*) et choisi trois antibiotiques, les plus fréquemment utilisés en élevages de poulet de chair, à savoir : la Colistine (polymyxines), l'Erythromycine (macrolides) et les Tétracyclines.

Protocole :

- Coulez environ 30ml de milieu Mueller Hinton (MH) par boîte de culture et laissez sécher.
- Préparer une suspension à la concentration de  $10^{-6}$  à partir de chaque souche de référence.
- ensemencer chaque boîte ainsi préparée avec la suspension correspondante par étalement sur toute la surface du milieu.
- Déposez dans chaque boîte les disques d'antibiotiques ciblés à l'aide d'une pince stérile, à la surface du milieu.

- Incuber les boites dans l'étuve à 37°C pendant 24heures.

Lecture : Mesurer les diamètres correspondant aux zones d'inhibition autour des disques d'antibiotiques.

## 2. Etape 2: Analyse des échantillons.

Protocole :

- Coulez environ 30 ml de milieu Mueller Hinton (MH) par boite de culture et laisser sécher.
- Préparer une suspension à la concentration de  $10^{-6}$  à partir de chaque souche de référence.
- Ensemencer chaque boite ainsi préparée avec la suspension correspondante par étalement sur toute la surface du milieu.
- Déposez dans chaque série de boite :
  - Les disques d'antibiotiques pour lesquelles la souche est sensible à l'aide d'une pince stérile, à la surface du milieu.
  - Les deux disques correspondant aux témoins positif et négatif.
  - Les trois disques correspondant aux échantillons à analyser (E1, E2 et E3) issus de viande crue (série 1) et cuite (série 2).
- Incuber les boites dans l'étuve à 37°C pendant 24heures.

Lecture : Mesurer les diamètres correspondant aux zones d'inhibition autour des disques correspondants aux échantillons analysés.

Nous avons utilisé des disques vierges d'un diamètre de 6 mm. Tous les échantillons donnant des zones d'inhibition d'au moins 8 mm de diamètre ont été considérés comme positifs.

### **II.1.2.1.2-RESULTATS ET DISCUSSION :**

Les diamètres correspondant aux zones d'inhibitions obtenus pour les souches de référence testées sont rapportés dans le Tableau 2.3.

**Tableau 2.3** : Diamètres des zones d'inhibition obtenus pour les antibiotiques testés avec les souches de références et normes.

<u>Souches de références</u>	Antibiotiques testés
------------------------------	----------------------

	<b>Erythromycine</b> (15 UI)		<b>Tétracyclines</b> (30 UI)		<b>Colistine</b> (10 UI)	
	Diamètre obtenu	Normes (mm)	Diamètre obtenu	Normes (mm)	Diamètre obtenu	Normes (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	23	22 - 30	26	24 - 30	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	-	-	-	-	23	20 - 22
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	-	-	18	18 - 25	21	20 - 24
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 4352)	-	-	14	14 - 22	17	15 - 24

1UI (unité internationale) = 1µg

En conclusion, il en ressort que :

- la souche de référence *S aureus* (ATCC 25923) est sensible à l'érythromycine et aux tétracyclines.
- la souche de référence *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) est sensible à la colistine.
- Les souches d'*E. coli* (ATCC 25922) et *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 4352) sont sensibles aux tétracyclines et à la colistine.

Les diamètres correspondant aux zones d'inhibitions obtenus pour les échantillons analysés sont rapportés dans le Tableau 2.4.

Tableau 2.4 : Diamètres moyens des zones d'inhibition obtenues pour les séries d'échantillons analysés (viande crue et cuite).

Souches de référence		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Antibiotiques testés	Colistine	23 mm	-	21 mm	17 mm
	Erythromycine	-	23 mm	-	-
	Tétracycline	-	26 mm	18 mm	14 mm
Echantillons analysés	Série n°1 (Guerrouaou)	Viande crue	11	9 mm	
		Viande cuite	11	10 mm	
	Série n°2 (Chebli)	Viande crue		12 mm	
		Viande cuite		10 mm	
	Série n°3 (Souma)	Viande crue	12		14 mm
		Viande cuite	11		13 mm
<b>Témoin positif</b>		13 mm	10 mm		
<b>Témoin négatif</b>		-	-	-	-

**Série n° 1 (Guerrouaou) :**

La présence de zones d'inhibition a été caractérisée dans les boites correspondantes à *Pseudomonas aeruginosa* et à *E coli* aussi bien pour la viande crue que cuite. Par conséquent, nous pouvons dire que les échantillons testés présentent une action inhibitrice qui témoignerait de la présence de résidus d'antibiotiques, probablement la colistine et/ou les tétracyclines.

**Série n° 2 (Chebli) :**

La présence de zones d'inhibition a été caractérisée dans les boites correspondantes à *S. aureus* et à *E coli* aussi bien pour la viande crue que cuite. Par conséquent, nous pouvons dire que les échantillons testés présentent une action inhibitrice qui témoignerait d'une présence de résidus d'antibiotiques, probablement l'érythromycine et/ou les tétracyclines.

**Série n° 3 (Soumaa) :**

La présence de zones d'inhibition a été caractérisée dans les boites correspondantes à *Pseudomonas aeruginosa* et à *Klebsiella pneumoniae* aussi bien pour la viande crue que cuite. Par conséquent, nous pouvons dire que les échantillons testés présentent une action inhibitrice qui témoignerait d'une présence de résidus d'antibiotiques, probablement la colistine, l'érythromycine et/ou les tétracyclines.

Sur la base des résultats obtenus, nous pouvons dire que les éleveurs des localités ciblées utiliseraient les antibiotiques et commercialiseraient leurs produits sans le moindre respect de délai d'attente.

Dans cette partie la même étude que la précédente sauf que l'échenillage touche 30 élevages répartis dans toute la région de la Mitidja de manière aléatoire et aussi les prélèvements sont faits sur le muscle, les organes et les œufs.

### **II.1.2.2- Recherche de résidus d'antibiotiques par la méthode de diffusion à partir de prélèvements de viande et organes de poulet de chair et les œufs (ESSAI 2) :**

#### **Animaux :**

Quatre vingt dix poulets provenant de trente (30) élevages différents de la Mitidja ont servis à l'étude et vingt quatre (24) œufs frais du jour provenant de huit bâtiments différents d'un complexe d'élevage étatique (ORAC Soumaa) ont été prélevés à raison de trois œufs par bâtiment.

Les témoins positif et négatif correspondent à des poulets élevés séparément par nos soins. Celui ayant reçu des antibiotiques dans l'eau de boisson avec une forte posologie correspond au témoin positif. Celui qui n'a reçu aucun traitement d'antibiotiques correspond au témoin négatif.

#### **Préparation des prélèvements :**

Un morceau de viande d'environ 2 cm<sup>3</sup> de viande de muscle (bréchet, cuisse et dos) ou d'organe (foie) est prélevé à l'emporte pièce et déposé dans un flacon stérile. Environ 250µl d'exsudat de viande ou d'organe est obtenu au moyen d'une presse à viande. En ce qui concerne les œufs, nous avons utilisé le jaune d'œuf comme prélèvement.

Les prélèvements ainsi réalisés sont stockés au congélateur (-18°C) du Centre Recherche et Développement Saidal (Médeä et Mohammadia) jusqu'au moment de leurs analyses.

#### **II.1.2.2.1-Méthode : Cf. essai 1.**

Néanmoins, il est à noter que nous avons utilisé huit souches de référence (American Type Culture Collection : ATCC) : *Bacillus Subtilis* (ATCC 9372) ; *Escherichia Coli* (ATCC 4157) ; *Micrococcus luteus* (ATCC 533) ; *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) ; *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) ; *Salmonella breunii* (ATCC 133) ; *Enterococcus faecium* (ATCC 6569) et *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 4352) et choisi quatre antibiotiques, les plus fréquemment utilisés dans les élevages avicoles, identifiés lors de l'enquête (partie

A), à savoir : Trimétoprime (20 $\mu$ g), Ampicilline (10 $\mu$ g), Oxytetracycline (30 $\mu$ g) et Erythromycine (15 $\mu$ g).

### II.1.2.2.2-RESULTATS ET DISCUSSION :

Les résultats obtenus à l'étude de la sensibilité de nos 8 souches de référence aux antibiotiques sont rapportés dans le tableau 2.5 :

Tableau 2.5 : Diamètres des zones d'inhibition pour les souches de référence testées.

Souches testées	Diamètre des zones d'inhibition (mm)			
	Triméthoprim	Ampicilline	Tétracyclines	Erythromycine
<i>Bacillus Subtilis</i> (ATCC 9372)	17 mm	-	16 mm	25 mm
<i>Micrococcus luteus</i> (ATCC 533)	35 mm	27 mm	-	25 mm
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 4352)	30 mm	-	29 mm	-
<i>Enterococcus faecium</i> (ATCC 6569)	-	-	30 mm	12 mm
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538)	18 mm	30 mm	26 mm	30 mm
<i>Escherichia Coli</i> (ATCC 4157)	-	-	18 mm	27 mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 9027)	-	-	-	22 mm
<i>Salmonella breunii</i> (ATCC 133)	33 mm	-	-	15 mm

Il en ressort que :

- La souche de référence *Bacillus Subtilis* (ATCC 9372) est sensible à la Triméthoprim, aux Tétracyclines et à l'Erythromycine.
- La souche de référence *Micrococcus luteus* (ATCC 533) est sensible à la Triméthoprim, à l'ampicilline et à l'Erythromycine.
- La souche de référence *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 4352) est sensible à la Triméthoprim et aux Tétracyclines.
- La souche de référence *Enterococcus faecium* (ATCC 6569) est sensible aux Tétracyclines et à l'Erythromycine.
- La souche de référence *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) est sensible aux quatre antibiotiques testés.
- La souche de référence *Escherichia Coli* (ATCC 4157) est sensible aux Tétracyclines et à l'Erythromycine.
- La souche de référence *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) est sensible à un seul antibiotique, à savoir : l'Erythromycine.
- La souche de référence *Salmonella breunii* (ATCC 133) est sensible à la Triméthoprim et à l'Erythromycine.

L'interprétation des résultats montre que :

- Les souches sensibles à l'Erythromycine (macrolides) sont : *Bacillus Subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia Coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.
- Les souches sensibles aux Tétracyclines sont : *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia Coli* et *Bacillus Subtilis*.
- Les souches sensibles à la Triméthoprimine (Diaminopyrimidines) sont : *Micrococcus luteus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella breunii*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus Subtilis*.
- Les souches sensibles à l'Ampicilline (Betalactamines) sont : *Micrococcus luteus* et *Staphylococcus aureus*.

Pour l'analyse de nos échantillons, nous n'avons retenu que les souches *Bacillus subtilis* (ATCC 9372) et *Micrococcus luteus* (ATCC 533), souches les plus fréquemment utilisés pour la recherche des résidus d'antibiotiques dans la viande après avoir testé leur sensibilité vis-à-vis des quatre molécules couramment utilisés en élevages aviaires dans le terrain algérien.

Nous avons utilisé des disques vierges d'un diamètre de 6 mm. Tous les échantillons donnant des zones d'inhibition d'au moins 8 mm de diamètre ont été considérés comme positifs.

Les diamètres moyens obtenus pour les échantillons d'exsudat de viande et organes analysés sont exprimés par élevage et rapportés dans le Tableau 2.6

Tableau 2.6 : Diamètre moyen des zones d'inhibition (mm) obtenues.

Souches	E1		E2		E3		E4		E5		E6		E7		E8		E9		E10	
	O	V	O	V	O	V	O	V	O	V	O	V	O	V	O	V	O	V	O	V
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 9372)	-	-	-	-	-	-	-	-	11± 0.5	11± 0.5	9± 0.5	11± 0.5	-	-	8± 0.5	10± 0.5	-	-	-	-
<i>Micrococcus luteus</i>	-	-	-	-	-	-	15± 0.5	12± 0.5	14± 0.5	11± 0.5	-	-	-	-	9± 0.5	10± 0.5	9± 0.5	11± 0.5	-	-

Souches	E11		E12		E13		E14		E15		E16		E17		E18		E19		E20	
	O	V	O	V	O	V	O	V	O	V	O	V	O	V	O	V	O	V	O	V
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 9372)	-	-	11± 0.5	11± 0.5	9± 0.5	10± 0.5	-	-	9± 0.5	11± 0.5	-	-	11± 0.5	11± 0.5	-	-	-	-	8± 0.5	12± 0.5
<i>Micrococcus luteus</i>	14± 0.5	12± 0.5	13± 0.5	11± 0.5	-	-	-	-	8± 0.5	10± 0.5	-	12± 0.5	13± 0.5	-	-	-	-	-	8± 0.5	10± 0.5

Souches	E21		E22		E23		E24		E25		E26		E27		E28		E29		E30	
	O	V	O	V	O	V	O	V	O	V	O	V	O	V	O	V	O	V	O	V
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 9372)	-	-	-	-	9± 0.5	11± 0.5	-	-	11± 0.5	11± 0.5	9± 0.5	9± 0.5	-	-	8± 0.5	-	-	-	-	-
<i>Micrococcus luteus</i>	-	-	-	-	-	-	14± 0.5	12± 0.5	16± 0.5	12± 0.5	-	-	-	-	8± 0.5	10± 0.5	11± 0.5	10± 0.5	-	-

Les résultats obtenus (tableau 2.6) pour les prélèvements de viande et organes ont révélé :

- L'absence de zones d'inhibition vis-à-vis des souches testées pour les échantillons des élevages E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>, E<sub>3</sub>, E<sub>7</sub>, E<sub>10</sub>, E<sub>14</sub>, E<sub>19</sub>, E<sub>18</sub>, E<sub>21</sub>, E<sub>22</sub>, E<sub>27</sub>, E<sub>30</sub> (viande et organe). Par conséquent, nous pouvons dire qu'il y aurait absence de résidus d'antibiotiques dans les prélèvements d'organes et de viandes issus de ces élevages, soit un taux de négativité de 40%.
- La présence de zones d'inhibitions (vis à vis d'au moins une souche testée) pour les échantillons des élevages restants (viande et/ou organe). Par conséquent, nous pouvons dire qu'il y aurait présence de résidus d'antibiotiques aussi bien dans les prélèvements issus d'organes que de viandes, soit un taux de positivité de 60%.

Les résultats obtenus pour les 24 échantillons d'œufs frais analysés n'ont pas montré de zones d'inhibition, c'est-à-dire l'absence de résidus d'antibiotiques. Cette situation pourrait s'expliquer par le fait que la gestion d'élevage du secteur étatique semble être correcte et respectueuse de la réglementation.

La présence des résidus d'antibiotiques dans la viande de poulet de chair à un taux de 60% pourrait s'expliquer par l'utilisation abusive des antimicrobiens probablement liée à un traitement des animaux suivi d'un délai d'attente insuffisant (Bonfoh, 2003 ; Corpet et Brugere, 1995). Ce dernier est en fonction de la molécule d'antibiotique utilisée. Le respect de ce délai garantit une teneur des résidus de ces médicaments dans les aliments conforme à la LMR (FAO/OMS, 1996). L'hypothèse de l'ajout des antibiotiques comme additifs alimentaires (facteurs de croissance) de façon officieuse reste fortement suspectée malgré l'interdiction de cette pratique. Ceci est conforté par DEVIE et al., (2006) qui a rapporté que 68% des aliments du poulet de chair sont ainsi supplémentés. Il faut noter aussi que de nombreux éleveurs traitent eux mêmes leurs animaux chez lesquels les notions sur les conditions et les quantités à administrer sont absentes. De plus, il est à noter que la totalité des échantillons positifs pourraient contenir une autre molécule d'antibiotique (quinolone) ne pouvant pas être mise en évidence par les méthodes utilisées. La présence de ces résidus aux taux supérieurs aux LMR fixées peut avoir des conséquences néfastes aussi bien pour la santé humaine que animale, en effet elles peuvent amener à une sélection favorable de bactéries résistantes aux antibiotiques. Cette résistance peut se manifester à l'égard d'un seul ou de plusieurs médicaments.

Le taux de négativité obtenu de 40% ne signifie probablement pas l'absence de résidus dans les échantillons analysés car ces derniers peuvent contenir des molécules d'antibiotiques à une concentration inférieure à la CMI. Cette situation pourrait s'expliquer par l'usage d'antibiotiques à

faibles doses et pendant des périodes prolongées qui peut accélérer le gain de poids ou améliorer l'indice de conversion. Mais il faut savoir que l'importance de l'amélioration dépend de différents facteurs, dont la composition des aliments, les pratiques de gestion et l'état sanitaire du troupeau (Klotins, 2006). En effet pour maîtriser les différents paramètres d'élevage il faut des professionnels alors que la plupart des aviculteurs ne le sont pas, et ne maîtrisent pas l'application des règles hygiéniques fondamentales, ce qui par conséquent favorise le développement d'un environnement défavorable pour les volailles, entraînant l'émergence de pathologies diverses. Ces dernières portent atteintes à la rentabilité et à la qualité des produits (Alloui, 2003). Donc l'utilisation d'antibiotiques dans le but d'améliorer la croissance n'est pas une pratique prudente si l'on n'en tire aucun avantage.

La contamination des denrées alimentaires d'origine animale a été rapportée par de nombreux auteurs. En effet, en Algérie de nombreuses études ont rapporté la présence des résidus d'antibiotiques dans les viandes en général et les viandes blanches de poulet en particulier. Dans la région d'Alger, selon Ben Mohad, (2007), 3,33% des échantillons analysés contenaient des résidus avec 100% de positifs à la pénicilline par la méthode HPLC avec une concentration moyenne 204,85µg/kg. Dans la région d'El-Tarf Mansouri, (2007) a montré que 65,7% étaient positifs aux antibiotiques. Les résidus d'antibiotiques ont aussi été mis en évidence dans le lait (Tarzaali D, 2008, Lebres et Mouffok, (2000). Cette situation est similaire de celle rapportée pour de nombreux pays d'Afrique : au Mali [Bonfoh B et al, 2003], au Niger , au Kenya et au Maroc .

Au niveau international, le problème des résidus des médicaments vétérinaires dans les denrées d'origine animale particulièrement les viandes est un réel problème. En effet au Maroc Kribel (1998) a mis en évidence des résidus de nitrofuranes dans 92% des échantillons d'œufs et de chairs avec des teneurs allant de 0,6 à 31,6 µg/kg. En Arabie Saoudite dans la province orientale, Al-Ghamdi et al, (2001) ont rapporté la présence de résidus de tétracyclines dans 69.7 % des poulets de chair analysés. Au Sénégal, Abiola et al, (2005) ont révélé des traces de furaltadone (famille des nitrofuranes) prohibée dans les élevages depuis 1994, avec des teneurs variant de 0,7 à 243µg/kg. En Suisse, l'office fédéral de la santé publique de Berne a détecté en fin 2002, des résidus de nitrofuranes dans la viande de volaille à des concentrations de 0,3 à 320 µg/kg, provenant des plus grands exportateurs de poulet de chair dans le monde (Brésil, Thaïlande, chine).

### **II.1.3- RECHERCHE DES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES PAR LA METHODE DE REFERENCE (ETUDE 3).**

Cette étude s'inscrit dans la suite des études précédentes mais on utilise la méthode de références des 4 boites et avec du jus (exsudat) au lieu de la viande pour confirmer la présence ou l'absence des résidus dans la viande de volaille.

## **II.1.3 .1- MATERIEL ET METHODES**

### **II.1.3 .1.1- Matériel**

#### **Période et lieu de l'étude**

Le présent travail a été réalisé durant la période d'octobre 2005 à octobre 2006 au laboratoire de recherche et développement du groupe SAIDAL de Mohamadia.

#### **Matériel biologique**

Au total, seize (16) poulets de chair provenant d'élevages privés et offices (étatique) ont été utilisés. A partir de chaque carcasse, nous avons prélevé aseptiquement des carottes cylindriques de viande de 8 mm de diamètre et de 2 cm de long à l'aide d'un emporte pièce qui ont été congelés après identification.

Une carotte de chaque échantillon à analyser est décongelée puis traitée au presse-ail pour récupérer le jus (exsudat). Dix (10) microlitres de chaque échantillon sont déposés par puit et par boite pour la recherche des résidus d'antibiotiques.

Les souches de *Bacillus subtilis* et *Micrococcus luteus*, provenant de la souchothèque du service milieux de culture de l'Institut Pasteur d'Alger, ont été utilisés pour la mise en œuvre de la méthode microbiologique standardisée.

#### **Matériel de laboratoire :**

##### **Milieux de cultures et réactifs :**

- Eau tamponnée peptonée.
- Gélose tryptone soja (GTS) pour isolement, confirmation d'identification et remise en activité des souches bactériennes.
- Solution de triméthoprime : facilite la détection des sulfamides grâce à l'action synergique triméthoprime-sulfamide.
- Test Agar à pH 6 (Référence 10663 commercialisé par MERCK) utilisé pour la détection du groupe des Béta-lactamines/Tétracyclines.
- Test Agar à pH 7,2 (Référence 15787 commercialisé par MERCK) utilisé pour la détection des Sulfamides.

- Test Agar à pH 8 (Référence 10664 commercialisé par MERCK) utilisé à la fois pour la détection des Aminosides, chez *Bacillus subtilis*, et de celle du groupe des Macrolides/Bétalactamines chez *Micrococcus luteus*.

### II.1.3 .1.2- Méthode de recherche des résidus d'antibiotiques.

**Technique des 4 boites :** elle est applicable aux muscles d'animaux de boucherie et volailles, aux muscles et foies. Elle est basée sur l'inhibition de la croissance de bactéries du genre *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*. Elle est réalisée au moyen de boîtes de Pétri contenant une géloseensemencée avec la souche *Micrococcus luteus* ou la souche *Bacillus subtilis*. Les zones d'inhibition dépourvues de colonies bactériennes autour des points de dépôts des échantillons (morceau de rein ou papier filtre imbibé d'exsudat de cortex rénal) sont révélatrices de la présence potentielle d'antibiotiques (AFNOR 2011)

Le protocole utilisé est le suivant :

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

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

Préparation des boites de pétri

- *Bacillus Subtilis* :

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

Gélose à pH 7,2 (détection des Sulfamides) : Le milieu agar témoin pH 7 préalablement fondu puis refroidi à 45°C estensemencé avec 1% de la suspension de spores, de façon à obtenir une concentration d'environ 10<sup>4</sup> spores par ml de milieu. On rajoute ensuite 1% de la solution de

Trimethoprime et on répartit le milieuensemencé dans des boites de pétri à raison de 6 ml par boite et on laisse le milieu refroidir sur une surface plane et horizontale.

Gélose à pH 8,0 (détection des Aminosides) : Le milieu agar témoin pH 8,0 ; préalablement fondu puis refroidi à 45°C estensemencé avec 1% de la suspension de spores, de façon à obtenir une concentration d'environ  $10^4$  spores par ml de milieu.

On répartit le milieuensemencé dans des boites de pétri à raison de 6 ml par boite, puis on laisse le milieu refroidir sur une surface plane et horizontale.

- *Micrococcus luteus* :

Gélose à pH 8,0 (détection des Macrolides/Bétalactamines) : Le milieu agar témoin pH 8,0 préalablement fondu puis refroidi à 45°C estensemencé avec 1% de la suspension de spores, de façon à obtenir une concentration d'environ  $10^4$  spores par ml de milieu. On répartit le milieuensemencé dans des boites de pétri à raison de 6 ml par boite et on laisse le milieu refroidir sur une surface plane et horizontale.

- Protocole expérimental :

La technique de diffusion se déroule comme suit :

- Placer au centre de chaque boite, à l'aide d'une pince, un disque de papier filtre d'un diamètre de 6 mm sur lequel on dépose 10µl de la solution témoin correspondant à chaque boite, à savoir : la Pénicilline (pH 6,0) le Sulfathiazol (pH 7,2) et le Dihydrostreptomycine (pH 8,0) pour *Bacillus subtilis* et l'Erythromycine pour *Micrococcus luteus* (pH 8,0).
- Assurer la pré diffusion en laissant les boites une demi-heure à une heure à température de laboratoire.
- Retourner les boites et les incubent à 30°C durant 18 heures pour *Bacillus subtilis* et 24 heures à 37°C pour *Micrococcus luteus*.
- Déposer 10 µl de l'exsudat de chaque échantillon à analyser dans les puits correspondants de chaque boite pré-ensemencée suivi d'une incubation à la température optimale du développement de la souche bactérienne correspondante.

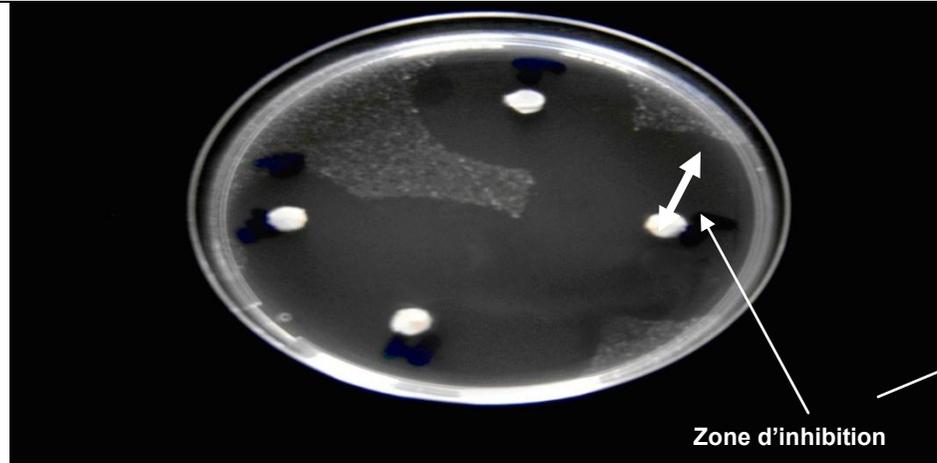
### **II.1.3.2- Interprétation des zones d'inhibition**

A l'issue de l'incubation, les disques imprégnés des solutions témoins doivent présenter une zone d'inhibition nette supérieure ou égale à 12 mm, diamètre du disque compris. Pour chacune des quatre boites, sont considérés comme positifs, les échantillons de viande donnant des zones

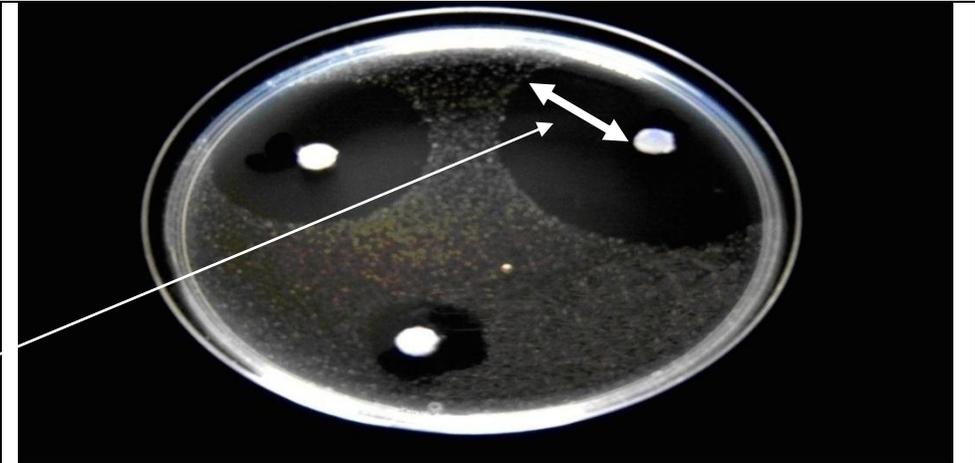
d'inhibition supérieures à **8 mm, diamètre du puits compris**. Sont considérés comme contenant des résidus d'antibiotiques, les échantillons trouvés positifs par l'une au moins des quatre boîtes testées. Après avoirensemencé les boîtes par *Bacillus subtilis* aux pH 6 ; 7,2 et 8 et *Micrococcus luteus* à pH 8, nous avons procédé à la vérification de leur sensibilité et ce en déposant des disques de papier filtre de 6 mm de diamètre imprégnés des solutions de Pénicilline, de Sulfathiazol et de Dihydrostreptomycine et l'Erythromycine dans les boîtes correspondant à *Bacillus subtilis* (pH 6 ; 7,2 et 8) et *Micrococcus luteus*, respectivement.

Toutes les boîtes ont présenté des zones d'inhibition dont la taille minimale de la zone annulaire était de 6 mm (photo n° 01).

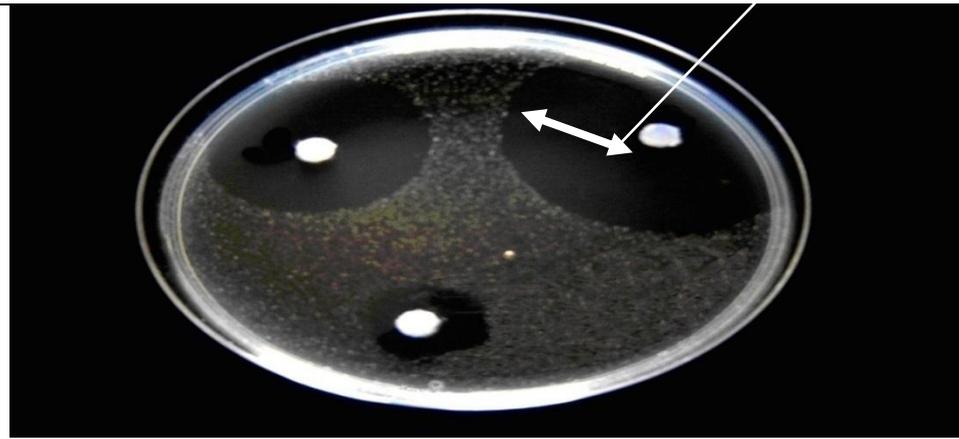
Les zones d'inhibition obtenues pour les échantillons analysés sont rapportées dans le Tableau 2.7



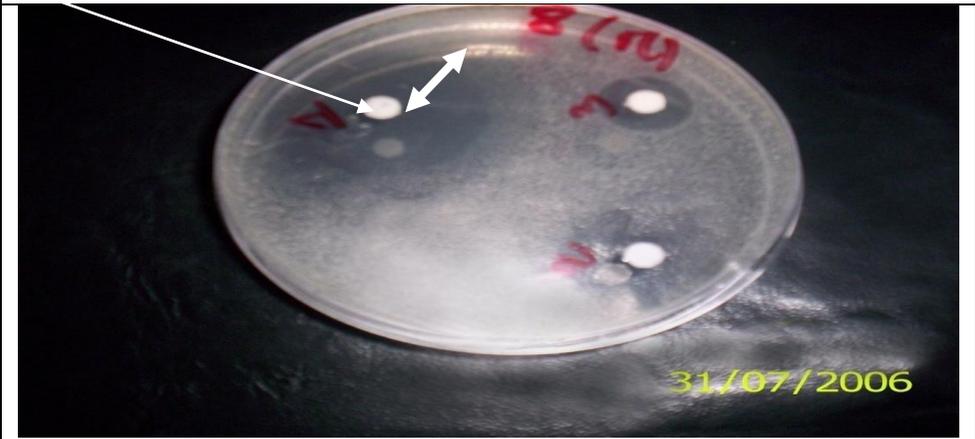
a : Sensibilité de *Bacillus subtilis* (pH 6) à la Pénicilline.



b : Sensibilité de *Bacillus subtilis* (pH 7,2) au Sulfathiazol



c : Sensibilité de *Bacillus subtilis* (pH 8) à la Dihydrostreptomycine



d : Sensibilité de *Micrococcus luteus* (pH 8) à l'Erythromycine

Photo n°2.1 : Zones d'inhibition des antibiotiques (témoin).(originale)

Tableau 2.7 : Zones d'inhibition obtenues pour les échantillons analysés.

Echantillons analysés		Bétalactamines/Tetra-cyclines ( <i>B. subtilis</i> pH=6)	Sulfamides ( <i>B. subtilis</i> pH=7,2)	Aminosides ( <i>B. subtilis</i> pH=8)	Macrolides/Beta-lactamines ( <i>M. luteus</i> pH=8)	Interprétation du résultat	Résidus d'antibiotiques
1.		-	13.5 mm	-	-	Positif	Présence
2.		15 mm	-	-	-	Positif	Présence
3.		-	-	-	-	Négatif	Absence
4.		-	-	-	-	Négatif	Absence
5.		11 mm	-	-	-	Positif	Présence
6.		-	10.5 mm	-	-	Positif	Présence
7.		9 mm	-	-	-	Positif	Présence
8.		-	-	-	-	Négatif	Absence
9.		-	10.5 mm	-	-	Positif	Présence
10.		-	-	-	-	Négatif	Absence
11.		13 mm	-	13.5 mm	-	Positif	Présence
12.		9.5 mm	-	-	-	Positif	Présence
13.		10 mm	-	-	-	Positif	Présence
14.		-	-	10 mm	-	Positif	Présence
15.		-	-	-	-	Négatif	Absence
16.		-	-	-	-	Négatif	Absence
Echantillon positif	n %	6 37,5	3 18,75	2 12,5	0 0,0	10 62,5	Présence 62,5

- : zone d'inhibition nulle ou  $\leq 8$  mm.

Les zones d'inhibition obtenues dans la recherche des Macrolides/Betalactamines (*Micrococcus luteus* pH : 8,0) sont nulles ou  $\leq 8$  mm pour les seize échantillons analysés. Cette situation pourrait s'expliquer soit par l'absence de ces molécules, soit par leur présence mais à une quantité insuffisante pouvant permettre une zone d'inhibition  $> 8$  mm.

Celles des Bétalactamines/Tétracyclines (*Bacillus subtilis* pH : 6,0) ; des Sulfamides (*Bacillus subtilis* pH : 7,2) et des Aminosides (*Bacillus subtilis* pH : 8,0) sont  $> 8$  mm, respectivement pour six (06), soit 37,5%), trois (03), soit 18,75%) et deux (02), soit 12,5%.) échantillons analysés.

Le plus fort taux de positivité est celui obtenu pour les molécules de Bétalactamines/Tétracyclines (37,5%) ; il est en étroite relation avec les pratiques observées en élevage avicole en Algérie qui confirme l'utilisation abusive des Tétracyclines par les éleveurs pour des considérations économiques. L'interprétation des résultats fait ressortir que 62,5% (10 sur 16) échantillons sont positifs.

Une étude réalisée en suisse (SISQA, 2003) portant sur effectif total de 55 échantillons de viande de volaille provenant de différents régions du monde [Chine (19), Brésil (06), Hongrie (08), Europe de l'ouest (12), Europe de l'Est (04), Thaïlande (03) et le Chili (02)] a révélé que 20 échantillons sont positifs à la présence de résidus d'antibiotiques, soit un taux de 36%.

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

Un plan de surveillance des résidus d'antibiotiques dans la viande au Royaume-Uni a révélé un taux de positivité de 0.8 % en 2000, de 3.97 % en 2002 et 0.2 % en 2003 (MAVIS, 2003).

En effet, en comparant ces résultats avec ceux obtenus lors de notre investigation, on note une très grande différence qui pourrait s'expliquer essentiellement par :

- La bonne gestion des élevages avicoles garantissant aux animaux un statut sanitaire de haut niveau et par conséquent une moindre utilisation des substances à activité antibiotique.
- L'utilisation de façon prudente et rationnelle des antibiotiques et ce par un personnel qualifié.
- La restriction de l'utilisation des antibiotiques dans l'alimentation animale (facteurs de croissance), voir même son interdiction comme c'est le cas pour les pays de l'Union Européenne depuis la fin de l'année 2005.
- L'instauration et l'application de la réglementation, de contrôles, de plans de surveillance et de sanctions rigoureuses.

- La prise de conscience des différents acteurs de la production animale (éleveurs, producteurs d'aliments de bétail et vétérinaires), des dangers de la présence de résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale et ce par le biais d'importantes campagnes de sensibilisation.

Ces résultats voudraient donc dire, que la présence de résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale est un problème bien réel et probablement généralisé dans notre pays, causé essentiellement, comme cela a été ultérieurement expliqué, par l'utilisation anarchique des antimicrobiens, le non respect des protocoles thérapeutiques lors d'une antibiothérapie (le plus souvent appliquée par l'éleveur lui-même) et par le fait que le côté matériel prenne le dessus sur la sécurité alimentaire du consommateur, soit par choix, soit le plus souvent par ignorance et manque de sensibilisations quand aux lourdes conséquences engendrées par la présence de résidus d'antibiotiques dans l'alimentation humaine.

## **II.2- Effets de la température sur la molécule d'oxytétracycline.**

Dans la présente étude, les résidus d'antibiotiques en général et particulièrement l'oxytétracycline, l'antibiotique le plus fréquemment utilisé en élevage aviaire dans le terrain algérien, ont été mis en évidence dans la viande de poulet crue et surtout cuite par différentes méthodes.

Comme, à ce jour, nous n'avons aucune donnée sur l'effet de la chaleur sur les résidus d'antibiotiques contenus dans la viande cuite, nous nous proposons de soumettre la molécule d'oxytétracycline à l'action de la chaleur en vue d'évaluer :

- a. Sa concentration par spectrophotométrie d'absorption ;
- b. Son activité inhibitrice par la méthode microbiologique de diffusion en milieu Agar.

Le présent travail a été réalisé durant la période de décembre 2006 à mai 2007 au laboratoire de recherche et développement du groupe SAIDAL de Mohammadia.

### **II.2.1-Traitement thermique appliqué à la molécule d'oxytétracycline :**

Déposer trois (03) millilitres d'une solution d'antibiotique « oxytétracycline », à raison de 0.0102g dissoute dans 20 ml d'eau distillée préalablement préparée, dans une série de six (06) tubes stériles. Homogénéiser au vortex à faible vitesse et mettre à incuber pendant 20 minutes aux températures suivantes : 35°C, 43,5°C, 60°C, 72°C, 83°C et 95°C.

#### **II.2.1.1-Evaluation de l'action de la température sur la molécule d'oxytétracycline :**

L'action de la température est évaluée par le dosage de la concentration d'oxytétracycline (1) et la mesure des zones d'inhibition de la culture bactérienne (2).

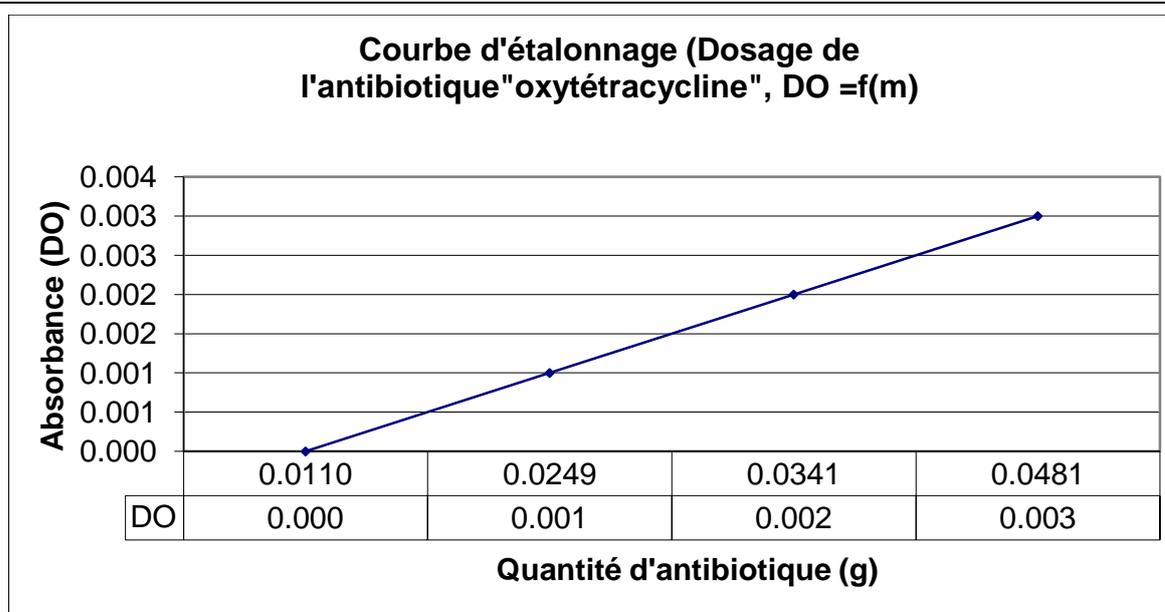
##### **II.2.1.1.1- Dosage de la concentration d'oxytétracycline par la méthode de spectrophotométrie d'absorption :**

Afin de déduire la concentration de l'antibiotique contenu dans un échantillon on réalise une courbe d'étalonnage en prenant des tubes a concentration connue et faire la lecture de la densité optique de chaque tube et tracer la courbe d'étalonnage.

##### **Courbe d'étalonnage :**

Déposer dans chacun des quatre tubes (A, B, C et D) trois (03) millilitres d'une solution contenant 0.011g ; 0,0249 ; 0,0341 et 0,0481g d'oxytétracycline dans 20 ml d'eau distillée, respectivement. Mesurer la densité optique de chacun des tubes à la longueur d'onde de 530 nm.

A partir des densités optiques obtenues pour chaque concentration, on trace la courbe d'étalonnage.



**Figure 2.2 :** Courbe d'étalonnage de l'oxytétracycline.

### Dosage :

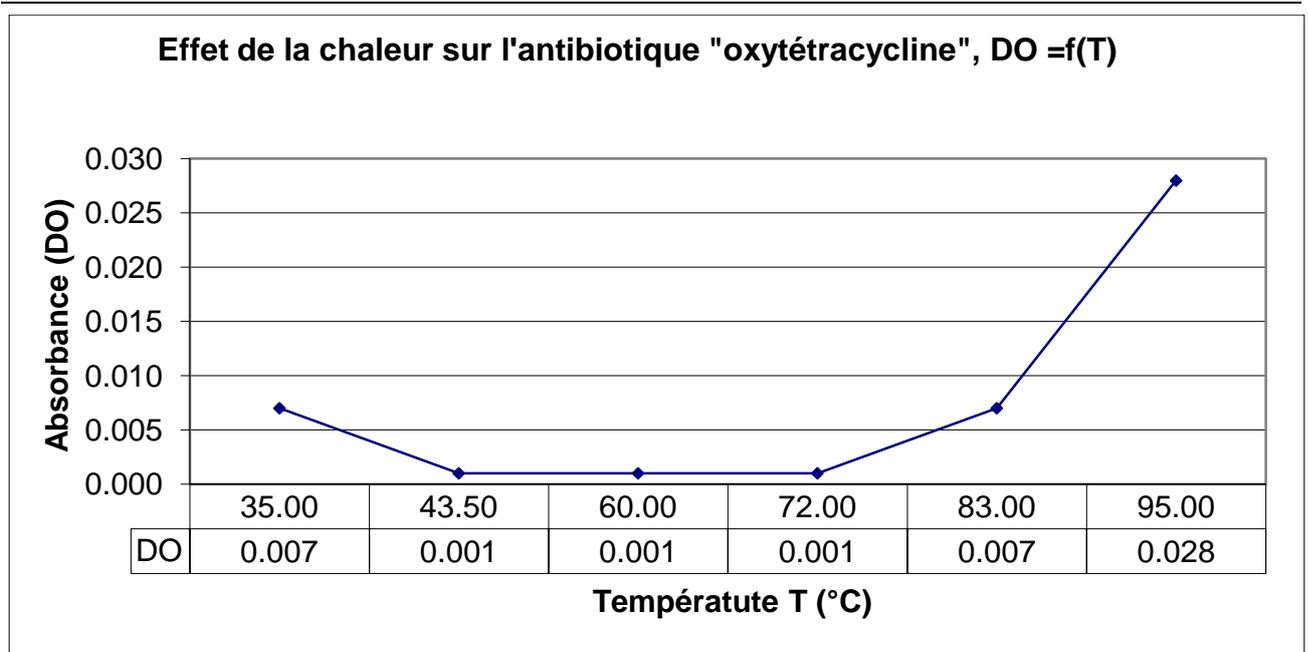
Mesurer la densité optique de chacun des tubes à la longueur d'onde de 530 nm.

La concentration d'oxytétracycline est déterminée par extrapolation des valeurs d'absorbances par rapport à la courbe d'étalonnage (figure 02).

Les concentrations d'oxytétracycline obtenues et la représentation graphique de la cinétique de l'effet de la chaleur sur la molécule d'oxytétracycline sont rapportées dans le tableau 2.8 et la figure n°2.3.

Tableau 2.8 : mesure de l'absorbance de la solution d'oxytétracycline dans chacun des 06 tubes

<b>Température d'incubation (°C)</b>	35	43.5	60	72	83	95
<b>Absorbance</b>	0.007	0.001	0.001	0.001	0.007	0.028
<b>Concentration d'oxytétracycline (g)</b>	0.099	0.022	0.022	0.022	0.099	0.410



**Figure 2.3 :** Cinétique de l'effet de la chaleur sur la molécule d'ATB « Oxytétracycline »

Il apparaît que la concentration d'antibiotique diminue après exposition à 43,5°C par rapport à celle obtenue après exposition à 35°C pour se stabiliser après exposition à 60°C et 72°C, puis augmente après exposition à 83°C et continue d'augmenter après exposition à 95°C. Nous avons remarqué que la couleur de la solution, initialement jaune, reste sans changement après incubation à 35°C, 43,5°C et 60°C ; mais vire au rouge après incubation à 72°C, 83°C et 95°C.

Cette situation pourrait s'expliquer probablement par une modification de la structure de la molécule sous l'effet de la chaleur (Jean Lederer en 1986).

#### **II.2.1.1.2- Evaluation de l'activité inhibitrice de la molécule d'oxytétracycline par la méthode microbiologique de diffusion en milieu Agar.**

Nous avons utilisé la méthode de Salvadogo et *al.* (2004) ou méthode des disques avec la souche *Bacillus subtilis* (ATCC 9372) à la concentration de  $10^6$  UFC/ml pour évaluer l'activité inhibitrice de la molécule d'oxytétracycline après traitement thermique.

#### **Préparation des boîtes de pétri :**

L'ensemencement des boîtes de Pétri a été réalisé par la méthode d'écouvillonnage selon les étapes suivantes :

- Tremper l'écouvillon dans la suspension d'inoculum (*Bacillus Subtilis* (ATCC 9372)) à la concentration de  $10^6$  UFC/ml et l'essorer sur les bords.
- Ensemencer la boîte en frottant délicatement l'écouvillon sur la gélose et en tournant plusieurs fois la boîte de façon à croiser les stries.

**Application des disques :**

Les disques d'un diamètre de 9 mm imbibés par la solution d'oxytétracycline soumise pendant 20 min à l'effet thermique (35°C, 43,5°C, 60°C, 72°C, 83°C et 95°C) sont déposés à la surface de la gélose en respectant une distance minimale de 30 mm entre deux disques. Nous avons utilisé des disques imprégnés d'eau distillée comme témoin négatif.

Les boîtes sont placées dans l'étuve à la température de 37°C pendant 24h.

La lecture des résultats se fait en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour des disques. L'apparition de zones claires d'un diamètre égal ou supérieur à 2mm sont considérées comme inhibition positive (Anastasiadou et *al.*, 2008).

**II.2.2- RESULTATS :**

Les diamètres des zones d'inhibition obtenus sont rapportés dans le tableau n°2.9.

Tableau 2.9 : Les zones d'inhibition obtenues pour la solution d'oxytétracycline soumise à l'effet thermique.

	Solution d'oxytétracycline après exposition de 20 min à					
	35°C	43.5°C	60°C	72°C	83°C	95°C
Diamètre des zones d'inhibition obtenues (mm)	33	33	30	29	27	23

Les diamètres (mm) des zones d'inhibition obtenues sont représentés graphiquement dans la figure 2.4.

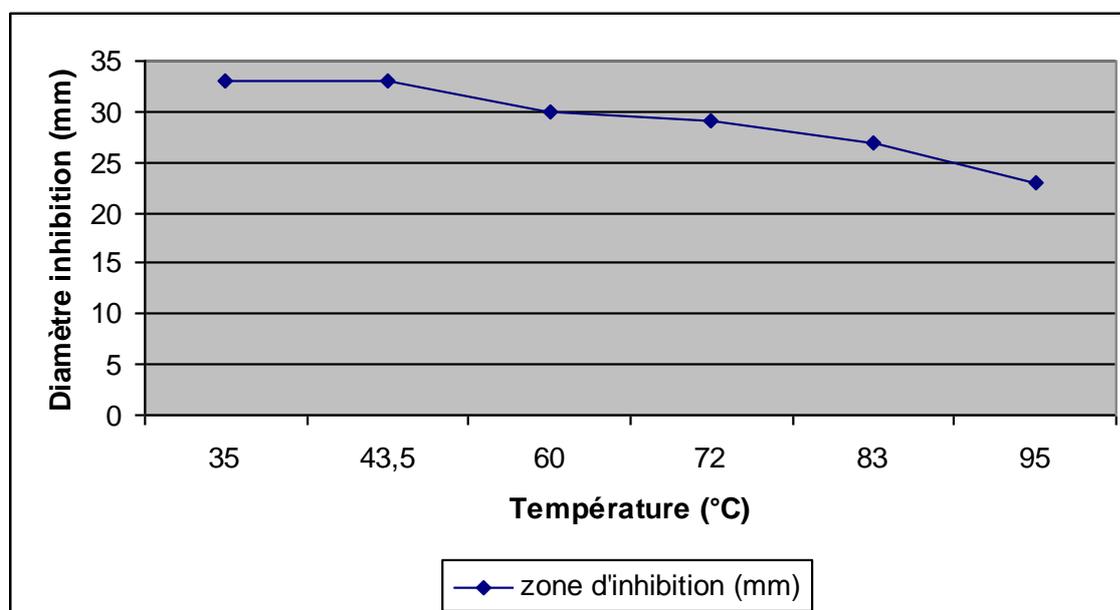


Figure n° 2.4 : Courbe des zones d'inhibition obtenues pour la molécule d'oxytétracycline soumise à l'effet thermique.

Les diamètres des zones d'inhibition obtenues évoluent de manière inversement proportionnelle à la température, à savoir : plus la température d'exposition augmente (Cf. fig 04), plus le diamètre de la zone d'inhibition diminue. Par conséquent, nous pouvons dire que l'activité inhibitrice de la molécule diminue sous l'effet thermique croissant.

Sur la base des résultats obtenus avec les deux méthodes d'analyses (spectrophotométrie d'absorption et méthode de diffusion sur gélose), nous pouvons dire que la quantité d'antibiotique soumise à l'effet thermique diminue progressivement (72°C) puis augmente pour atteindre quatre fois plus sa concentration initiale. Ce constat, additionné du changement de couleur observé (jaune (jusqu'à 72°C, puis rouge après incubation à 72°C, 83°C et 95°C), nous amène à émettre l'hypothèse d'une modification spatiale ou dégradation de la molécule d'antibiotique. La diminution de l'activité inhibitrice de la molécule mise en évidence par la méthode microbiologique conforte cette hypothèse.

D'après **Ibrahim, A. et Moats (1994)**, la cuisson pendant plus de 30 minutes à 100 °C dégrade les résidus d'OTC totalement alors que le résultat de **Van Egmond, H. et al. (2000)** ont trouvé que la destruction des résidus n'est pas totale (53%) et les résidus sont plus ou moins stables même s'ils subissent une procédure de cuisson à 130° C pendant 20 minutes.

Selon **Abou-Raya et al. (2013)**, les résidus d'OTC sont thermiquement instables et une cuisson convenable de la viande (à plus de 140 °C pendant 20 minutes) peut écarter le danger.

Cependant **Kuhne et al. (2001)** trouvent que l'effet d'un antibiotique peut s'accroître après un traitement thermique, et c'est dû à l'apparition des produits de dégradation qui sont plus toxique que la molécule mère . Donc suivant cet état de fait une étude plus approfondie et plus détaillée est indispensable pour pouvoir confirmer ou infirmer notre hypothèse.

## **Partie III : Essai expérimentale**

### **III. Essai expérimental d'utilisation des probiotiques comme alternative aux antibiotiques.**

En Algérie, l'usage des probiotiques comme alternative aux antibiotiques en élevages avicoles n'a pas eu l'essor escompté par manque de vulgarisation et la rareté des travaux scientifiques portant sur ce thème d'une part ; et des conditions d'élevages qui ne correspondent pas aux normes de l'élevage intensif (majorité des bâtiments sont de type traditionnel), d'autre part.

Dans la présente partie, nous nous proposons de faire un essai dans un bâtiment d'élevage à caractère professionnel conçu pour l'expérimentation de ce type de travaux.

### **III.1- MATERIEL ET METHODES :**

#### **Période et lieu de l'étude :**

La période de notre expérimentation s'est étalée de septembre 2007 à avril 2008. Le vide sanitaire et préparation du bâtiment d'élevage ont eu lieu au cours du mois de février 2007 ; la mise en place du cheptel et le suivi de l'élevage durant la période de mars à mai 2007 et les analyses de laboratoire de juin 2007 à avril 2008.

Le lieu d'expérimentation est sis à l'ITEV (Baba Ali) et les analyses ont été réalisées au laboratoire de Bactériologie alimentaire de l'Institut Pasteur d'Algérie.

#### **III.1.1- Animaux et bâtiment :**

Quatre cent cinquante (450) poussins d'un jour d'espèce *Gallus gallus domesticus*, appartenant à la souche Hubbard F15, de sexes mélangés, d'un poids homogène, provenant d'un même couvoir ont été pesés et divisés en trois (3) lots, à savoir : le lot témoin comportant les parquets 1, 4 et 7, le lot "probiotiques" comportant les parquets 2, 5 et 8 et le lot "antibiotiques" comportant les parquets 3, 6 et 9. Les animaux ont été mis en place, le 2 septembre pour une durée d'une bande (60 jours), dans un bâtiment expérimental de type "Ourak" (.Fig. 05), cloisonné de façon à offrir neuf parquets répartis d'une manière alternative et vivant dans les mêmes conditions d'ambiance.

#### **Conduite d'élevage**

Nous avons procédé tout d'abord à un nettoyage puis une désinfection du bâtiment, y compris les chambres utilisées (sols, paroi et plafonds), ainsi que le matériel (mangeoires et abreuvoirs), à l'aide d'un produit iodé.

- Vide sanitaire

Le vide sanitaire d'une durée de 15 jours a été pratiqué dans le but de prolonger l'action du désinfectant et d'assécher les sols et les parois des chambres.

- Mise en place du cheptel

Nous avons conçu des poussinières pour les neufs parquets par la mise en place des poussins dans un rond ou une garde en isorel, pourvu de 2 abreuvoirs cloches, de 2 assiettes ((Photo 3.1) placés dès le 2<sup>ème</sup> jour d'âge.



**Photo 3.1** : Poussins au démarrage.

○ **Litière**

La litière est constituée de copeaux de bois (sec et dépoussiéré). Au cours de la phase démarrage, nous avons utilisé une épaisseur d'environ 10 cm contrairement aux phases de croissance et de finition où elle n'était que d'environ 5 cm.

○ **Température et hygrométrie**

La température ambiante contrôlée 2 fois par jour (8 heures et 16 heures) a été appliquée au cours de la période de l'élevage. L'hygrométrie a été mesurée tout au long de la période d'élevage. Les valeurs sont rapportées dans le Tableau 3.1

**Tableau 3.1** : Température et l'hygrométrie ambiantes durant la période d'expérimentation.

Phases	Période de l'étude	Température (°C)	Hygrométrie (%)
<b>Démarrage</b>	J <sub>1</sub> à J <sub>3</sub>	33- 31	55-60
	J <sub>4</sub> à J <sub>7</sub>	32 - 31	55-60
	J <sub>8</sub> à J <sub>14</sub>	30 -28	55-60
	J <sub>15</sub> à J <sub>21</sub>	28 – 27	55-60
	J <sub>22</sub> à J <sub>24</sub>	27 – 25	55-65
	J <sub>25</sub> à J <sub>28</sub>	25 – 23	55-65
	J <sub>29</sub> à J <sub>30</sub>	23 - 22	55-65
<b>Croissance</b>	J <sub>31</sub> à J <sub>42</sub>	23 – 22	60-70
<b>Finition</b>	J <sub>43</sub> à J <sub>58</sub>	23 - 22	60-70

Les sujets des trois lots ont été vaccinés contre la maladie de Newcastle UNI L CEVA<sup>®</sup> à J<sub>6</sub> et rappel avec NEW L CEVA<sup>®</sup> à J<sub>19</sub> et aussi contre la maladie de Gumboro IBD L CEVA<sup>®</sup> à J<sub>14</sub>.

Il est à noter qu'un lot supplémentaire de 50 poussins (hors essai), placé dans le parquet 10 a été utilisé pour permettre le remplacement de la mortalité accusée lors des 3 premiers jours de l'expérimentation qui est due au stress de transport.

- **Aliment**

L'aliment que nous avons utilisé, de type farineux, a été produit spécialement pour notre expérimentation sur la base de nos recommandations (formulation et composition donnée ci-dessous). Il importe de souligner que les trois lots reçoivent le même aliment (même formule), composé de maïs, tourteaux de soja, son de blé, phosphates bi-calcique, calcaire, et des concentrés minéraux –vitaminés, en fonction de leurs âges, c'est-à-dire :

- Aliment démarrage : 1<sup>er</sup> jour au 30<sup>ème</sup> jour.
- Aliment croissance : 31<sup>ème</sup> jour au 42<sup>ème</sup> jour.
- Aliment finition : 43<sup>ème</sup> jour au 58<sup>ème</sup> jour.

La formulation des trois types d'aliments est rapportée dans le Tableau 3.2 :

**Tableau 3.2** Composition des trois types d'aliments.

<b>Composants</b>	<b>Phase démarrage</b>	<b>Phase croissance</b>	<b>Phase finition</b>
<b>Maïs</b>	58.7 %	65.3 %	66.3 %
<b>Tourteaux de soja</b>	33.1 %	28 %	25 %
<b>Son de blé</b>	4.1 %	2.6 %	5.4 %
<b>Phosphate bi-calcique</b>	2 %	1.7 %	1 %
<b>Calcaire</b>	0.8 %	1.1 %	1 %
<b>CMV*</b>	1 %	1 %	1 %
<b>Sel de table</b>	0.3 %	0.3 %	0.3 %

\* : Le CMV que nous avons utilisé dans cette expérimentation est dépourvu d'anticoccidiens.

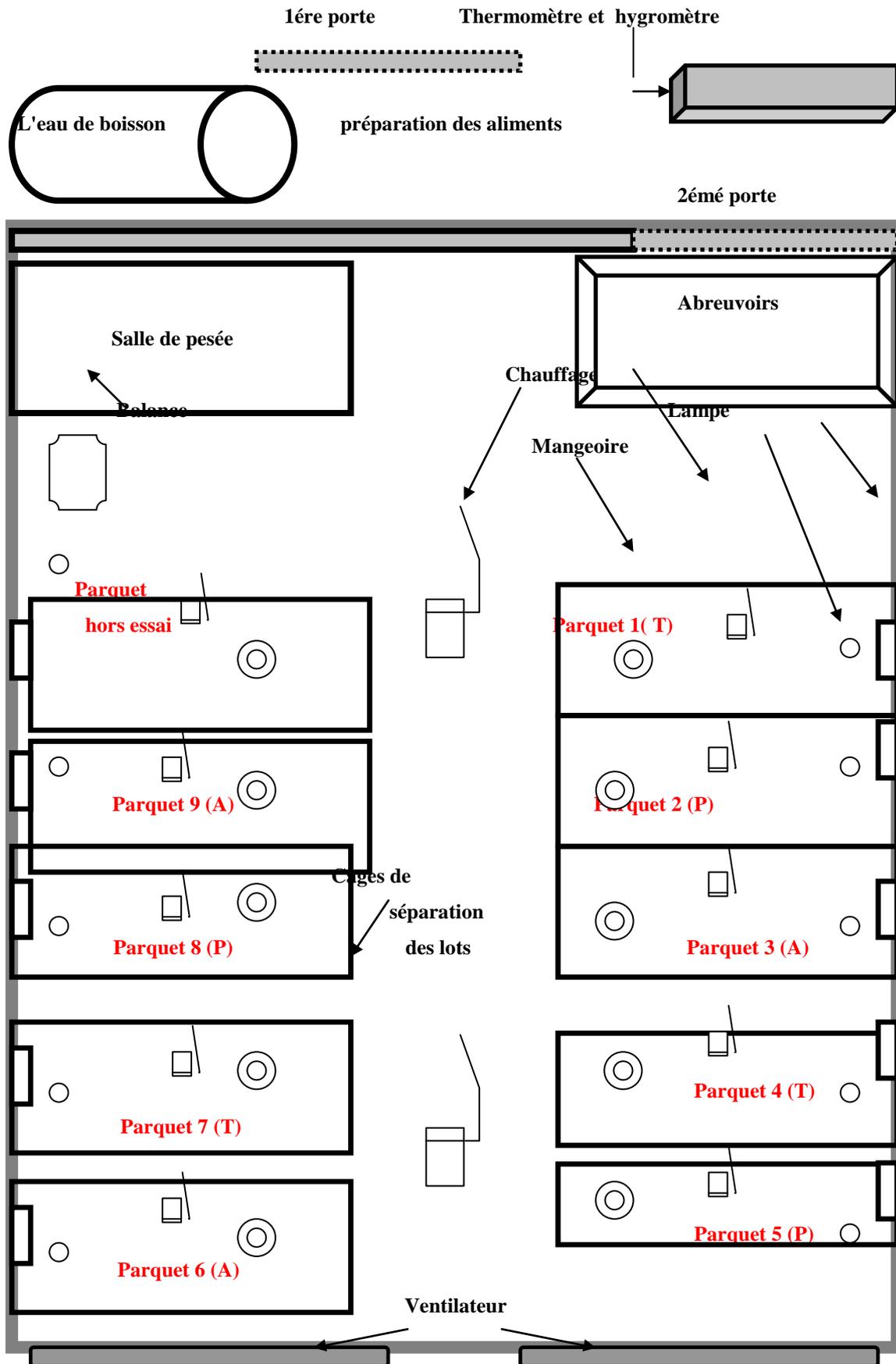
- **Eau de boisson**

L'eau de boisson distribuée aux 3 lots provenait d'une citerne alimentée par l'eau de ville contrôlée régulièrement par le bureau d'hygiène communal.

**Caractéristiques de l'aliment de poulet de chair dans chaque phase (Tableau 3.3) :**

Eléments		Phase démarrage	Phase croissance	Phase finition
Energie métabolisable		2900 kcal	2900 kcal	2950 kcal
Protéines brutes		21%	19%	17%
Acides aminés	Méthionine	0.45%	0.38%	0.36%
	lysine	1.1%	0.88%	0.8%
Matière grasse		2.5%	2.5%	2.5%
calcium		0.8%	0.8%	0.8%
phosphore		0.7%	0.7%	0.7%
humidité		14%	14%	14%
cellulose		4%	4%	4%
Matières minérales		5.5%	5.5%	5.5%
Vitamines (/100kg)	Vit A	1500 000 U.I	1018 000 U.I	1018 000 U.I
	Vit D3	203 000 U.I	203 000 U.I	203 000 U.I
	Vit B1	255mg	200mg	-
	Vit B2	800mg	400mg	410mg
	Vit B3	800mg	800mg	480mg
	Vit B6	490mg	90mg	490mg
	Vit B12	03mg	02mg	98mg
	Vit E	3000mg	1500mg	1060mg
	Vit K3	550mg	300mg	240mg
	Vit PP	4500mg	2500mg	2530mg
	Acide Folique	150mg	50mg	-
	Biotine	10mg	-	-
	Vit C	1500mg	-	-
	Chlorure de choline	53mg	53mg	-
Oligo-éléments(/100kg)	Fer	760mg	760mg	760mg
	Cuivre	760mg	760mg	760mg
	zinc	4500mg	4500mg	4500mg
	cobalt	90mg	90mg	90mg
	sélénium	05mg	05mg	05mg
	Iode	98mg	98mg	98mg
	magnésium	1200mg	1200mg	1200mg
	manganèse	7300mg	7300mg	7300mg
	soufre	830mg	830mg	830mg
supplémentations	Antioxydant BHT	125 ppm	125 ppm	125 ppm
	Acide Aminé DL Méthionine	0.1%	0.08%	22.5%

Figure. N° (3.1): Dessin représentatif de bâtiment "Ourak":



Les animaux du lot "probiotiques" recevaient l'aliment additionnée de lyophilisat de *Pediococcus acidilactici* MA18/5M (Bactocell, Lallemand) à raison de 100 ppm, depuis le premier jour (J<sub>1</sub>). Le mélange à l'aliment étant opéré in-situ en effectuant au préalable plusieurs pré-mélanges. L'eau est distribuée ad libitum sans aucun additif, particulièrement les antibiotiques.

Les animaux du lot antibiotiques recevaient un aliment qui ne comportait aucun additif mais une eau, ad libitum, additionnée d'antibiotiques conformément au protocole rapporté dans le tableau 3.3 tandis que ceux du lot témoin recevaient un aliment sans bactocell et une eau, ad libitum, sans antibiotiques.

Tableau 3.3 : Programme de prophylaxie médicale pour les animaux du lot antibiotiques.

Période	Traitements dans l'eau de boisson (à raison de 20 mg/kg de poids vif)
J <sub>1</sub> à J <sub>5</sub>	Enrofloxacin
J <sub>6</sub> à J <sub>16</sub>	Erythromycine
J <sub>17</sub> à J <sub>22</sub>	Sulfamides
J <sub>23</sub> à J <sub>26</sub>	Enrofloxacin
J <sub>31</sub> à J <sub>36</sub>	Sulfamides
J <sub>36</sub> à J <sub>40</sub>	Néomycine + Oxytétracycline
J <sub>43</sub> à J <sub>48</sub>	Amoxicilline

### III.1.3- Evaluation des performances zootechniques

#### III.1.3.1- Détermination du poids moyen (Gain de poids) :

Au 1<sup>er</sup>, 15<sup>ème</sup>, 36<sup>ème</sup> et 54<sup>ème</sup> jour de la période d'étude, nous avons systématiquement procédé à la finalisation des pesées des animaux, à l'aide d'une balance électronique, sur un échantillon de chaque lot, choisis au hasard. Après quoi, on élabore un relevé de poids moyen des poulets dans chaque lot (Photo 3.2).

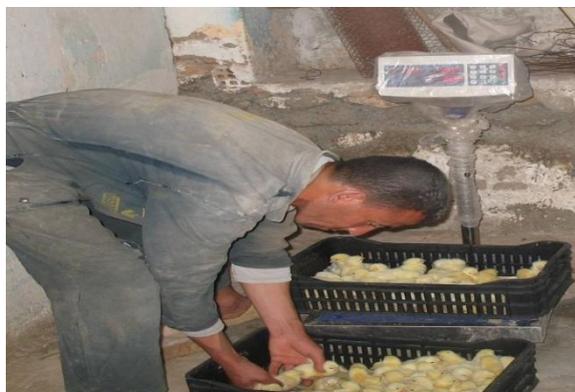


Photo3.2 : Réalisation de la pesée.

### III.1.3.2- Détermination de l'indice de consommation

L'indice de consommation (IC) est le rapport de la consommation sur la croissance (IC = quantité d'aliment distribuée/ somme des gains de poids). Dans cette étude l'indice de consommation est calculé au 15<sup>ème</sup>, 36<sup>ème</sup> et 54<sup>ème</sup> jour.

### III.1.3.3- Mortalité :

Un relevé quotidien de la mortalité est effectué au début de chaque journée durant toute la période d'élevage, mais nous n'avons pas pris en considération la mortalité de la période J<sub>1</sub> à J<sub>4</sub> car due au stress du transport. Le taux de mortalité est calculé à la fin de l'expérimentation.

**III.1.3.4 - Index de performance ou index de production :** c'est une variable synthétique qui permet de porter une appréciation globale sur les performances technico-économiques des élevages avicoles. La formule permettant de calculer cet index est la suivante :

$$\text{Index de Performance (IP)} = \text{GMQ} \times \text{Viabilité} / \text{IC} \times 10$$

avec :

- **GMQ** (Gain Moyen Quotidien) = *Gain de poids (g) / Nombre de jours de la phase*

- **Viabilité**(%) = 100% – % de mortalité

- **Indice de consommation** = *quantité d'aliment ingérée par sujet(g) / gain de poids par sujet(g)*

**Normes :** IP < 50 = Médiocre ; 50 ≤ IP < 100 = Moyen ; 100 ≤ IP < 150 = Acceptable ; 150 ≤ IP < 250 = Bon.

### III.1.4- Evaluation de l'action des probiotiques sur la flore digestive.

L'action des probiotiques sur la flore digestive a été évaluée par la recherche et le dénombrement des Coliformes, des Salmonelles et des Staphylocoques à partir de prélèvements de masse intestinale effectués sur des sujets sacrifiés au 15<sup>ème</sup>, 36<sup>ème</sup> et 54<sup>ème</sup> jour. Le nombre de sujets sacrifiés a varié en fonction de l'âge. L'effectif des sujets sacrifiés est rapporté dans le Tableau 3.4.

Tableau 3.4 : Nombre de sujets sacrifiés durant la période de l'étude.

Age	Nombre de sujets sacrifiés		
	Lot "Témoin"	Lot "Antibiotiques"	Lot "Probiotiques"
J <sub>15</sub>	09	09	09
J <sub>36</sub>	09	09	09
J <sub>54</sub>	09	09	09
Total	27	27	27

#### III.1.4.1- Dépouillement de la carcasse :

On pratique une incision cutanée médiane au sommet du bréchet sur la paroi abdominale, sans la perforer. Cette incision médiane est complétée par des incisions (du coté droit et gauche) de la peau des plis de l'aîne. Le revêtement cutané est alors séparé avec étirement en avant (Photo3.3).



**Photo 3.3.** Dépouillement de la carcasse.

#### III.1.4.2- Ouverture de la carcasse :

La mise à nu des organes thoraco- abdominaux s'effectue comme suit : Pratiquer une boutonnière avec des ciseaux à la pointe du bréchet (Il faut souligner la présence éventuelle d'un liquide d'épanchement) ; inciser de part et d'autre du bréchet puis sectionner les muscles pectoraux et les cotes au niveau du cartilage de jonction, des os coracoïdes et claviculaires.



**Photo 3.4 :** Ouverture de la carcasse.

Le volet abdominal est ensuite soulevé et récliné vers l'avant : on note alors soigneusement l'aspect des sacs aériens abdominaux qui s'affaissent très rapidement. On examine soigneusement les organes en place dans la cavité thoraco-abdominale.



**Photo 3.5 :** Examen des viscères.

#### **III.1.4.3- Eviscération :**

C'est lors de cette phase qu'on effectue la dissection et les prélèvements. L'ensemble, cœur sectionné à sa base, le foie et la rate dilacérés, est mis dans un flacon stérile. Ils constituent le prélèvement d'organes.

La trachée est sectionnée en arrière du larynx, disséqué postérieurement jusqu'à la syrinx et les bronches qui sont alors sectionnées au niveau de l'émergence pulmonaire ; le contenu de ces conduits est soigneusement examiné après section longitudinale de la paroi.

L'œsophage, sectionné en arrière du pharynx est disséqué postérieurement jusqu'au pro-ventricule. La masse digestive est progressivement réclinée vers l'arrière, après quoi on sectionne le tube digestif entre le jabot et le proventricule et au niveau du cloaque. Toute cette masse intestinale est mise dans un sac stérile de congélation, elle constitue le prélèvement.



**Photo 3.6.** Extraction des organes (Prélèvement d'organes).



**Photo 3.7.** Mise de la masse digestive dans un sac stérile de congélation  
(Prélèvement de la masse intestinale).

Les prélèvements ainsi obtenus sont systématiquement identifiés comme suit : Nature et date du prélèvement ainsi que le lot correspondant. Ils sont ensuite stockés au congélateur jusqu'à leurs analyses.

### **III.1.5- Analyses microbiologiques**

Nous avons réalisé le suivi de l'évolution des coliformes, des Salmonelles et des Staphylocoques dans le tube digestif des poulets de chair.

Une synthèse bibliographique basée sur les problèmes de l'élevage avicole et son impact sur la santé du consommateur nous a orientés sur le choix des germes à rechercher, en l'occurrence, les Coliformes, les Salmonelles et les Staphylocoques.

### **III.1.5.1- Préparation des échantillons pour la recherche et le dénombrement des coliformes, des salmonelles et des staphylocoques :**

L'échantillon destiné à l'analyse bactériologique a été réalisé par pesée de 25 grammes de masse intestinale pour l'ensemble des sujets sacrifiés.

#### Préparation des dilutions décimales

Introduire aseptiquement 25 grammes de produit à analyser dans un sachet stérile de type « Stomacher 400 » contenant au préalable 225 ml de diluant soit le TSE (Tryptone Sel Eau). Homogénéiser pendant 6 à 8 minutes selon la texture du produit.

Cette suspension constitue alors la dilution mère (DM) qui correspond donc à la dilution 1/10<sup>e</sup> ou 10<sup>-1</sup> (Fig.06).

Introduire aseptiquement à l'aide d'une pipette en verre graduée et stérile 1 ml de la DM, dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 ml de diluant TSE (Tryptone Sel Eau) : cette dilution constitue alors la dilution au 1/100<sup>e</sup> ou 10<sup>-2</sup>, mélanger soigneusement et doucement.

Changer de pipette et prendre toujours aseptiquement 1ml de la dilution 10<sup>-2</sup>, à introduire dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 ml du même diluant (TSE) : cette dilution est alors au 1/1000<sup>e</sup> ou 10<sup>-3</sup>, mélanger soigneusement et doucement.

Ces dilutions serviront à la recherche des Coliformes totaux, des Salmonelles et de *Staphylococcus aureus*.

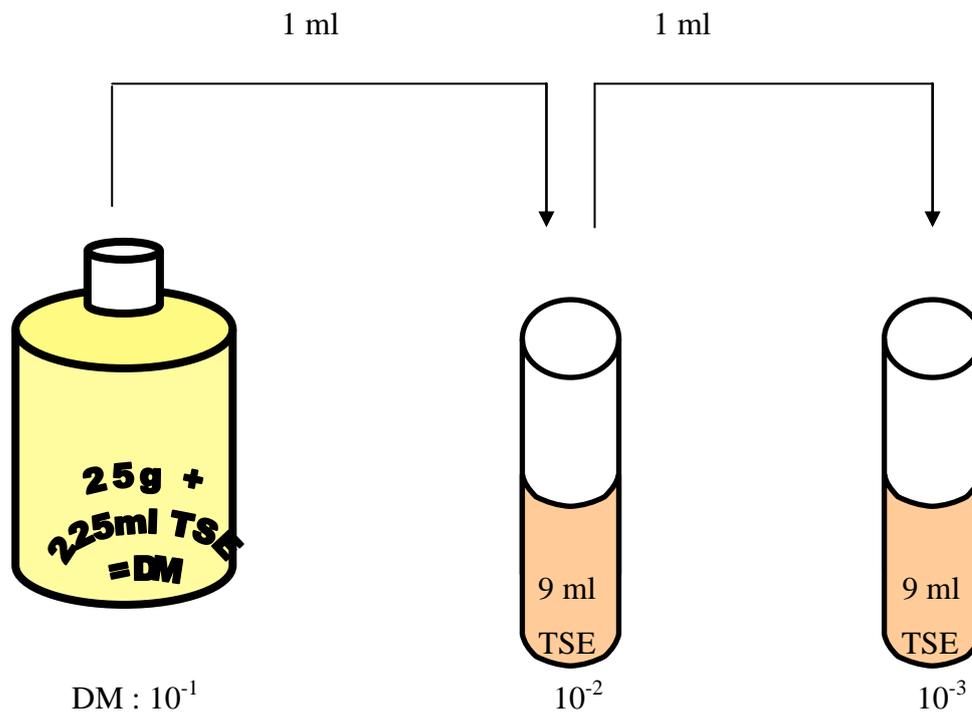


Figure 3.2 : Logigramme.

Nous avons utilisé les méthodes AFNOR référenciées comme rapporté ci-dessous pour :

- La recherche et le dénombrement des coliformes : norme nf v 08-051 ;
- La recherche des salmonelles : norme nf v 08-052 ;
- La recherche et le dénombrement de *Staphylococcus aureus* : norme nf iso 6888.

On a utilisé les méthodes classiques d'abord par manque de moyens et ensuite les techniques modernes notamment l'approche moléculaire permet de détecter les groupes bactériens dominants alors que les cultures, elles, permettent de détecter les groupes bactériens sous-dominants grâce à l'utilisation de milieux sélectifs. La technique des cultures donne une estimation du nombre de bactéries exprimée en Unités Formant des Colonies par millilitres (UFC/ml) qui est une mesure absolue du nombre de microorganismes. Contrairement aux techniques moléculaires, les estimations sont exprimées en pourcentage par rapport au nombre total de bactéries ; ces deux techniques ne peuvent donc pas se substituer mais sont complémentaires (Laffrague, 2015) .

**III.2- RESULTATS ET DISCUSSION:****III.2.1- Paramètres zootechniques :****III.2.1.1- Evolution de poids:**

L'évolution du poids moyen des sujets des trois lots par rapport à celui du standard de la souche utilisée durant la période d'élevage est rapportée dans le Tableau 3.5.

Tableau 3.5. Poids moyens enregistrés pour les lots et poids théorique pour la souche utilisée.

Age (j)	Témoin	Antibiotiques	Probiotiques	p	Poids souche (g)	Comparaison entre lots et souche
J <sub>1</sub>	39.5±2	39.5±2	39.5±2	<b>F=0, p=1.00</b> <b>Egalité parfaite</b>	52	<b>p&lt;&lt;0.001</b> <b>pour les 3 comparaisons</b>
J <sub>15</sub>	351±30.5	363±32.5	355±35.6	<b>F=0.310, p&gt;&gt;0,05</b> <b>Comparables</b>	529	<b>p&lt;&lt;0.001</b> <b>pour les 3 comparaisons</b>
J <sub>30</sub>	1013±96.6	1105±98.7	1112±95.7	<b>F=2.919, p&gt;&gt;0,05</b> <b>Comparables</b>		
J <sub>36</sub>	1087±125	1170±105.7	1153±113.8	<b>F=1.306, p&gt;&gt;0,05</b> <b>Comparables</b>	1981	<b>p&lt;&lt;0.001</b> <b>pour les 3 comparaisons</b>
J <sub>42</sub>	1230±103.4	1470±128.5	1480±142.3	<b>F=11.40, p&lt;&lt;0.05</b> <b>Différences très significatives</b>		
J <sub>54</sub>	1937±156.7	2023±179.7	2110±189.6	<b>F=2.177, p&lt;0,05</b> <b>Comparables</b>	3001	<b>p&lt;&lt;0.001</b> <b>pour les 3 comparaisons</b>
J <sub>58</sub>	2383±210.6	2480±201.5	2700±211.4	<b>F=5.49, p&lt;0,05</b> <b>Différences significatives</b>	3322	<b>p&lt;&lt;0.001</b> <b>pour les 3 comparaisons</b>

Nous avons noté :

- pour la période J<sub>1</sub> à J<sub>36</sub> : des poids moyens statistiquement comparable pour les trois lots (p>>0,05).
- pour la période J<sub>36</sub> à J<sub>42</sub> : un écart de poids moyens statistiquement appréciable entre les trois lots (p<0,05). En effet, le meilleur poids moyen a été observé dans le lot « probiotiques » suivi de celui des « antibiotiques » par rapport au lot « témoin ».
- pour la période J<sub>42</sub> à J<sub>54</sub> : des poids moyens statistiquement comparable pour les trois lots (p>>0,05).
- pour la période J<sub>54</sub> à J<sub>58</sub> : un écart de poids moyens statistiquement appréciable entre les trois lots (p<0,05). Le meilleur poids moyen a été observé dans le lot « probiotiques », cependant nous avons noté que les poids moyens des lots « antibiotiques » et « témoin » sont proches.

Il est à noter en fin de bande un écart de poids moyen important entre les sujets des trois lots (témoin, antibiotiques et probiotiques) par rapport à celui de la souche utilisée (théorique), soit 2383g, 2480g et 2700 g vs 3322g, respectivement.

Par conséquent, à J<sub>58</sub>, l'écart du poids moyen entre les sujets des différents lots est de :

- 317 grammes entre les sujets du lot probiotiques et ceux du lot témoin.
- 97 grammes entre les sujets du lot antibiotiques et ceux du lot témoin.
- 220 grammes entre les sujets du lot probiotiques et ceux du lot antibiotiques.

Le traitement statistique des résultats, utilisant le test de Student au seuil de 5%, montre que :

- La différence des poids moyens entre les 3 lots est significative ( $p < 0,05$ ).
- La différence entre les poids moyens du lot témoin, du lot antibiotique et du lot probiotique et ceux de la souche Hubbard F15 est significative ( $p > 0,05$ ).

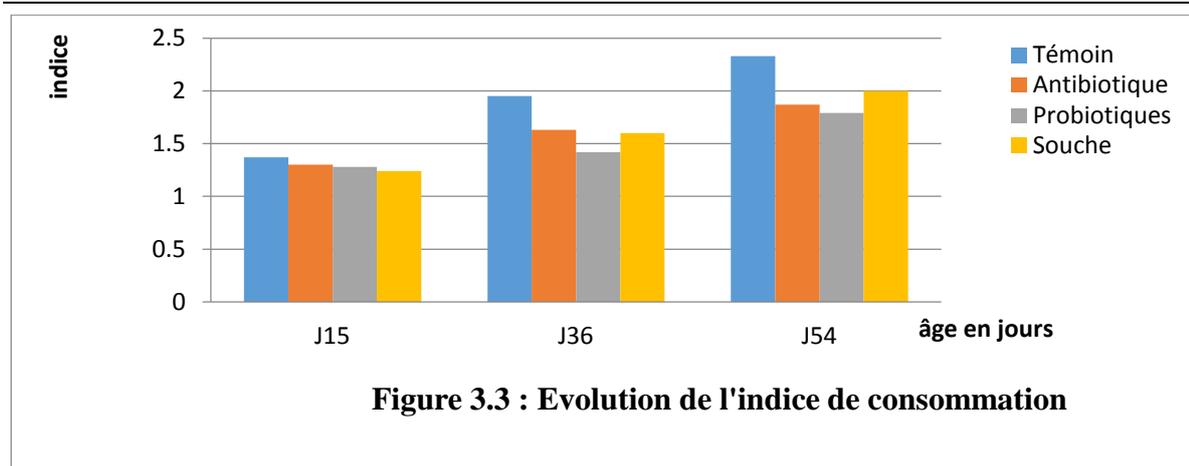
### III.2.1.2- Indice de consommation:

L'évolution de l'indice de consommation des trois lots est rapportée dans le Tableau 3.6.

Tableau 3.6 : Indices de consommation pour les trois lots et ceux du standard de la souche utilisée.

Age	Indices de consommation calculés (quantité d'aliment distribuée/ somme des gains de poids)			Indice de consommation théorique de la souche
	Lot "Témoin"	Lot "Antibiotiques"	Lot "Probiotiques"	
J <sub>15</sub>	1,37	1,30	1,28	1,24
J <sub>36</sub>	1,95	1,63	1,42	1,60
J <sub>54</sub>	2,33	1,87	1,79	2,00

La représentation graphique de l'évolution des indices de consommation calculés pour les sujets des trois lots par rapport à celui du standard de la souche utilisée est rapportée dans la figure 3.3



Les résultats obtenus montrent un indice de consommation élevé pour les trois lots par rapport à celui de la souche utilisé exprimant une forte consommation d'aliments pour un faible gain de poids.

L'indice de consommation pour les lots témoins est de 2,33 et de 1,87 pour les lots traités aux antibiotiques. Mais pour les lots traités aux probiotiques l'indice de consommation est nettement optimisé par rapport au témoin: 1,79. C'est-à-dire une amélioration de 11,82% ce qui est très considérable sur le plan zootechnique.

Cette optimisation est due sans doute à l'amélioration de la valeur énergétique des aliments suite à la transformation, par le matériel enzymatique des probiotiques, des éléments indigestibles par les enzymes intestinales à des nutriments énergétiques très assimilables par l'intestin.

On constate que nos résultats sont similaires à ceux trouvés à Milan et au Caire (Tableau 3.7) : une amélioration et optimisation de l'indice de croissance qui varie de 8% à 12% avec utilisation des probiotiques comme additif alimentaire. L'efficacité alimentaire qui a été rapportée par Jin et al, (1998) et Simon et al, (2001) Samli et al. (2007), *Enterococcus faecium* (NCIMB 10415) augmente le gain de poids, le taux de conversion et la taille des villosités dans l'iléon.

**Tableau 3.7 :** Indices de consommation comparatifs.

Auteurs	Lot témoin	Lot probiotiques	Lot antibiotiques	Amélioration
Awad et al (2005)	2,025	1,85		8,65%
INRA (2002)	1,80	1,79	-	0,55%
Simon et al. (2001)	2,47	2,22	-	10,12%
Présente étude	2,33	1,79	1,87	<b>11,82%</b>

**III.2.1.3- Mortalité:**

Le nombre de cas de mortalité cumulée pour chaque période d'élevage est rapporté dans le tableau ci dessous.

Phase d'élevage		Lot Témoin (n=150)	Lot Antibiotiques (n=150)	Lot Probiotiques (n=150)
Démarrage		08	6	3
Croissance		05	0	0
Finition		02	0	0
Mortalité	n	15	06	03
	%	10	04	02

Nous avons noté que le lot "témoin" accuse une mortalité cumulée de 15 sujets contre seulement 06 et 03 sujets respectivement pour les lots "antibiotiques" et "probiotiques". Aucune mortalité n'a été observée dans les lots "antibiotiques" et "probiotiques" durant les phases de croissance et finition.

**III.2.1.4 - Index de performance ou index de production :**

Les index de performances obtenus par phase sont rapportés ci-dessous.

**Phase de démarrage (30 jours) :**

Paramètres	Lot témoin	Lot ATB	Lot Prob	P
Gain de poids (g)	973±98.5	1065.5±95.6	1073±88.7	<b>P&gt;0.05</b> Différences non significatives
GMQ	32.43	35.50	35.76	
IC	1.37	1.3	1.28	
% de viabilité	94.67	96	98	
Index performance	224.10	262.15	273.78	
	Bon	Bon	Bon	

**Phase de croissance (12 jours) :**

Paramètres	Lot témoin	Lot ATB	Lot Prob	P
Gain de poids (g)	317±46.5	265±47.8	268±42.5	<b>P&lt;0.05</b> Différences significatives
GMQ	26.42	22..08	22.33	
IC	1.95	1.63	1.42	
% de viabilité	96.67	100	100	
Index performance	130.97	135.46	157.25	
	Acceptable	Acceptable	Bon	

**Phase de finition (16 jours) :**

Paramètres	Lot témoin	Lot ATB	Lot Prob	P
Gain de poids (g)	1053±137.5	1110±63.6	1320±55.7	<b>P&lt;&lt;0.05</b> Différences très hautement significatives
GMQ	65.81	69.37	82.50	
IC	2.33	1.87	1.79	
% de viabilité	98.67	100	100	
Index performance	278.68	370.962	460.89	
	Bon	Bon	Bon	

Le gain de poids obtenu au cours de la phase de démarrage est comparable pour les trois lots ( $P>0.05$ ) alors que ceux obtenus au cours des phases de croissance et de finition sont significativement différents [ $p<0.05$ ] et [ $p<<0.001$ ], respectivement].

Les index de production obtenus au cours de la phase de démarrage pour les trois lots se situent dans la norme « bon » alors que ceux obtenus au cours de la phase de croissance se situent dans la norme « acceptable » pour les lots « témoin » et « antibiotique » et « bon » pour le lot « probiotiques ». L'effet positif de ce probiotique sur la croissance a été rapporté par Vittorio et al (2005). Une augmentation de poids de 3% à J<sub>35</sub> et de 7,5% à J<sub>49</sub> a été rapportée par Awaad(2005). En effet, les probiotiques sont capables de contrôler le portage et la dissémination d'agents pathogènes et zoonotiques et peuvent également contribuer à potentialiser l'aliment et donc la rentabilité de l'élevage (Trufanov *et al.*, 2008 ; Niderkorn *et al.*, 2009). De nombreux travaux ont montré, en plus de l'efficacité zootechnique (Simon *et al.*, 2005, Vittorio *et al.*, 2005), leurs effets bénéfiques sur la santé des volailles (Awaad *et al.*, 2005, Vandeplas *et al.*, 2009 et Higgins *et al.*,

2010). L'amélioration des performances zootechniques par orientation de la flore a été rapportée par de nombreux auteurs (Çabuk et al., 2004 ; Alfaro et al., 2007 ; Djeddar et al.2013) mais les résultats concernant leur efficacité ne sont pas cohérents (Zhang,et al., 2005).

Les performances obtenues en fin de bande (à 58 jours) sont rapportés dans le tableau ci-dessous.

Paramètres	Lot témoin	Lot Antibiotiques	Lot Probiotiques	p
Poids vif(g)	2343.5±206.4	2440.5±213.6	2661±234.5	<b>P&lt;0.05</b>
GMQ	40.4	42.07	45.88	
Indice consommation	2.33	1.87	1.79	
% de viabilité	90	96	98	
Index de performance	156.05	215.97	251.18	

L'index de performance obtenu pour le lot témoin est limite entre la norme « acceptable » et « bon » alors que ceux des lots ATB et Probiotique sont dans la norme « bon » mais celui du lot probiotique accuse une valeur supérieure. Au vu du taux de mortalité relativement faible, d'une part et de l'indice de consommation comparable à celui standard de la souche, d'autre part, nous pouvons dire que les conditions d'élevage de cet essai sont bonnes.

Selon KACI et CHERIET (2013), les données fournies par les enquêtes effectuées ces dernières années au niveau des élevages avicoles privés algériens, ainsi que leur comparaison avec des données analogues pour le Maroc et la France (Tableau ci-dessous), indiquent clairement le retard enregistré par la filière avicole nationale en termes de performances techniques de production.

Compétitivité des entreprises avicoles en Algérie, au Maroc et en France (Kaci et Cheriet, 2013).

	Algérie (2010)	Maroc (2006)	France (2010)	Présent essai
Age à l'abattage (j)	55,48	50	43,06	58
Poids à l'abattage (g)	2,29	1,96	2,27	2,66
Gain Moyen Quotidien (g/j)	40,54	39,67	52,58	45,88
Indice de consommation	2,48	2,09	1,98	1,79

Mortalité (%)	9,73	6,71	3,4	2,0
Densité des animaux (sujets/m <sup>2</sup> )	9,3	/	21,27	10
Indice de performance	149	178	257	251

La comparaison des résultats obtenus dans le présent essai pour les lots « antibiotiques » et « probiotiques » avec ceux rapportés par Kaci et Cheriet (2013) montrent une nette amélioration des performances zootechniques par rapport aux données avancées pour l'Algérie pour l'année 2010, mais demeurent faibles par rapport à ceux avancés pour la France pour l'année 2010. Cette situation pourrait s'expliquer par la supplémentation de l'alimentation ainsi qu'une meilleure prise en charge sanitaire des animaux.

### III.2.2- Analyses microbiologiques :

La recherche et le dénombrement des Coliformes, des Salmonelles et des Staphylocoques dans les prélèvements de la masse intestinale dans les trois échantillons à J<sub>15</sub>, J<sub>35</sub> et J<sub>54</sub> a montré :

- L'absence des Salmonelles dans les prélèvements de masse intestinale provenant des trois échantillons à J<sub>15</sub>, J<sub>35</sub> et J<sub>54</sub>.
- La présence des coliformes et des Staphylocoques dans les prélèvements de masse intestinale, comme exprimé dans le tableau n° 3.8.

Tableau 3.8- Evolution des 3 germes dans le tube digestif des poulets durant la période d'élevage.

prélèvements	J <sub>15</sub> (phase de démarrage)			J <sub>36</sub> (phase de croissance)			J <sub>54</sub> (phase de finition)			
	Germes recherchés			Germes recherchés			Germes recherchés			
	<i>E.coli</i>	<i>S. aureus</i>	salm	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	salm	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	salm	
Lot témoin	1	30120	3020	00	6990	1510	00	4112	620	00
	2	29945	3002	00	6892	1520	00	3960	630	00
	3	29850	2980	00	7010	1470	00	3988	550	00
	4	31052	3110	00	7108	1489	00	4031	610	00
	5	30200	2998	00	7200	1511	00	3890	590	00
	6	29312	2890	00	7045	1500	00	4006	600	00
	7	30660	2950	00	6800	1498	00	3998	589	00
	8	28975	3050	00	6955	1458	00	4101	590	00
	9	29884	2999	00	7009	1544	00	3995	621	00
	moyenne	30000±15	3000±15	00	7000±15	1500±15	00	4000±15	600±15	00
Lot ATB	1	22090	198	00	4102	110	00	3012	76	00
	2	21880	210	00	3980	120	00	2890	120	00
	3	22120	192	00	3988	70	00	2998	104	00
	4	21910	220	00	4011	78	00	3020	105	00
	5	21000	180	00	3890	120	00	3004	95	00
	6	22400	200	00	4016	102	00	3110	99	00
	7	21991	209	00	3998	106	00	2980	110	00
	8	22600	191	00	4101	94	00	2995	120	00
	9	22009	199	00	3995	99	00	2998	70	00
	moyenne	22000±15	200±10	00	4000±15	100±10	00	3000±15	100±10	00
Lot Prob	1	14040	196	00	3005	76	00	1012	110	00
	2	14122	212	00	3105	120	00	890	110	00
	3	13900	194	00	2890	104	00	998	80	00
	4	13960	216	00	3036	105	00	1020	78	00
	5	14090	180	00	2964	95	00	1004	110	00
	6	13878	200	00	2950	99	00	1110	112	00
	7	13910	208	00	2998	110	00	980	106	00
	8	14100	192	00	3052	120	00	995	94	00
	9	14005	199	00	3003	70	00	998	99	00
	moyenne	14000±15	200±10	00	3000±15	100±10	00	1000±15	100	00

NB : Les chiffres sont donnés en UFC

L'évolution moyenne d'*E. coli*, dans le tube digestif des poulets des trois lots au cours de la période d'élevage, est rapportée dans le tableau 3.9.

Tableau 3.9 : Evolution moyenne d'*E. coli* dans le tube digestif des poulets des trois lots au cours de la période d'élevage.

Lots	J <sub>15</sub>	J <sub>36</sub>	J <sub>54</sub>	Diminution
Témoin	30000±15	7000±15	4000±15	13.33%
ATB	22000±15	4000±15	3000±15	13.63%
Probiotique	14000±15	3000±15	1000±15	7.14%

Une représentation graphique de la courbe d'évolution d'*E. coli* est rapportée dans la figure 3.4.

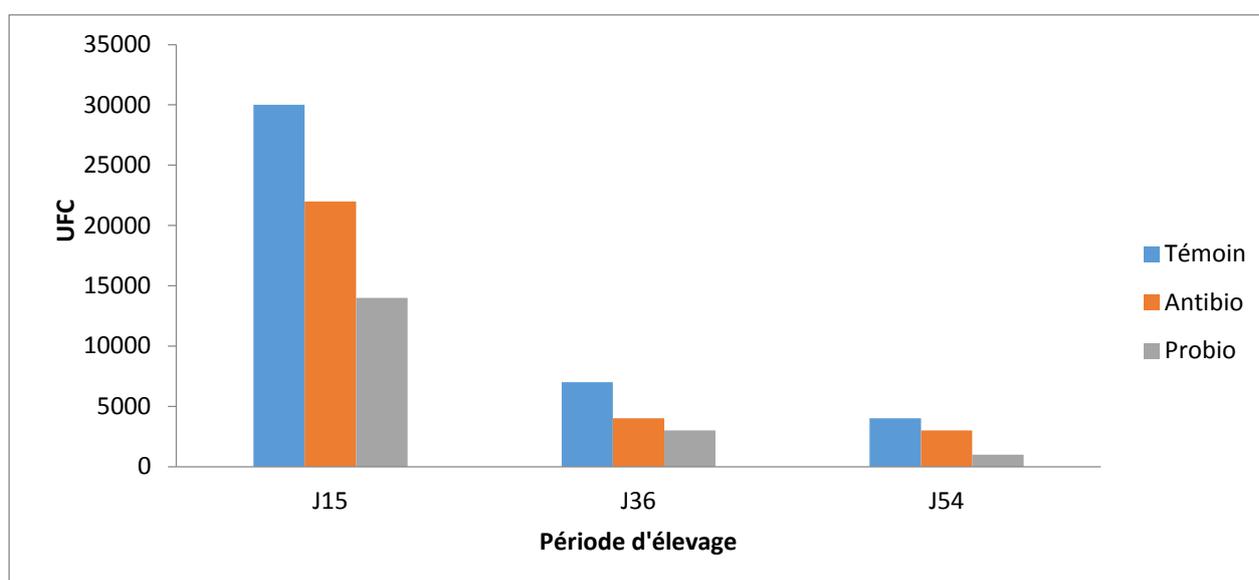


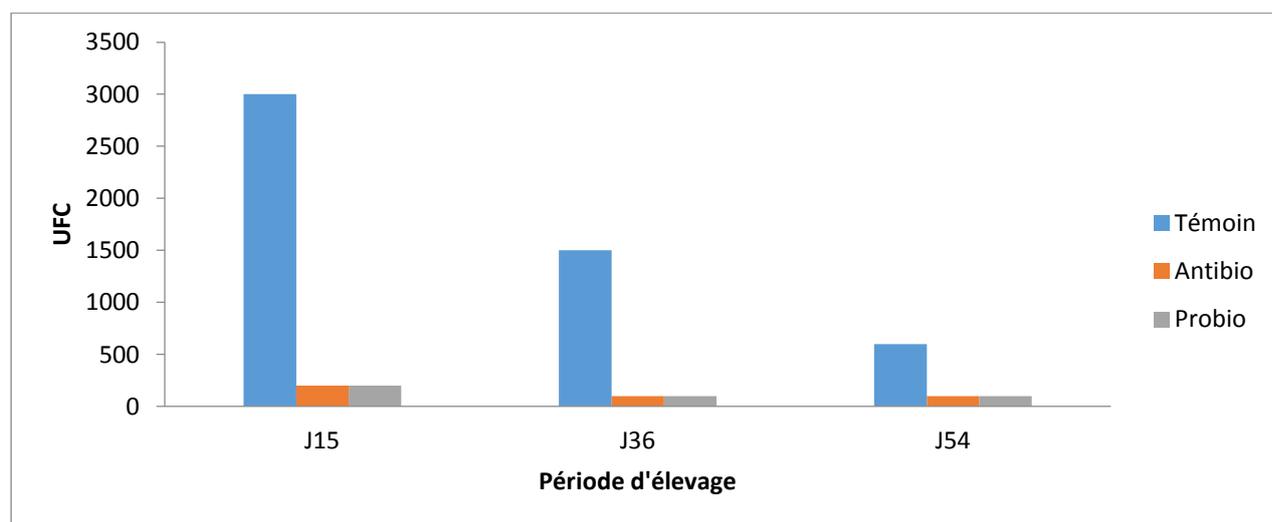
Figure 3.4 : Représentation graphique de la courbe d'évolution d'*E. coli* durant la période d'élevage.

L'évolution moyenne de *Staphylococcus aureus*, dans le tube digestif des poulets des trois lots au cours de la période d'élevage, est rapportée dans le tableau 3.10.

Tableau 3.10 Evolution moyenne de *Staphylococcus aureus* dans le tube digestif des poulets des trois lots au cours de la période d'élevage.

Lots	J <sub>15</sub>	J <sub>36</sub>	J <sub>54</sub>	Diminution
Témoin	3000±15	1500±15	600±12	20%
ATB	200±10	100±10	100±10	50%
Probiotique	200±10	100±10	100±10	50%

Une représentation graphique de la courbe d'évolution de *Staphylococcus aureus* est rapportée dans la figure 3.5.



**Figure 3.5 :** Représentation graphique de la courbe d'évolution de *Staphylococcus aureus* durant la période d'élevage.

Les résultats du traitement statistique sont rapportés dans les tableaux ci-dessous.

Tableau de contingence pour *E. coli*

Charge microbienne		J <sub>15</sub>	J <sub>36</sub>	J <sub>54</sub>	Total
Témoin	observée	30 000±15	7000±15	4000±15	41 000±20
	calculée	30 750±15	6523±15	3727±15	
ATB	observée	22 000±15	4000±15	3000±15	29 000±20
	calculée	21 750±15	4614±15	2636±15	
Probiotique	observée	14 000±15	3000±15	1000±15	18 000±20
	calculée	13 500±15	2864±15	1636±15	
Total		66 000±15	14 000±15	8000±15	88 000±20

Tableau de contingence pour *S aureus*

Charge microbienne		J <sub>15</sub>	J <sub>36</sub>	J <sub>54</sub>	Total
Témoin	observée	3000±15	1500±15	600±10	5100±15
	calculée	2939±15	1469±15	691±10	
ATB	observée	200±10	100±10	100±10	400±10
	calculée	230±10	115±10	54±10	
Probiotique	observée	200±10	100±10	100±10	400±10
	calculée	230±10	115±10	54±10	
Total		3400	1700	800	5900

Il en ressort que l'évolution entre les phases et les lots ne semblent pas avoir de lien tant pour *E. coli*, ( $X_{2cal} = 480,06$   $X_{2tab}$  pour ddl (4)=9,488 =0.05) que pour *S. aureus* ( $X_{2cal}=58,95$   $X_{2tab}$  pour ddl (4)=9,488 =0.05).

La contamination des animaux mise en évidence par la présence, dans les prélèvements de la masse intestinale, des coliformes et des Staphylocoques, à partir de J<sub>16</sub> peut s'expliquer par :

- l'absence de couverture (antibiotiques et autres) volontaire, chez les sujets du lot témoin, car considéré comme référence pour l'étude. Cette situation est similaire de celle rapportée par Vittorio et al (2005).
- la couverture de l'action des antibiotiques qui montre une efficacité à partir de J<sub>36</sub> chez les sujets du lot antibiotiques.
- la couverture de l'action des probiotiques, qui montre une efficacité à partir de J<sub>36</sub> (régression significative des deux flores) chez les sujets du lot probiotiques. En effet, l'action de la flore lactobacillaire se traduit par l'inhibition de la flore pathogène par modification du pH et production d'acide lactique comme rapporté par Murder (1996) et Larpent et Gourgaud (1997).

Il convient de signaler qu'à l'éclosion, le tube digestif est stérile et l'installation de la flore dépend de l'environnement de l'œuf au moment de l'éclosion qui définit l'ordre dans lequel les animaux sont exposés aux micro-organismes. La flore augmente rapidement après l'éclosion. Cette flore est de 10<sup>8</sup> (iléon) et 10<sup>10</sup> (caeca) au 1<sup>er</sup> jour et atteint 10<sup>9</sup> (iléon) et 10<sup>11</sup> (caeca) à 3 jours (Apajalahti et al 2004) et reste relativement stable jusqu'à l'âge de 30 jours. L'étude réalisée par Smith en 1965 sur l'intestin du poulet de chair adulte montre la présence d'E. coli en quantité moyenne (le log 10 est égal à 2/g )

Il est à noter que les deux populations microbiennes (*E. Coli* et *Staphylococcus aureus*) ont accusé une baisse significative entre la phase de démarrage et celle de finition chez les sujets des trois lots, mais la diminution est plus importante chez les sujets du lot probiotique (Mohamed Said, Guetarni, 2009). Ceci serait probablement lié aux effets du probiotique sur l'installation de la flore lactobacillaire au niveau de l'intestin car en temps normal (témoin) dès les premiers jours, les coliformes, *Staphylococcus aureus* et les clostridies colonisent rapidement le tube digestif (Fuller, 1984). l'apport de probiotiques dans l'alimentation du poulet montrent une amélioration des performances de croissance, de rendement de carcasses et agit sur le taux de lipides plasmatiques (Idoui et al, 2009). Par ailleurs le facteur alimentaire a un effet directe sur la flore intestinale (Mathlouti et al 2002, Apajalahti et al. 2001, Gabriel et al 2003, Engberg et al, 2004). Par ailleurs la flore digestive semble différer selon l'âge, la souche et le sexe (Zhu et al 2002). Il y a aussi le facteur génétique qui intervient dans l'établissement de cette flore (Zoetendal et al 2001). La flore digestive des oiseaux et ses variations reste donc mal connue, et par conséquent à explorer. Des études nombreuses classiques ont été réalisés sur la flore digestive des oiseaux, mais 90% de cette flore n'est pas cultivable d'où la difficulté d'étudier l'écosystème digestif (Lan et al 2002).

## **Discussion générale**

Notre présent travail a porté sur la recherche de résidus antibiotiques dans la viande de poulet et les œufs d'une part et d'autre part sur l'utilisation des probiotiques comme solution alternative. La recherche de résidus d'antibiotiques dans la viande de poulet fait suite à l'utilisation abusive de ces antibiotiques à usage thérapeutique et surtout comme additifs alimentaires. L'usage, devenu régulier, de ces antibiotiques avait pour objectif l'amélioration des performances zootechniques et sanitaires des poulets en vue d'augmenter la productivité et la rentabilité des élevages avicoles. Cependant cette utilisation abusive n'est pas restée sans conséquence puisque des résidus d'antibiotiques ont été retrouvés dans la chaîne alimentaire. La corollaire de cette situation c'est l'apparition d'un nombre important de souches bactériennes résistantes d'origine animale d'une part et d'autre part des réactions allergiques et des échecs de traitements aux antibiotiques chez l'homme comme consommateur.

Le travail s'articule sur deux volets : le premier bibliographique et le second expérimental.

Le volet expérimental est structuré en trois parties :

-une étude descriptive,

-une étude analytique

- un essai expérimental.

Dans l'étude descriptive, nous avons réalisé deux enquêtes :

- la première auprès des consommateurs pour connaître la place de la viande de poulet et les œufs dans la ration alimentaire.
- la seconde auprès des praticiens vétérinaires pour se renseigner sur la gestion et l'utilisation des antibiotiques en élevages aviaires, particulièrement le poulet de chair.

En résumé il ressort de ces enquêtes les points suivants :

**Pour la consommation de viande :** l'enquête montre que la majorité des familles algériennes consomment plus la viande de poulet que celle du mouton et encore moins celle du bœuf. Cette consommation est estimée majoritairement à une (01) fois par semaine . Ceci est dû peut être à son coût moins chère par rapport aux autres types de viande. Par ailleurs la majorité des familles algérienne consomment préférentiellement la viande de poulet cuit en sauce ; Lorsque la viande est cuite en grillade ou en rôti, la chaleur ne pénètre pas à une température suffisante au centre du morceau (le morceau reste rouge) donc les résidus ne sont probablement pas détruits . Par conséquent le risque pour la santé du consommateur n'est pas à écarter (JEAN LEDERER-1986).

**Pour la consommation des œufs :** Presque toutes les familles algériennes consomment les œufs. Comme ces derniers possèdent une valeur nutritionnelle élevée et largement utilisés de diverse manière en gastronomie algérienne ce qui explique sa large consommation dans la société. Puisque

les œufs en tant que protéines sont moins chers par rapport aux autres viandes, toutes les familles Algériennes les consomment plusieurs fois par semaine.

**Les principaux antibiotiques utilisés dans l'élevage aviaire :** Les Antibiotiques les plus fréquemment utilisés sont les tetracyclines et Enrofloxacin en premier lieu et Erythromycine et Colistine en second lieu.

**Pour le respect des recommandations par l'éleveur,** le vétérinaire responsable du traitement et du suivi du Cheptel attire souvent l'attention de l'éleveur sur le respect du délai d'attente qui consiste en une période bien spécifique entre la dernière administration du médicament et l'abattage de la volaille concernée. Ce délai varie de 3 jours à un mois selon le type d'antibiotique utilisé. Les médicaments auront entre temps été éliminés par les urines ou les selles. Ainsi, après un certain temps (temps d'attente), le médicament aura presque totalement disparu de l'animal, de telle sorte que le taux de résidus d'antibiotique ne puisse représenter un danger pour la santé du consommateur (FONTAINE-1987). Cependant l'abattage des poulets de chair sous antibiothérapie à la 7<sup>ème</sup> semaine, augmente le risque de trouver ces résidus dans la viande d'où l'impact sur la santé du consommateur.

Concernant la question si l'éleveur suit les recommandations du praticien par rapport au délai d'attente les réponses « non » majoritaires étaient associées aux justifications suivantes :

- Une cause commerciale (Poids/prix)
- Par ignorance, égoïsme (intérêt économique).
- la priorité de gagner de l'argent.

**Pour l'alternative des probiotiques aux antibiotiques :** la grande majorité des praticiens sont intéressés par une étude expérimentale sur l'utilisation des probiotiques comme alternative aux antibiotiques. Il est plus que probable que cette alternative donne de meilleures performances zootechniques et surtout pas d'impact sur la santé humaine (Vittorio, 2005). Les probiotiques sont définis comme des Microorganismes vivants, qui ingérés en quantité convenable, ont des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte en améliorant son équilibre microbien intestinal. Ce sont principalement des bactéries et des levures présentes ou non dans la microflore intestinale. Les probiotiques semblent avoir des effets positifs sur la santé, ils agissent en particulier sur l'immunité. L'utilisation des probiotiques comme alternative aux antibiotiques a dû entraîner l'adhésion des praticiens vétérinaires vu les avantages qu'ils offrent tant sur le plan santé du cheptel que sur le plan zootechnique : amélioration des performances zootechniques.

En conclusion de cette partie en premier lieu on note l'engouement des algériens pour la viande de poulet et les œufs qui sont donc des produits de large consommation ; il est donc impératif de veiller à leur bonne qualité tant sur le plan hygiène médicamenteuse que sur le plan microbiologique.

En seconde lieu , il y a lieu de constater que les règles de gestions des élevages aviaires connaissent des insuffisances assez importantes surtout de la part des éleveurs notamment dans le respect de l'antibiothérapie et dans le délai d'attente. A ces constats découlent donc le risque de présence de résidus d'antibiotiques dans ces denrées alimentaires de large consommation et d'où l'impact direct sur le consommateur surtout pour les allergies et l'antibiorésistance.

Dans l'étude analytique, nous avons réalisé plusieurs études portant sur :

- la recherche des résidus d'antibiotiques par la méthode turbidimétrique, la méthode de diffusion et la méthode de référence.
- Les effets de la température sur la molécule de l'antibiotique le plus fréquemment utilisé dans le terrain algérien, à savoir l'oxytétracycline.

Enfin dans l'essai expérimental, nous avons réalisé un essai *in vivo* d'utilisation de probiotiques comme alternatif aux antibiotiques facteurs de croissance.

Dans cet essai, nous avons réalisé une étude comparative de trois lots de poussins (150 chacun) élevés dans les mêmes conditions expérimentales. Pour le premier lot l'additif alimentaire est un probiotique (lactobacille), pour le second l'additif est un antibiotique (l'oxytétracycline) et pour le troisième sans aucun additif (lot témoin).

**Les résultats de l'étude analytique** ont montré la présence de résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale (viande et organes de poulet), dans tous les échantillons analysés à une concentration variant de 610 à 960 ng/g pour la viande crue et de 90 à 370 ng/g pour la même viande après cuisson. Dans nos conditions expérimentales, Oxytétracycline a été donc détectée à une concentration supérieure à la limite maximale de résidus (LMR) qui est de **100 ng/g** pour la viande de volailles (**RUYCK R et al-1999**). La LMR de l'oxytétracycline (OTC) est de 100 µg/kg pour le muscle de poulet (Règlement UE 37/2010).

Cet état de fait s'avère être un problème bien réel causé essentiellement par l'utilisation anarchique des antimicrobiens et le non respect des protocoles thérapeutiques lors d'une antibiothérapie (le plus souvent appliquée par l'éleveur lui-même). Or la concentration des résidus qui dépasse le niveau autorisé peut présenter une préoccupation toxicologique et causer des problèmes de santé humaine qui peuvent comprendre des troubles gastro-intestinaux, un risque tératogène pour le fœtus, des réactions allergiques et le développement de pathogènes résistants pour les humains et les animaux (Shahid *et al.*, 2007). Par ailleurs une étude de recherche de résidus dans la viande et les os a été menée par **O d o r e et al en 2015** qui a conclu que dans tous les animaux, les résidus de l'OTC dans le muscle étaient bien inférieurs à la LMR établie de 100 µ g/kg. La cytotoxicité cellulaire a été évaluée par l'évaluation de l'effet pro-apoptotique de l'OTC résidus d'OS sur le système de

cellules hématopoïétiques. Ce système *in vitro* a révélé un effet pro-apoptotique significative sur la lignée cellulaire K562 et cultures PBMC.

Ce résultat suggère de potentiels risques pour la santé humaine et animale en raison de l'entrée des résidus de tétracycline contenus dans les os des animaux traités dans la chaîne alimentaire. Cela pourrait être préoccupante, particulièrement pour une alimentation canine et féline, comme la viande, la farine d'os, et sous-produits de volaille représentent quelques-uns des principaux ingrédients des aliments pour animaux familiers, surtout dans le cas des croquettes pour animaux de compagnie. D'autres études sont nécessaires pour définir les mécanismes sous-jacents de la cytotoxicité et pour évaluer les implications toxicologiques *in vivo* en raison des effets observés *in vitro*.

Pour les œufs aussi bien frais que cuits il n'y avait aucun résultat positif pour tous les échantillons analysés par la méthode microbiologique cependant il est possible que ces œufs contiennent des résidus antibiotiques mais à des concentrations inférieures à la concentration minimale inhibitrice (CMI). Ceci dit il semblerait que pour les poules pondeuses du domaine Etatique où ont été prélevés les œufs, la gestion en terme de traitement semble être correcte et respectueuse de la réglementation en la matière.

L'étude de la cinétique et de l'activité inhibitrice de la molécule Oxytétracycline a montré une diminution croissante de cette activité inhibitrice sous l'effet thermique jusqu'à une certaine température (72°C) et paradoxalement cet effet inhibiteur reprend au delà de cette température. Cependant il faut noter que la destruction de la molécule d'antibiotique dépend de plusieurs facteurs, à savoir : le pH, la température, la durée de chauffage, la nature des protéines et le taux d'antibiotiques (**LEDERER, 1986**). Ceci dit il semble bien que la cuisson n'a pas d'effet direct sur la molécule d'ATB cependant il y a lieu de penser que la molécule peut subir des modifications sous l'effet de la cuisson mais son spectre d'action sur les souches demeure le même. L'étude de l'effet de la chaleur sur les résidus d'OTC dans le muscle de poulet de chair à été étudié par plusieurs auteurs mais leurs conclusions sont souvent éparées et même contradictoires : D'après **Ibrahim et Moats en 1994**, la cuisson pendant plus de 30 minutes à 100 °C dégrade les résidus d'OTC totalement. Par contre le résultat de **Van Egmond et al. en 2000** montre que la destruction des résidus n'est pas totale (53%) et les résidus sont plus ou moins stables même s'ils subissent une procédure de cuisson à 130° C pendant 20 minutes.

**Hassani et al. (2008)** affirment qu'un chauffage à plus de 100°C pendant des durées assez longues (30 à 40 minutes) diminue la concentration initiale mais avec des pourcentages négligeables ( $\geq 2$  %), et suggèrent que les traitements à hautes températures (UHT) sont plus efficaces que les procédures de la cuisson ménagère pour éliminer le risque présentés pas les résidus

d'antibiotiques dans la viande. En revanche, **Hsieh et al. (2011)** ont trouvé qu'un chauffage à la même température pendant 35 minutes réduit 60,5% de l'effet inhibiteur de la molécule d'OTC.

**Kuhne et al. (2001)** trouvent que l'effet d'un antibiotique peut s'accroître après un traitement thermique, et c'est dû à l'apparition des produits de dégradation qui sont plus toxiques que la molécule mère.

Selon **Abou-Raya et al. (2013)**, les résidus d'OTC sont thermiquement instables et une cuisson convenable de la viande (à plus de 140 °C pendant 20 minutes) peut écarter le danger.

Les résultats de l'essai expérimental des **paramètres zootechniques** ont donné que

l'évolution du poids moyen, pour la période J<sub>1</sub> à J<sub>36</sub>, est presque homogène pour les trois lots avec :

- un écart de poids moyen appréciable entre les trois lots à partir de J<sub>36</sub>. Le meilleur poids moyen a été observé dans le lot probiotique suivi de celui des antibiotiques par rapport au lot témoin.
- un écart de poids moyen important entre les sujets des trois lots (témoin, antibiotiques et probiotiques) par rapport à celui de la souche utilisée (théorique), soit 2383g, 2480g et 2700 g vs 3322g, respectivement.

Par conséquent, à J<sub>58</sub>, l'écart du poids moyen entre les sujets des différents lots est de :

- 317 grammes entre les sujets du lot probiotiques et ceux du lot témoin.
- 97 grammes entre les sujets du lot antibiotiques et ceux du lot témoin.
- 220 grammes entre les sujets du lot probiotiques et ceux du lot antibiotiques

Pour le gain de poids il est variable dans chaque étude expérimentale qui pourrait s'expliquer par la différence de la quantité d'énergie engendrée par l'aliment servi:

- Un gain de poids de 7,5% pour 3010 Kcal/Kg d'aliment servi (**Awad, 2001**);
- Un gain de poids de 3,4% pour 2950 Kcal/Kg d'aliment servi (**Labrbier-Lessier, 1995**);
- Un gain de poids de 8,8% pour 3208 Kcal/Kg d'aliment servi (**Dell'Orto, 1995**)

Dans le cas de notre étude nous avons observés un gain de poids de 18% pour 4000 Kcal/Kg d'aliment servi.

Pour l'**Indice de consommation** les résultats montrent un indice de consommation élevé pour les trois lots par rapport à celui de la souche utilisée exprimant une forte consommation d'aliments pour un faible gain de poids.

L'indice de consommation pour les lots témoins est de 2,33 et il est de 1,87 pour les lots traités aux antibiotiques. Mais pour les lots traités aux probiotiques l'indice de consommation est nettement optimisé par rapport au témoin:1,79. C'est-à-dire une amélioration de 11,82% ce qui est très considérable sur le plan zootechnique.

Cette optimisation est due sans doute à l'amélioration de la valeur énergétique des aliments suite à la transformation, par le matériel enzymatique des probiotiques, des éléments indigestibles par les enzymes intestinales à des nutriments énergétiques très assimilable par l'intestin.

Pour **la Mortalité** il est a noté que le lot "témoin" a accusé une mortalité cumulée de 15 sujets contre seulement 06 et 03 sujets respectivement pour les lots "antibiotiques" et "probiotiques". Aucune mortalité n'a été observée dans les lots "antibiotiques" et "probiotiques" durant les phases de croissance et finition.

Les résultats de l'essai expérimental sur le plan **microbiologique** a révélé que la contamination des animaux mise en évidence par la présence dans les prélèvements de la masse intestinale, des coliformes et des Staphylocoques, à partir de J<sub>16</sub> peut s'expliquer par :

- l'absence de couverture (antibiotiques et autres) volontaire, chez les sujets du lot témoin, car considéré comme référence pour l'étude.
- la couverture de l'action des antibiotiques qui montre une efficacité à partir de J<sub>36</sub> chez les sujets du lot antibiotiques.
- la couverture de l'action des probiotiques, qui montre une efficacité à partir de J<sub>36</sub> (régression significative des deux flores) chez les sujets du lot probiotiques.

En effet, l'action de la flore lactobacillaire se traduit par l'inhibition de la flore pathogène par modification du pH et production d'acide lactique .

Il convient de signaler qu'à l'éclosion, le tube digestif est stérile et l'installation de la flore dépend de l'environnement de l'œuf au moment de l'éclosion qui définit l'ordre dans lequel les animaux sont exposés aux micro-organismes. La flore augmente rapidement après l'éclosion jusqu'au 3<sup>ème</sup> jours et ensuite reste relativement stable jusqu'à l'âge de 30 jours. Globalement dans l'intestin grêle, on trouve principalement des bactéries anaérobies facultatives (lactobacilles, streptocoques et coliformes..)

Il est à noter que les deux populations microbiennes (*E. coli* et *Staphylococcus aureus*) ont accusé une baisse significative entre la phase de démarrage et celle de finition chez les sujets des trois lots, mais la diminution est plus importante chez les sujets du lot probiotique. Ceci serait probablement lié aux effets du probiotique sur l'installation de la flore lactobacillaire au niveau de l'intestin car en temps normal (témoin) dès les premiers jours, les coliformes, *Staphylococcus aureus* et les clostridies colonisent rapidement le tube digestif. Par ailleurs le facteur alimentaire à un effet direct

sur la flore intestinale. Aussi la flore digestive semble différer selon l'âge, la souche et le sexe. Il y a probablement le facteur génétique qui intervient dans l'établissement de cette flore.

La flore digestive des oiseaux et ses variations reste donc mal connue, et par conséquent à explorer. Des études nombreuses classiques ont été réalisés sur la flore digestive des oiseaux, mais 90% de cette flore n'est pas cultivable d'où la difficulté d'étudier l'écosystème digestif.

En Algérie, l'usage des probiotiques comme alternative aux antibiotiques en élevages avicoles n'a pas eu l'essor escompté par manque de vulgarisation et la rareté des travaux scientifiques portant sur ce thème.

L'incidence économique de l'utilisation des probiotiques comme alternative aux antibiotiques est quasiment certaine car elle apporte un gain de poids, de temps et elle diminue le taux de mortalité.

## **conclusion**

En premier lieu, on note l'engouement des Algériens pour la viande de poulet et les œufs devenus de fait des produits de large consommation ; il est donc impératif de veiller à leur bonne qualité tant sur le plan hygiène médicamenteuse que sur le plan microbiologique.

En second lieu, il y a lieu de constater que les règles de gestion des élevages aviaires surtout intensifs connaissent des insuffisances assez importantes surtout de la part des éleveurs notamment dans le respect de l'antibiothérapie et dans le délai d'attente. De ces constats découlent donc le risque de présence de résidus d'antibiotiques dans ces denrées alimentaires de large consommation d'où l'impact direct sur le consommateur surtout pour les allergies et l'antibiorésistance

Les conséquences de l'utilisation des antibiotiques dans les productions animales sans le respect des normes et délais peuvent être préjudiciables pour la santé du consommateur par le développement de la résistance aux antibiotiques. En effet comme rapporté par Villate (2001), l'utilisation des antibiotiques en tant que facteurs de croissance a comme corollaire la présence de ces derniers en quantité dépassant les limites maximales de résidus dans les viandes de poulet et probablement dans les œufs et constituent probablement la source des innombrables échecs de traitements à base d'antibiotiques chez l'homme.

Les résultats obtenus dans la présente étude ont montré d'une part que la présence de résidus d'antibiotiques dans ces denrées alimentaires notamment la viande de poulet de chair aussi bien crue que cuite est plus que probable et d'autre part que l'utilisation des probiotiques permet une amélioration des performances pondérales tout en préservant l'état sanitaire des animaux à partir de l'installation de la flore lactobacillaire. L'inhibition compétitive, la synthèse d'acide lactique et la baisse de pH induite ou encore la stimulation de l'immunité locale ou systémique figurent parmi les modes d'actions agissant favorablement sur l'état sanitaire de l'hôte. Par ailleurs, le taux de lipides sérique (concentration moyenne en cholestérol total et en triglycérides) diminue nettement sous l'effet des probiotiques (Idoui et al 2009) résultat corroboré par d'autres auteurs par l'activité anticholestérolémiant de bactéries lactiques probiotiques (Jin et al., 1998 ; Mahdavi et al. , 2005).

Par ailleurs l'étude de l'effet de la température sur la molécule d'antibiotique et plus précisément sur l'oxytétracycline pose problème par rapport au devenir de la molécule après effet de la température. En effet beaucoup d'auteurs ont travaillé sur le devenir de la molécule après son exposition à la cinétique de température mais les résultats sont contradictoires sur le devenir de ces molécules. Ceci dit il serait intéressant de compléter l'étude par une cinétique de la température corrélée à l'action d'inhibition de ces antibiotiques

L'incidence économique de l'utilisation des probiotiques comme alternative aux antibiotiques est quasiment certaine car elle apporte un gain de poids, de temps et elle diminue le taux de mortalité.

## Références bibliographiques

- Aarestrup, F.M., Agerso, Y., Smidt,P.G, Madsen, M. et Jensen, L.B. (2000). Comparison of antimicrobial resistance phenotypes and resistance genes in *E. faecalis* and *E. faecium* from humans in the community, broilers and pigs in Denmark. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 37: 127-137
- Aarestrup, F.M., A.M. Seyfarth, H.D. Emborg, K. Pedersen, R.S. Hendriksen and F. Bager (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.
- Abiola F.A., Diop M.M., Teko-Agbo A., Delepine B., Biaou F.C., Roudaut B. et Gaudin V. (2005). Résidus d'antibactériens dans le foie et le gésier de poulets de chair dans les régions de Dakar et de Thiès. *Revue Méd.Vét*, 156 : 5, 264-268.
- Abou-rya S., Shalaby A., Salama N., Emam W., et Mehaya F. (2013), *Effect of Ordinary Cooking Procedures on Tetracycline Residues in Chicken Meat*, *Journal of Food and Drug Analysis*, Vol. 21, p 80-86.
- Aggad, H., Ahmed Ammar, Y. , Hammoudi, A., et Kihal, M. (2010). Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Chickens with Colibacillosis . *Global Veterinaria* 4 (3): 303-306, 2010
- Azeredo H.M.C., Faria J.A.F., Dasilva M.A.A.P., 2004. Minimization of peroxyde formation rate in soybean oil by antioxidant combinations. *Food Res. Int.*, 37, 689-694.
- Al-Ghamdi M.S., Al-Mustafa Z.H., El-Morsy F., Al-Faky.A., Haider I. , Essah H. (2000). Résidus of tetracycline compounds in poultry products in the eastern province of Saudi Arabia. *Public health* , , 114, pp300-304.
- Alloui N.(2003) . Évaluation de l'effet du statut hygiénique des poulaillers sur les performances zootechniques. Cinquièmes Journées de la Recherche Avicole, Tours, 26 et 27 mars 2003
- AFNOR (2011), Rapport de synthèse de l'étude de validation du Premi® Test (r-biopharm): test de détection des résidus d'antibiotiques dans le muscle, p 5.
- AFSSA, 2005 (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments)  
Rapport sur le Suivi des ventes de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques en France en 2005
- Ahmad, 2006. Effect of Probiotics on Broilers Performance *International Journal of Poultry Science* 5 (6): 593-597, 2006 ISSN 1682-8356

- 
- André Marie-laure (2013)** « les additifs alimentaires :un danger méconnu ».Catalogue gratuit, éditions Jouvence, ISBN 978-2-88911-405-4 Site internet : [www.editions-jouvence.com](http://www.editions-jouvence.com)
- **Awaad M.H.H.** 2005. Effect of *Pediococcus acidilactici* on layer hens zootechnical performance. 6<sup>ème</sup> journé avicole
- Bacq-Calberg C, Coyette J, Hoet P, Nguyen-Distèche M.** 1995. Microbiologie. 1<sup>ère</sup> édition, De Boeck et Larcier Université Bruxelles, Belgique, pp 332-343.
- Bager, F., F.M. Aarestrup, M. Madsen and H.C. Wegener (1999).** "Glycopeptide resistance in *Enterococcus faecium* from broilers and pigs following discontinued use of avoparcin." *Microb Drug Resist* 5(1): 53-56.
- Barnes, E.M. (1958).** "The effect of antibiotic supplements on the faecal streptococci (Lancefiel group D) of poultry." *Br Vet J* 114: 333-344.
- Baurhoo, B., L. Phillip and C.A. Ruiz-Feria (2007).** "Effects of purified lignin and manna oligosaccharides on intestinal integrity and microbial populations in the ceca and litter of broiler chickens." *Poult Sci* 86(6): 1070-1078.
- Beaumont C, Le bihan-duvall E, Juin J, Magdelaine P.** 2004. Productivité et Qualité du poulet De chair. *inra prod. Anim* 17 (4) : 265-273.
- Ben Mohand.C(2008).** Thèse « Contribution a l'étude des résidus d'antimicrobiens dans le muscle de poulet de chair ».
- Biernasiak, J., Piotrowska, M. and Libudzisz, Z.,** Mycotoxins by probiotic preparation for broiler chickens, *Mycotoxin Research*, Vol.22, n°4, (2006), 230-235.
- Boerlin, P., A. Wissing, F.M. Aarestrup, J. Frey and J. Nicolet (2001).** "Antimicrobial growth promoter ban and resistance to macrolides and vancomycin in enterococci from pigs." *J Clin Microbiol* 39(11): 4193-4195.
- Bonfoh B., Dem S., Keita O., Delorenzi S., Traore H., Simbe C.F., Alfarouk O.I., Farah Z., Nicolet J., Zinsstag J(2003).** Assessment of antibiotic residues by microbial tests in fresh cow milk sold in Bamako (Mali). *Milchwissenschaft*, **58**, 304- 307
- Boudouma D.et Tefiel H.(2012)** « Performances du poulet de chair acclimaté et élevé en conditions chaudes dans le Nord de l'Algérie » [Livestock Research for Rural Development 24 \(5\) 2012](http://www.livestockresearchforruraldevelopment.org/Livestock-Research-for-Rural-Development-24-5-2012)
- Borgen, K., G.S. Simonsen, A. Sundsfjord, Y. Wasteson, O. Olsvik and H. Kruse (2000).** "Continuing high prevalence of VanA-type vancomycin-resistant enterococci on Norwegian poultry farms three years after avoparcin was banned." *J Appl Microbiol* 89(3): 478-485.
- Borgen, K., M. Sorum, Y. Wasteson and H. Kruse (2001).** "VanA-type vancomycinresistant

enterococci (VRE) remain prevalent in poultry carcasses 3 years after avoparcin was banned." *Int J Food Microbiol* 64(1-2): 89-94.

**-Brugère H.** 1992. Pharmacologie chez les oiseaux. In : Manuel de pathologie aviaire. Eds Brugère-Picoux J et Silim A., Imprimerie du cercle des élèves de l'ENV d'Alfort, Paris, France, pp 355-363.

**Bruinsma, N., E. Stobberingh, P. de Smet and A. van den Bogaard (2003).** "Antibiotic use and the prevalence of antibiotic resistance in bacteria from healthy volunteers in the dutch community." *Infection* 31(1): 9-14.

**Butaye, P., L.A. Devriese and F. Haesebrouck (2003).** "Antimicrobial growth promoters used in animal feed: effects of less well known antibiotics on gram-positive bacteria." *Clin Microbiol Rev* 16(2): 175-188.

**-Çabuk M., Alçiçek A., Bozkurt M. and Akkan S.,** Effect of *Yucca schidigera* and Natural Zeolite on Broiler Performance, *International Journal of Poultry Science*, V.3, n°10, (2004), 651-654.

**-Callesen, J. (2002).** "Effects of termination of AGP use on pig welfare and productivity." Abstracts of the International symposium: Beyond antibiotic growth promoters in food animal production, Foulum, Denmark.

**-Casewell, M., C. Friis, E. Marco, P. McMullin and I. Phillips (2003).** "The European ban on growth-promoting antibiotics and emerging consequences for human and animal health." *J Antimicrob Chemother* 52(2): 159-161.

**-Chadwick, P.R., N. Woodford, E.B. Kaczmarek, S. Gray, R.A. Barrell and B.A. Oppenheim (1996).** "Glycopeptide-resistant enterococci isolated from uncooked meat." *J Antimicrob Chemother* 38(5): 908-909.

**-Chataigner B. Stevens A.** 2002. Investigation sur la présence de résidus d'antibiotique dans les viandes commerciales à Dakar. Projet Pacepa 4-15

**-Close, W.H. (2000).** "Producing pigs without antimicrobial growth promoters." *Adv Pork Prod* 11: 47-56.

-CNIS (Centre National de l'Informatique et des Statistiques), 2011. Importations des intrants avicoles. *Série statistiques du commerce extérieur*, Alger, Algérie.

**-Coates, M.E., R. Fuller, G.F. Harrison, M. Lev and S.F. Suffolk (1963).** "Comparison of the growth of chicks in the Gustafsson germ-free apparatus and in a conventional environment, with and without dietary supplements of penicillin." *Br J Nutr* 17: 141-151.

**-Coates, M.E. and R. Fuller (1977).** "The gnotobiotic animal in the study of gut microbiology." Dans *Microbial Ecology of the gut*, Clarke and Bauchop eds., London, United Kingdom

- Collado, M.C. and Y. Sanz (2007).** "Quantification of mucosa-adhered microbiota of lambs and calves by the use of culture methods and fluorescent in situ hybridization coupled with flow cytometry techniques." *Vet Microbiol* 121(3-4): 299-306.
- Collier, C.T., M.R. Smiricky-Tjardes, D.M. Albin, J.E. Wubben, V.M. Gabert, B. Deplancke, D. Bane, D.B. Anderson and H.R. Gaskins (2003).** "Molecular ecological analysis of porcine ileal microbiota responses to antimicrobial growth promoters." *J Anim Sci* 81(12): 3035-3045.
- Corpet D.E., Brugere H.B.(1996).** Résidus des antibiotiques dans les aliments d'origine animale : conséquences microbiologiques, évaluation de la dose sans effet chez l'homme. *Rev. Méd.Vét.* , **146**, 72-82.
- Collignon, P. (2004).** "Antibiotic growth promoters." *J Antimicrob Chemother* 54(1): 272 ; author reply 276-278.
- Crilly, J., Power, E.P., Cowman, H.J., Cryan, B. et Buckley, J.F.( 2001).** Epidemiology of Salmonella infection in the south of Ireland. *Ir. J. of Agri.and Food Resea.*, 40, 215-226.
- DANMAP (1998).** "Consumption of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, food, and humans in Denmark." No 2,Copenhagen, Danmark
- Davies, J. (1994).** "Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes." *Science* 264(5157): 375-382.
- Decuypere, J.A., N.A. Dierick, I.J. Vervaeke and H.K. Henderickx (1991).** "Influence of virginiamycin on the digestive physiology in precaecal re-entrant cannulated pigs." *Arch Tierernahr* 41(4): 373-393.
- Del Grosso, M., A. Caprioli, P. Chinzari, M.C. Fontana, G. Pezzotti, A. Manfrin, E.D. Giannatale, E. Goffredo and A. Pantosti (2000).** "Detection and characterization of vancomycin-resistant enterococci in farm animals and raw meat products in Italy." *Microb Drug Resist* 6(4): 313-318.
- Devie P., Le goaziou A., Divol A., Olivon M., Gilbert G., Petit J. et Laurent S.,** Les antibiotiques dans l'alimentation animale, (2006), 1-30.
- Dewdney, J. M., L. Maes, J. P. Raynaud, F. Blanc, J. P. Scheid, T. Jackson, S. Lens and C. Verschuere, 1991.** "Risk assessment of antibiotic residues of  $\beta$ -lactams and macrolides in food products with regard to their immuno-allergic potential". *Food and Chemical Toxicology* 29, pp 477-483.
- Dibner, J.J. and J.D. Richards (2005).** "Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action." *Poult Sci* 84(4): 634-643.
- Dierick, N.A., I.J. Vervaeke, J.A. Decuypere and H.K. Henderickx (1978).** "Degradation of amino acids by the intestinal microflora of pigs, influence of nutritional doses of virginiamycin and spiramycin." *Proc III World Congress Animal Feeding, Madrid.*

- Dierick, N.A., I.J. Vervaeke, J.A. Decuyper and H.K. Henderickx (1986a).** "Influence of the gut flora and some growth-promoting feed additives on nitrogen metabolism in pigs. I. Studies in vitro." *Livest Prod Sci* 14: 161-176.
- Dierick, N.A., I.J. Vervaeke, J.A. Decuyper and H.K. Henderickx (1986b).** "Influence of the gut flora and some growth-promoting feed additives on nitrogen metabolism in pigs. II. Studies in vivo." *Livest Prod Sci* 14: 177-193.
- Dion S – 2001:** Stéphane Dion. Production avicole: antibiotiques et facteurs de croissance. La coopération fédérée de Québec. Mars 2001.
- Djenane D., Blanco D., Yanguela J., Beltran J.A., Roncales P., 2006.** Preservation by lactic acid bacteria of beef steaks stored in CO<sub>2</sub>-rich atmospheres and their inhibition of *Listeria monocytogenes*. *Sci. Alim.*, 26(1), 37-73.
- Djezzar, R.,** le probiotique *Pediococcus acidilactici* comme alternatif aux antibiotiques chez le poulet de chair, Mémoire de Magistère en science vétérinaires : Elevage et pathologie aviaire et cunicole, Ecole national supérieure vétérinaire-Alger, (2008), 95p.
- Djezzar R., Benamirouche K., Baazize-Ammi D., Khoubei A., Merroukhi A., Maghni E. and \*\*Guertani D (2013).** "Impact of Dietary Supplementation with *Pediococcus Acidilactici* on Zootechnical and Sanitary Performances of Broilers in Algeria" *J. Anim. Sci. Adv.*, 2013, 3(4):157-164
- Dorman, H.J.D. and Deans, S.G.,** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils, *Journal of Applied Microbiology*, V.88, (2000), 308-316.
- Elliott, S.D. and E.M. Barnes (1959).** "Changes in serological type and antibiotic resistance of Lancefield group D streptococci in chickens receiving dietary chlortetracycline." *J Gen Microbiol* 20(2): 426-433.
- Elwinger, K., E. Berndtson, B. Engstrom, O. Fossum and L. Waldenstedt (1998).** "Effect of antibiotic growth promoters and anticoccidials on growth of *Clostridium perfringens* in the caeca and on performance of broiler chickens." *Acta Vet Scand* 39(4): 433-441.
- Emborg, H.D., J.S. Andersen, A.M. Seyfarth, S.R. Andersen, J. Boel and H.C. Wegener (2003).** "Relations between the occurrence of resistance to antimicrobial growth promoters among *Enterococcus faecium* isolated from broilers and broiler meat." *Int J Food Microbiol* 84(3): 273-284.
- Eurin, J.** 2008.Thème antibiotiques et antibiorésistances. Laboratoire Hydrologie et Environnement, EPHE, UMR Sisyphe 1-2.
- Everett, S.L., R.P. Kowalski, L.M. Karenchak, D. Landsittel, R. Day and Y.J. Gordon**

- (1995). "An in vitro comparison of the susceptibilities of bacterial isolates from patients with conjunctivitis and blepharitis to newer and established topical antibiotics." *Cornea* 14(4): 382-387.
- Fenardji F.** 1990. Organisation, performances et avenir de la production avicole en Algérie. Ciheam - options méditerranéennes-L'aviculture en Méditerranée, Sér. A l n "7 : 253-261.
- Ferrah A.** 2005. Filière avicole en Algérie, Cours de 1<sup>ère</sup> année magistère, Ecole Nationale Vétérinaire
- Fontaine M.** 1992. Vade-Mecum du vétérinaire. 15<sup>ème</sup> édition, volume 1, ENV Lyon, pp 256-275.
- Fooks, L.J., Fuller R. and Gibson, G.R.,** Prebiotics, probiotics and human gut microbiology, *International Dairy Journal*, V.9, (1999), 53-61
- Form G.,** 2003. Les résidus inhibiteurs dans le lait. Evolution des méthodes de détection-Facteurs de risques en région Rhône-Alpes. Thèse Médecine Vétérinaire
- Fuller R., M.E. Coates and G.F. Harrison (1979).** "The influence of specific bacteria and a filtrable agent of the growth of gnotobiotic chicks." *J Appl Bact* 46: 335-342.
- Fuller, R., S.B. Houghton and M.E. Coates (1983).** "The effect of dietary penicillin on the growth of gnotobiotic chickens monoassociated with *Streptococcus faecium*." *Br Poult Sci* 24(1): 111-114.
- Fuller, R., C.B. Cole and M.E. Coates (1984).** "The role of *Streptococcus faecium* in antibiotic-relieved growth depression in chickens." *Br Poult Sci* 25: 395-403.
- Fuller R.** 1984. Microbial activity in the alimentary tract of birds. *Proc Nutr Soc J* 43 : 55-61.
- Fuller R.** 1989. Probiotic in humain medecin. *GUT*. 32 : 439-442.
- Gaggia, F., Mattarelli, P. and Biavati, B.,** Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production , *International Journal of Food Microbiology*, V.141, (2010), 15-28.
- Gatermann J.M., Silke S.** 2007. Quantitation of genetically modified maize two reference systems gives evidence of limitations in use of the conversion factor *Methods Europe* 2004, Noordwijk-aan-Zee (The Netherlands) 89-90.
- Gaudin. P (1999)** Origines et conséquences des substances dites inhibitrices dans la filière lait : étude au niveau d'un groupe laitier. Thèse doctorat vétérinaire, école vétérinaire de Nantes, année 1999, p. 26.
- Giannenas, I., P. Florou-Paneri, M. Papazahariadou, E. Christaki, N.A. Botsoglou and A.B. Spais (2003).** "Effect of dietary supplementation with oregano essential oil on performance of broilers after experimental infection with *Eimeria tenella*." *Arch Tierernahr* 57(2): 99-106.
- Gibson, G.R. and M.B. Roberfroid (1995).** "Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics." *J Nutr* 125(6): 1401-1412.

- Gill, H. S., Rutherford, K. J., Prasad, J., and Gopal, P. K.**, Enhancement of natural and acquired immunity by *Lactobacillus rhamnosus* (HN001), *Lactobacillus acidophilus* (HN017) and *Bifidobacterium lactis* (HN019), Br. J. Nutr., V.83, (2000), 167-176.
- Gilbert D. et al**, « The Sanford Guide to Antimicrobial Therapy 2013 », 43e édition, 2013
- Gomez, T.M., Molarjemi, Y., Miyagawa, S., Kaferstein, F.K. et Stohr, K. (1997).**  
Foodborne salmonellosis. World Health Stat 50: 81-89
- Gournier-Château, N., Larpent, J.P., Castellanos, M.I et Larpent, J.L.**, Les probiotiques en alimentation animale et humaine, Edition: Technique et Documentation Lavoisier, (1994), 192p.
- Guo, F.C., B.A. Williams, R.P. Kwakkel, H.S. Li, X.P. Li, J.Y. Luo, W.K. Li and M.W. Verstegen (2004).** "Effects of mushroom and herb polysaccharides, as alternatives for an antibiotic, on the cecal microbial ecosystem in broiler chickens." Poult Sci 83(2): 175-182.
- Haddadin M.S.Y., Abdulrahim S.M., Hashlamoun E.A.R., Robinson R.K.** 1996. The effect of *Lactobacillus acidophilus* on the production and chemical composition of hen's eggs. Poult Sci. 75 : 491-494.
- Hamilton-Miller, J.M.T., Shah, S. and Winkler, J.T.**, Public health issues arising from microbiological and labelling quality of foods and supplements containing probiotic microorganisms, Public Health Nutrition, V. 2, n°2, (2003), 223-229.
- Hammerum, A.M., O.E. Heuer, C.H. Lester, Y. Agerso, A.M. Seyfarth, H.D. Emborg, N. Frimodt-Moller and D.L. Monnet (2007).** "Comment on: withdrawal of growthpromoting antibiotics in Europe and its effects in relation to human health." Int J Antimicrob Agents 30(5): 466-468.
- Hassani M. et al. (2008).** *Thermostability of Oxytetracycline, Tetracycline, and Doxycycline at Ultrahigh Temperatures.* J. Agric. Food Chem, p 2679.
- Hsieh et al. (2011).** *Correlation analysis of heat stability of veterinary antibiotics by structural degradation, changes in antimicrobial activity and genotoxicity.* Veterinarni Medicina, 56, p 279.
- Heinrichs, A.J., C.M. Jones and B.S. Heinrichs (2003).** "Effects of mannan oligosaccharide or antibiotics in neonatal diets on health and growth of dairy calves." J Dairy Sci 86(12): 4064-4069.
- Helmut, R. and E. Bulling (1985).** "Criteria and methods for the microbiological evaluation of growth promoters in animal feeds." Berlin: Bundesungeteamsamt.
- Heskia B.** 2004. Intérêt des sulfamides dans la maîtrise simultanée des entérites non spécifiques et des coccidioses chez les volailles. Rencontres interprofessionnelles de pathologie aviaire Rennes, 115-118.

- Heuer, O.E., K. Pedersen, L.B. Jensen, M. Madsen and J.E. Olsen (2002).** "Persistence of vancomycin-resistant enterococci (VRE) in broiler houses after the avoparcin ban." *Microb Drug Resist* 8(4): 355-361.
- Higgins, S. J.P., Higgins, E., Wolfenden, A.D. ,Henderson, S.N., Torres-Rodriguez, A., Vicente, J.L. Hargis, B.M. and Tellez, G.,** Effect of lactic acid bacteria probiotic culture treatment timing on *Salmonella* Enteritidis in neonatal broilers, *Poultry Science*, V.89, (2010), 243-247.
- Ibrahim. A. et Moats. W.A. (1994).** *Effect of cooking procedures on oxytetracycline residues in lamb muscle.* *J. Agric. Food Chem* (42). p 2561-2563.
- INRA Productions Animales, juillet 2002
- Idoui Tayeb 1, Boudjerda Djamel1, Leghouchi Essaid1, Karam Noureddine** *Huitièmes Journées de la Recherche Avicole, St Malo, 25 et 26 mars 2009*
- Jamroz, D., A. Wiliczkiwicz, T. Wertelecki, J. Orda and J. Skorupinska (2005).** "Use of active substances of plant origin in chicken diets based on maize and locally grown cereals." *Br Poult Sci* 46(4): 485-493.
- Jamroz, D., T. Wertelecki, M. Houszka and C. Kamel (2006).** "Influence of diet type on the inclusion of plant origin active substances on morphological and histochemical characteristics of the stomach and jejunum walls in chicken." *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 90(5-6): 255-268.
- **Jin, L.Z., Ho, Y.W., Abdullah, N., Ali, M., Jalaludin, S.,** 1998. *Poult. Sci*, 77, 1259-1265.
- Jones, F.T. and S.C. Ricke (2003).** "Observations on the history of the development of antimicrobials and their use in poultry feeds." *Poult Sci* 82(4): 613-617.
- Jouany, J.P. (1982). "Volatile fatty acid and alcohol determination in digestive contents, silage juice, bacterial cultures and anaerobic fermentor contents." *Sci Aliments* 2: 131-144.
- Jorgensen H.L. et Schulz E. (1985),** Turbidimetric measurement as a rapid method for the determination of the bacteriological quality of minced meat, *International Journal of Food Microbiology* 2, p 177.
- **Jureidini N.** « L'Hebdo Magazine » N° 3033 du vendredi 25 décembre 2015
- Kabir, S.M.L., Rahman, M.M., Rahman, M.B., Rahman, M.M. and Ahmed, S.U(2004).** The dynamics of probiotics on growth performance and immune response in broilers, *International Journal of Poultry Science*, V.3, 361-364.
- Kabir, S.M.L., Rahman, M.M. and Rahman, M.B. (2005).** Potentiation of probiotics in promoting microbiological meat quality of broilers, *J. Bangladesh Soc. Agric. Sci. Technol.*, V.2, 93-96.

- **Kaci A et Boudouma D ( 2011)** La production du poulet de chair en Algérie : Les aspects techniques, organisationnels et économiques. 6èmes Journées de Recherche sur les Productions Animales. Tizi-Ouzou (Algérie) 3-4 mai 2011, 68-86
- Kaci A. (2014)** « Les Déterminants de la compétitivité des entreprises avicoles Algériennes »  
Thèse Doctorat Ecole Nationale Supérieure Agronomique El- Harrach – Alger
- Kaci A , Cheriet F. (2013)** « Analyse de la compétitivité de la filière de viande de volailles en Algérie : tentatives d'explication d'une déstructuration chronique», Revue New Medit, n°2, pages 11-21, BARI (Italie), 2013
- Klare, I., H. Heier, H. Claus, G. Bohme, S. Marin, G. Seltmann, R. Hakenbeck, V. Antanassova and W. Witte (1995a)**. "Enterococcus faecium strains with vanA-mediated high-level glycopeptide resistance isolated from animal foodstuffs and fecal samples of humans in the community." *Microb Drug Resist* 1(3): 265-272.
- Klare, I., H. Heier, H. Claus, R. Reissbrodt and W. Witte (1995b)**. "vanA-mediated highlevel glycopeptide resistance in Enterococcus faecium from animal husbandry." *FEMS Microbiol Lett* 125(2-3): 165-171.
- Klare, I., D. Badstubner, C. Konstabel, G. Bohme, H. Claus and W. Witte (1999)**. "Decreased incidence of VanA-type vancomycin-resistant enterococci isolated from poultry meat and from fecal samples of humans in the community after discontinuation of avoparcin usage in animal husbandry." *Microb Drug Resist* 5(1): 45-52.
- Klotins K.(2006)**. Utilisation des antibiotiques comme stimulateurs de croissance, controverse et solution
- Kribel I.(1998)**. Résidus de nitrofuranes dans la viande de poulet et les oeufs. Thèse : *Méd. Vét.*, IAV Rabat.
- Kung, L.J. R.**, Direct-fed microbials and enzymes for dairy cows. Department of Animal & food Sciences, University of Delaware, (2001).
- Kyriakis, S.C., K. Sarris, S.K. Kritas, K. Saoulidis, A.C. Tsinas and V.K. Tsiloyiannis (1995)**. "The effect of salinomycin on the control of Clostridium perfringens type-A infection in growing pigs." *Zentralbl Veterinarmed B* 42(6): 355-359.
- La Ragione, R.M., Narbad, A., Gasson, M.J. and Woodward, M.J.**, *In vivo* characterization of Lactobacillus johnsonii FI9785 for use as defined competitive exclusion agent against bacterial pathogens in poultry, *Letters in Applied Microbiology*, V.38, (2004), 197-205.
- Labie. Ch (1981)** Dispositions législatives destinées à éviter la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait *Revue : recueil de médecine vétérinaire*, n°157, p. 161-167.
- Laffrague C. (2015)** « Intérêt des probiotiques dans la prévention de pathologies et conseils en officine », Thèse : 2015 / TOU3 / 2008 , année : 2015 , Université ToulouseIII Paul Sabatier .

- Lambert, R.J., P.N. Skandamis, P.J. Coote and G.J. Nychas (2001).** "A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol." *J Appl Microbiol* 91(3): 453-462.
- Lan, P.T., M. Sakamoto and Y. Benno (2004).** "Effects of two probiotic *Lactobacillus* strains on jejunal and cecal microbiota of broiler chicken under acute heat stress condition as revealed by molecular analysis of 16S rRNA genes." *Microbiol Immunol* 48(12): 917-929.
- Lebres ,E.et Mouffok, F.(2000).** Enquête de listériose en Algérie. Recueil de la journée : Institut Pasteur d'Algérie face aux problèmes sanitaires de l'été. Pp 11-22
- Lederer J . (1986),** Encyclopédie modern de l'hygiène alimentaire . Paris –Nauwelaerts-1986
- Lee, K.W., Lillehoj, H.S., J\$ang, S.I., Li, G., Lee, S.H., Lillehoj, E.P. and Siragusa, G.R(2010).** Effect of *Bacillus*-based direct-fed microbials on *Eimeria maxima* infection in broiler chickens, *Microbiology and Infectious Diseases*, V. 33,), 105-110.
- Leeson, S., H. Namkung, M. Antongiovanni and E.H. Lee (2005).** "Effect of butyric acid on the performance and carcass yield of broiler chickens." *Poult Sci* 84(9): 1418-1422.
- Levy, S.B. (1994).** "Balancing the drug-resistance equation." *Trends Microbiol* 2(10): 341-342.
- Luecke, W. (1950).** "The effect of vitamin B12, animal protein factor and streptomycin on the growth of young pigs." *Arch Biochem* 26: 326-327.
- Lùllmann H, Mohr K,Ziegler A. 2001.** Atlas de poche de pharmacologie. 2<sup>ème</sup> édition française, Médecine-Sciences Flammarion Paris,France, pp 264-279.
- MADR, (Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural), 2011. *Statistiques agricoles, séries A et B*. Alger, Algérie
- Mahdavi, A.H., Rahmani, H.R., Pourreza, J., 2005. *Int. J.Poult. Sci.*, 4, 488-492.
- Mathlouthi, N., Mallet, S., Saulnier, L., Quemener, B.and Larbier, M.,** Effects of xylanase and b-glucanase addition on performance, nutrient digestibility, and physico-chemical conditions in the small intestine contents and caecal microflora of broiler chickens fed a wheat and barley-based diet, *Anim. Res.*, V.51, (2002), 395-406.
- Mansouri N., (2007).** Thèse « La recherche de résidus de substances antimicrobiennes dans les wilayas d'Annaba, constantine, El-Tarf et Skikda »
- Marteau, P., and Shanahan, F.,** Basic aspects and pharmacology of probiotics: an overview of pharmacokinetics, mechanisms of action and side-effects, *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.*, V.17, (2003), 725-740.
- Mavis (Medecine Act Veterinary Information Service)(2003)** Bulletin d'information du Veterinary Medicines Directorate [www.vmd.gov.uk](http://www.vmd.gov.uk)

- Melmed, G.,** Thomas L.S., Human intestinal epithelial cells are broadly unresponsive to Toll-like receptor 2-dependent bacterial ligands: implications for host-microbial interactions in the gut, *J. Immunol.*, V.170, n°3, (2003), 14-15.
- Mohamed Said R., Guetarni Dj.** "Effects of the Probiotiques on the Parameters Zootechnic of the Flesh Chicken" *Bulletin UASVM, Veterinary Medicine* 66(1)/2009 ISSN 1843-5270; Electronic ISSN 1843-5378
- Mohan B, Kadirvel R, Bhaskaran M, Natarajan A.** 1995. Effect of probiotic supplementation on serum/yolk cholesterol and on egg shell thickness in layers. *Br Poult Sci* 36 : 799- 803.
- Moore, P.R., A. Evenson, T.D. Luckey, E. McCoy, C.A. Elvehjem and E.B. Hart (1946).** "Use of sulfasuxidine, stretothricin, and streptomycin in nutritional studies with the chick." *J Biol Chem* 165: 437-441.
- Mottet, C. and Michetti P.** (2005). Probiotics: wanted dead or alive, *Dig. Liver. Dis*, V.37, n°1, 3-6.
- Mountzouris, K. C., Tsirtsikos P., Kalamara E., Nitsch S., Schatzmayr G., and Fegeros K.,** Evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, and *Pediococcus* strains in promoting broiler performance and modulating cecal microflora composition and metabolic activities, *Poult. Sci.*, V.86, (2007), 309-317.
- Nagaraja, T.G., M.B. Taylor, D.L. Harmon and J.E. Boyer (1987).** "In vitro lactic acid inhibition and alterations in volatile fatty acid production by antimicrobial feed additives." *J Anim Sci* 65(4): 1064-1076.
- Niewold, T.A. (2007).** "The nonantibiotic anti-inflammatory effect of antimicrobial growth promoters, the real mode of action? A hypothesis." *Poult Sci* 86(4): 605-609.
- O d o r e R. , De Marco M., Gasco L., Rotolo L., Meucci V., Palatucci A.T., Rubino V., Ruggiero G.,Canello S., Guidetti G., Centenaro S.,Quarantelli A.,Terrazzano G.,Schiavone A. (2015).** Cytotoxic e ffects of oxytetracycline residues in the bones of broiler c hickens following therapeutic oral a dministration of a water formulation. *Poultry Science* 00:1-7 <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pev141>
- Oelschlaeger, A.,(2010);** Mechanisms of probiotic actions - A review, *International Journal of Medical Microbiology*, V. 300, 57-62.
- **OFIVAL, 2011.** Le marché des produits carnés et avicoles. Note d'analyse. OFIVAL.
- Okumura, J., D. Hewitt, D.N. Salter and M.E. Coates (1976).** "The role of the gut microflora in the utilization of dietary urea by the chick." *Br J Nutr* 36(2): 265-272.
- Ouweland, A. C., Kirjavainen, P. V., Shortt, C. and Salminen, S.,** Probiotics: Mechanisms and established effects, *International Dairy Journal*, V.9, (1999), 43-52.
- Page, S.W. (2006).** "Current use of antimicrobial growth promoters in food animals: The

---

benefits." Dans *Antimicrobial Growth Promoters: Where do we go from here?* D.

Barug, J. de Jong, A.K. Kies and M. Verstegen, eds. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, Pays-Bas.

**-Partanen, K.H. and Z. Mroz (1999).** "Organic acids for performance enhancement in pig diets." *Nutr Res Rev* 12(1): 117-145.

**-Percival, M.,** Choosing a Probiotic, Supplement clinical, *Nutrition Insights*, V.6, n°1, (1997).

**-Petersen, J.S. (2002).** "Animal welfare and health as affected by management procedures in commercial broiler flocks." *The International Invitational Symposium: Beyond Growth Promoters in Food Animal Production*, Foulum, Denmark.

**-Phillips, I. (2007).** "Withdrawal of growth-promoting antibiotics in Europe and its effects in relation to human health." *Int J Antimicrob Agents* 30(2): 101-107.

**-Piccaglia, R., M. Marotti, E. Giovanelli, S.G. Deans and E. Eaglesham (1993).**

"Antibacterial and anti-oxidant properties of medditarian aromatic plants." *Indust Crops and Prod* 2: 47-50.

**-Piva, G. and F. Rossi (1999).** "Possible alternatives to the use of antibiotics as growth promoters. New additives." *CIHEAM-IAMZ - Option Mediterraneenne*: 83-106.

**- Poul J.M.** Effets des résidus d'antibiotiques sur la flore intestinale humaine, Afssa, unité de toxicologie, programme de recherche « aliment demain », 2000.

**-Poyart C.** Tétracyclines. In : *Antibiogramme Courvalain*.P, Leclercq.R, Bingen.E 2ème édition, 2006 : P325-334

**-Powell, L.W., M.E. Coates, R. Fuller, G.F. Harrison and D.J. Jayne-Williams (1974).** "The role of *Clostridium perfringens* in the growth response of chicks to dietary penicillin." *J Appl Bacteriol* 37(3): 427-435.

**-Quigley, J.D., 3rd, J.J. Drewry, L.M. Murray and S.J. Ivey (1997).** "Body weight gain, feed efficiency, and fecal scores of dairy calves in response to galactosyl-lactose or antibiotics in milk replacers." *J Dairy Sci* 80(8): 1751-1754.

**-Règlement (UE) No 37/2010 (2010).** *substances pharmacologiquement actives et à leur classification en ce qui concerne les limites maximales de résidus dans les aliments d'origine animale.*

**-Rerat, A. (1965).** "Influence des antibiotiques sur la rétention azotée chez le rat en croissance." *Ann Biol Anim Bioch Biophys* 5: 41-51.

**-Rochat T. et Langella P.,** Probiotiques, les bactéries lactiques : physiologie, génomique et application industrielles. Edition Economica, (2009).

**-Roselli, M., Finamore, A., Britti, M.S. and Mengheri, E.,** Probiotic bacteria *Bifidobacterium animalis* MB5 and *Lactobacillus rhamnosus* GG protect intestinal Caco-2 cells from the

inflammation-associated response induced by *enterotoxigenic Escherichia coli* K88, *British Journal of Nutrition*, V.95, (2006), 1177-1184.

**-Ross, Z.M., E.A. O'Gara, D.J. Hill, H.V. Sleightholme and D.J. Maslin (2001).**

"Antimicrobial properties of garlic oil against human enteric bacteria: evaluation of methodologies and comparisons with garlic oil sulfides and garlic powder." *Appl Environ Microbiol* 67(1): 475-480.

**-Ruyck R., De Ridder H., Van Renterghem R., Van Wambeke F.**-Food Additives and contaminants. 1999 Vol 16 N° 2 pp:49

**-Saarela, M., Mogensen, G., Fonde, R., Ma'tto", J. and Mattila-Sandholm, T.,(2000).** Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties, *Journal of Biotechnology*, V. 84197-215.

**-Salminen, S., Nybom, S., Meriluoto, J., Collado, M.C., Vesterlund, S. and El-Nezami, H.,** Interaction of probiotics and pathogens-benefits to human health? *Current Opinion in Biotechnology*, V. 21, (2010), 157-167.

**-Samanidou, V.F. and E.N. Evaggelopoulou (2008).** "Chromatographic analysis of banned antibacterial growth promoters in animal feed." *J Sep Sci* 31(11): 2091-2112.

**-Sautet, J. (1995).** "L'appareil digestif et ses adaptations." Dans *Nutrition des Ruminants domestiques, ingestion et digestion*. Jarrige R., Ruckebusch Y., Demarquilly C., Farce M.-H. et Journet M. eds. INRA éditions, Paris.

**-Schouten, M.A. and A. Voss (1997).** "VRE and meat." *Lancet* 349: 1258.

**-Shahid Muhammad Akbar et al. (2007).** *Status of Oxytetracycline Residues in Chicken Meat in Rawalpindi/Islamabad Area of Pakistan*. *Asian Journal of Poultry Science*. p 8-15.

**-Slizewska, K., Nowak, A., Libudzisz, Z. and Blasiak, J.,** Probiotic preparation reduces the faecal water genotoxicity in chickens fed with aflatoxin B1 contaminated fodder, *Research in Veterinary Science*, V.89, (2010), 391-395.

**-Semaine internationale de la sécurité et de la qualité alimentaire (SISQA)**

Résultats de la recherche Européenne pour la traçabilité et la sécurité dans l'agro-alimentaire, Toulouse, 11 et 12 décembre 2003.

**- Simon O., Jadamus A., Vahjen W.** Probiotic feed additives- effectiveness and expected modes of action. 2001. *J. Anim. Feed Sci.*, 10: 51-67.

**-Stein, H.H. and D.Y. Kil (2006).** "Reduced use of antibiotic growth promoters in diets fed to weanling pigs: dietary tools, part 2." *Anim Biotechnol* 17(2): 217-231.

**-Stuart, J.G. and J.J. Ferretti (1978).** "Genetic analysis of antibiotic resistance in *Streptococcus pyogenes*." *J Bacteriol* 133(2): 852-859.

**-Tarzaali D, 2008,** *Memoire de Magister Faculté Agro-vétérinaire Saad Dhlab Blida*

- 
- **Vandeplass, S., Dubois Dauphin, R., Thiry C., Beckers, Y., Welling, G.W., Thonart, P. and Théwis, A.**, Efficiency of a *Lactobacillus plantarum*-xylanase combination on growth performances, microflora populations, and nutrient digestibilities of broilers infected with *Salmonella* Typhimurium, Poultry Science, V.88, (2009), 643-1654.
- Ungemach, F.R., Müller-Bahrtdt, D. and Abraham, G.**, Guidelines for prudent use of antimicrobials and their implications on antibiotic usage in veterinary medicine, Int. J. Med. Microbiol., V.296, n°2, (2006), 33-38.
- Van Immerseel F., De Buck J., Pasmans F., Haesebrouck F., Ducatelle R., 2003a.** Stratégies nutritionnelles pour réduire les agents pathogènes chez les volailles. 5e Journ. Rech. Avicole. Tours, France, 26-27 mars, 141-148.
- Van Immerseel F., De Buck J., Pasmans F., Velge P., Bottreau E., Fievez V., Haesebrouck F., Ducatelle R., 2003b.** Invasion of *Salmonella enteritidis* in avian intestinal epithelial cells in vitro is influenced by short-chain fatty acids. Int. J. Food Microbiol., 85, 237-248.
- Van den Bogaard, A.E., N. Bruinsma and E.E. Stobberingh (2000).** "The effect of banning avoparcin on VRE carriage in The Netherlands." J Antimicrob Chemother 46(1):146-148
- **Van Egmond HJ, Nouws JFM, Schilt R, Van Lankveld-Driessen WDM, Streutjens-van Neer EPM, Simons FGH (2000).** Stability of antibiotics in meat during a stimulated high temperature destruction process, The Euro Residue conference IV, May 08 - 10, Veldhoven, Netherlands, pp. 430-438
- Van Leeuwen, W.J., J. van Embden, P.A. Guinee, E.H. Kampelmacher, A. Manten, M. van Schothorst and C.E. Voogd (1979).** "Reduction of the number of tetracycline-resistant strains of *Salmonella* in the Netherlands." Tijdschr Diergeneeskd 104(23):923-927.
- Verner Wheelock, J. and C. Foster (2002).** "Food safety and pig production in Denmark. "Danish Bacon and Meat Council. Verner Wheelock Associates Ltd, Skipton, UK.
- Vervaeke, I.J., J.A. Decuyper, N.A. Dierick and H.K. Henderickx (1979).** "Quantitative in vitro evaluation of the energy metabolism influenced by virginiamycin and spiramycin used as growth promoters in pig nutrition." J Anim Sci 49: 846-856.
- Villate D.** 2001. Maladie des volailles. 2ème ed, Edition France agricole, pp 318-330.
- Vissek, W.J. (1964).** "Urease Immunity in Liver Disease: a New Approach." Gastroenterology 46: 326-329.
- Vissek, W.J. (1978a).** "Diet and cell growth modulation by ammonia." Am J Clin Nutr 31(Suppl 10): S216-S220.
- Vissek, W.J. (1978b).** "The mode of growth promotion by antibiotics." J Anim Sci 46: 1447-1469.
- **Vittorio S. A., Mauro F., Carla B., Giovanna D. D., Giovanni S. et Chevaux E.** (2005). Effets de l'addition de *Pediococcus acidilactici* dans la ration de poulets de chair sur les

---

performances zootechniques et la microflore intestinale, *6èmes Journées de la Recherche Avicole, St Malo* (France), , 208-211.

**-Vitini, E., Alvarez, S., Medina, M., Medici, M., De Budeguer, M.V. and Perdigon G.,** Gut mucosal immunostimulation by lactic acid bacteria, *Biocell*, V.24, (2000), 223-232.

**-Wal, J. M., 1979.** "Evolution of the concept of residues in the products of animals raised with the use of antibiotics". *Annales de la Nutrition et de l' Alimentation* 33, pp 325-341.

**-Wallace R.J.,** Antimicrobial properties of plant secondary metabolites, *Proceedings of Nutrition Society.*, V. 63, (2004), 621-629.

**-Wambeke F.V., Peeters J.** 1995. The effect of Paciflor(R) on the performances, carcass composition and caecal bacterial numbers of broilers. *Arch Geflugelkd* 59 : 125-129.

Wegener, 2002

**-Wegener, H.C. (2002).** "Banning antimicrobial growth promoters in Europe: where does it make a difference?" 42nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Diego, CA, 2002. Abstract for session 195: American Society for Microbiology, Washington, DC, USA

**-Welton, L.A., L.A. Thal, M.B. Perri, S. Donabedian, J. McMahon, J.W. Chow and M.J. Zervos (1998).** "Antimicrobial resistance in enterococci isolated from Turkey flocks fed virginiamycin." *Antimicrob Agents Chemother* 42(3): 705-708.

**-Werner, G., I. Klare and W. Witte (1998).** "Association between quinupristin/dalfopristin resistance in glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium* and the use of additives in animal feed." *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 17(6): 401-402.

**-Werner, G., I. Klare, H. Heier, K.H. Hinz, G. Bohme, M. Wendt and W. Witte (2000).** "Quinupristin/dalfopristin-resistant enterococci of the *satA* (*vatD*) and *satG* (*vatE*) genotypes from different ecological origins in Germany." *Microb Drug Resist* 6(1):37-47.

**-Weurding R.E.** 2002. Kinetics of starch digestion and performance of broiler chickens. Thèse Université de Wageningen.

**-Witte, W. (1997).** "Impact of antibiotic use in animal feeding on resistance of bacterial pathogens in humans." *Ciba Found Symp* 207: 61-71; discussion 71-65.

**-Witte, W., I. Klare and G. Werner (1999).** "Selective pressure by antibiotics as feed additives." *Infection* 27(Suppl 2): S35-38.

**-Zhang, A.W., Lee, B.D., Lee, S.K., Lee, K.W., An, G.H.; Song, K.B. and Lee, C.H.,** Effects of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) cell components on growth performance, meat quality, and ileal mucosa development of broiler chicks, *International Journal of Poultry Science*, V.84, (2005), 1015-1021.

## Annexe 1

<i>Questionnaire destiné aux praticiens vétérinaires de la région de <b>BLIDA</b></i>	<i>Questionnaire destiné aux familles algériennes dans la région de <b>BLIDA</b></i>
<p><b>1-</b> L'ancienneté dans la profession.</p> <p><b>2-</b> Fréquence d'intervention du praticien sur le cheptel aviaire suivi.</p> <p><b>3-</b> Nombre d'élevage aviaires suivis par le praticien et effectif total.</p> <p><b>4-</b> Nature des antibiotiques prescrits par le praticien en première intention.</p> <p><b>5-</b> Durée du traitement par antibiotique en moyenne.</p> <p><b>6-</b> Délai au bout duquel il y a changement éventuel d'antibiotique.</p> <p><b>7-</b> Nature des anticoccidiens prescrits par le praticien en première intention.</p> <p><b>8-</b> Durée du traitement par anticoccidien en moyenne.</p> <p><b>9-</b> Nombre de rappels d'anticoccidiens.</p> <p><b>10-</b> Envoi éventuel de prélèvements au laboratoire pour autopsie.</p> <p><b>11-</b> Nature des antibiotiques utilisés par l'éleveur après la septième semaine.</p> <p><b>12-</b> Suivi ou non par l'éleveur des recommandations du vétérinaire relative au délai d'attente.</p> <p><b>13-</b> À quelles périodes sont prescrits des anti-stress ?</p> <p><b>14-</b> Origine de l'aliment utilisé par l'éleveur.</p> <p><b>15-</b> Nature des additifs dans l'aliment utilisés éventuellement par l'éleveur.</p> <p>◆ Question subsidiaire : Le praticien vétérinaire est-il intéressé par l'utilisation des probiotiques comme alternative aux antibiotiques ?</p>	<p><b>1-</b> Fréquence de consommation de viande de volaille (Poulet-Bœuf-Mouton) par famille.</p> <p><b>2-</b> Nombre de personnes par famille qui consomment la viande de poulet.</p> <p><b>3-</b> Qui consomme (nt) cette viande ? (par famille).</p> <p><b>4-</b> Nombre de fois de consommation de cette viande par famille.</p> <p><b>5-</b> Mode de cuisson par famille.</p> <p><b>6-</b> Le(s) personne(s) par famille qui ne consomme (ent) jamais la viande de poulet.</p> <p><b>7-</b> Nombre de kilos de viande de poulet à consommer par famille.</p> <p><b>8-</b> Le site d'achat de cette viande de poulet par famille.</p> <p><b>9-</b> Origine de cette viande.</p> <p><b>10-</b> L'apparition ou non d'une maladie dans une famille suite à la consommation de la viande de poulet.</p> <p><b>11-</b> La consommation ou non des œufs par famille.</p> <p><b>12-</b> La nature des œufs à consommer par famille.</p> <p><b>13-</b> Nombre de personnes par famille qui consomment les œufs.</p> <p><b>14-</b> Nombre de fois de consommation des œufs par famille.</p> <p><b>15-</b> Qui consomme (nt) les œufs ?</p> <p><b>16-</b> La consommation ou non des produits à base d'œuf ?</p> <p><b>17-</b> Nombre de personnes qui les consomment.</p> <p><b>18-</b> Origine des œufs à consommer.</p> <p><b>19-</b> L'apparition ou non d'une maladie dans une famille suite à la consommation des œufs.</p> <p><b>20-</b> Les phénomènes ressentis suite à la consommation de la viande de poulet et/ou les œufs</p>

NB : modèle voir suite de l'Annexe 1

# Suite Annexe 1

Université SAAD DAHLEB de Blida  
 Département de Biologie  
 Route de Soumaa.  
 BLIDA

## Questionnaire à l'intention des Vétérinaires Praticiens

Ce questionnaire s'inscrit dans le cadre d'une thèse de Doctorat d'Etat autour des pratiques de l'antibiothérapie en élevage aviaire

Merci de répondre aux questions !!

1-Depuis quand exercez-vous ? :

2-Vous intervenez en élevage aviaire

- Une fois par semaine
- Plusieurs fois par semaine
- Une fois par mois
- Plusieurs fois par mois
- Autre

3-Nombre d'élevages aviaires que vous suivez

- Nombre en **poulet de chair** :                   ⇒ **effectif total** :
- en poules **pondeuses** :
- en poules **reproductrices** :

4-Quels antibiotiques prescrivez-vous en 1<sup>ère</sup> intention, cochez 1,2, ou 3 cases par ordre de fréquence ?

- |  |   |   |   |  |
|--|---|---|---|--|
| <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Clamoxyl      | <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Ampicilline      | <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Colistine          | <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Tétracycline | <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Flumequine  |
| <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Erythromycine | <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Tylosine         | <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Spiramycine        | <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Josamycine   | <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Doxycycline |
| <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Danoflaxine   | <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Acide oxolinique | <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Trimethoprim+sulfa |   |  |
| <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Enrofloxacin  | <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Virginiamycine   |   |   |  |

5-Durée du traitement en moyenne :

- 1jour     2jours     3jours     4 jours     5 jours     6 jours     plus

6- Lorsque les résultats ne sont pas satisfaisants, au bout de quel délai changez-vous d'antibiotique ?

- 1jour     2jours     3jours     4 jours     5 jours     plus

7-Quels anticoccidien prescrivez-vous en 1<sup>ère</sup> intention, cochez 1,2, ou 3 cases par ordre de fréquence ?

- Toltrazuril (Baycox)       Sulfamide
- Amprolium                       autres lesquels :

8-Durée du traitement anticoccidien :

- 2jours     3jours     4 jours     5 jours     6 jours     plus 6j     3jours-2j(repos)-3jours (sulfamide)

9-Nombre de rappels d'anticoccidien :

- 1rappel     2 rappels     3rappels     4 rappels     plus

10-Envoyez-vous des prélèvements au laboratoire pour autopsie?

- jamais     Rarement     1 fois sur 10     1 fois sur 2

**Pour quelles raisons :**

11-Quels sont les Antibiotiques qu'utilise l'éleveur après la 7 semaine :

12-Est-ce que l'éleveur suit vos recommandations par rapport au délai d'attente ?

Oui       Non      Pourquoi ? :

13-Aquelles périodes prescrivez-vous des antistress ?

## Poulet de chair pondeuses

- Démarrage
- Période vaccinale
- Avant écoulement
- 1<sup>ère</sup> semaine
- 2<sup>ème</sup> semaine
- 3<sup>ème</sup> semaine
- 4<sup>ème</sup> semaine
- 5<sup>ème</sup> semaine
- 6<sup>ème</sup> semaine
- 7<sup>ème</sup> semaine
- 8<sup>ème</sup> semaine

## Poules

- 1 traitement par semaine
- 1 traitement par quinzaine
- 1 traitement par mois

### Indication des antistress

- Avant et après chaque stress
- Diminution de la ponte
- Durant les vaccinations
- autres précisez :

## **ALIMENT :**

14-Origine de l'aliment qu'utilise l'éleveur cochez par ordre de fréquence :      ONAB      PRIVE

15- Additifs dans l'aliment utilisé par l'éleveur :

- Antibiotique lequel ? : .....
- Autres produits lesquels ? : .....

Etes-vous intéressés par une étude expérimentale sur l'utilisation des probiotiques comme alternative aux antibiotiques ?

Oui       Non

NB : Les Probiotiques sont actuellement définis comme des microorganismes vivants qui, ingérés en quantité convenable, ont des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte en améliorant son équilibre microbien intestinal. Les probiotiques sont principalement des bactéries et des levures présentes ou non dans la microflore intestinale résidente. Les probiotiques semblent avoir des effets positifs sur la santé, ils agiraient en particulier sur l'immunité.

NOM : Docteur .....

Ville :

Commune :

Coordonnées :

Merci de votre collaboration et aussi pour le renvoi de ce questionnaire

**MILIEUX UTILISES****-Milieu 1**

Mettre en suspension 25.5g de poudre dans 1L d'eau distillée. Chauffer en agitant. Porter à l'ébullition 1min.

Repartir : autoclaver à 120°C 15min.

Formule en g.l-1 d'eau distillée :

Peptone.....	6.0 g
Abrégé pancréatique de Caséine.....	4.0 g
Extrait de la levure.....	3.0 g
Extrait du bœuf.....	1.5 g
Le dextrose.....	1.0 g
Agar.....	15 g
L'eau	

**-Milieu 2**

Mettre en suspension 25.5g de poudre dans 1L d'eau distillée. Chauffer en agitant. Porter à l'ébullition 1min.

Repartir : autoclaver à 120°C 15min.

Formule en g.l-1 d'eau distillée :

Bio-gylytone.....	6.0
Extrait de levure.....	3.0
Extrait de viande de bœuf.....	1.5
Glucose.....	15

**-Milieu 3**

Mettre en suspension 17.5g de poudre dans 1L d'eau distillée. Chauffer en agitant. Porter à l'ébullition 1min .repartir : autoclaver à 120°C 15min.

Formule en g.l-1 d'eau distillée :

Bio-gylytone.....	5.00
Extrait de levure.....	1.50
Extrait de viande de bœuf.....	1.50
Chlorure de sodium.....	3.50
Glucose.....	1.00
Phosphate bipotassique.....	3.68
Phosphate monopotassique.....	1.32