



N° d'ordre :

N° de série :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE D'EL-OUED
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Licence Académique

Filière : Biochimie

Spécialité : Toxicologie

THÈME

**Etude bibliographique sur les risques liés à la présence
des résidus des antibiotiques dans le miel**

Dirigé par:

Mme HADEF Leila

Présenté par :

-BELLABIDI Halima

-DJOKHRAB Roumaïssa

-GOAR Heddi

-KAMET Samiha

Année universitaire 2013/2014

Remerciements

Nous remercions Dieu le clément de nous avoir aidé durant toute notre scolarité et sur lequel nous comptons tous pour atteindre notre but.

Nous présentons aussi nos sincères remerciements et notre reconnaissance à notre promotrice Mme HADEF LEILA qui n'a jamais ménagée aucun effet pour nous guider et nous conseiller.

Aussi nous diffusions un chaleureux remerciement aux membres du jury qui vont contribuer à l'évaluation de cet modeste travail.

Ainsi à tous les enseignants de faculté de science de la nature et de la vie d'EL OUED et à tous ceux qui nous ont rendu service de près ou de loin.

SOMMAIRE

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction générale	
CHAPITRE I: LES ABEILLES ET L'APICULTURE	
I.1. L'ABEILLE.....	01
I.1.1. Biologie.....	01
I.1.2. Taxonomie	01
I.1.3. Les races d'abeille	02
I.1.4. Organes génitaux des abeilles	03
I.1.4.1. La reine	03
I.1.4.2. Les mâles	03
I.1.4.3. Les ouvrières	03
I.1.5. La ruche	03
I.1.5.1. Fonction des habitants de la ruche	04
I.1.5.2. Reine ou mère	04
I.1.5.3. Mâles ou abeillée.....	04
I.1.5.4. Les ouvrières	05
I.1.5.5. Les produits de la ruche.....	05
I.1.5.6. Le miellat	05
I.1.5.7. Le miel	06
I.1.5.8. Nectar	07
I.1.5.9. Le pollen	08
I.1.5.10. La gelée royale	08
I.1.5.11. La propolis	09
I.1.5.12. La cire	09
I.1.5.13. Le venin	10
I.2. L'apiculture.....	10
I.2.1. Définition du ruche.....	10

I.2.2. L'emplacement du rucher	11
I.2.2.1. Potentialités Mellifères	11
I.2.2.2. Principe a respecté	11
I.2.2.3. L'eau	11
I.2.3. Installation du rucher.....	11
I.2.4. Transport des ruchers	12
I.2.4.1. Maladies contagieuses	12
I.2.4.2. Vente du miel.....	12
I.2.4.3. Emballage.....	12
I.2.4.4. Responsabilité	12
I.2.4.5. Propriétés des essaimes	12
I.2.5. Production du miel	12
I.2.5.1. Définition du miel	12
I.2.5.2. La Composition du miel	13
I.2.5.3. Production et consommation	14
I.2.5.4. Transformation physique et chimique.....	15
I.2.5.5. utilisations.....	16
I.2.6. Les maladies nécessitant une antibiothérapie	16
I.2.6.1. des maladies des abeilles.....	16
I.2.6.2. Les maladies bactériennes.....	16
I.2.6.3. La loque américaine	17
I.2.6.3.1. Définition	17
I.2.6.3.2. Etiologie.....	17
I.2.6.3.3. Transmission	18
I.2.6.3.4. symptômes	18
I.2.6.3.5. Diagnostic	19
I.2.6.3.6. Traitement	20
I.2.6.4. La loque européenne	21
I.2.6.4.1. Définition	21
I.2.6.4.2. Transmission.....	21

I.2.6.4.3. Symptômes	21
I.2.6.4.4. Diagnostic.....	22
I.2.6.4.5. Traitement.....	22
I.2.6.5. Les maladies virales.....	23
I.2.6.5.1. Couvain Sacciforme.....	23
I.2.6.5.2. Définition.....	23
I.2.6.5.3. Pathogène.....	23
I.2.6.5.4. Transmission.....	23
I.2.6.5.5. Symptômes.....	23
I.2.6.5.6. Diagnostic.....	24
I.2.6.5.7. Traitement.....	24
CHAPITRE II: GENERALITE SUR LES ANTIBIOTIQUES	
II .1.Définition les antibiotiques	25
II.1.1 L'histoire des antibiotiques.....	25
II .1.2 Type d'action d'un antibiotique.....	26
II .1.3. Leur mode d'action	27
II .1.4 Classification des antibiotiques.....	28
III. 5. Le Devenir Des Antibiotique Dans L'organisme.....	30
II .1.5.1. L'absorption.....	30
II .1.5.1.1. Absorption digestive.....	30
II. 1.5.1.2. Absorption parentérale.....	31
II .1.5.2. La distribution.....	31
II .1.5.3. La biotransformation.....	31
II .1.5.4. L'élimination.....	31
II .1.6 Utilisation des antibiotiques dans la médecine vétérinaire.....	32
II .1.6.1.Les objectifs du bon usage des antibiotiques.....	32
II .1.6.2.Les utilisation des antibiotiques.....	32

II .1.6.2.1 Objectifs thérapeutiques.....	32
II .1.6.2.2. Objectifs zootechniques.....	32
II .1.7 Temps d'attente	33
II .1.8 L'antibiorésistance.....	33
II.1.8.1 constitutionnelle (naturelle)	34
II .1.8.2Trois types principaux	34
II .1.8.3.La résistance acquise peut être due soit à.....	34
II .2.Règlement d'antibiotiques dans le miel	35
II .3.Codex.....	35
II.4.Les antibiotique l'utilisation dan apiculture.....	35
III .EFFETS TOXIQUES DES RESIDUS DES ANTIBIOTIQUES DANS LE MIEL	
III.1.Résidus antibiotique.....	37
III. 1.1. Définition de « résidu »	37
III.1.1.1. Nature et propriétés des résidus.....	38
III.1.1.2. Les résidus extractibles.....	38
III.1.1.3. Les résidus non-extractibles.....	38
III.1.3. Propriétés des résidus.....	38
III.1.3.1. Notion de biodisponibilité et de biodisponibilité de relais	38
III. 1.3.2. Notion de toxico-disponibilité	39
III.1.4.La réglementation autour des résidus d'antibiotiques	39
III.1.4.1.Mise en place des Limites Maximales de Résidus.....	39
III.1.4.1.1. Définition de LMR	39
III.1.4.1.2. Principe généraux des LMR.....	39
III.1.4.1.3. Etablissement d es LMR.....	40
III.1.4.2. Le temps d'attente	40
III.1.4.2.1. Rappels historiques sur la notion de temps d'attente.....	40
III.1.4.2.2. Le temps d'attente.....	40

III.1.4.2.3. Le calcul du temps d'attente.....	41
III.2. Les risques des résidus d'antibiotiques.....	41
III.2.1.Méthode d'évaluation de la toxicité des résidus.....	41
III.2.1.1. Devenir des résidus chez l'homme.....	41
III.2.1.2. Phénomène de dilution.....	41
III.2.1.3. Phénomène d'absorption.....	42
III.2.1.4. Phénomène de fixation.....	42
III.2.1.5. Facteurs de variation de l'activité des résidus.....	42
III.2.2. Dose sans effet et « toxicité de relais ».....	42
III.2.3. Toxicité directe des résidus d'antibiotiques.....	43
III.2.4.Les intoxication	44
III.2.4.1. Oxytetracycline (Class: Tetracycline).....	44
III.2.4.2.L'érythromycine (Classe: macrolid).....	45
III.2.4.3.Enrofloxacin (Classe: fluoroquinolones).....	45
III.2.4.4.Chloramphénicol (Classe: Amphenic).....	45
III.2.4.5.Ampicilline (Classe: β –lactamines).....	46
III.2.4.6.Aminoside (Streptomycine)	46
III.2.4.7.Sulfamides.....	46
III.2.5. Antibiotiques responsables d'effets secondaires à la dose thérapeutique	46
III.2. 6. risque allergique.....	48
III.2. 6.1.Nature du risque allergique.....	48
III.2. 6.2.Evaluation du risque allergique.....	48
III.2. 7.Risques cancérogènes liés à la présence de résidus	50
III.2.8. Risques liés à la modification de la flore digestive par les résidus d'antibiotiques	51
CHAPITRE IV: LES METHODES DE DETECTION ET QUANTIFICATION DES RESIDUS DES ANTIBIOTIQUES DANS LE MIEL	
IV. 1.Méthode utilisés.....	52

IV.1.1.Elisa(Enzyme lenked Immuno sorbent assay).....	53
IV. 1. 2.les charm test.....	54
IV.1.3. chromatographie liquide haute. performance(HPLC).....	55
IV. 1. 3. 1. Les domaines d’application.....	55
IV. 1. 3. 2. L'appareillage.....	56
IV. 1. 3. 3.un reservoir de solvant (éluent).....	57
IV. 1. 3. 4. La pompe.....	57
IV. 1.. 3. 5.vanne d'anjection.....	58
IV. 1. 3. 6.la colonne.....	59
IV. 1.3.6.1 Nature des deux phase stationnaire (fixe).....	60
IV. 1. 3. 6.1.1 Détecteurs	61
IV. 1. 3. 7.1. Détecteurs UV-visible.....	61
IV. 1. 3. 7.2. Détecteurs a indice de réfraction.....	62
IV. 1. 3. 8.Enregitreurs	62
Conclusion générale	
Référence bibliographiques	
L'annexes	
Résume	

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
Figure 01	Les maladies bactériennes	17
Figure 02	La loque américaine	17
Figure 03	La loque européenne	21
Figure 04	Structure d'une bacterie	29
Figure 05	principe d'ELISA	59
Figure 06	Principe de Charm Test II	60
Figure 07	instrumentation de l'HPLC.	63
Figure 08	une pompe en HPLC	64
Figure 09	un injecteur à boucle externe	65
Figure 10	le détecteur UV	68

Liste des tableaux

Numerous	Titre	Page
Tableau 01	Composition de 100 grammes de miel	14
Tableau 02	classification des antibiotiques selon les grandes famille	30
Tableau 03	Les principaux solvants utilisés en HPLC	57
Tableau 04	calendrier apicole	Annexes

Liste des abréviations

L'abréviation	Signification
AMM	Autorisation de mise sur le marché
DJA	Dose Journalière Admissible
DSE	Dose Sans Effet
FDA	Food and Drug Administration
H	Heurs
HPLC	Hôte Liquide Phase Chromatographie
Kj	Kilo joule
Km	Kilo mètre
LMR	Limite Maximale Résidus
m	Métre
Mm	Millimètre
UI	Unit Internationales
Vol	Volume

INTRODUCTION

Le miel est un aliment naturel reconnu pour son goût unique et il a constitué pendant des millénaires la seule source abondante de matières sucrées dont on pouvait disposer environ 75 % de sucre, principalement du glucose et du fructose dont le pouvoir sucrant est plus important que celui du saccharose (Anonyme., 2014). Il est reconnu pour ses vertus préventives (anti- oxydant) (Donadiou Y., 2008), ses vertus thérapeutiques (Antibactérien efficace, il active la guérison des brûlures appliqué en cataplasme. Dilué dans de l'eau tiède il calme les irritations dues aux piqûres d'insectes. Ajouté dans une infusion de thym, il lutte contre les maux de gorge, la toux et les infections bronchiques) (Huchet E et *al.*, 1996) et aussi par ses propriétés diététiques (source d'énergie) (Donadiou Y.,2008).

Le grand développement de l'industrie chimique permet l'introduction de nouveaux médicaments dans l'élevage apicole, malheureusement ce progrès se traduit par la présence dans le miel de substance chimique indésirable tel que les résidus de ces antibiotiques (Boudiaf H., 2006) Ce qui présente un risque certain pour le consommateur algérien sachant que ces résidus peuvent avoir des conséquences néfastes potentielles sur sa santé tel que la toxicité (Guy et *al.*, 2004), les problèmes d'allergie (Châtaigner B et Stevens A, 2005), la perturbation de la flore intestinale (Moulin G., 2007) et l'antibiorésistance (Gysi M ., 2006).

De nombreuses méthodes permettent la détection et, dans certains cas, l'identification précise des molécules antibiotiques présentes dans le miel. Elles diffèrent par leur sensibilité, leur cout et les difficultés techniques inhérentes à leur réalisation. (Aguilera-Luiz et *al.*, 2008)

Actuellement en Algérie il ya une utilisation abusive et anarchique des antibiotiques en pratique vétérinaire. Il s'agit surtout du non respect du délai d'attente et de l'absence de règlementation concernant les limites maximales autorisées des résidus dans les denrées alimentaires d'origine animale destinées à la consommation humaine (Boultif L.,2009)

L'importance de ce problème d'ordre sanitaire et économique et le peu de documentation scientifique traitant ce sujet dans notre pays nous ont amené à s'intéresser à ce thème.

Dans ce travail nous évoquerons tout d'abords des données bibliographiques essentiels sur les abeilles et la production du miel.

Dans une 2ème partie nous étudierons les principaux antibiotiques utilisés en apiculture et les conséquences de la présence de leurs résidus dans le miel. Enfin nous avons essayé de donner les différentes méthodes utilisées pour la détection de ces résidus

Chapitre I: Les abeilles et l'apiculture

I.1. L'ABEILLE

L'abeille est un insecte vivant en société, celle-ci étant caractérisé par la division et la spécialisation du travail. Vu le rôle que joue l'abeille dans le domaine agricole et l'intérêt économique dont elle est capable, nous nous sommes intéressés donc à cet insecte pour apporter notre humble contribution à connaître cet insecte presque parfait (Hans B, Marie J, Dubourg S, Albert K, Leo N et Wolfgang L., 2009).

I.1.1. Biologie

Les abeilles sont des insectes; appartenant à l'ordre des hyménoptères. Elle se caractérisent par:

- métamorphose complète (parthénogenèse), c'est à dire passage de l'œuf, larve, Nymphe, imago
- ailes membraneuses et complais par des crochetspièces buccales de type "broyeur lécheur"
- ayant le thorax nettement séparé de l'abdomen (pédoncules)
- les femelles apportent un aiguillon (Aculéates)
- les abeilles sont des apocrites (articulation peu mobiles)

Les abeilles appartiennent à la famille des Apidae, qui comporte une seule reine(Nicolas V., 2008).

I 1.2. Taxonomie

On distingue sur terre 4 règnes : règne minéral, végétal, des protistes et animal.

La règne animal est décliné en différentes catégories jusqu'à l'espèce unique.

➤ **Règne** : animal

➤ **Sous règne** : **Métazoaires** :

-animal pluricellulaire.

-coelomates (pourvu d'un coelome : cavité comprise entre le tube digestif et la paroi du corps et tapissée dans l'abdomen par un tissu qui constitue le mésentère.

➤ **Embranchement** :-Arthropodes.

-Invertébrés.

- Symétrie bilatérale.

- Le tégument rigide : une croissance par mue et une structure articulée.

- corps segmenté.

- **Sous embranchement :** Mandibulates.
 - Une ou plusieurs antennes articulées.
 - Mâchoires.
 - Mandibules.
- **Classe :** insectes (Chauvin R., 1988).
- **Ordre :** hyménoptères.
 - 2 paires d'ailes membraneuses.
 - Métamorphose complète.
 - Appareil buccal : * mandibule broyeuse.
- * Lèvre inférieure et mâchoire transformées en lécheuse.
 - insecte le plus souvent vivant en société.
- **Suer famille :** Apides.
- **Famille :** Aipdaes.
- **Tribus :** Apinés.
- **Genre :** Apis : ce genre comprend 4 espèces d'abeilles.
- **Espèce :**
 - **Apis flora:** (abeille naine), rencontré uniquement en plaine, en dessous de 500m, le nid est composé d'un seul rayon.
 - **Apis dorsata** (abeille géante); le nid est formé d'un seul rayon.
 - **Apis cerana:** La plus proche de l'abeille européenne, rencontré partout où les abeilles peuvent s'installer, ou l'élève facilite dans les ruches.
 - **Apis mellifera:** on la retrouve dans toutes les contrées, elle a été introduite (Sabot J., 1990, Bertrand E., 1997).

I .1.3. Les races d'abeille

Il existe dans le monde un nombre important de races d'abeilles. Chaque race est adaptée au climat sous lequel elle vit et est acclimatée, les races les plus connues sont

- abeille noire dite « commune ou française »
- abeille jaune, dite « italienne » dont les 02 premiers segments de l'abdomen sont jaunes, elle est jolie travailleuse à la langue
- l'abeille noire et l'abeille jaune à l'état pure sont douces peu agressives, croisées, les métisses deviennent agressives, mais plus travailleuses
- abeilles caucasienne elle est très douce de taille légèrement inférieure à celle abeille des dames très travailleuse

De l'italienne ou de la commune, mais à une tendance nette à propulsé (SabotJ., 1990, BertrandE., 1997).

I .1.4. Organes génitaux des abeilles

I .1.4.1. La reine

Elle est la seule à pouvoir pondre des œufs capable de donner naissance, soit à des ouvrières, soit à des males (faux bourdons) , soit à des reines, la reine possède deux ovaires ovoïdes de 6-7mm de long, comportant chacun une centaine de canaux, les œufs se forment dans les tubes ovulifères et deviennent un ovule complet , ils sont alors fécondes par un apport de spermatozoïde provenant de la spermatique (réservoir de sperme) la spermatique de la reine peut contenir près de 200 millions de sperme (BiriM., 1989).

I .1.4.2. Les males

L'appareil génital du bourdon se compose de deux testicules composés d'un nombre élevés de tubes séminifères d'un canal de sperme réuni à une glande à mucus par testicule, le tout connecte au canal éjaculateur.

Le penis sert à injecter la semence, le sperme aussi injecter peut vivre toute la vie de la reine (Biri M., 1989).

I .1.4.3. Les ouvrières

On à considère longtemps que les ouvrières sont asexuées, en réalité l'ouvrières possède les mêmes organes que la reine, mais ceux –ci sont peu développés et atrophiés.

Chez certaines ouvrières les ovaires sont suffisamment développés pour pondre des œufs non fécondes donnant naissance à des males, cette ponte exceptionnelle ne se produit qu'en cas de disparition ou de mort de la reine (BiriM., 1989).

I .1.5. La ruche

Depuis plus d'un siècle que la ruche à cadre à été créée, une sélection naturelle s'est faite, grâce surtout aux professionnels qui cherchent la rentabilité maximum est dans l'obligation d'adopter un type de ruche pratique, demandant pour être exploitée le moins de travail possible, à éléments rigoureusement interchangeable.

Depuis une vingtaine d'années, deux types de ruches constituent ce qui est dans 90%des ruches modernes.

Aux états unis et en Afrique du sud (régions littorales). La ruche Angstroth est la plus employée.

En Europe (régions froides) la LANGSTRTH utilisée par les professionnels la ruche DADANT à 10 cadres est préférable car elle possède corps volumineux (donc renferme plus de provision et d'abeilles) les cadres de hausse et de corps étant interchangeable (Boucena Het NasriCH., 2005).

I.1.5.1. Fonction des habitants de la ruche

I.1.5.2. Reine ou mère

Elle a pour rôle unique de pondre et d'assurer le renouvellement des abeilles, dont la vie est brève en été et longue en hivers. La reine jeune en période de miellée arrive à pondre 150000 à 200000 œufs /24 H heures, on comprend aisément que cette ponte doit être compensée par une nourriture abondante et riche. Le nourrissage de la reine se fait avec de la bouillie provenant des glandes cervicales des abeilles.

Qui constituent l'escorte attentive et protectrices sans cesse renouvelée, la ponte qui atteint dans la vie de la reine un million d'œufs croît régulièrement et atteint son maximum dans la 2^e année puis décroît peu à peu pour devenir infime dans la 4^e année.

La date limite pour transformer la larve d'ouvrière en larve de reine est le cinquième jour après la ponte.

La reine peut vivre 5 ans, mais enfin de vie elle devient bourdonneuse, d'où l'intérêt de renouveler la reine tous les ans ou deux ans au maximum (lorsqu'elles ne sont pas renouvelées par essaimage).

Remarque : c'est toujours la vieille reine qui part avec l'essaim primaire. La reine pourra sortir de la ruche pour la fécondation 14 jours après l'éclosion (Caillas A., 1974).

I.1.5.3. Males ou abeille

Ils sont considérés comme inutiles hormis la fécondation de la reine lors d'essaimage. Ils se reconnaissent par leur grande taille que les ouvrières- (voir tableau), leur poids est de 0,23 grammes. Les pattes sont frêles ; Ils ont un rôle de protection de la reine lors de son vol nuptial, en attirant sur eux les oiseaux prédateurs.

En Automne ou en cas de disette, les mâles nés au printemps sont éjectés de la ruche.

Les mâles peuvent provenir :

- d'un œuf pondu par la reine (est débarrassé de son sperme).
- d'un œuf pondu par la reine bourdonneuse.
- d'un œuf pondu par les ouvrières pondeuses.

Remarque le mâle prendra son vol 14 jours après l'éclosion (Chauvin R., 1968).

I.1.5.4. Les ouvrières

Elles constituent le gros de la population (10,000 à 20,000 pour une ruche faible) et jusqu'à 80,000 pour une ruche forte)

Elle provient d'un œuf fécond, il se passe 21 jours entre la ponte et la sortie de l'insecte parfait du berceau (voir tableau).

On a considéré longtemps que les ouvrières sont asexuées

L'ouvrière, après sa naissance, reste des œuvrée durant un à deux jours et prend contact avec la ruche et sa population.

Du 03 au 05 jours inclus : elle commence son activité comme nettoyeuse.

Du 06 au 12 jours inclus : elle devient nourrice s'occupant de 06 à 08, Vieilles larves et de 03 à 12 jeunes larves.

Du 15 au 18 jours inclus, elle devient : cirière gardienne ventileuse.

En fin et jusqu'à sa mort, qui survient en période de pleine activité au alentours du 45 jours, l'abeille devient butineuse et ramène à la ruche : nectar, pollen, propolis, eau....etc.

Il est nécessaire que les abeilles pour butiner soient le mieux outillées pour faire ce travail, l'outil principal étant la langue. Il y a lieu, d'utiliser des races d'abeilles ayant la langue le plus longue possible.

Cette longueur varie de 06-09Mm et était mesurable avec leglossomètre, d'autres techniques modernes, telle la biométrie permettent de mesurer ces longueurs avec grande précision (Louveaux J.,1985).

I.1.5.5. Les produits de la ruche**I.1.5.6. Le miellat**

C'est un liquide sucré plus ou moins visqueux excrété par certains insectes se nourrissant de Sève végétale.

Le Meillet varie d'aspect, de consistance et de composition chimique selon l'espèce de la plante et de l'insecte qui ont par couru à sa production ainsi que selon les conditions climatiques qui y présidaient.

Les deux principaux producteurs du miellat sont les cochenilles et les pucerons. L'abondance du miellat dépend d'une part du nombre des pucerons et de leur état de santé, d'autre part de la pression et de la qualité de la sève.

Par temps sec, l'eau contenue dans le miellat s'évapore, provoquant son épaissement. Lorsqu'il est devenu trop visqueux, les abeilles ne peuvent plus l'ingurgiter ; c'est pourquoi l'humidité de l'air joue un très grand rôle dans sa récolte. En général, les abeilles, le rapportent aux premières heures du jour et vers le soir.

Les miellats contiennent une forte proportion de mélézitose (sucre responsable de la cristallisation rapide) (Sabot J., 1990 et Bertrand E., 1997).

I.1.5.7. Le miel

En principe, le miel ne doit être considéré comme mur, et par conséquent bon à extraire, que lorsque il a été opercule, et que la teneur en eau aura été réduite ce qui diminuera les risques de fermentations et le temps de séjour dans le maturateur, il y lieu de suivre attentivement l'état des hausses dès la fin juin –juillet à fin de récolter dès que les rayons de miel sont opercules en majorité, il est en effet préférable de récolter sans perdre de temps dis que celui est possible, a fin de permettre aux abeilles de consacrer toute leur activité alors qu'il y à encore des fleurs pour constituer leurs provision d'hivernage.

Le sentiment d'appauvrissement consécutif à l'enlèvement des hausses stimulera l'ardeur de la colonie et freinera la ponte de la reine .dans les régions ou la grande floraison se prolonge ; il est possible de retirer les rayons opercules sans attendre la fin de la récolte donc en plusieurs fois (Maryse V., 2008).

Pour procéder à la récolte en choisit une belle journée ensoleillée et sans vent, et en opère le matin ou le soir en fin de journée de préférence, s'absentir en cas de temps orageux et lourd, les abeilles devenant agressives.

Récolte au moyen de hausse abeilles porter La veille de la récolte, a la tombé de la nuit, après avoir enfume la ruche en glisse entre corps et hausses un plateau spécial ou entre du quel est fixé un chasse abeille (voir matériel).Les abeilles de la hausses descendent au cours de la nuit dans le corps de ruche mais, ne peuvent remonter le lendemain, on peut récolter les cadres qui ne contiennent plus d'abeilles sous réserve qu'il n'y ait pas de couvain (Nicolas V., 2008).

Avantage, grande facilite, pas de piqûres.

Inconvénients, possessions autant de plateau que de ruches à récolter, perte de temps (l'opération se fait en deux temps) Récolte au moyen de l'enfumage.

Après avoir enfume par le trou d'envol, on enlève le couvre cadre et l'on fait pénétrer le fumée entre les cadres de la hausse de manière à refouler le maximum d'abeilles dans le corps ; après- cela on enlève un à un les cadres en secouant et brossant les abeilles restantes et on place ces cadres dans une hausse vide ou dans une caisse de récolte que l'on couvre d'une toile.

Les hausses ou caisses de récolte sont enlevées et mises dans le véhicule de transport ou dans un locale étanche dis que possible.

Recommandation

- l'opération de récolte doit être faite avec calme, sans précipitation.

- sur la nécessité de ne laisser jamais une ruche ouverte plus que nécessaire.
- ne jamais laisser traîner à terre lors de la récolte la moindre parcelle de miel ou de cire sous peine de pillage
- en cas d'énervement des abeilles, il vaut mieux refermer la ruche en cours de récolte ; rétrécir son entrée et passer à une autre ruche située à l'autre extrémité de rucher que de déclencher un pillage.
- au cours de la récolte il faut éloigner les rayons récoltes du lieu de récolte ou les isoler dans un véhicule ou locale fermant hermétiquement) (SabotJ., 1990 et BertrandE., 1997).

I.1.5.8. Nectar

Le nectar a une composition particulière qui dépend de son origine. Entre autre, les rapports de quantité dans lesquels se trouvent les trois sucres principaux, saccharose, glucose, et fructose, sont très variables.

Ces différences ont une importance pour l'apiculteur, car elles influent sur les qualités physiques du miel, lorsque le glucose domine, le miel se cristallise rapidement (colza), lorsque la teneur du fructose est la plus élevée, le miel reste longtemps liquide (trèfle rouge, robinier).

Les ferments du nectar peuvent former chez certaines espèces de faibles quantités d'autres sucres (maltose, mélézitose, raffinose....etc).

La dernière citée est nuisible aux abeilles.

La quantité totale de sucre contenue dans le nectar varie entre 05 et 80p100. A côté des sucres, le nectar ne contient que de fines proportions de : sels minéraux, matières azotées, vitamines et substances aromatiques. Les variations dans la qualité et la quantité.

La teneur en sucre du nectar n'est pas d'une importance pour les abeilles, puisque le miel doit contenir au moins 80p100 de sucre pour pouvoir se conserver.

Afin que les nectars très liquides perdent leur excédent d'eau les abeilles les soumettent à une forte ventilation. Plus il y a d'eau à évaporer, plus les abeilles doivent fournir de travail, donc d'énergie (c'est à dire plus elles consomment de miel) (SabotJ., 1990 et BertrandE., 1997).

I.1.5.9. Le pollen

Le pollen est indispensable à la ruche, le « pain des abeilles » est utilisé pour l'élevage, la nourriture de la reine toute au long de l'année, les abeilles le stockent en alvéoles, recouvert de miel pour assurer sa conservation pour l'hiver et au premier printemps.

Il est possible, de prélever une partie du pollen à la ruche par les butineuses, de nombreux modèles de trappes à pollen ont été utilisés, chacun ayant ses avantages et ses inconvénient.

La trappe se plaçant sur l'avant de l'entrée.

La trappe se plaçant au-dessus du corps de ruche.

La trappe se plaçant sous la ruche et tenant lieu de plateau, c'est le modèle le plus usité, ne criant pratiquement pas de perturbation, améliorant même l'aération intérieure de la ruche, certains apiculteurs la laissant même en place tout le long de l'année et l'utilisent comme plateau d'aération en été.

La trappe de pollen ne doit être utilisée que sur des ruches à forte population en début de saison apicole, le contenu en pollen devra être collecté tous les soirs afin d'éviter le début de fermentations, la pilote pèse environ 6mg.

Le pollen à son arrivée à la ruche contient environ 15à20%d'eau, à cet état il moisie et fermente; pour qu'il se conserve il faut son humidité soit réduite, le séchage se fait en le portant sous forte ventilation à une température de 40à50c°maximum durant 24h, lorsque les pilotes de pollen n'adhèrent plus entre elles sous la pression des doigts et que le pollen s'écoule de la main comme des grains de sables et son hygrométrie atteint alors 3à4%.

Le nettoyage peut se faire avant ou après séchage, aussitôt le séchage et triage du pollen termine, il faudra le conditionner en récipients hermétiques à l'air, car sous cela il reprendrait l'humidité atmosphérique et moisirait rapidement la température idéale de conservation est de -4c°. Les ennemis et parasites du pollen sont la fausse teigne et les fermentations (SabotJ., 1990 et BertrandE., 1997).

I.1.5.10. La gelée royale

C'est une substance de couleur blanchâtre, acide, de pH5, secrète par les glandes mandibulaires et hypo pharyngiennes des ouvrières âgées de 07à14 jours, les analyses indiquent la présence de : eau 70%; protéines 15à18%; sucres 7.5à17.5%; matières grasses 4.5à5.5; sels minéraux 2.5%; vitamines B1, B2, B6, B3, PP, H, **INOSITE**. une cellule royale contient environ 200 mg, les abeilles secrètent deux sortes de gelée royale, celle destinée à la nourriture des jeunes larves à devenir ouvrières et celle déposée dans les cellule royales ;cette dernière a le pouvoir exceptionnel de transport une larve ordinaire en reine.

Les abeilles produisent de la gelée royale chaque fois qu'elles sont dans l'obligation d'entreprendre un élevage royal c'est-à-dire :

- Remplacement de la reine trop âgée.
- Préparation de reines de remplacement lors de l'essaimage naturel.
- Orpheline accidentel ou provoqué.

La conservation de la gelée royale pure, est facile ; après récolte au moyen d'une spatule ou d'une seringue aspirateur il suffit de loger cette gelée dans un flacon en verre opaque ou fortement teinté dans un réfrigérateur ou la TP° moyenne est de +04à05c°.

Toutefois il semble que la gelée royale ainsi préparée se conserve mal (réaction des diastases du miel sur la gelée royale) et que le mélange gelé, miel ne doit être fait qu'au moment de l'utilisation.) (Masaki K et al., 2011).

I.1.5.11. La propolis

A propolis est substance résineuse fabriquée par les abeilles à partir de leurs sécrétions et de matériaux récoltés sur l'écorce de nombreux végétaux (essentiellement peuplier, bouleau, hêtre, marronnier et tournesols). Elle colle à 35°C (température de la ruche). Les abeilles l'utilisent :

- comme mortier pour colmater les fissures de la ruche
- comme antiseptique pour prévenir moisissures et infections à l'intérieur des cellules
- pour momifier les animaux intrus tels que des souris, trop gros pour être évacués de la ruche.

Les hommes utilisent cette résine :

- pour vernir les menuiseries de la ruche
- pour ses vertus antiseptiques, en l'ingérant notamment saupoudrée sur des céréales.

Stradivarius, le célèbre fabricant de violons, en vernissait ses instruments (Joly R., 1984).

I.1.5.12. La cire

La cire est une substance sécrétée par l'ouvrière âgée de 18 jours, produites par les glandes cirières : il faut que l'ouvrière consomme 8gr de miel pour fabriquer 1Kg de cire.

-La cire est la première "matière plastique" utilisée par l'humanité.

-Elle est très riche en vitamine "A".

-100g de cire = 4000 UI.

-100g de viande de bœuf=100 UI.

-De nos jours, la cire d'abeille est largement employée dans la préparation de médicaments, elle est testée avec succès aux Etats Unis comme "Cicatrisant".

-Elle est utilisée aussi dans

- les pommades
- suppositoires
- crèmes de beauté

- mâcher une préparation de miel+ cire (miel en section): il purifie les voies nasales pharyngiennes et serait très efficace de sinusite, asthme et rhume dès fois; stimule une forte

sécrétion de salive favorisons les activités sécrétrices se l'estomac, élimine le tartre des dents et fortifie la gencive (Donadieu Y et Marchiset C.,1984).

I.1.5.13. Le venin

Le venin est un liquide transparent, à odeur de miel et d'un goût amer, de densité 1,1313.

Les piques d'abeilles ou injection d'api toxine donne une immunité au venin d'abeilles et certaines maladies infectieuses.

Cependant, la sensibilité de l'organisme au venin varie selon les individus les plus sensibles Étant femmes, enfants et vieillards .1à 5 même 10 piqûres seraient très bien supportées par des individus en bonne santé.

Beaucoup plus, il y a risque d'intoxication de l'organisme avec troubles du système Cardio-vasculaire et du système nerveux.

-Il est indiqué thérapeutique ment dans:

-Le rhumatisme articulaire et musculaire.

-Inflammation des nerfs (sciatique et facial).

-Arthrite aigue chronique.

-Certaines dermatoses (eczéma).

Il est contre indiqué dans le cas de :-Tuberculose

-Diabète et maladies vénériennes.

Il faut faire attention, car il existe des individus hypersensibles dont une seule piqûre provoque des troubles graves:Migraine, fièvre, urticaire, vomissements, Diarrhée (Joly R.,1984).

I.2. L'APICULTURE

I.2.1. Définition du rucher

Le rucher correspond à l'ensemble de plusieurs ruches réunies dans un même endroit. Suivant leur nombre, les ruches peuvent constituer des ruches de type familial, des ruches de moyenne importance, ou des ruche de type industriel.

Le rucher familial est sans doute le plus répandu car il est accessible aux exploitants de petite et moyenne entreprise agricole et aux amateur (Bertrand E., 1997).

I.2.2. L'emplacement du rucher

I.2.2.1. Potentialités Mellifères

Il y a lieu de s'assurer que dans un rayon de 1 à 2 Km du lieu choisis, il existe suffisamment de végétaux mellifères, cultivé ou croissant spontanément (Libis E.,1971).

I.2.2.2. Principe a respecté

a. Distance il est préférable, afin d'éviter la concurrence entre les abeilles qu'il n'existe pas. D'autre occupant déjà les lieux (3 Km est indispensable)

b. Nombre des ruches par rucher :

-pas plus de 20 ruches en région à faible production.

-cinquante au maximum dans une région millier (Philippe M.,1993).

I.2.2.3. L'eau

Une source courante près du rucher est indispensable (en climat chaud et quand la bise souffle, une bonne colonie d'abeille consomme environ 5 Litre d'eau par semaine (Philippe M.,1993).

I.2.3. Installation du rucher

Il est préférable mais non indispensable d'orienter les entrées au sud –est ou est en évitant surtout que celles –ci soient face aux pleines et vent dominants. En terrain nu sans aucun repère (arbres, arbustes). Il est utile de disposer les ruches en évitant un alignement géométrique et en laissant un mètre entre chaque ruche et trois mètres entre les rangées, ces précautions sont indispensables pour éviter la dérive.

Le terrain du rucher doit être tenu propre et défriche sous les ruches et sur une distance de plusieurs mètres autour du rucher. Le désherbage chimique est à proscrire, les ruches doivent être placées à une faible distance du sol, elles sont moins exposées aux courant d'air et plus accessible aux abeilles qui tombent aux abords fatiguées ou engourdis, sans pouvoir reprendre le col, il est indispensable d'élever les ruches à une hauteur de 40cm à cette dernière elles sont préservées de l'humidité du sol en hivers, et mieux protégées contre les prédateurs (vermis ; crapaud ; fourmi) les limaces etc. L'est aussi plus agréable pour le travail rien n'étant fatigant que de visiter les ruches courbé en deux.

Les ruches sont placées (le plus possible) de niveau durant la saison apicole et inclinées légèrement en avant (côte d'entrée). Durant l'hiver afin de faciliter l'écoulement des eaux de condensation (pluie).

Il est désirable que tout établissement des abeilles placées à proximité d'une habitation ou d'un passage fréquente en soit répare par un mur une haie d'au moins 03metres de haut forçant les abeilles à élever leur vol .

Ménager devant chaque ruche un espace nu et clair pour faciliter la surveillance des colonies. Dans un grand rucher, quelques touffes d'arbustes ou d'arbres servent de points de repère aux abeilles et à l'apiculteur (Fantaine M .,1988,Sabot J., 1990,Bertrand E., 1997).

I.2.4.Transport des ruchers

-Une déclaration est à faire lors des transports de transhumances (Caillas A.,1974).

I.2.4.1. Maladies contagieuses

En cas de suspicion de maladie contagieuse une déclaration est à **la D S V** (Caillas A.,1974).

I.2.4.2. Vente du miel

Le producteur de miel, pollen et de gelée royale au droit de vendre ses produits sous réserve de législation (Caillas A.,1974).

I.2.4.3. Emballage

Chaque emballage doit porter la dénomination du produit contenu (miel naturel, miel pur, gelée royale, pollen).le nom et l'adresse du producteur doivent figurer sur chaque emballage de même que le poids net (Caillas A.,1974).

I.2.4.4. Responsabilité

Tout apiculteur doit savoir qu'il est responsable des accidents ou dégâts provoques par ces abeilles.

I.2.4.5. Propriétés des essaims

Tout apiculteur a le droit de suivre ou de capturer les essaims sortant de son rucher en tous lieux sous réserve de dédommager le propriétaire des lieux de capture (Fantine M., 1988,Sabot J., 1990,Bertrand E., 1997).

I.2.5. Production du miel

I.2.5.1. Définition du miel

La Commission du Codex Alimentaires définit le miel comme:" la substance sucrée naturelle produite par les abeilles à partir du nectar des fleurs ou des sécrétions provenant des organismes vivants se nourrissant de plantes , que les abeilles recueillent , transforment et

combinent avec des ingrédients spécifiques , entreposent et laissent mûrir dans la peignes de la ruche" (Maryse V.,2008).

Selon le Règlement du PFA , 1955, sous la section A.07.03 miel est défini comme: "Chérie , une substance sucrée naturelle produite par les abeilles à partir du nectar des fleurs ou des sécrétions provenant de plantes qui les abeilles butinent, transforment , magasin en rayons de miel pour , maturation"

Le miel est la substance sucrée produite par les abeilles apis mellifiques à partir du nectar des plans ou des sécrétions provenant de parties vivantes de plantes ou à partir d'excrétion d'insectes butineurs laissées sur les parties vivant de plants , que les abeilles butinent, transforment en les combinant avec des substance spécifiques qu'elle sécrètent elles-mêmes, d'posent, déshydratent, emmagasinent et laissent affiner et mûrir dans les rayon de la ruche; mais en dehors de la floraison, ce miel est utilisé par les abeilles comme une nourriture pour se réchauffer, elle consomment environ 2Kg à 2.5Kg de miel chaque mois."Une ruche peut produire 40Kg de miel par an" (Sylvie G, Laurence T et Iris L., 2005).

I.2.5.2. La Composition du miel

Le miel est un mélange de sucres des FC et d'autres composés . En ce qui concerne les glucides ,le miel est principalement fructose (environ 38,5 %) et de glucose (environ 31,0%) (White J et Donner L.,1980).

Rendant semblable au sirop produite synthétiquement de sucre inverti qui est d'environ 48 % de fructose , 47 % de glucose , et 5% de saccharose . Les hydrates de carbone restants du miel comprennent le maltose , le saccharose, et d'autres hydrates de carbone complexes . Le miel contient également de petites quantités de plusieurs composés supposés fonctionner comme des antioxydants , y compris chrysin , pinobanksine , la vitamine C , la catalase , et pinocembrin . Mais t ne contient que des traces de minéraux . La composition spécifique tout de miel lot dépend des fleurs disponibles pour les abeilles qui produisent le miel (Huchet E,Coustel J etGuinot L.,1996) .

Divers ingrédients de miel ont aidé à devenir flot seulement un liquide sucré , mais aussi un produit naturel de grande valeur nutritionnelle et médicinale . La qualité du médicament , le goût , la texture, la couleur, l'arôme de miel diffère selon la zone géographique et les plantes des espèces à partir de laquelle elles ont été recueillies (White J et Donner L.,1980).

Tableau 1: Composition de 100 grammes de miel

Valeur	Matière
1302	Energie (en KJ)
75	Glucides(en Gr)
0.5	Protides (en Gr)
0.2	Lipides (en Gr):
3	Na (en mg)
20	Mg (en mg)
5	Ca (en mg)
0	Vit A (en mg)
0.01	Vit B1 (en mg)
0.06	Vit B2 (en mg)
2	Vit C (en mg)

(Huchet E ,Coustel J et Guinot L.,1996).

Le miel contient également des éléments figurés:grains de pollen, spores de champignons, algues microscopiques, levures, etc.....dont l'identification sous le microscope permet d'obtenir des renseignements sur l'origine florale et géographique (Analyse pollinique des miels ou méliisso-palynologie).

Aujourd'hui, malheureusement, le miel peut contenir des antibiotiques (utilisés par l'apiculteurs ou les arboriculteurs), des acaricides (utilisés dans le traitement contre la varroa) et des métaux lourds (plomb et cadmium:révélateurs de pollution de notre environnement) (Huchet E ,Coustel J et Guinot L.,1996).

I.2.5.3. Production et consommation

La production annuelle mondiale de miel est estimée à environ 1,4 millions de tonnes (Vannier P.,1998) .

L'Asie est le plus grand producteur de miel , ce qui représente environ 40 % de la production mondiale . La Chine est le plus grand producteur de miel produit environ 0,3 million de tonnes par an .

La consommation de miel dans les pays en développement comme la Chine , l'Argentine , l'Inde , le Brésil et l'Egypte est estimée à 0,1 à 0,2 kg par habitant . Les pays développés consomment des quantités généralement plus élevés. Cependant , la

consommation par habitant de miel ne suit pas la richesse des pays , comme il est également déterminé par des influences culturelles . Dans l'Union européenne , le plus grand consommateur de miel est la Grèce avec 1,8 kg par habitant , suivie par l'Allemagne avec 1,5 kg, d'autres pays de l'UE comme l' Italie , l'Espagne, la France et la Hongrie sont dans la gamme intermédiaire avec 0,6-0,9 kg , tandis que le Royaume-Uni est sur la fin le plus bas avec 0,4 kg habitant consommation par annuelle (Vannier P.,1998 et Donadieu Y.,1978).

I.2.5.4. Transformation physique et chimique

Le nectar et le miellat ne sont pas emmagasinés tels quels de la ruche mais tout d'abord concentrés, ceci s'effectue au 2 temps:

➤ **1er phase:**

Certains abeilles, placées dans un courant d'air sec, font aller et venir rapidement une goutte de miel frais entre leur jabot et leur langue, pendant ce travail, le liquide perd de l'eau.

➤ **2er phase:**

Ce miel à demi murs est déposé en gouttelettes contre les parois de la ruche, éventuellement contre les parois de la ruche si la place manque.

Le courant d'air provoqué par les abeilles ventileuses produit l'évaporation de l'eau. Après 2 ou 3 jours, les proportions de sucre atteint 80%; le miel est alors mur et les cellules peuvent être entièrement remplis et operculées.

En plus de cette concentration de nectar et du miellat, les abeilles secrètent aussi des ferments (enzymes) qu'elles mêlent intimement au contenu de leur jabot et dont l'action principale est l'inversion du saccharose en glucose et fructose.

Ainsi, elles font du miel un aliment prédigéré immédiatement assimilable par leur organisme ainsi par celui de l'homme.

Les ferments restent actifs un certain temps, et leur présence dans le miel augmente sa valeur diététique. Une abeille qui ingurgite une matière sucrée quelconque y ajoute de la salive, souvent en grande quantité, les nourritures trop épaisses pour pouvoir couler librement dans le canal que forme la langue sont dilués jusqu'à une teneur de 68% de sucre.

Les abeilles n'utilisent jamais pour cela de l'eau provenant de l'extérieur mais seulement le liquide contenant des ferments secrétés par leur glande salivaire, c'est pourquoi les miels fait à partir de nectar ou de miellat très épais (70à 90% sucre) et ceux qui y ont été longuement travaillés contiennent plus de ferments que les autres. Les miels se différencient les uns des autres par certains caractéristiques:l'acidité, la conductibilité, la viscosité et la couleur (BertrandE., 1997).

I.2.5.5. utilisations

Les principales utilisations du miel sont en cuisine, pâtisserie, comme une marge sur les pains, et en complément de diverses boissons telles que le thé et comme édulcorant dans certaines boissons commerciales. Le miel peut être utilisé comme énergisant instant car il contient des sucres qui sont rapidement absorbés par notre système digestif et transformé en énergie.

Dans l'Ayurveda miel est appelé comme "Yoga ahi", substance qui a la qualité de pénétrer le tissu profond. Lorsque le miel est utilisé avec d'autres préparations de herbes il améliore les propriétés médicinales de ces préparations et les aide à atteindre les tissus profonds aussi. Le miel est également utilisé comme un médicament parce de ses propriétés anti oxydantes et antibactériennes (OMS.,2001).

I.2.6. Les maladies nécessitant une antibiothérapie

I.2.6.1. des maladies des abeilles

Les abeilles sont affectées par des protozoaires , maladies bactériennes, virales et acariens . Il ya un certain nombre de maladies qui affectent l'abeille en Inde . Of les principales maladies qui affectent abeilles sont les maladies acariens et Nosema les abeilles adult et les maladies du couvain stades larvaires . Ces maladies du couvain , la maladie fautive - brood européenne et la maladie Thai- sac en sac sont fréquents en Inde . Le tableau 1 donne les maladies affectant les abeilles et le traitement recommandé de pratique.(Louveaux J.,1985).

I.2.6.2. Les maladies bactériennes

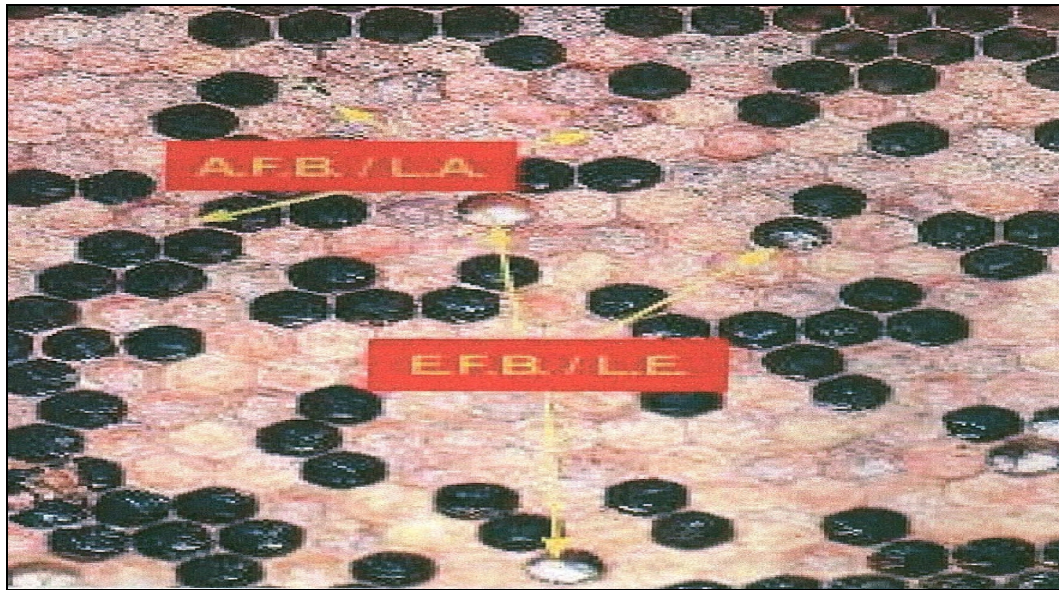


figure1 : Loque américaine et européenne (Anonyme.,2013).

I.2.6.3. La loque américaine

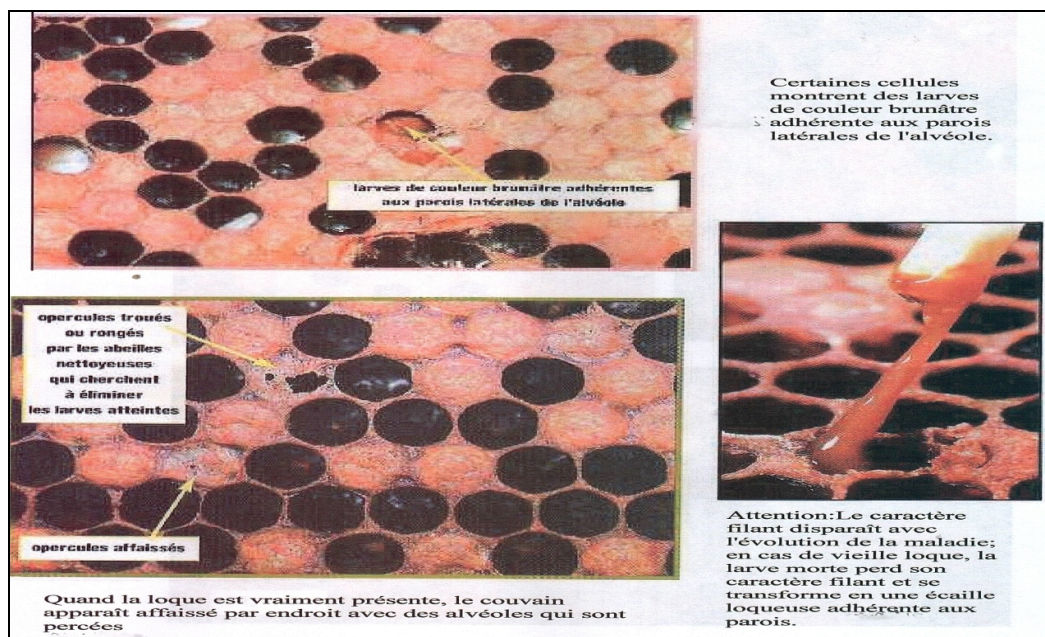


Figure 2 : Loque américaine (Anonyme.,2013).

I.2.6.3.1. Définition

Maladie légalement réputée contagieuse, épizootique cosmopolite du couvain d'abeille, elle sévit en toute saison due à un germe spécifique bacilluslarvae.

Dénomination.

Loque Maligne, Loque gluante- loque puante, AmerikanicheFaulbrut, Américain Faulbrood (Fantine M., 1988,Sabot J., 1990 et Bertrand E., 1997).

I.2.6.3.2. Etiologie

Le bacilluslarvae est un bacille Gram + sporulé résistant dans le milieu extérieur et les ruches. Il affecte la forme de petites bâtonnets ne dépassant pas 5microns de long et un micron d'épaisseur, muni de cils vibratiles dans il est couvert et qui permettant de se mouvoir. Le bacille a la capacité de produire des spores. C'est à dire la bactérie se transforme en une petite **capsule** très résistante aux changement externe (esp t°), c'est la forme dormante de la bactérie, la survie de ces bactérie est très longue (dépassant 35ane). La résistance des spores à la chaleur est variable selon la souche bactérienne.

Le bacille prend facilement les colorants usuels, il se développe en présence d'oxygène, il pousse bien sur les milieux alcalins couramment utilisés en bactériologie (Alered B., 1970 , Bertrand E., 1997, OMS., 2001).

I.2.6.3.3. Transmission

Les abeilles nourrices, vouées au nettoyage des cellules, contaminent les larves saines, après avoir nettoyé des cellules infectées.

Le miel, le pollen et toutes les composantes interne de la ruche deviennent plus ou moins contaminées par les spores durant les activités des abeilles, Il s'agit donc des conséquences de trophalaxie, les spores contenues dans le miel sont régurgitées aux jeunes larves, puis germeront dans le tube digestif de la larve, pour finalement crie une bactériémie, Après la mort de la larve au du nymphe, les batteries redeviennent spores (une larve mort contient 2,5milliards de spores).

La propagation des spores entre les colonies se fait de efférentes façons

- l'apiculteur
- la dérive (facteur moins important)
- le nourrisse ment avec des cadres de miel ou de pollen contaminé
- le pillage de miel contaminé
- le transfert de cadre de couvain de miel ou de pollen contaminé
- utilisation de ruche ou d'équipement contaminé
- introduction de reines issues de colonies malades
- l'achat de l'abeilles sans laissez passer
- capture d'essaims d'origine inconnue
- la cire insuffisamment traitée et provenant des ruches contaminées (Foucon J., 1992,Biri M., 1989,Fantine M .,1988, Anonyme., 2013, Sabot J., 1990 et Bertrand E., 1997).

I.2.6.3.4. symptômes

Les symptômes de la loque américaine sont les suivants :

- ✓ larves ou nymphes mortes dans les cellules operculées
- ✓ teinte (couleur) café au lait du couvain mort
- ✓ viscosité des résidus de larves décomposées
- ✓ présence d'écaille en forme de languette sur la face inférieure des cellules

avec difficulté de les extraire

- ✓ Odeur désagréable de pourriture
- Remarque : si en automne, quand la ponte a cessé, il subsiste sur les cadres du nid à couvain des cellules operculées, il est prudent vérifier si elles contiennent du couvain mort ou des écailles (Alered B., 1970, Fantaine M., 1988, Anonyme., 2013, Sabot J., 1990 et Bertrand E., 1997).

I.2.6.3.5. Diagnostic

Un diagnostic de la loque américaine, basé sur les symptômes particulier que présente le couvain et les rayons est souvent difficile à établir non seulement parce qu'à l'extrême début les opercules des cellules infectées ne sont qu'à peine modifiés mais aussi parce que celle-ci peuvent passer inaperçues au milieu de l'ensemble du couvain et des jeune abeilles (Alered B., 1970).

a. Diagnostic épidémiologique

Epizootie suivit dans les ruchers voisins, fin de printemps surtout.

-Clinique:

Au début, quelque opercules tachés, percés ou bombé, recouvrant une larve morte caractéristique (marron, molle, filante, adhérente).

En suite, couvain disséminé en mosaïque, avec larve morte sous opercule ou écailles brune adhérente à la paroi de l'alvéole, odeur caractéristique.

-Laboratoire: a partir d'un prélèvement (fragment de rayon de 10 cm de côté), contenant du couvain atteint.

-Bactérioscopie: Frottis à partir d'une larve morte ou d'une écaille et coloration de gram.

-Culture: Ensemencement sur milieux spéciaux et milieux ordinaires (caractère plus au moins différentiel), en particulier à partir d'une écaille qui ne contient que des spores.

-Immunofluorescence: La fluorescence de B.LARVÆ est brillante, vert jaune vive et nette. Cependant, des réactions croisées sont possibles, en particulier avec bacillusalvei (Alered B., 1970).

b. Diagnostic différentielle**b.1. Loque européenne**

Maladie de printemps, souvent liée à des facteurs climatiques :

- larve en spirale ou en lire bouchon, mourant avant operculation
- non visqueuses, non adhérentes
- au début quelques cellules ouvertes dans le couvain operculé
- odeur généralement putride mais variable selon les formes (couvain acide)

b. 2. Mycose

(Ascophrose) : la dissémination du couvain pourrait porter à confusion, mais les larves sont planchés, grises durcissent, se momifient.

b.3. Couvain sacciforme

Les opercules sont affaissés mais les larves, mortes sous opercules ont un aspect particulier : tête foncée, corps gonflés et translucide, cuticule solide.

b.4. Couvain refroidi

Les larves mortes operculées, mais situées au pourtour du nid, d'apparence variable (blanche, jaunâtre, brunes) non visqueuses.

L'examen de laboratoire précisera le diagnostic différentiel établi sur le terrain (Alered B., 1970).

I.2.6.3.6. Traitement**a. Sulfamides :**

- Thyazomide (sulfathiazole)
- Sultirene

b. antibiotique :

- Terramycine
- Sanclomycine

I.2.6.4. La loque européenne

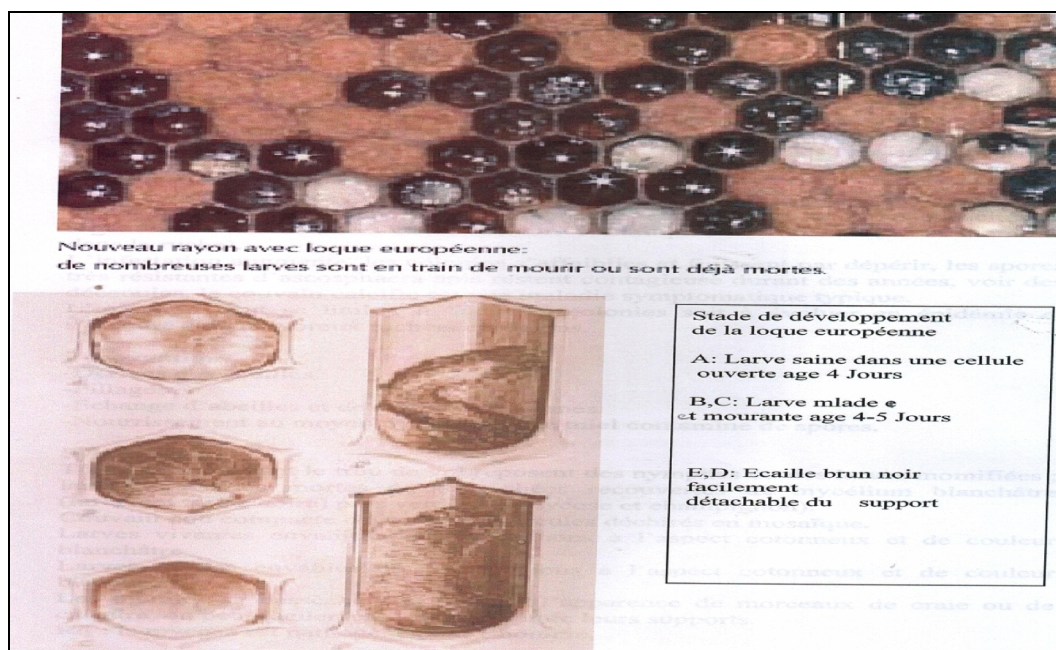


Figure 3 : loque européenne (Anonyme.,2013).

I.2.6.4.1. Définition

C'est une maladie infectieuse peu contagieuse, généralement mortelle du couvain d'abeilles non operculé, d'origine poly microbienne, dont l'agent :

Pathogène est (*Streptococcus pluton*, *Bacillus alvie*, *Streptococcus apis*), d'apparition soudaine (brutale) liée à des facteurs climatiques (froid et humidité) et alimentaire (nourrissement) les bacilles ont des formes variables (œufs de fourmis, allongée aux extrémités arrondies) La loque européenne est moins dangereuse que la loque américaine.

Il arrive parfois que les deux maladies présentes des symptômes extérieurs semblables, en raison de ce danger on distingue deux formes :

- Une forme primaire dans laquelle le couvain ouvert est infeste (couvain aigre ou acide)
- une forme secondaire dans laquelle le couvain opercule est contaminé (loque puante).

La loque européenne apparaît parfois bénigne et souvent généralisée et virulente, elle attaque tant les larves des ouvrières que celle des reines ou des mâles, elle sévit surtout au printemps.

Synonyme

Loque bénigne; loque puante; couvain aigre ou acide; ou loque européenne (Alere B., 1970, Fontaine M., 1988, Anonyme., 2013, Sabot J., 1990 et Bertrand E., 1997).

I.2.6.4.2. Transmission

La loque européenne se transmet par:

- ✓ l'échange de rayons de couvain, de pollen ou de miel infecté
- ✓ du miel infecté pris à une ruche malade et donnée à une ruche saine.
- ✓ l'achat d'abeilles (colonies nucléées, essaims, ruchette de fécondation reine, faux bourdons) provenant de régions contaminées
- ✓ le pillage (apparent au clandestins), et la dérive par la cire
- ✓ le transport de colonie d'un lieu à un autre sans garantie de l'état sanitaire du nouvel endroit
- ✓ passage des abeilles d'une ruche à l'autre (Bertrand E., 1997).

I.2.6.4.3. Symptômes

- Couvain non operculé : les larves âgées de moins de cinq jours (avant operculation ; prennent une couleur jaune prononcée
 - les animaux sont flous ; l'intestin apparaît comme trait blanc jaunâtre, consistance non visqueuse, les cornes sont déformées, non adhérentes et ne filent pas.
 - Couvain operculés : - Non compact
- En mosaïque
 - Opercules affaissés, plus foncés, perforés ou fissurés comme pour la loque américaine.
- a. Couvain acide :**
- larves grises jaunâtres
 - odeur acide
- Résidus de couleur brun foncé en une substance fluide pâteuse.
- b. Loque puante :**
- Larve jaune à brunâtre
 - Viscosité épaisse
 - Écailles lisses
- c. Forme transitoire entre 1 et 2 (Fantaine M., 1988, Sabot J., 1990 et Bertrand E., 1997).**

I.2.6.4.4. Diagnostic

a. Diagnostic épidémiologique

Apparition soudaine, brutale, liées à des facteurs climatiques météorologiques, alimentaires défavorables.

b. Diagnostic clinique:

Au printemps, couvain en mosaïque, odeur aigre, putride, âge des larves atteintes (moins de 5 jours avant l'operculation), consistance non visqueuse des larves.

Contrôle à l'allumette, les larves mortes ne sont pas filamenteuses, écailles brunâtres (Fantaine M., 1988, Sabot J., 1990 et Bertrand E., 1997).

I.2.6.4.5. Traitement

Contrairement à la loque américaine la loque européenne est sensible aux antibiotiques et l'on peut actuellement obtenir une guérison rapide et complète des colonies malades.

a. Loque européenne typique

- ✓ Di hydro streptomycine (DIDIZOMYCINE ND).
- ✓ Nourrisse ment à 1/ 1000.
- ✓ Aspersion du couvain.

Chlorhydrate de tétracycline (SANCLOMYCINE) compléter le traitement un transrasement des colonies et les désinfections des ruches (Alered B., 1970).

➤ Remarque

L'emploi désordonné des Antibiotiques, risque de créer des souches résistantes, il peut être également la cause d'allergie par fois mortelles (Fantaine M., 1988, Sabot J., 1990 et Bertrand E., 1997).

I.2.6.5. Les maladies virales

I.2.6.5.1. Couvain Sacciforme

I.2.6.5.2. Définition

est une maladie sporadique du couvain age de 4-9 jours, elle apparaît dans la premières moitié de l'été, elle est favorisée par l'insuffisance de la nourriture, le refroidissement de nid à couvain et le violations des règles sanitaires.

L'agent pathogène est le virus du sacciforme appelé "maratoracetulae de holmes", qui meurt en 10 mm en eau à 70-73° C

Il peut survivre un mois dans les momies et un An le réfrigérateur, il est viable 80à90C° en été et 100jours en hivers dans parois des rayons (Fantaine M., 1988).

I.2.6.5.3. Pathogène

Les nourrices transmettent le virus aux jeunes larves par le bien de la gelée larvaire, parvenus dans le corps de celle-ci ils s'y multiplient, les larves morts sont contagieuse, les ouvrières s'infestent à l'occasion du nettoyage, et répandant ainsi le virus.

La maladie ne prend pas de proportions épidémiques. Les vieilles écailles sèches ne sont pas contagieuses l'apiculteur ne s'aperçoit généralement pas de dégâts, causes à la colonie. Le couvain sacciforme peut se manifester en corrélation avec d'autres infections provoquant

l'affaiblissement des colonies voir leur dépérissement en raison des mécanismes d'auto-défense et de guérison spontanée des colonies, les symptômes demeurent indiques et sont rarement constatés (Bertrand E., 1997).

I.2.6.5.4. Transmission

- ✓ drives d'abeilles
- ✓ pillage
- ✓ déplacement ou réunion des colonies
- ✓ changement de cadres (Biri M., 2005).

I.2.6.5.5. Symptômes

- ✓ couvain clair semé
- ✓ les larves mortes n'ont pas d'odeur (en forme de bourse contenant un liquide granuleux), deviennent d'abord jaunâtre puis brunes à noires (elles reposent sur le dos, tête renverser sur le flanc)
- ✓ couvain operculé avec opercule affaissés, déchirés ou décolorés (apparence identique à celle de la loque européenne ou américaine).
- ✓ chez les larves fraîchement momifiées, on trouve un liquide clair
- ✓ on peut aisément extraire les larves mortes des cellules, l'enveloppe est très fragile
- ✓ les momies desséchées ont une couleur brune foncée à noir facilement détachable et intacte de leur support (Alered B.,1970,Fantaine M.,1988,Sabot J., 1990 et Bertrand E., 1997).

I.2.6.5.6. Diagnostic

En raison de l'analogie de symptôme que présentent les rayons avec ceux qu'on peut observer dans d'autre maladie du couvain un examen microscopique des restes de larves peut seul assurer le diagnostic différentiel, sur un frottis on ne peut espérer faire de découverte positive avec un microscope ordinaire du fait que l'agent est invisible (ultra visible).

Si on trouve exceptionnellement quelques germes isolés dans les champs du microscope, ceux-ci ont envahi la larve après sa mort, dans ce cas il est indiqué d'examiner plusieurs larves.

I.2.6.5.7. Traitement

Il n'existe pas de remède absolu on recommande les vapeurs d'huile d'eucalyptus diffusées au rayon d'un évaporateur (Biri M.,1999).

On recommande de fondre les rayons atteints et de laver les ruches avec de l'eau très chaude.

Certains antibiotiques "Chloromycétine" et "Auréomycine" (450mg pour 10L de sirop à 50%), se sont parfois avérés efficaces au cours d'essais.

On peut s'efforcer de stimuler l'instinct de nettoyage des abeilles en mettant la colonie l'étroit en la tenant chaude et bien nourrie, dans les cas graves il faut envisager la destruction des colonies malades (Alered B., 1970 et Biri M., 2005).

CHAPITRE II

GENERALITES SUR LES ANTIBIOTIQUES

II 1 - Définition les antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances élaborées par des micro-organismes, ou des substances synthétiques, qui sont bactériostatiques ou bactéricides à dose faible. Leurs cibles d'activité sont des structures moléculaires spécifiquement bactériennes. Elles ont donc une toxicité sélective pour les cellules procaryotes et une toxicité faible pour les cellules eucaryotes (Avril J L .et *al.* , 2002., Filali maltouf A.,2014). Les antibiotiques se définissent actuellement comme des molécules antibactériennes synthétiques ou naturelles (d'origine biologique) capables d'inhiber la croissance des bactéries ou les détruire (Helali A., 1999). Ils ont une toxicité sélective ; ils sont toxiques pour les bactéries mais pas pour l'organisme (Merad M ., Merad R., 2001 .,Gogny M., Puyt J D. et *al.*, 2001 .,Morin E .et *al.*, 2005 .,Gauthier E., 2006).

II 1.1 L'histoire des antibiotiques

Les phénomènes de compétition chez les micro-organismes sont étudiés dès la fin du dix-neuvième siècle :

- **En 1877** Pasteur et de Joubert constatent que lorsque des bactéries du charbon, *Bacillus anthracis* . sont injectées à un animal en même temps que des bactéries usuelles les animaux ne contractent pas la maladie.

- **En 1897**, le médecin français Ernest Duchesne soutient sa thèse de doctorat « Contribution à l'étude de la concurrence vitale chez les micro-organismes antagonisme entre les moisissures et les microbes ». Il montre que les moisissures présentent une activité antimicrobienne : une culture d'*Escherichia coli* peut être éradiquée par l'introduction de *Penicillium glaucum* . Il observe également cette activité in vivo : « certaines moisissures (*Penicillium glaucum*), inoculées à un animal en même temps que des cultures très virulentes de quelques microbes pathogènes (*B. coli* et *B. typhosus* d'Eberth), sont capables d'atténuer dans de très notables proportions la virulence de ces cultures bactériennes» .

En septembre 1928, de retour de vacances, le docteur Alexander Fleming retrouve son laboratoire londonien et ses cultures de staphylocoques,

Il a la mauvaise surprise de constater leur contamination par un champignon microscopique, *Penicillium notatum*, utilisé dans un laboratoire voisin.

Ce genre de contamination n'est pas rare, mais avant de se débarrasser des cultures désormais inutilisables, il a le réflexe de les examiner attentivement .

Il constate que les staphylocoques ne se développent pas à proximité du Fleming publie sa découverte en **1929** et signale les possibilités thérapeutiques « la pénicilline utilisée en doses massives n'est ni toxique ni irritante.., elle peut constituer, par applications ou en injections, un antiseptique efficace contre les microbes ». Mais la pénicilline est très difficile à purifier et isoler en quantités appréciables et elle est bientôt oubliée .Il faut attendre une dizaine d'années avant qu'elle revienne sur le devant de la scène .

Si le terme d'antibiose fut proposé en **1889** par Paul Vuillemin, en opposition au phénomène de symbiose, pour décrire le phénomène d'antagonisme entre deux espèces microbiennes, la paternité du terme antibiotique (sous forme adjectivale ou substantif) est discutée:

certaines en créditent René Dubos (dès **1940**) ,d'autres Selman A. Waksman (en **1941**, suite à sa découverte de la streptomycine qualifiée par lui de « médicament antibiotique .

Waksman proposa en **1947** les définitions suivantes afin de diminuer les ambiguïtés sur le sens du terme antibiotique :

•antibiotique : « inhibition de la croissance ou des activités métaboliques de bactéries ou d'autres micro-organismes par une substance chimique d'origine microbienne « une substance antibiotique biochimique ou un antibiotique biochimique : « une substance chimique d'origine microbienne, possédant des propriétés antibiotiques) (Hadif L.,2009).

II 1.2 Type d'action d'un antibiotique

Les antibiotiques et les agents chimiothérapeutiques peuvent être classés en bactériostatiques et bactéricides.

Un antibiotique peut avoir deux effets:

Effet bactéricide, le germe auquel il s'attaque, est détruit, et tué purement

Effet bactériostatique, le germe n'est pas tué, mais il est mis dans l'impossibilité de se multiplier.

Parmi les grandes familles, on peut citer des antibiotiques bactéricides et des antibiotiques bactériostatiques:

a. Les antibiotiques bactéricides

- Béta-lactamines
- Aminoglycosides
- Polypeptides
- Vancomycines

b. Les antibiotiques bactériostatiques

- Macrolides
- Fucidines
- Tétracyclines

(Archanbaud M., 2007) .

II 1.3 Leur mode d'action

1. Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne et ou des précurseurs de la paroi:

- D- Cyclosérine
- Fosfomycine

2. Inhibition du transfert des précurseurs de la paroi sur un lipide porteur, permettant leur transport à travers la membrane plasmique:

- Bacitracine

3. Inhibition de l'insertion des unités glycaniques, précurseurs de la paroi, et de la transpeptidation:

- β -lactamines inhibent la transpeptidase intervenant dans la synthèse de la paroi.
- Glycopeptides, qui se lient à un intermédiaire de synthèse du peptidoglycane.

4. Antibiotiques agissant au niveau de la membrane cytoplasmique:

- Polymyxines agissent comme des détergents cationiques perturbant la perméabilité membranaire.

5. Antibiotiques agissant par inhibition compétitive (antimétabolites) : Analogues de vitamines

- Sulfamides.

6. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique:

- Initiation
- Elongation
- Terminaison

(Adm F., 2003)

Ribosome.

Inhibiteurs /50S:

Macrolides, Phénicolés, Oxazolidinones.

Inhibiteurs /30S:

Tétracyclines, Aminoglycosides.

Inhibition de la fixation des amino-acyl-ARNt.

Acide fusidique .

7. Antibiotiques inhibiteurs du métabolisme des Acides Nucléiques :

Inhibiteurs de l'ARN polymérase

- Ansamycines

Inhibiteurs de l'ADN-Gyrase /Topoisomérases IV

- Quinolones
- Fluoroquinolones

(Lavigne JP., Janvie 2007)

Inhibiteurs de la synthèse de l'acide folique:

- Sulfamides
- Diaminopyridines

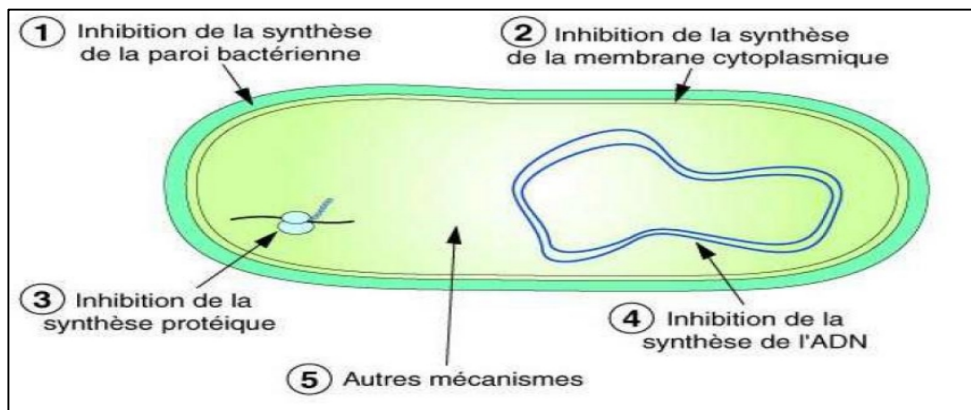
Mode d'action des antibiotiques

Figure 4 : Structure d'une bactérie(Faculté des Sciences - Rabat- MAROC., Pdf).

II 1.4 Classification des antibiotiques

En fonction de leurs utilités dans la médecine vétérinaire et la médecine humaine, et en fonction de leurs structures chimiques, les antibiotiques sont regroupés en plusieurs grandes familles qui peuvent être classés selon:

- leur spectre d'action
- type d'action
- leur origine
- leur composition chimique
- leur charge électrique
- le caractère de la résistance bactérienne
- en plus à la classification de M.Neuman, les antibiotiques peuvent être classés aussi selon leur point d'attaque de la cible.
- ils peuvent ainsi:

- a. Perturber la formation de la paroi bactérienne ex: Pénicillines, Céphalosporines, Vancomycines.
- b. Inhiber la synthèse protéique ex: Chloramphénicols, Streptomycines, Tétracyclines.
- c. Bloquer la réplication de l'ADN bactérien ex: Quinolones, ou la synthèse de l'ARN ex: Rifampicines.
- d. Modifier le métabolisme énergétique de la bactérie.

Dans chaque famille on trouve:

- une structure chimique voisine, plus au moins homogène
- des caractères physiques et chimiques voisins, déterminant un devenir dans l'organisme, en général assez proche(Hadef L.,2009).

Tableau 2:classification des antibiotiques selon les grandes famille:

Nom de la molécule	Famille
-Benzyl-penicilline (groupe G) - Methicilline (groupe M) -Ampicilline et Amoxicilline (groupe A) - Céfalotine	1. Béta-Lact-amine
- Tétracycline - Chlortétracycline - Oxytétracycline	2. Tétracycline
- dihydrostreptomycine - Gentamycine - Kanamycine - Neomycine Framycétine	3. Aminosides
- Bacitracine - Colimycine	4. Polypeptidiques
-Spiramycine - Erythromycine - Tylosine - Pristinamycine - Novobiocine	5. Macrolides et apparentés
- Chloramphenical - Thiophénical	6. Phénicols

- fluméquine	7. Quinolones
- Sulfadimérazine - Thiozomide - Sulfamide+ trémythoprine	8. Sulfamides
- Nitrofurazone	9. Nitrofurane
- Acide fusidique - Clindamycine	10. Autres Antibiotiques

(Eberlin.,1994,Faculté des Sciences - Rabat- MAROC).

II 1.5. Le Devenir Des Antibiotique Dans L'organisme

Le terme de métabolisme des antibiotiques désigne l'ensemble des phénomènes physico chimiques et biochimiques qui régissent le cheminement de ces substances dans l'organisme (Keck G 1., 1978 , Saux., 2006 , Le chat P., 2007).

1.5.1. L'absorption

Pour pouvoir gagner les organes et les tissus où aura lieu l'action pharmacologique, l'antibiotique doit dans un premier temps être absorbé c'est-à-dire pénétrer dans le liquide circulaire (Keck G 1., 1978, Le chat P .,2007).

1.5.1.1. Absorption digestive

L'absorption digestive se fait essentiellement au niveau de l'estomac et de l'intestin grêle. La muqueuse digestive peut être considérée comme une membrane lipoprotéique à pores. L'absorption répond donc aux règles du passage trans-membranaire.

Dans le tube digestif, la fraction solubilisée d'un antibiotique est seul à être résorbé, cette résorption résulte en fait de l'addition de deux vitesses qui sont:

- vitesse de dissolution de la forme galénique administrée
- vitesse de processus de résorption de l'antibiotique à la muqueuse digestive

En outre, plusieurs facteurs peuvent interférer avec cette résorption comme :

- pH et pKa (constante de dissociation ionique):

Les antibiotiques de caractères acides sont résorbés principalement au niveau gastrique où la réaction acide inhibe leur dissociation ionique, tandis que les autres de caractère basique sont résorbés au niveau intestinal où le milieu est alcalin.

- Structure physique.
- Etat de vacuité gastrique; plus souvent la résorption digestive des antibiotiques est retardée par la présence des aliments(Keck G 1., 1978, Le chat P., 2007)

1.5.1.2. Absorption parentérale

L'administration par voie parentérale est particulièrement utilisée en médecine vétérinaire car elle représente souvent une voie plus commode que la voie orale (Keck G 1.,1978).

Le rythme d'absorption peut être ralenti par certains artifices modifiant la molécule ou par association de certains composants par les tissus moins irrigués (peau, tissus graisseux) et qui fait fonction de réservoir.

1.5.2. La distribution

Après absorption, les substances chimiques vont être distribuées dans tout l'organisme, essentiellement par voie sanguine, elles se fixeront sur divers organes et tissus en fonction de différents paramètres tenant à la substance considérée et à l'organe en cause(Keck G 2., 1978; Le chat P.; 2007)

1.5.3. La biotransformation

On peut définir la biotransformation comme un ensemble de réactions biochimiques en générale enzymatiques, ayant pour effet de modifier la structure des substances introduites dans l'organisme(Keck G 3., 1978).

Certains antibiotiques peuvent traverser l'organisme en étant peu ou pas métabolisés; ils sont ensuite éliminés sous leur forme originale, non modifiée ou conjuguée.

Le type des antibiotiques peu métabolisés est représenté surtout par les antibiotiques hydrosolubles, tandis que les antibiotiques lipophiles subissent, grâce à l'intervention de certains enzymes, des modifications métaboliques durant leur passage dans l'organisme.

Cette biotransformation métabolique se fait à plusieurs niveaux : intestin, plasma, foie, reins, placenta.

1.5.4. L'élimination

Les deux principales voies d'élimination sont la voie rénale et la voie biliaire.

L'élimination fait appel aux processus généraux de passage transmembranaire : diffusion passive, filtration, transport actif (Keck G 4.,1978 ,Le chat P.,2007).

Les antibiotiques sont éliminés soit exclusivement par voie rénale, soit exclusivement par transformation métabolique, soit enfin, par des voies à la fois rénale et extra rénale.

Il existe trois possibilités métaboliques pour un antibiotique.

Seuls les antibiotiques hydrosolubles peuvent être éliminés directement par le rein.

De ce fait le pH du liquide tissulaire (urinaire) peut influencer l'élimination des antibiotiques (Le chat P.,2007).

II 1.6 Utilisation des antibiotiques dans la médecine vétérinaire

II .1.6.1.Les objectifs du bon usage des antibiotiques :

Les objectifs individuels et collectifs sont indissociables.

La maîtrise de l'antibiothérapie, associée aux mesures d'hygiène, doit induire une diminution de la prévalence de la résistance et de l'impact de la transmission croisée.

5 objectifs principaux:

- un diagnostic précis et précoce
- une bonne indication thérapeutique, un traitement adapté, réévalué cliniquement et microbiologiquement, de durée appropriée.
- le meilleur rapport bénéfice/risque individuel et collectif par le choix du traitement (effets indésirables les plus faibles à efficacité égale; impact écologique le plus faible).
- une décision médicale fondée sur les meilleures preuves scientifiques disponibles.
- la maîtrise de l'émergence des bactéries multirésistantes (Dancla., 2008).

II.1.6.2.Les utilisations des antibiotiques:

- Soit thérapeutique
- Soit zootechnique

II.1.6.2.1 Objectifs thérapeutiques

En thérapeutique vétérinaire la liste des antibiotiques utilisés est plus large ex:Péniciline,Stréptomycine,Néomycine,Erytromycine,Colistine,Sulfamide...;car en élevage de rente,les antibiotiques ont tout d'abord un but curatif visant l'éradication d'une infection présente,ou la prévention d'une infection possible,à l'association d'un transport ,d'une vaccination ou d'un stress dans un but prophylactique.

Les molécules peuvent être administrés par voie orale ou parentérale sous différentes formes pharmaceutiques. Leur utilisation légale, se fait sous la prescription et le contrôle d'un vétérinaire(Hellali AK.,1999).

II.1.6.2.2. Objectifs zootechniques

En plus de l'utilisation thérapeutiques, on a une utilisation propre à l'élevage de rente:c'est l'usage zootechniques.

Les antibiotiques sont utilisés comme additifs dans l'alimentation animales:si de faibles quantités d'antibiotiques étaient incorporées dans l'aliment pendant la période de croissance des animaux, on obtenait une amélioration du gain de poids, que l'on pouvait estimer entre 2à5%.

Cet effet zootechnique était principalement observé dans des élevages avec un niveau d'hygiène précaire et tendait à diminuer avec l'amélioration sanitaire de l'élevage.

En effet, l'utilisation intensive des antibiotiques pose de sérieux problèmes que l'utilisateur de ces médicaments se doit de connaître. Parmi ces antibiotiques on peut citer: Vancomycine (Avoparcine), Virginiamycine, Neomycine, Oxytétracycline, Bacitracine (OMS., 2001)

Ces médicaments sont élaborés par les firmes pharmaceutiques et soumis à une autorisation de mise sur le marché (AMM); délivrer par la direction des services vétérinaires; après avis de la commission d'AMM

Au cours de l'élaboration de ces médicaments, la sécurité du consommateur est prise en compte par l'établissement de limites maximales de résidus et le calcul de temps d'attente (Sanders P., 1999).

II 1.7 Temps d'attente

"Le temps d'attente correspond au délai à respecter entre la dernière administration du médicament et le moment de la collecte des denrées, pour que la concentration en résidus dangereux dans tous les tissus consommables devienne inférieure à la LMR".

Il est calculé en confrontant des données pharmacocinétiques de déplétion des résidus et les évaluations ayant conduit à la fixation des LMR.

"Le temps d'attente est le délai à observer entre la dernière administration du médicament à l'animal dans les conditions normales d'emploi et l'utilisation de ses produits (viande, lait, œufs) (Milhaud G., 1978).

Cependant, il faut respecter le temps d'attente pour qu'il n'y ait plus de résidus dans les denrées alimentaires et ceci dépend des méthodes analytiques disponibles.

Pour fixer le temps d'attente d'une substance ;il faut dans ce cas étudier leur décroissance en fonction de temps ;ceci nécessite une première investigation avec des molécules marquées, puis de nombreux travaux complémentaires pour identifier les métabolites et mettre au point des méthodes non radioactives pour les différents temps d'attente proposés d'évran assurer qu'il n'y a pas de résidus dosables dans les produits de l'animal vivant ou dans les denrées alimentaires obtenus après l'abattage.

II 1.8. L'antibiorésistance

Les antimicrobiens sont des médicaments utilisés pour traiter les infections, en particulier celles qui sont d'origine bactérienne.

Ce sont des médicaments essentiels à la santé humaine et animale mais, ces dernières années, certaines bactéries ont démontré une résistance partielle ou totale à différents produits antimicrobiens. Ce phénomène appelé antibiorésistance est une préoccupation croissante pour la santé publique comme pour la santé animale. De nombreuses actions menées en faveur de la santé animale dépendent de la disponibilité et de l'utilisation appropriée de médicaments

vétérinaires de bonne qualité, et notamment d'agents antimicrobiens. La santé animale est une composante clé des politiques de bien-être animal, de sécurité alimentaire et de sécurité sanitaire des aliments. L'OIE considère qu'il est vital de garantir un accès approprié à des antimicrobiens efficaces pour traiter les maladies animales mais souligne la nécessité d'encadrer cet accès par l'intervention des vétérinaires (Anonyme 1., 2014)

Les bactéries ont développés au fil des ans de nombreux et fréquemment élégants mécanismes pour échapper à l'action létale des antibiotiques
La résistance d'une bactérie à un antibiotique peut être .

II.1.8.1. constitutionnelle (naturelle)

elle concerne en générale une espèce bactérienne et est définitive ; elle délimite le spectre d'activité antibactérienne de l'antibiotique considéré.

-Acquise:

des souches à l'intérieur des espèces théoriquement sensible
(Duval J et Soussy CJ., 1990)

Qu'elle soit naturelle, inscrite dans le génome de l'espèce ou acquise à la suite de modification génétique chez certaines souches, la résistance bactérienne s'explique par différents mécanismes qui aboutissent schématiquement à deux situations différentes :

- certaines bactéries ont la capacité de produire des enzymes, en modifiant ou en clivant la molécule d'antibiotique, en assurant l'inactivation (Duval J et Soussy CJ., 1990)

Dans d'autres cas, la bactérie est capable de croître en présence de l'antibiotique non modifié.

II.1.8.2 Trois types principaux

- non pénétration de l'antibiotique dans la bactérie, il n'atteint pas son site d'action.
- particularité de structure de site d'action, conditionnant un manque d'affinité pour l'antibiotique, qui ne se fixe pas sur lui.
- développement d'une autre voie d'action métabolique, supplantant la voie métabolique inhibée par l'antibiotique (uniquement dans le cas de la résistance acquise) (Duval J, Soussy CJ., 1990).

II.1.8.3. La résistance acquise peut être due soit à :

- une mutation chromosomique : assez peu fréquente, elle se traduit par une modification des sites de fixations et d'actions des antibiotiques dans la bactérie.
- des plasmides constitués par des particules d'ADN extra chromosomique localisés dans le cytoplasme, peuvent être transférés d'une bactérie à l'autre (Fontaine M, Cadore., 1995).

Les résistances sont souvent de type croisé : un germe devenu résistant à un antibiotique détermine le devient souvent à l'égard de toute la famille chimique à laquelle il appartient (Fontaine M ,Cadore., 1995).

II.2.Règlement d'antibiotiques dans le miel

Le miel est un produit important qui est commercialisé à l'échelle internationale. Pour le commerce international, tous les pays membres acceptent généralement les normes établies par le Codex Alimentaires. Toutefois, chaque pays ont également leurs propres normes distinctes. Normes suivantes d'antibiotiques dans le miel ont été examinés: le Codex Alimentaires, l'Union européenne, des États-Unis, le Canada, l'Australie et l'Inde (Bogdanov S, Blumer P.,2001).

II .3.Codex

Norme du Codex Alimentaires pour le miel définit le miel et établit des normes sur la composition essentielle et la qualité (teneur en humidité , la teneur en sucre , la conductivité électrique , etc.) La norme contient des dispositions relatives aux contaminants , l'hygiène , l'étiquetage et les méthodes d'analyse . CODEX 12-1 981 pour le miel à la section 4.2 , pour les résidus de pesticides et de médicaments vétérinaires , déclare que les produits couverts par cette norme conformes à ces limites maximales de résidus pour le miel établi par la Commission du Codex Alimentaires . exigences de sécurité international convenus du un certain nombre de médicaments vétérinaires dans les aliments ont été recommande par le Comité mixte FAO / OMS d'experts des additifs alimentaires et adopté par le Codex . Cependant , aucun des limites maximales de résidus ont été fixés pour les antibiotiques dans le miel ou même proposé(Codex S., 1981).

II .4.Les antibiotiques l'utilisation dans apiculture

•Oxytetracycline (Class: Tetracycline)

Oxytétracycline (OTC) : est un antibiotique à large spectre utilisé pour traiter une variété d'infections et est également utilisé en tant que promoteur de croissance chez les animaux (Ortelli *et al*, 2004).

•L'érythromycine (Classe: macrolides)

L'érythromycine (ERY):est efficace contre de nombreux organismes à Gram positif et est utile dans le traitement des infections à staphylocoques chez les animaux et les humains (Maheshwai N., 2007).

• Enrofloxacin (Classe: fluoroquinolones)

Enrofloxacin (ENR):est un antibiotique de la famille fluoroquinolone qui agit par inhibition de l'ADN bactérien gyrase embryon létalité et terratogenicity des antibactériens fluoroquinolones chez les rats et lapins a été suggéré(Guzman *et al.* , 2003).

• Chloramphénicol (Classe: Amphenic)

Chloramphénicol (CAP) : est un antimicrobien bactériostatique précédemment utilisé en médecine vétérinaire.

Il a été trouvé comme potentiellement cancérigène, ce qui en fait une substance inacceptable pour une utilisation avec des animaux producteurs de denrées alimentaires , y compris les abeilles. Les États-Unis , Canada et l'Union européenne (UE) , ainsi que de nombreux autres pays , ont totalement interdit la l'utilisation de la PAC dans la production d'aliments (Thompson *et al.* ,2005).

• Ampicilline (Classe: β –lactamines)

Ampicilline (AMP) : est un dérivé de la pénicilline - lactamines est largement utilisé chez les bovins , les porcs abeilles et volailles pour traiter les infections et comme additifs pour l'eau d'alimentation ou de boire pour éviter miel certaines (Koklu *et al.* , 2003) .

• Aminocide (Streptomycine)

Aminocide Sont difficilement absorbés par la voie digestive et ils n'apparaissent que sous forme de résidus dans les tissus animaux lorsqu'il sont administré en peros (Zhou *et al.* , 2009).

• Sulfamides

Les antibiotiques sulfonamides sont couramment employés en médecine vétérinaire. La prévention et le traitement des maladies bactériennes de l'abeille avec des sulfonamides peut entraîner la présence de résidus de ces composés dans le miel (Duval et Soussy ., 1990 ; Jolliet *et al.*, 1998).

CHAPITRE III:**Effets toxiques des résidus des antibiotiques dans le miel**

Les apiculteurs utilisent des antibiotiques à des doses relativement élevées , comme agents thérapeutiques pour le traitement clinique infections (maladies du couvain bactériennes) , ou ils peuvent être administrés à faible , sous doses comme des « facteurs de croissance ». Apiculture avec l'utilisation d'antibiotiques est moins de main-d'œuvre et plus rentable (Black W., 1984).

Une liste des produits approuvés pour une utilisation dans le monde entier pour lutter contre les maladies des abeilles.

Doses journalières admissibles (DJA) établie soit par la Réunion conjointe FAO / OMS sur les résidus de pesticides (JMPR) ou le Comité mixte FAO / OMS d'experts sur les additifs alimentaires (Brouillet P., 2002).

Ces produits chimiques comprennent acaricides - Folbex VA brompropylate Perzin (Coumafos) , Apistan (fluvalinate) , Bayvarl (flumetrine) utilisé contre les acariens et les substances antibactériennes tels que les sulfamides , les tétracyclines , érythromycine tylosine et la streptomycine utilisé dans le traitement de maladies du couvain bactériennes. Limites maximales de résidus LMR) ont été établies pour toutes les espèces productrices d'aliments pour les sulfamides et tétracyclines , mais il n'y a pas de LMR pour le mie (Brouillet P., 2002).

III.1.Résidus antibiotique**III. 1.1. Définition de « résidu »**

Les résidus d'antibiotiques présents dans le miel sont les traces de traitements médicamenteux antibiotiques reçus par abeille de son vivant.

La définition de résidus est codifiée dans une directive européenne (Petit C., 1983). Dans cette Directive, les résidus sont définis comme étant « tous les principes actifs ou leurs métabolites qui subsistent dans le miel ou autres denrées alimentaires provenant de l'animal auquel le médicament en question a été administré ».

Le règlement 2377/90/CEE modifie légèrement cette définition en la complétant. Les résidus sont définis comme toute substance pharmaco-logiquement active, qu'il s'agisse de principes actifs, d'excipients ou de métabolites présents dans les liquides et tissus des

animaux après l'administration de médicaments et susceptibles d'être retrouvés dans le miel produites par abeille

III.1.1.1. Nature et propriétés des résidus

La nature chimique des résidus est fortement conditionnée par les biotransformations et les méthodes de dosage et d'identification ont permis de distinguer deux grands types de résidus : les résidus extractibles et les résidus non-extractibles. Cette distinction est basée sur les possibilités de passage des composés étudiés dans les solvants d'extraction (Burgat-Sacaze V., 1981).

III.1.2.2. Les résidus extractibles

Les résidus extractibles ou « libres » représentent la fraction pouvant être extraite des tissus ou des liquides biologiques par divers solvants, avant et après dénaturation des macromolécules. Les composés concernés sont le principe actif initial et ses métabolites, en solution dans les liquides biologiques ou liés par des liaisons non covalentes, donc labiles, à des biomolécules. Ce sont des résidus précoces, qui prédominent dans les premiers jours suivant l'administration du médicament, mais ayant une demi-vie assez brève et dont le taux devient généralement négligeable trois à cinq jours après le traitement. Ils ne forment qu'une proportion faible des résidus totaux (Dziedzic E., 1988).

III.1.2.3. Les résidus non-extractibles

Ils constituent la fraction des résidus qui persistent dans les échantillons de tissus analysés après isolement des résidus libres. Leur nature ne peut être déterminée qu'après destruction quasi-complète des protéines, par hydrolyse enzymatique ou acide par exemple.

Les résidus non-extractibles forment des complexes macromoléculaires avec des protéines par fixation du principe actif initial ou d'un de ses métabolites sur des protéines. Ces résidus liés ont une demi-vie assez longue et constituent la majeure partie des résidus tardifs (Cerniglia C.E et Kotarski S., 2005).

III.1.3. Propriétés des résidus

III.1.3.1. Notion de biodisponibilité et de biodisponibilité de relais

La biodisponibilité des résidus pour le consommateur, ou biodisponibilité secondaire représente la possibilité d'absorption par voie digestive des résidus antibiotique présents dans le miel. Elle est définie par la FDA (Food and Drug Administration) par : « les résidus biodisponibles correspondent aux composés, molécules initiales ou métabolites, absorbés au

niveau du tractus digestif et qui peuvent être retrouvés dans les cellules gastro-intestinales, les liquides biologiques ou le CO₂ expiré de l'espèce qui ingère ces résidus. »

Selon la nature des résidus, libres ou liés, la biodisponibilité ne sera pas la même : celle de la fraction résiduelle extractible est supérieure à celle des résidus liés.

La biodisponibilité des résidus peut être évaluée par la biodisponibilité globale des résidus totaux. Il s'agit alors d'une « biodisponibilité de relais » qui nécessite un animal relais.

Des expérimentations ont montré que la biodisponibilité secondaire d'une substance est inférieure à sa biodisponibilité primaire. Le facteur limitant correspond à la fraction liée des résidus. L'étude de la biodisponibilité de relais permet d'apprécier le risque encouru par le consommateur et permet d'aborder les notions de « toxico-disponibilité » et de « toxicité de relais » (Chauvin C., Madec F., Le Bouquin S., Sanders P., 2002)

III. 1.3.2. Notion de toxico-disponibilité

Les métabolites reconnus toxiques sont en général extractibles et donc relativement bio-disponibles. Leur toxico-disponibilité est donc toujours à craindre (Dziedzic, 1988).

Les résidus liés sont généralement peu bio-disponibles. Leur toxico-disponibilité est donc faible (Corpet D et Lumeau S., 1989).

D'autre part, les résidus liés sont également peu accessibles à la réponse immune de l'organisme pouvant entraîner une réaction allergique.

III.1.4.La réglementation autour des résidus d'antibiotiques :

III.1.4.1.Mise en place des Limites Maximales de Résidus

III.1.4.1.1. Définition de LMR

La LMR correspond à la concentration maximale en résidus, résultant de l'utilisation d'un médicament vétérinaire, sans risque sanitaire pour le consommateur et qui ne doit pas être dépassée dans ou sur les denrées alimentaires (Corpet D et Brugere H.,1995).

III.1.4.1.2. Principe généraux des LMR

Les LMR sont établies au nom de chaque molécule pour chaque espèce de destination et non au nom de la spécialité pharmaceutique. Ainsi par exemple, deux médicaments vétérinaires composés du même principe actif antibiotique et destinés à la même espèce, se référeront à la même LMR pour ce principe actif antibiotique.

III.1.4.1.3. Etablissement des LMR

Les résultats des études pharmacologiques et de toxicité permettent de déterminer une Dose Sans Effet (DSE), c'est-à-dire une dose qui ne montre pas d'effets toxicologiques ou pharmacologiques dans les différentes études. Ensuite, cette DSE est divisée par un facteur de sécurité (100 à 1000) selon le profil toxicologique de la molécule pour aboutir à la Dose Journalière Admissible (DJA) (Rossat-Mignot G., 1995).

En tenant compte d'une répartition théorique des consommations quotidiennes des différentes denrées d'origine animale (foie, rein, graisse, muscle, peau, lait, oeufs, miel) connue sous le nom de « panier de la ménagère » et sur la base des informations pharmacocinétiques disponibles sur le devenir de la substance dans les espèces animales de destination, un industriel ou les experts du CVMP proposent les LMR à la Commission Européenne. Pour une substance donnée, sa DJA est ainsi répartie dans les différentes denrées du « panier de la ménagère » ce qui permet d'obtenir la LMR de cette substance dans chaque denrée.

Ainsi, les LMR sont établies dans la réglementation au niveau européen, pour chaque substance pharmaco-logiquement active selon une procédure bien établie afin de déterminer les quantités résiduelles ingérables lors de la consommation des différentes denrées d'origine animale (Rossat-Mignot G., 1995).

III.1.4.2. Le temps d'attente

III.1.4.2.1. Rappels historiques sur la notion de temps d'attente

Historiquement, les scientifiques ont d'abord considéré qu'il n'était pratiquement pas possible d'établir des LMR, notamment pour les antibiotiques, et certains préconisaient d'utiliser la CMI comme limite de tolérance (Nouws J., 1990).

Pour les médicaments vétérinaires contenant un ou plusieurs principes actifs antibiotiques, un temps d'attente était établi de manière à ce qu'aucun résidu ne soit décelable par la méthode de dosage la plus sensible (Milhaud G et Person J., 1981).

III.1.4.2.2. Le temps d'attente

Fixer une date limite ne devrait pas produire le miel des abeilles guérisseur et ne peut pas être commercialisé pour la consommation humaine.

Garantit le respect du temps d'attente pour les consommateurs, la quasi-totalité traitement des déchets alimentaires à proximité ou au-dessous des animaux LMR (Nouws J., 1990).

III.1.4.2.3. Le calcul du temps d'attente

Le calcul du temps d'attente se fait à partir des résultats des études de déplétion des résidus.

Il y a deux groupes de méthodes (Sachot E et Puyt J.D.,2001). :

- Les méthodes statistiques,
- Les méthodes traditionnelles, dites simplifiées, dites aussi pragmatiques.

III.2. Les risques des résidus d'antibiotiques

Les risques pour le consommateur et la Santé Publique liés à la présence de résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires sont (Reig M et Toldra F., 2008). :

- risque de toxicité directe,
- risque allergique,
- risque cancérogène,
- risque de pathologie liée à la modification de la flore digestive,
- risque d'apparition, de sélection et de dissémination de résistances bactériennes aux antibiotiques au sein des populations humaines et animales (Haughey S et Baxter C., 2006).

III.2.1.Méthode d'évaluation de la toxicité des résidus

Il y a deux méthodes d'évaluation de la toxicité des résidus :

- l'étude toxicologique des différents métabolites d'un médicament (dont le médicament lui-même),
- l'étude de la « toxicité de relais ».

Afin d'étudier la toxicité des résidus, il convient d'étudier leur devenir une fois ingérés par le consommateur de denrées alimentaires en contenant (Verschueren C., 1991).

III.2.1.1. Devenir des résidus chez l'homme

Les résidus présents dans les aliments subissent, au cours du transit intestinal du consommateur de ceux-ci, des phénomènes de dilution en fonction du volume intestinal, des phénomènes d'absorption ou encore diverses biotransformations.

III.2.1.2. Phénomène de dilution

Dans la première partie du tube digestif (estomac, intestin grêle), les résidus d'antibiotiques sont dilués par les autres aliments, l'eau de boisson, les sécrétions gastriques, salivaires et intestinales : cela représente environ 8 litres par jour. Le facteur de dilution peut être estimé entre 10 et 20 (Corpet D et Lumeau S.,1989).

III.2.1.3. Phénomène d'absorption

L'absorption a aussi un rôle important : certains résidus d'antibiotiques fortement résorbés n'auront qu'une faible action sur la flore digestive. Par ailleurs, on assiste à une forte concentration des éléments non absorbés dans la partie distale du tube digestif. Le facteur de concentration des résidus est alors d'environ 3 à 5, compte tenu du poids moyen de la matière fécale journalière chez l'homme qui est de 150 g. Ce paramètre est important pour les antibiotiques très peu résorbés comme les aminosides, les antibiotiques polypeptidiques ou certains sulfamides (Corpet D., 1989).

III.2.1.4. Phénomène de fixation

La liaison des résidus aux protéines fécales est peu connue. Par analogie avec ce qui se passe dans le sérum, on peut penser que certains résidus d'antibiotiques se fixent en partie sur les protéines du contenu intestinal (Veysier P., 1988).

III.2.1.5. Facteurs de variation de l'activité des résidus

Les facteurs de variation de l'activité des résidus au cours du transit intestinal dépendent de la nature de la flore intestinale et des conditions locales propres à chaque partie de l'intestin. Les principaux facteurs qui interviennent sont (Reybroeck., 2003):

- Un facteur de dégradation de la molécule du résidu, par exemple par des enzymes produites par des bactéries intestinales (Afssa.A., 2002).
- Le facteur de l'anaérobiose : pour la plupart des antibiotiques, l'activité antibactérienne est nettement plus faible en anaérobiose qu'en aérobiose.
- Le pH qui modifie l'activité des antibiotiques. Certains antibiotiques sont détruits au niveau de l'estomac à cause du pH acide, comme la pénicilline G. Les β -lactamines, les tétracyclines et le triméthoprime ont une meilleure activité antibiotique à un pH légèrement acide, les aminosides sont au contraire plus actifs à pH alcalin (Haughey S et Baxter C., 2006).

III.2.2. Dose sans effet et « toxicité de relais »

Cette méthodologie considère l'animal de rente traité comme un relais au cours duquel le principe actif antibiotique initial peut subir de multiples transformations. Un deuxième animal est utilisé pour jouer le rôle de consommateur : il ingère les denrées provenant de l'animal relais (Dziedzic E., 1988).

Ce type de protocole reproduit ainsi les circonstances naturelles de consommation des résidus. Mais il présente également des inconvénients :

- Il est difficile d'extrapoler les résultats obtenus chez l'animal de laboratoire à l'homme. Sur le plan méthodologique, comme il faut appliquer un coefficient de sécurité, en général de 100, il est évident qu'il y a pour la grande majorité des aliments impossibilité d'administrer aux animaux de laboratoire une dose journalière par unité de poids corporel 100 fois supérieure à la dose moyenne consommée par l'homme (Lebek G et Egger R.,1989).
- On peut pallier en partie cet inconvénient en élevant la concentration médicamenteuse administrée à l'animal relais. Mais on ne peut augmenter indéfiniment la part de l'aliment contenant les résidus dans la ration de l'animal consommateur, dans le but de lui donner une dose élevée de résidus, sinon on s'expose au risque d'apparition de troubles pathologiques d'origine nutritionnelle. Il est alors difficile de repérer les éventuels symptômes imputables aux résidus (Dziedzic E.,1988).

L'étude de la toxicité de relais présente donc des difficultés sur le plan théorique et pratique. De plus, elle est assez lourde à mettre en œuvre.

Ainsi, l'évaluation de la toxicité des résidus totaux et l'établissement d'une DSE peut se faire à l'aide de deux méthodes, soit par l'étude directe de la toxicité des principaux résidus soit par l'étude de la toxicité de relais des résidus totaux. La DSE établie sert ensuite de base à l'établissement des LMR (Demoly P., Bousquet J., Godard P., Michel F., 2000).

III.2.3. Toxicité directe des résidus d'antibiotiques

III.2.3.1. Notions générales sur la toxicité directe des résidus d'antibiotiques

Les antibiotiques ont en général une marge de sécurité assez importante. Si on compare les quantités de principe actif antibiotique détectable dans les denrées alimentaires d'origine animale, avec les dosages considérés comme sans danger en médecine humaine, on peut dire que la probabilité d'une toxicité directe est extrêmement faible (Brudzynski k., 2006).

Pour plus de clarté, nous avons fait le choix de traiter à part les potentiels allergénique et cancérigène des antibiotiques et de leurs résidus bien que ceux-ci puissent être assimilés à des potentiels de toxicité direct.

La toxicité directe des résidus d'antibiotiques est assez difficile à mettre en évidence car il s'agit en générale de toxicité chronique. Cette toxicité ne s'exprime qu'après consommation répétée de denrées alimentaires contenant des résidus du même antibiotique, c'est-à-dire qu'après absorption répétée de nombreuses faibles doses de toxique.

Certains scientifiques évoquent alors une possible toxicité hépatique (Cerniglia C et Kotarski S.,2005).

Les études permettant de montrer la toxicité des résidus d'un antibiotique donné sont longues et coûteuses.

De plus, la molécule antibiotique subit des biotransformations dans l'organisme de l'animal. Les résidus d'une molécule antibiotique donnée ne sont donc pas tous identiques à la molécule originelle et n'ont donc pas tous les mêmes propriétés. La toxicité de chaque résidu peut être augmentée, diminuée ou modifiée par rapport à la toxicité de la molécule antibiotique originelle. La toxicité des résidus est même susceptible d'être modifiée lors des traitements de conservation ou de préparation culinaire (Labie C., 1982).

Le risque de toxicité directe dépend alors de la dose ingérée, de la nature chimique de l'antibiotique initialement administré et de celle des résidus.

III.2.4. Les intoxication

Les risques toxiques résultent de l'absorption répétée de résidus dans les aliments et de leur accumulation dans l'organisme humain.

Une action pathogène de l'antibiotique lui-même ou d'un de ces métabolites sur des structures cellulaires bien précisée. D'une façon générale les risques toxiques dépendants :

-La dose ingérée et la nature de l'antibiotique.

-Leur absorption au niveau du tube digestif et leur résistance aux principaux procédés de conservation des aliments (Milhaud G et Person J.M., 1981).

III.2.4.1. Oxytétracycline (Class: Tetracycline)

Les symptômes d'une exposition chronique à oxytétracycline comprennent les changements de sang (leucocytose , lymphocytes atypiques , congestion pulmonaire granulation toxique de granulocytes et purpura thrombocytopénique) . Des lésions hépatiques et retardé coagulation du sang peut également se produire . Il peut endommager les organes de calcium riche comme les dents et os et parfois provoque des cavités nasales à s'éroder .

Les enfants de moins de 7 ans peuvent développer une coloration brune des dents . Les nourrissons de mères traitées par OTC cours la grossesse peut développer la décoloration des dents . D'autres effets chroniques de oxytétracycline comprend sensibilité accrue au soleil , une respiration sifflante et crise d'asthme (Ortelli D *et al*, 2004).

Les études toxicologiques indiquent que ce médicament n'est pas mutagène , cancérigène ou tératogène.

III.2.4.2.L'érythromycine (Classe: macrolides).

Exposition à l'érythromycine (surtout au long cours à doses antimicrobiens, ainsi que par le biais de l'allaitement maternel) a été lié à une probabilité accrue de la sténose pylorique chez les jeunes nourrissons condition que provoque des vomissements graves dans les premiers mois de la vie (Maheshwai N , 2007).

L'érythromycine est un toxique pour la reproduction (de terratogen) à une exposition chronique . cardiaque malformation n'a été observée chez les enfants de femmes qui avaient pris l'érythromycine au début de leur grossesse .

III.2.4.3.Enrofloxacin (Classe: fluoroquinolones)

Des aberrations chromosomiques évalués dans cultures de lymphocytes périphériques humains de huit donneurs sains , exposés à la enrofloxacin antimicrobien ou de son principal métabolite ciprofloxacine ont suggéré un effet génotoxique de la ciprofloxacine et l'enrofloxacin (Gorla N et al., 1999) .

Il est également associée à une augmentation photosensibilité . Centre de la Food and Drug Administration pour la médecine vétérinaire a proposé de retirer l'autorisation d'utiliser l'agent antimicrobien fluoroquinolone , enrofloxacin , dans volaille fondée non pas sur des médicaments de toxicité directe mais sur le potentiel pour augmenter la résistance de l'agent pathogène humain (Gunes N *et al.* , 2008).

III.2.4.4.Chloramphénicol (Classe: Amphenic)

Le chloramphénicol est prévu pour être un être humain cancérigène et génotoxique des études chez l'homme . Il est toxique pour le sang , les reins , le foie . répété ou une exposition prolongée au chloramphénicol peut conduire à des troubles aux organes cibles , la moelle osseuse (Thompson H *et al.* ,2005).

L'effet le plus grave de chloramphénicol est l'anémie aplasique qui est idiosyncrasique rare , imprévisible , et indépendantes de la dose) et généralement fatale et pourrait vraisemblablement être déclenché par des résidus (Andredakis S *et al.*,2006).

Plusieurs rapports documentent pertes humaines résultant à partir de préparations ophtalmiques contenant du chloramphénicol , à l'exposition totale somnole que pourrait être réalisé à partir de résidus alimentaires (Settepani J ., 1984).

III.2.4.5. Ampicilline (Classe: β –lactamines)

Les travailleurs d'une usine produisant l'antibiotique développé de l'asthme et éosinophilie à l'inhalation de l'ampicilline et la substance apparentée. (Davfes R et al ., 1974) .ampicilline peut entraîner une hépatite cholestatique récurrente (Koklu S et al ., 2003) .

Un contact répété peut provoquer des réactions allergiques , crise d'asthme , dermatite exfoliative anémie , thrombocytopénie purpura thrombopénique , éosinophilie , leucopénie et agranulocytose .

III.2.4.6. Aminoside (Streptomycine)

- **Néphrotoxicité**; est du à l'accumulation de l'aminoside dans le cortex rénale, au niveau des cellules de l'épithélium du tubule proximale provoquant une nécrose tubulaire sans atteinte de la membrane basale.les signes révélateurs sont insidieux (Zhou J *et al* ., 2009).

-**Neurotoxicité**, atteinte cochléo-vestibulaire, l'ototoxicité et dominée par celle des Aminosides. La teinte est irréversible, le risque en est accrue en cas d'insuffisance rénale .

III.2.4.7. Sulfamides

-Les accidents rénaux :blocage rénale par précipitation dans les tubules de cristaux, en raison de la faible solubilité de sulfamide et de leur dérivés Acétylés. L'hématurie est le premier symptôme (Davfes R et al ., 1974).

-Les accidents sanguins, une leucopénie et l'incident le plus fréquent, elle aboutir à une agranulocytose, en général régressive, une anémie hémolytique.

-Les troubles hépatiques, les Sulfamides inhibent par compétition la liaison de la bilirubine aux protéines plasmatiques. Aussi sont -il contre indiqué chez la femme enceinte, au moins en fin de grossesse, et chez le nouveau née en raison du risque d'ictère nucléaire (Zhou J *et al* ., 2009).

III.2.5. Antibiotiques responsables d'effets secondaires à la dose thérapeutique:

Dans la grande majorité des cas, les antibiotiques ont une marge de sécurité importante. Cependant, certains antibiotiques sont responsables d'effets secondaires à la dos thérapeutique (Milhaud G et Person J.,1981). (Association des Enseignants de Pharmacologie, 1987) :

- β -lactamines : neurotoxicité, manifestations cutanées mineures dans 1 à 10 % des cas et réaction d'hypersensibilité (choc anaphylactique chez 1 patient sur 5 000 avec 1 mort pour 10 cas (Veysier C., 1988).
- Aminosides : toxicité cochléo-vestibulaire, néphrotoxicité, accidents curariformes, accidents cutanés, allergies.
- Polypeptides : forte néphrotoxicité et action curariforme.
- Tétracyclines : coloration des dents, troubles hépatiques et rénaux, photosensibilisation et allergie.
- Macrolides : troubles hépatiques éventuels et sensibilisation allergique.
- Chloramphénicol : anémie, aplasie médullaire irréversible.

Exemple : le cas du chloramphénicol

Le chloramphénicol constitue une exception par sa toxicité. Celle-ci se manifeste par une toxicité hématologique avec deux types d'atteintes différentes (Page S., 1991) :

- une diminution réversible de l'érythropoïèse avec une anémie pouvant survenir dès 25 $\mu\text{g/ml}$.
- une pancytopenie provoquée par une aplasie médullaire irréversible.

La plupart des auteurs admettent que l'aplasie médullaire provoquée par le chloramphénicol est indépendante de la dose reçue et de la durée du traitement et ce, non seulement aux doses thérapeutiques habituelles mais également pour de très faibles doses (ex: collyre)

Aucun cas directement lié aux résidus de chloramphénicol n'a été décrit mais des études ont montré que le risque d'aplasie médullaire est treize fois plus grand dans une population ayant reçu du chloramphénicol que dans une population témoin (Milhaud G et Person J., 1981).

Aux Etats-Unis, depuis 1950, 700 cas d'anémie aplasique due au chloramphénicol administré soit en collyre soit par voie orale, ont été rapportés .

Toutes les tentatives de reproduction expérimentale de la toxicité du chloramphénicol, effectuées chez l'animal (chat, chien, veau, canard, singe) ont échoué (Milhaud G et Person J.,1981).

Il semble que l'espèce humaine soit plus sensible au chloramphénicol, de manière constitutionnelle. Aucune limite maximale de résidu n'est fixée dans les denrées d'origine animale pour le chloramphénicol et cet antibiotique est aujourd'hui interdit d'emploi chez les animaux de production (Veysier P.,1988).

III.2. 6. risque allergique

III.2. 6.1. Nature du risque allergique

Il importe de savoir si les résidus d'antibiotiques ont un rôle sensibilisant et/ou déclenchant.

- Rôle sensibilisant : ils pourraient être la cause primitive d'accidents observés ultérieurement lors d'ingestion d'aliments contaminés, ou lors d'administration thérapeutique des substances en cause.
- Rôle déclenchant : ils pourraient provoquer une réaction d'intolérance chez des individus sensibilisés au préalable (Lebek G et Egger R.(1989).

Les observations mettant en cause les résidus d'antibiotiques concernent des réactions d'intolérance alimentaire observées chez des sujets ayant déjà eu des accidents allergiques lors d'administration thérapeutique des produits incriminés (Lebek G et Egger R.,1989).

Les résidus n'ont été qu'exceptionnellement évoqués dans les cas d'allergie primitive, c'est-à-dire lors de la première administration d'un médicament. L'origine de la sensibilisation du malade est inconnue, et parmi toutes les possibilités, l'effet sensibilisant des résidus d'antibiotiques a été avancé sans être confirmé. Ces observations mettent en cause la pénicilline, et ce à une époque où cet antibiotique était, non seulement utilisé comme additif dans l'alimentation animale, mais se trouvait aussi présent dans le vaccin antipoliomyélitique. Par ailleurs, le risque lié aux résidus concerne l'introduction d'un haptène par voie digestive et il est, en général, plus difficile d'obtenir une réponse immunologique par cette voie d'administration que par d'autres (Verschueren C.,1991).

Il est ainsi peu probable que des doses de résidus d'antibiotiques, avec une biodisponibilité et une allergénicité suffisamment importante, soient rencontrées dans des miel pour provoquer une réaction sensibilisante chez un patient .

Cette hypothèse est partagée par de nombreux auteurs (Demoly P et al., 2000) .Tous ces arguments cliniques, épidémiologiques et expérimentaux appuient ainsi la proposition d'un rôle déclenchant des résidus d'antibiotiques dans les manifestations allergiques observées chez certains patients (Veyssier P.,1988).

III.2. 6.2. Evaluation du risque allergique

L'évaluation du risque allergique peut se faire en essayant de déterminer des doses de résidus sans effet immuno-pathologique. Dans le domaine de l'allergie, la relation dose-effet a certaines particularités car des doses faibles peuvent être à l'origine de réactions parfois graves (Demoly P et al., 2000).

Nous avons vu que les résidus d'antibiotiques pouvaient avoir 2 types d'action Immunopathologique, un rôle sensibilisant et un rôle déclenchant. Nous avons également vu que l'action la plus préoccupante est leur rôle déclenchant.

La dose déclenchante a plusieurs particularités :

- Elle est inférieure à la dose sensibilisante
- Elle est variable selon le mode d'introduction de l'antigène dans l'organisme
- Elle est variable selon les individus, et notamment faible chez les personnes dites « allergiques ».

Afin de déterminer une dose sans effet, il est important de savoir que le potentiel allergénique de certains résidus d'antibiotiques n'est pas nécessairement identique à celui de la molécule parentale. Par exemple, pour les pénicillines, le déterminant majeur est le groupement benzylpenicilloyl, qui est à 95 % le produit métabolique majeur des biotransformations de la pénicilline (Lebek G et Egger R.,1989).

mais d'autres dérivés peuvent être mis en cause tels les acides pénicilloïque, pénicillénique, pénalmaldique, pénicillényles ou pénicillamines. Ce dernier étant classiquement considéré comme responsable du plus grand nombre de chocs anaphylactiques (Demoly P et al., 2000).

Ces divers composés ne sont immunogènes qu'après fixation covalente sur une protéine, in vivo chez l'individu. Ces complexes immunogènes peuvent également exister dans l'organisme de l'animal et peuvent ne pas être dosés en tant que résidus car ils correspondent à des résidus non-extractibles ou résidus liés (Maheshwai N.,2007) .

Dans le cas de la pénicilline, des études sont rapportées dans lesquelles l'antibiotique a été dosé dans des denrées alimentaires suspectes. Des intolérances ont été observées avec du lait contenant 10 U.I./ml, 4 U.I./ml, 0,06 U.I./ml et 0,03 U.I./ml de benzylpénicilline (Maheshwai N.,2007) .

D'autres études ont montré des réactions graves d'intolérance avec du lait pollué par 0,1 U.I./ml de benzylpénicilline (Ortelli D et al.,2004)

En conclusion, on peut dire que le rôle sensibilisant des résidus d'antibiotiques, c'est-à-dire leur allergénicité, ne semble pas représenter un danger pour la Santé Publique. Par contre, leur rôle déclenchant, c'est-à-dire leur immunogénicité, peut entraîner des accidents chez des individus extrêmement sensibles. Cependant, les cas certains d'allergie, directement liés à la présence de résidus d'antibiotiques dans le miel sont extrêmement rares (Dayan A, 1993).

III.2. 7. Risques cancérigènes liés à la présence de résidus

Certains antibiotiques ont des propriétés carcinogènes connues. Les résidus de ces antibiotiques peuvent avoir un effet carcinogène sur le long terme, suite à une consommation régulière d'aliments contenant ces résidus. Ces antibiotiques ou composés utilisés comme antibiotiques sont alors interdits d'utilisation chez les animaux de production. C'est le cas des nitrofuranes, des nitroimidazoles, du vert malachite utilisé chez les poissons (Laurentie et al., 2002). Le cas des nitrofuranes Les nitrofuranes, incluant la nitrofurazone, sont des antibiotiques qui sont utilisés en médecine humaine pendant une courte durée chez les patients. Ces molécules sont bien connues comme carcinogènes génotoxiques. L'expérimentation animale a montré que leur utilisation prolongée pouvait être à l'origine de modifications du matériel génétique et de l'apparition de tumeurs. Le pouvoir mutagène et le pouvoir carcinogène potentiels de ces composés proviennent de la nitro-réduction du médicament, conduisant à la formation de métabolites électrophiles et à leur fixation à l'ADN (Thompson H *et. al.*, 2005).

Ces composés sont rapidement métabolisés dans l'organisme et leur stabilité *in vivo* n'excède pas quelques heures. Ainsi, la majeure partie des résidus de nitrofuranes dans les denrées alimentaires sont liés aux protéines, principalement de manière covalente (Thompson H *et. al.*, 2005). Leur pouvoir cancérigène est alors annihilé (Bernard, 2003).

La fixation des composés chimiques génotoxiques aux protéines est un effet biologique non défavorable qui opère comme un mécanisme de défense en abolissant réellement le potentiel génotoxique des composés électrophiles et de cette façon en prévenant l'attaque électrophile de l'ADN. Ces composés formés avec les acides aminés dans les protéines sont extrêmement stables (il n'existe pas de mécanisme de réparation contrairement à ce qui se passe avec les composés de l'ADN) et sont éliminés presque inchangés dans les urines suivant ainsi le cycle normal des protéines. Mais les complexes « résidu de nitrofurane – protéine », sont alors suspectés d'avoir un effet allergique. Afin de prévenir tout risque cancérigène chez les consommateurs, l'utilisation des nitrofuranes est interdite chez les animaux de rente depuis 1993 en France et dans l'Union Européenne (Règlement 2901/93) ainsi que dans la plupart des pays du monde. La furazolidone a été interdite, chez les animaux de rente, en 1997 en France en raison d'effets sur la santé, notamment la possibilité d'un risque cancérigène en cas de consommation à long terme (Afssa A., 2006).

Elle est également interdite chez les animaux de rente, dans l'Union Européenne (Règlement 1442/95).

III.2.8. Risques liés à la modification de la flore digestive par les résidus d'antibiotiques

Certains résidus d'antibiotiques ayant encore une activité contre les bactéries, sont potentiellement capables de modifier la microflore intestinale de l'homme (Corpet D et Brugere H. ,1995).

La présence de résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires peut ainsi entraîner un risque d'affaiblissement des barrières microbiologiques et de colonisation de l'intestin par des bactéries pathogènes ou opportunistes.

CHAPITRE IV:

LES METHODES DE DETECTION ET QUANTIFICATION DES RESIDUS DES ANTIBIOTIQUES DANS LE MIEL

IV. 1. Méthode Utilisés

Plusieurs méthodes ou appareillages sont utilisés. Les méthodes les plus économiques. (Elisa et Charm-Test) sont aussi les moins fiables. C'est la raison pour laquelle tout résultat positif obtenu ainsi est systématiquement validé ensuite par l'HPLC que personne ne conteste.

Pour les antibiotiques "classiques", (streptomycines, sulfonamides, tétracyclines), on est passé en quelques années d'un seuil de détection de 500 ppb, (0.5 gr/tonne) à 10 ppb (0.01 gr/tonne). Ceci pour les analyses de routine. Il est possible de descendre beaucoup plus bas si nécessaire. Pour le chloramphénicol, antibiotique prohibé en médecine vétérinaire tant en Europe qu'aux Etats-Unis. Les enjeux sont différents puisqu'il s'agit d'une molécule classée à haut risque. En conséquence, même les analyses de routine offrent un seuil de détection beaucoup plus bas: 0.3PPR (0,0003 gr/tonne). C'est sur la base de ces analyses qualifiées par la presse apicole de "non fiables" et "non validées" que l'Union Européenne a bloqué les importations de toutes les productions animales d'origine Chinoises. (Miel, volailles, lapins, mollusques, crevettes, crustacés.... Même les aliments pour chiens et chats).

Le 25 janvier 2002, soit quatre jours avant la 71^{ème} assemblée générale du SPMF Samatan, la commission de Bruxelles a décidé l'arrêt total des importations de miels chinois (acté n° 2002/69/CE du 30 janvier 2002). Cette décision est consécutive à la découverte de résidus de chloramphénicol dans le miel. Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques -, qui fédère l'ensemble de ces réseaux, a été mise en place en décembre 1996. L'INRA et l'AFSSA ont représenté dans son conseil scientifique. (Dancla., 2008).

peuvent être décelés au travers de celui-ci. Si le résultat de ce test est négatif, on peut en conclure que le miel ne contient pas d'antibiotique. En cas de résultat positif, il faut le confirmer par une analyse quantitative. D'après les données dont on dispose jusqu'ici, le plus grand danger provient des sulfonamides.

La plupart des méthodes qu'on a citées sont des méthodes plutôt de détection. Ils ne permettent pas de quantifier réellement les résidus d'antibiotiques raison pour laquelle nous avons opté pour la chromatographie liquide haute performance. (Dancla., 2008; Hadeif L., 2009).

IV.1.1. Elisa (Enzyme linked Immuno sorbent assay)

L’elisa (Enzyme-linked immunosorbent assay) est analogue au RIA.cette fois l’antigène est marqué par un enzyme dont l’activité liée aux anticorps peut être mesurée grâce à une coloration correspondant à la transformation du substrat de l’enzyme en produit.

La réponse est inversement proportionnelle à la concentration en analyte dans l’échantillon . (Beruilla P., 2002;HadeF L., 2009).

De nombreux kits de dosage Elisa pour les résidus d’antibiotiques ont été développés .(Anonyme 2.,2014 ;HadeF L., 2009).

Elle est cependant dépourvue des inconvénients liés à l’utilisation de la radioactivité Le test elisa, quand à lui, se base sur le même principe que le RIA mise à part le fait que le marquage est enzymatique au lieu d’être radioactif .(Zeghilet N., 2009 ; Chebira B., 2009;Skoog W., 1997) .

Les tests Elisa disponibles dans le commerce sont entre autres:

- Le LacTek β-lactam, le Cite Probe et le Delvotest .
- Les résultats finaux obtenus sont basés sur un changement de couleur

(Zeghilet N., 2009 ; Chebira B., 2009).(La Figure 5) montre le principe de base de l’Elisa.

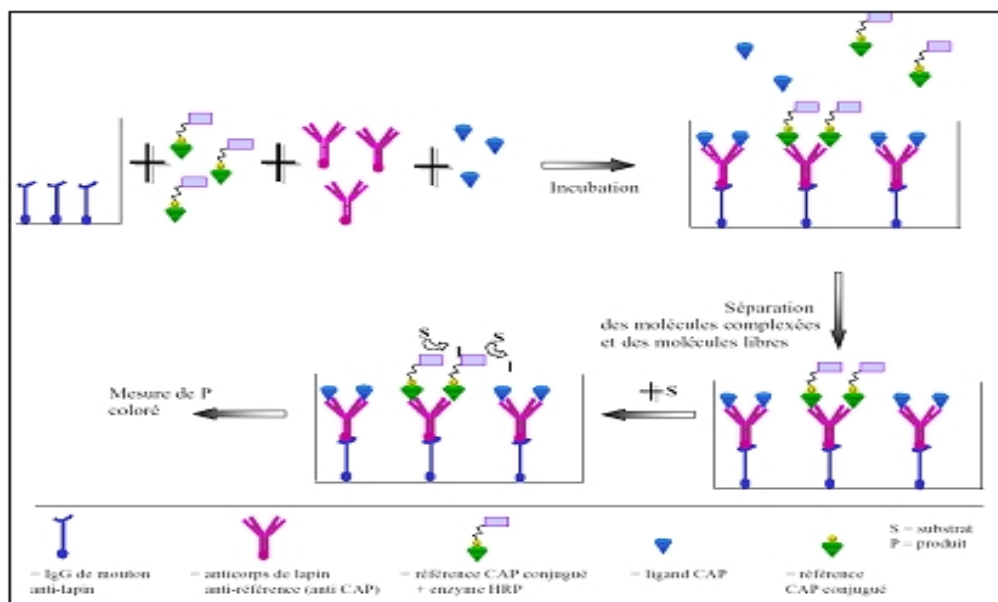


Figure5 :Schéma de principe d’ELISA.(Zeghilet N.,2009;Chbira B., 2009;HadeF L., 2009) .

IV. 1. 2. Le charm test

Il permet la détection de nombreux antibiotiques (pénicilline, tétracycline, macrolides, sulfamides, aminoglycosides) par une réaction d'immunocompétition entre la molécule à rechercher et une molécule marquée au C14 ou H3 .(Audigie Cl, Dupont G, Zonszaln F., 1995 ; Boultif L., 2009 ; Chebira B., 2009).

C'est un test de compétition mesuré par radioactivité (propriétés de scintillement du lait contaminé) qui permet une identification précise et un dosage, qui peut être calé sur les seuils des limites maximales des résidus.

Il nécessite un investissement important mais permet d'identifier l'inhibiteur présent. (Audigie Cl; Dupon G; Zonszain F., 1995 ;Boultif L., 2009 ;Chebira B., 2009) .

Le principe est simple, on met en contact une culture de bactéries (récepteur) avec un antibiotique marqué qui se fixe sur le site spécifique des bactéries.

Si le même antibiotique est présent dans le lait à tester il y'a compétition et une partie des molécules marquées ne se fixe pas.

Après centrifugation et filtration, on effectue le dosage avec un compteur de particule, par comparaison avec un témoin négatif. (Boultif L., 2009 ; Chebira B., 2009). ce qui est illustré sur (La Figure 6).

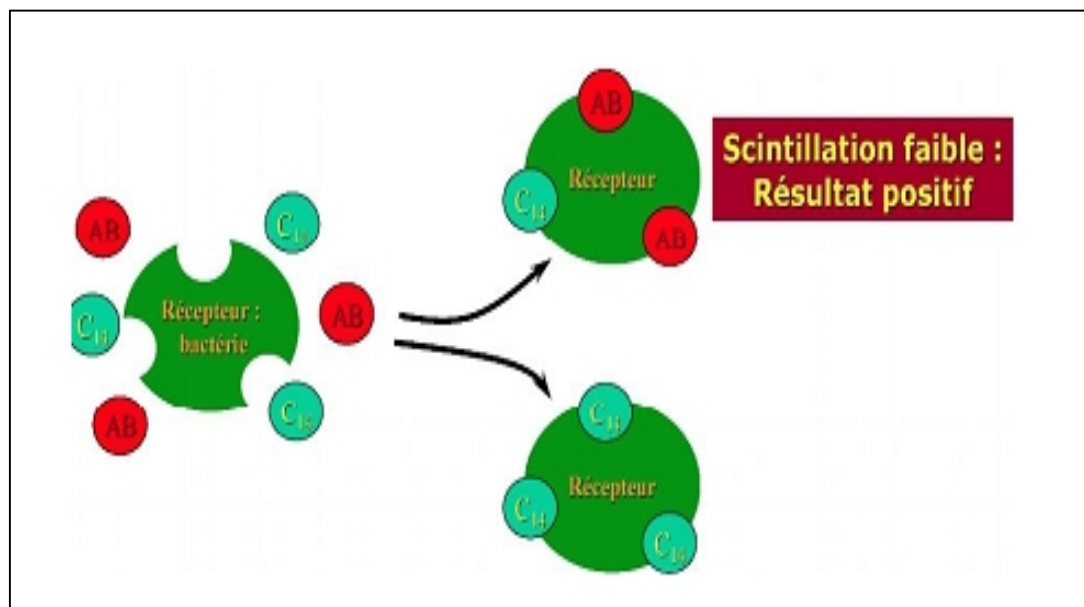


Figure6 : Principe de Charm Test II. (Beruilla P., 2002; Boultif L., 2009) .

IV.1.3. Chromatographie liquide haute performance (HPLC)

La phase stationnaire, constituée de billes de granulométrie entre 3 et 50 μm est compactée sous pression dans une colonne en métal inoxydable. La phase mobile se déplace dans la colonne sous pression à l'aide d'une pompe. (Imelik B; Védrine J., 1988).

La chromatographie liquide haute performance, utilisée en routine depuis 1995 a réduit au moyen de 10 fois le temps nécessaire à l'analyse de nombreux composés biochimiques.

On est passé à des durées de quelques minutes alors qu'auparavant une chromatographie requerrait quelques dizaines de minutes.

Le gain de temps et haut pouvoir de résolution sont les maîtres mots de cette technologie. (Anonyme, 2014; Audigié et al., 1995).

IV. 1. 3. 1. Les domaines d'application

La chromatographie liquide haute performance a pour objet plus une analyse quantitative que qualitative car il paraît difficilement envisageable de balayer tout l'intervalle de longueur d'onde accessible pour détecter n'importe quel produit contenu dans la solution étudiée.

L'HPLC se développe de plus en plus pour des très nombreuses molécules (hormones, vitamines, médicaments, ...). C'est un appareil de base indispensable dans tous les laboratoires de recherches. (Brouillet P., 2002).

➤ L'HPLC est aussi employée en cosmétologie elle permet l'analyse soit des substances thermiquement instable soit des substances peu volatiles, soit encore des substances ionisées. (Brouillet P., 2002; Tranchant J., 1982).

➤ Les molécules d'intérêt biologique comme les vitamines, les sucres et les acides aminés peuvent être analysées directement sans passer par la formation de dérivés, et la séparation des protéines et de polymères synthétiques peut être réalisée même si leur masse est élevée. (Tranchant J., 1982; OIV., 2011).

Composés polaires, thermolabiles... (Herbette et al., 2002) :

- service des explosifs : analyse de composés explosifs
- service des stupéfiants : analyse de drogues (cannabis, héroïne...).
- service de toxicologie : analyse de drug (barbituriques, benzodiazépines, anti-inflammatoires, anticonvulsifs, analgésiques...)
- service environnement : analyse de pollutions (déversement...)
- service agro-alimentaire : analyse des résidus des antibiotiques, pesticides . (Brouillet P., 2002).

IV. 1. 3. 2. L'appareillage

Un chromatographe liquide haute pression comporte une ou plusieurs pompes qui propulse l'éluant dans une colonne analytique. L'injection de l'échantillon à analyser est pratiquée en introduisant un faible volume de produit (quelques 1μ) dans l'éluant sous pression.

Après leur séparation, les différents constituants de l'échantillon sont détectés en sortie de colonne. Un logiciel assure l'acquisition et le traitement des données. (Audigié et al., 1995. SAFI M.,2008).

Le tableau (04) nous indique les principaux solvants utilisés en HPLC ainsi que les phénomènes mise en jeu.

Tableau04 : Les principaux solvants utilisés en HPLC

Phénomène	Solvants
Adsorption	Hexane, méthanol, acétonitrile, dichlorométhane, chloroforme
Partition	Méthanol-eau, acétonitrile-eau
Echange d'ions	Solution tampon (pH contrôlé)
Exclusion	Tétrahydrofurane, toluène

(Brouillet P.,2002; Anonyme2.,2014;SAFI M.,2008).Dans tout appareillage HPLC on

retrouvera toujours les éléments de base suivants :

Ces modules sont illustrés sur la figure 7.

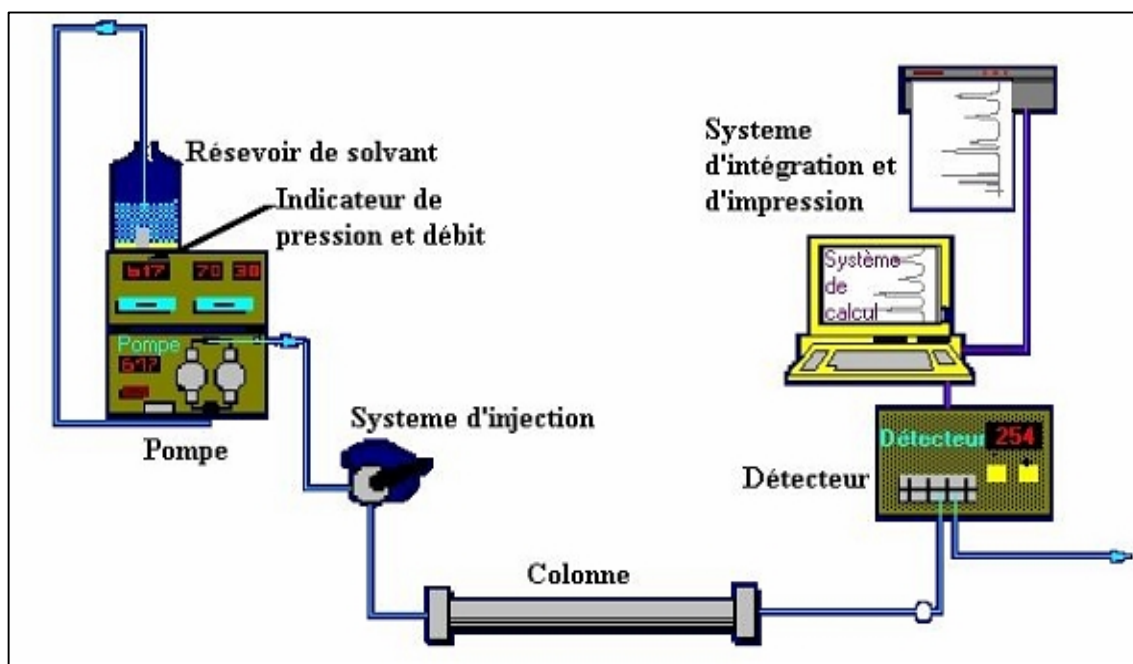


Figure7 : instrumentation de l'HPLC. (Brouillet P.,2002; Jacob V.,2010).

IV. 1. 3. 3.Un réservoir de solvant (éluant)

Il contient la phase mobile en quantité suffisante. La phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants qui doit être de pureté analytique et filtré pour éliminer les particules solides qui risqueraient d'endommager la pompe ou de bloquer la colonne.

Le filtre, en acier inoxydable d'une porosité de 2 μm , est placé à l'extrémité dans le réservoir à solvant. (Safi M.,2008; Jacob V., 2010).

Plusieurs flacons d'éluant (solvants de polarités différentes) sont disponibles pour pouvoir réaliser des gradients d'éluant (mélange de plusieurs solvants à des concentrations variables) à l'aide de la pompe doseuse. (Safi M.,2008; Ali L., 2012).

IV. 1. 3. 4. La pompe

Elle est munie d'un système de gradient permettant d'effectuer une programmation de la nature du solvant (figure 8). Elle permet de travailler:

- en mode isocratique, c'est-à-dire avec 100% d'un même éluant tout au long de l'analyse, on utilise une pompe simple, réglable en pression, ou en débit.
- en mode gradient (de polarité, de force ionique, ou de PH), c'est-à-dire avec une variation de la concentration des constituants du mélange d'éluant. (Safi M.,2008; Skoog, 1998).

Les pompes actuelles ont un débit variable de quelques μl à plusieurs ml/min (Audigié et al., 1995 ; Salghi R., 2003; Skoog. , 1998).

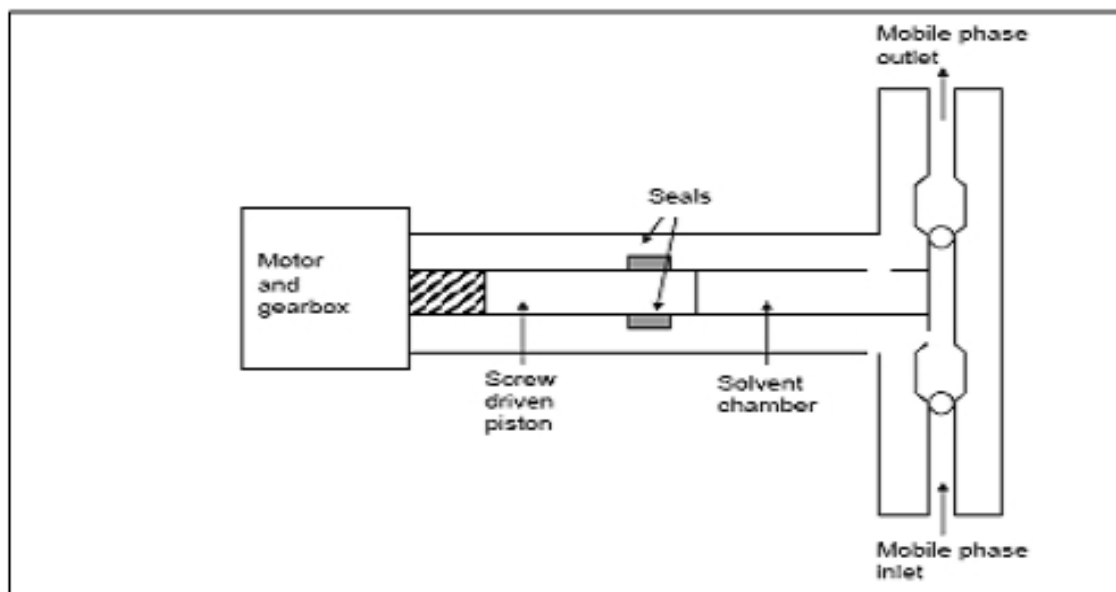


Figure8:Schéma d'une pompe en HPLC .(Jacob V.,2010 ;Salghi R.,2003;Skoog. ,1998).

IV. 1.. 3. 5.Vanne d'injection

C'est un injecteur à boucles d'échantillonnage. Il existe des boucles de différents volumes,nous utiliserons une boucle de $20\mu\text{l}$. Le choix du volume de la boucle se fait en fonction de la taille de la colonne et de la concentration supposée des produits à analyser.(Brouillet P.,2002;Skoog. , 1998).

Comme la pression dans le circuit pompe colonne est très élevée, on utilise un moyen indirect pour introduire l'échantillon à l'entrée de la colonne. (Safi M.,2008; Skoog. , 1998).

Celui-ci est d'abord introduit à l'aide d'une seringue dans un injecteur à boucle externe, en position LOAD. On injecte toujours un volume supérieur à celui de la boucle, en prenant soin de ne pas introduire de bulles d'air dans la boucle. En tournant la valve en position injecte ,seul le contenu de la boucle est dirigé en tête de colonne (figure 9). Cette méthode d'injection a l'avantage de donner des résultats très reproductibles, d'une injection à l'autre.Pour réaliser une injection dans des bonnes conditions, il convient :

de ne pas surcharger la colonne; si l'échantillon est trop important on aboutit à des pics très larges et des phénomènes de traîne, autant de facteurs qui concourent à diminuer le pouvoir de résolution de la chromatographie. (Salghi R., 2003 ;Ali L., 2012).

d'injecter très rapidement. La durée d'une injection est égale à : t_d (secondes) = Volume de la boucle (μl) / Vitesse du flux ($\mu\text{l/s}$) Pour injecter rapidement on injecte des échantillons de faible volume. (Audigié et al., 1995; Jacob V., 2010 ; Ali L., 2012).

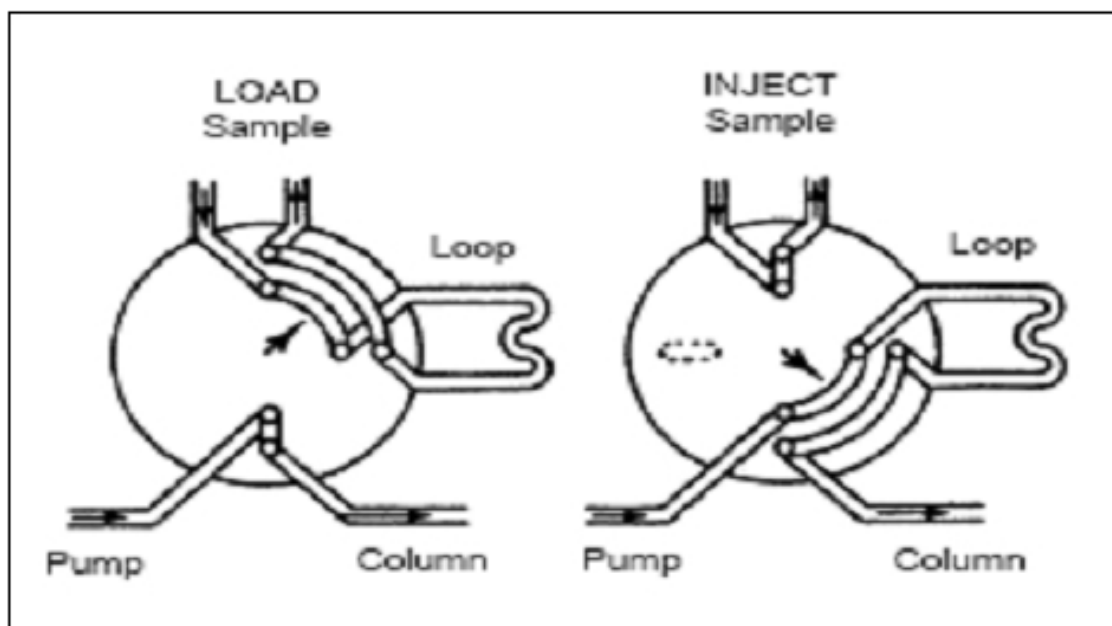


Figure 9 :Schéma d'un injecteur à boucle externe.(Anonyme 2.,2014; Ali L., 2012

Salghi R., 2003)

IV. 1. 3. 6.La colonne

La colonne est la partie la plus importante du système, puisque c'est à cet endroit que se fait la séparation des composés. Les colonnes sont en acier inoxydable, de longueur variant de 5 à 25 cm avec un diamètre interne de 4 à 4,6 mm. Ces colonnes sont remplies de la phase stationnaire, dont le diamètre des particules varie de 3 à 10 μm . Des compagnies se spécialisent dans la vente de colonnes pour HPLC.

Pour éviter l'obstruction et la détérioration des colonnes par les contaminants, on place habituellement une colonne de garde plus petite et moins dispendieuse au sommet de la colonne principale. Les colonnes de garde doivent être changées régulièrement.(Salghi R., 2003; Skoog, , 1998).

IV.1.3.6.1 Nature des deux phases**IV.1.3.6.1.1 La phase stationnaire(fixe)**

Il existe deux types de la phase stationnaire :

-La phase normale

La phase normale est constituée de gel de silice. Ce matériau est très polaire. Il faut donc utiliser un éluant apolaire. Ainsi lors de l'injection d'une solution, les produits polaires sont retenus dans la colonne, contrairement aux produits apolaires qui sortent en tête.

L'inconvénient d'une telle phase, c'est une détérioration rapide au cours du temps du gel de silice, ce qui entraîne un manque de reproductibilité des séparations. (Brouillet P.,2002; Zeghilet N.,2009)

- La phase inverse

La phase inverse est majoritairement composée de silice greffée par des chaînes linéaires de 8 ou 18 atomes de carbones (C8 et C18). Cette phase est apolaire et nécessite donc un éluant polaire (ACN, Me OH, H₂O). Dans ce cas, ce sont les composés polaires qui seront élués en premier.

Contrairement à une phase normale, il n'y a pas d'évolution de la phase stationnaire au cours du temps, et la qualité de la séparation est donc maintenue constante. (Anonyme 1.,2014 Ladram A.,2012).

°La phase mobile

L'interaction plus ou moins forte entre la phase mobile et la phase stationnaire normale ou à polarité inversée se répercute sur les temps de rétention des solutés.

La polarité de la phase stationnaire permet de distinguer deux situations de principe :

- si la phase stationnaire est polaire, on utilisera une phase mobile peu polaire la chromatographie est dite en phase normale .

- si la phase stationnaire est très peu polaire, on choisira une phase mobile polaire (le plus souvent des mélanges de méthanol ou d'acétonitrile avec de l'eau), c'est la chromatographie en phase inverse.

En modifiant la polarité de la phase mobile, on agit sur les facteurs de rétention des composés.

Les silices greffées conduisent en général à une perte importante de polarité. Avec une phase greffée, l'ordre d'éluion est opposé à celui auquel on est habitué avec les phases normales.

Ainsi avec un éluant polaire, un composé polaire migre plus vite qu'un composé apolaire. Dans ces conditions les hydrocarbures sont fortement retenus. On réalise des gradients d'éluant en diminuant au cours de la séparation la polarité de l'éluant (ex : mélange eau/acétonitrile dont la concentration en acétonitrile va en croissant au cours de l'éluant).

On peut, en mélangeant plusieurs solvants, ajuster le pouvoir d'éluant de la phase mobile. (Ali L., 2012; Ladram A., 2012).

IV. 1. 3. 7 Détecteurs

Le détecteur est placé à la sortie de la colonne chromatographique et doit être capable de détecter les composés qui sortent de la colonne. Le signal est converti en impulsion électrique qui est transmise à l'enregistreur. Comme en chromatographie en phase gazeuse, les détecteurs utilisés en chromatographie liquide haute pression doivent posséder certaines qualités, dont les principales sont:

- une grande sensibilité
- une réponse linéaire sur une gamme de concentration élevée- une capacité à détecter le plus de produits possible. (Tranchant J., 1982; Salghi R., 2003).
- Les principaux détecteurs utilisés en HPLC sont :

IV. 1. 3. 7.1. Détecteur UV- visible

Il mesure l'absorption de la lumière par le produit à la sortie de la colonne (Audigié et al., 1995). Et opère à longueur d'onde constante, celle-ci ayant été fixée par l'opérateur. La lampe Deutérium est utilisée pour des longueurs d'ondes variant de 190-350 nm et la lampe à vapeur de mercure est utilisée à la longueur d'onde non variable de 254 nm.

Pour que ce type de détecteur soit utilisable, il faut que:

- ❖ le produit à détecter absorbe la lumière à une longueur d'onde accessible à l'appareil, et que son coefficient d'absorption soit suffisamment grand

la phase mobile n'absorbe pas la lumière à la longueur d'onde choisie par l'opérateur. (Brouillet P., 2002; Ali L., 2012).

La Figure 10, représente un détecteur UV.

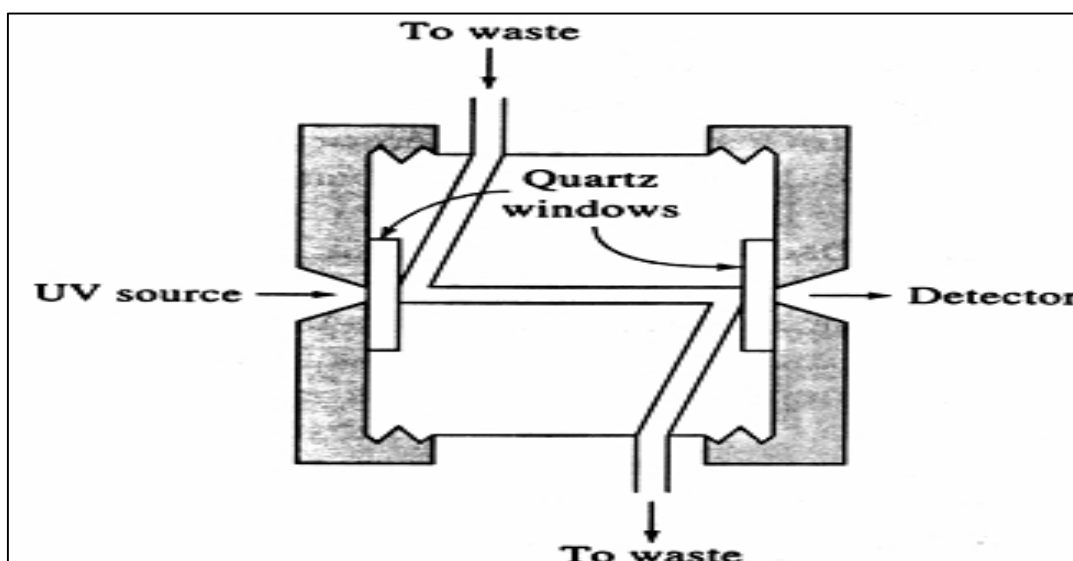


Figure10 : le détecteur UV. (Cerm.,2000;Skoog W.,1997).

IV. 1. 3. 7.2. Détecteur a indice de réfraction

Le détecteur mesure l'indice de réfraction du liquide sortant de la colonne. C'est un détecteur universel puisque l'indice de réfraction de l'éluant est modifié lorsqu'un composé, quel qu'il soit, sort de la colonne. Il donne une réponse similaire pour les composés de la même famille (ex. : sucres), mais son principal inconvénient est sa faible sensibilité. (Anonyme 1.,2014,Salghi R., 2003).

Ce détecteur exclut les variations de la composition de la phase mobile ; il n'est donc possible de travailler qu'en mode isocratique avec ce détecteur.

Les données sont collectées par l'intermédiaire soit d'un intégrateur ou d'une station d'acquisition. (Ali L., 2012; Safi M.,2008).

IV. 1. 3. 8. Enregistreurs

Les enregistreurs sont les mêmes que ceux utilisés en chromatographie en phase gazeuse. Les logiciels d'application, comme le Millennium, sont également utilisés en HPLC.(Salghi R., 2003).

Conclusion générale

Lors du traitement antibactérien et antiparasitaire appliqué au niveau des ruches et les forets, certains antibiotiques se concentrent au niveau du pollen, la cire et la gelée royale et le miel. Qui engendre une accumulation des résidus de ces antibiotiques qui peuvent avoir des conséquences néfastes sur les qualités organoleptiques et sanitaires(Maheshwai N .,2007).

Il ressort de notre étude qu'il est indispensable de prendre des mesures strictes en matière de production apicole et de contrôle pour éviter la présence de résidus des ATB pouvant nuire à la santé du consommateur. Nous pensons que quelques mesures essentielles doivent être prises en urgence:

- le respect de la prescription du vétérinaire.
- Faire la destruction des colonies ou le double transvasement en place de l'utilisation des ATB pour éliminer la loque quelle soit américaine ou européenne.
- La recherche des résidus d'ATB doit être effectuée pour le miel avant la commercialisation (Brouillet P.,2002).

LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

1. Anonyme1.(2013).Abeille de France et l'apiculteur "Santé des abeilles" supplément au N° 755. décembre: p 45.
- 2.Anonyme2.(2014)
<http://chefsimon.lemonde.fr/produits/miel-proprietes.html>
- 3.Adm F(2003).,Etdrouillardl. Sulfamides etassociation.Encgcl Med.Chis Maladiesinfectieuses,8-004-A-10,;p9
- 4.Afssa A. (2002).Suivi des ventes de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques en France
- 5Afssa A. (2003). Rapport (French antimicrobialresistance monitoring inbacteria of animal origin).*Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments*. p 66
- 5.Aguilera-Luiz, M. M., J. L. Vidal, R. Romero-Gonzalez and A. G. Frenich, (2008). "Multi-residue determination of veterinary drugs in milk by ultra-high-pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry". *Journal of Chromatographie A* 1205, pp 10-16.
- 6.Alered B.(1970).Les maladies et parasite des abeilles. vigot frères éditeur . paris.6eme édition: p 486.
- 7.Andredakis S, Saridaki-PapakonstadinouM,Burriel A. and Tsachev I.(2006) Determinationof tetracycline residues in Greek honey, *Trakia J. Sci.* 4 (1), P33-36.
- 8.ArchanbaudM.(2009). La boratoire Bactériologie- Hygine CHU RanguéilToulouse.Audigié CL, Dupont G, Zonszain F .Principes de méthodesd'analyse biochimiques,Doin Editeurs Paris tome 1, p 44.
- 9.Avril J L., Fauchère J L.,(2002). Bactériologie générale et médicale. Ed Ellipses. P : 141.
- 10.Bertrand E.(1997) . La conduit du rucher. paris Edition PAYOT LAUSSANNE-.
- 11.Biri M.(2005).l'élevage moderne des abeilles. Manuel pratique. Paris Edition DEVECCHI SA-:p91-321.
- 12.Biri M.(1989).Le grand livre des abeilles. Edition VECHI.
- 13.Biri M.(1999).le grand livre des abeilles. l'apiculture moderne. Paris Edition devecchi:p75.

14. Black W. (1984). The use of antimicrobial drugs in agriculture. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 62, (8), p1044-1048
13. Boucena H, Nasri CH. (2005). Elevage artificiel des reines des abeilles. Mémoire
14. Boudiaf .H (2006). Optimisation des paramètres de détection et de Quantification des résidus d'antibiotiques dans le miel. Mémoire pour l'obtention du diplôme de docteur en médecine vétérinaire département des sciences vétérinaires ELkhroub- Canstantine, 112 p
15. Boultif L (2009). Optimisation des paramètres de détection et de quantification des résidus d'antibiotiques dans le lait par chromatographie liquide haute performance (hplc). Mémoire pour l'obtention du diplôme de Magister en médecine vétérinaire département des sciences vétérinaires ELkhroub- Canstantine, 141 p
16. Brouillet P. (2002). Résidus de médicaments dans le miel et tests de détection
Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires, 15, p171
17. Brouillet P. (2002). Les tests rapides de détection des antibiotiques dans le miel
Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires, 15, p183-189
18. Burgat-Sacaze V, Petit C. (1983). Antibiothérapie intramammaire : notions pratiques de pharmacocinétique. *Rec. Méd. Vét.*, 159, (6), p561-573
19. Burgot G et Burgot J-L .(2002). Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications. Méthodes chromatographiques, électrophorèses et méthodes spectrales :p 26, 27
20. Brudzynski k. (2006). Effect of hydrogenperoxide on antibacterialactivities of Canadian honeys. *Canadian journal of microbiologie*, volume52:p1228-1237
21. Burgat-Sacaze V. (1981). Risque d'accidents allergiques dus aux résidus *Rec. Méd. Vét.*, 157, (2), p187-190.
22. Caillas A. (1974). Le rucher de rapport, les prduits de la ruche. Traité pratique d'apiculture moderne. Edition . syndicat national d'apiculture . Paris:p497.
23. Cerniglia C.E., Kotarski S. (2005). Approaches in the safety evaluations of veterinary antimicrobial agents in food todetermine the effects on the human intestinal microflora. *Journal of veterinaryPharmacology and Therapeutics*, , 28, (1) :p3-20
24. Chauvin C., Madec F., Le Bouquin S., Sanders P. (2002). Analyse pharmaco-épidémiologique de l'utilisation des antibiotiques. Relation avec larésistance aux antibiotiques. *Bull. Acad. Vét. de France*, 155, p277-282
25. Chauvin R. (1968). L'abeilles et la fleur in traite de biologie de l' abeille (T3). Edition Masson et Cie, Pans-:p95,286-7,293-4-9,304-6-7.
26. Chauvin R. (1988). Traité de biologie. (tome 1 et 3) .paris. Edition MASSON

27. Châtaigner B et Stevens A (2003)

Investigations sur la présence de résidus d'antibiotiques dans les viandes

Commercialisées à DAKAR, Institut Pasteur de DAKAR, Projet PACEPA p12.

28. Corpet D.E., Brugere H. (1995). Résidus antibiotiques dans les aliments d'origine animale : conséquences microbiologiques, évaluation de la dose sans effet chez l'homme. *Revue Méd. Vét.* 146, (2): p73-82

29. Corpet D., Lumeau S. (1989). Effects of low levels of antimicrobials on drug resistant populations of intestinal bacteria in gnotobiotic mice. *Adv. Vet. Med*, 42, p27-34

30. Codex S. (1981). Norme Codex pour le miel: p1-6.

31. Chebira B. (2009). optimisation des paramètres de détection et de quantification des résidus d'antibiotiques dans le miel par chromatographie liquide haute performance (HPLC). Thèse magister en médecine vétérinaire : surveillance de la chaîne alimentaire de la filière viande. Constantine : Université Mentouri, EL Khroub, p 91

32. Davfes R. J., Hendrick D. J., Pepys J. (1974). Asthma due to inhaled chemical agents: ampicillin, benzyl penicillin, 6 amino penicillanic acid and related substances, *Clinical & Experimental Allergy*. 4(3), p 227-247

33. Dancla E. (2008). Les antibiotiques en élevage

34. Dayan A. (1993). Allergy to antimicrobial residues in food : assessment of the risk to man. *Veterinary Microbiology*, 35, (3-4), p213-226

35. Demoly P., Bousquet J., Godard P., Michel F.B. (2000). Actualité des allergies médicamenteuses issues des antibiotiques et médicaments antirétroviraux. *Bull. Acad. Nationale Méd*, 184, (4), p761-774

36. Donadieu Y. (1978). Le miel, thérapeutique naturelle. Paris. 2^{ème} édition MALOINE -: p17-8, 20-5.

37. Donadieu Y et Marchiset C (1984). La cire. Paris Edition MALOINE, S.A -: p28.

38. Donadieu Y (2008) – Qu'est-ce que le miel ? [Date de consultation le 05.05.14], <http://www.01sante.com/xoops/modules/icontent/index.php?page=923>

35. Dziedzic E. (1988). Les résidus de médicaments vétérinaires anthelminthiques. *Thèse de Doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon*, n°99, 192p

36. Faculté des sciences RABAT-MAROC. pdf. mode d'action ATB cours pharmacologie

37. Fantaine M. (1988). Vade-mecum du vétérinaire. 1^{er} formulaire vétérinaire de pharmacologie de thérapeutique et hygiène - 15^{ème} édition office des publications universitaires. : p106-223.

38. Fergusson J.P., Baxter G.A., Mac Evoy J.D.G., Stead S., Rawling E., Sharman M. (2002). Detection of streptomycin and dihydro streptomycin residues in milk, honey and meat samples using an optical biosensor. *The Analyst*, 127, p951-956
39. Filali maltouf A., (2014). *Module de Génétique et Biologie Moléculaire – M21 .Elément 2: Biologie Moléculaire. Filière SVI - S6 Module de Génétique et Biologie Moléculaire – M21 Elément 2: Biologie Moléculaire* . Laboratoire de Microbiologie et Biologie Moleculaire. Université Mohamed V-Agdal. Faculté des Sciences B.P 1014-Rebat- Maroc p.83
40. Foucon J P (1992) .Précis de pathologie . paris. Edition FNOSAD: p256
41. Gauthier E .,(2006). Les antibiotiques : l'envers du miracle, page 1-3. <http://agora.qc.ca/mot.nsf/Dossiers/Antibiotique>. (Consulter le 03-02-2008).
42. Gout J.(1989). Le monde du miel et des abeilles. Paris. Edition Delachaux et Niestlé .S.A. Lansanne(Suisse)-A:p58.
43. Gogny M., Puyt J D., Pellerin J L .,(2001). Classification des principes actifs. L'arsenal thérapeutique vétérinaire, page 165- 168. Editions le point vétérinaire 2001.
44. Guzman A., Garcia C., Marin A.P., Willoughby C. and Demestre I. (2003). Developmental toxicity studies of the quinolone antibacterial agent irloxacin in rats and rabbits, *Arzneimittelforschung* 53, P121-125.
45. Gorla N., Ovando H. G., and Larripa I.(1999) .Chromosomal aberrations in human lymphocytes exposed in vitro to enrofloxacin and ciprofloxacin, *Toxicology Letters* 104(11),P 43-48
46. Gunes N., Cibik R., Gunes M.E. and Aydin L. (2008). Erythromycin residue in honey from the Southern Marmara region of Turkey, *Food Add. & Contam.:Part A*. 25(11):P 1313-1317.
47. Gysi. M (2006) Antibiotiques utilisés en production laitière en 2003 et 2004 Revue : suisse Agric. n°38 (4), p. 215-220.
48. Haughey S.A., Baxter C.A. (2006). Biosensor screening for veterinary drug residues
49. Hadeif L.(2009). optimisation des paramètres de détection et de quantification par chromatographie liquide haute performance (HPLC) résidus d'antibiotiques dans la viande. Thèse Magister en médecine vétérinaire : surveillance de la chaîne alimentaire de la filière viande . Constantine : Université Mentouri , EL Khroub: P 101
50. Hellali AK.(1999). Pharmacologie fondamentale et clinique à l'usage des étudiants en médecine. Edition ENAG: p 135.
51. Herbette G , Rosas R, Faure R ., (2002). Présentation de la HPLC, du couplage HPLC-RMN et de la cryosonde. Application au laboratoire de la police scientifique de

Marseille. Centre régional de résonance magnétique nucléaire de Marseille. Facultés des sciences techniques de Saint Jérôme-AIX -Marseille III:p2-13

52. Helali A ., (1999). Pharmacologie fondamentale et clinique à l'usage des étudiants en médecine Édition ENG, p. 135

53.Huchet E, Coustel J, GUINOT L.(1996).Les constituant chimiques du miel:méthodes d'analyses chimiques; département science de l'aliment:p5.

54.Huchet E., Coustel J., Guinot L (1996) – Les constituants chimiques du miel –

Date de consultation le 07.05.14

http://www.apiservices.com/articles/fr/chimie_miel.htm

55.Jolliet P, Fontaine M, Herlin B, Chambraud E. (1998). Pharmacologie, Antibiotiques et antituberculeux.Edition MASSON: p55 – 65.

56.Joly R.(1984). L'abeille et les produits de la ruches .Edition .RULLIER ZIRECCIO:p33.

57.Keck G 2. (1978). Métabolisme des médicaments et des toxiques 2-La distribution. Le point vétérinaire, volume 7, n 35 septembre 1987.

58.Keck G 3 (1978). Métabolisme des médicaments et des toxiques 3-La biotransformations. Le point vétérinaire, volume 7,

59.Keck G 4 (1978).Métabolisme des médicaments et des toxiques 4-L'elimination.Le point vétérinaire, volume 7, n 35 septembre 1987.

60.Koklu S., Yuksel O., Filik L., Uskudar O., Altundag K. Altiparmak E. (2003)

Recurrent Cholestasis Due to Ampicillin. *The Annals of Pharmacotherapy* 37(3),p 395-397

61Lebek G., Egger R.(1989).The effects of low levels of antibiotics on the selection of resistance in intestinalbacteria. In vitro observations.*Adv. Vet. Med.* 42: p21-26

62.Le chat P (2007).Pharmacologie, Service de pharmacologie Université Paris-VI.Edition DCEM:p307.

63.Libis E.(1971).L'apiculture pour tous .Paris. Edition Flammarion:p120-1-7,130-3,141.

64.Louveaux J.(1985) .Les abeille et leur élevage.2eme Edition OPIDA:p237.

65.Maheshwai N. (2007) .Are young infants treated with erythromycin at risk for developing hypertrophic pyloric stenosis, *Arch. Dis. Child.* 92 (3), 271–273.

66.Maryse V.(2008).Étude de l'abeille domestique et de son miel : présentation des miels corses, Université d'Aix-Marseille 2, (thèse)

67. Merad M., Merad R., (2001). Toxicité des antibiotiques. *Revue médecine du Maghreb* 2001, n°91, p. 17.
68. Masaki K et al. (2011). « *Royalactin induces queen differentiation in honeybees* »
69. Medroï P ET Ecolin. (1982). Les abeilles comment les choisir et les protéger de leur ennemis. Paris. Édition J B BAILLIÈRE.
70. Milhaud G., Person J.M. (1981). Evaluation de la toxicité des résidus d'antibiotiques dans le miel. *Rec. Méd. Vét.* p179-185
71. Moulin. G (1999). Code de bon usage des antibiotiques en élevage
Conférence : the use of antibiotics in animals ensuring the protection of public health
Mars 1999 OIE, paris, France.
72. Morin R., Uhland C., Lévesque G., (2005). L'utilisation des antibiotiques en pisciculture au Québec, page 6. *L'AQUICOLE* Vol. 9 no3.
73. Mourot D., Loussouarn S. (1981). Sensibilité des ferments lactiques aux antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire. *Rec. Méd. Vét.* p175-177
74. Moulin. G (1999). Code de bon usage des antibiotiques en élevage
Conférence: the use of antibiotics in animals ensuring the protection of public health
Mars 1999 OIE, paris, France.
75. Nouws J.F.M. (1990). Injections sites and withdrawal times. *Ann. Rech. Vet.*, , 2, p145-150
76. Nicolas V. (2008) .dans Abeilles et biologie
77. Ortelli D., Edder P. and Corvi C. (2004) .Analysis of chloramphenicol residues in honey by liquid chromatography–tandem mass spectrometry, *Chromatographia* 59 (1) p61-64.
78. Oms (2001). AntibioGramme en médecine vétérinaire : standardisation de l'antibiotique à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS 1^{er} édition ministère de la santé et de la population Algérie.
79. Page S. (1991). Chloramphenicol. 1. Hazards of use and the current regulatory environment. *Australian Veterinary Journal*, , 68, (1), p1-2
80. Philippe M. (1993). Le guide de l'apiculture. Edition . EDISUD: p206.
81. Puyt . J-D, Guérin-Faubleé . V (2006). Médicaments anti-infectieux en médecine vétérinaire. Bases de l'antibiothérapie: p 1-27.
82. Rossat-Mignot G. (1995). Les limites maximales de résidus des médicaments vétérinaires : réglementation et conséquences. *Thèse de Doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon*, , n°45, 92p
83. Sabot J. (1990). Traité apiculture moderne et simplifié pour le débutant et l'amateur

- 84.**Sachot E., Puyt J.D.(2001).Les différents calculs du temps d'attente.*Le Point Vétérinaire*, , 32, (212), p48-51
- 85.**Sanders P. (1999).Traitement thérapeutique et antibioresistance article du point vétérinaire volume 30, N198.
- 86.**Saux MC.(2006).Pharmacocinétique et modalité d'administration des antibiotiques.Laboratoire de Pharmacocinétique et de Pharmacie Clinique EA 525Université V. Segalen Bordeaux 2 et Pharmacie centrale hôpital Haut-Lévêque CHU de Bordeaux.7èmes JNI 08.06.06, p3.
- 87.**Scippo M L. (2008).Introduction à la qualité et la sécurité des aliments Technologie, sécurité et qualité des aliments, introduction à la qualité et la sécurité desAliments : aspects chimiques, 1er Master Méd. Vét. VETE1023-1,Faculté de médecine vétérinaire, université de Liège ,p 8- 32
- Sylvie G-L.,(2005).Laurence Du Tilly et Iris-L. Sullivan, Le miel : Un livre gourmand, Minerva p 160
- 88.**Thompson H. M., Waite R.J., Wilkins S., Brown M. A., Bigwood T., Shaw M., Ridgway C.,Sharman M.(2005).Effects of European fowlbrood treatment regime on oxytetracycline levels in honey extracted from treated honeybee (*Apis mellifera*) colonies and toxicity to brood, *FoodAdditives & Contaminants: Part A*. 22(6), p573 – 578.
- 89.**Vannier P.(1998):Au pays du miel. Edition Flammarion: p 119.
- 90.**Veyssier P.(1988).Effets secondaires des antibiotiques.*Rev. Prat. Médecine Générale*, 3: p15-19
- 91.**White J,Donner L. (1980).Honey composition and properties.Beekeeping in the United States. Agriculture handbook number:p335.
- 92.**Zanditenas M. (1999).L'usage des antibiotiques par les vétérinaires praticiens : enjeu sanitaire et socioéconomique,conséquences pour la santé publique et évolution prévisible de la profession vétérinaire.*Thèse de Doctorat vétérinaire*, Créteil, , n°88, 124p
- 93.**Zeghilet N. (2009).optimisation des paramètres de détection et de quantification des résidus d'antibiotiques dans la viande blanche par chromatographie liquide haute performance (HPLC).Thèse Magister en médecine vétérinaire : surveillance de la chaîne alimentaire de la filière viande . Constantine : Université Mentouri , EL Khroub . P 181 .

Les site de internet :

.Anonyme 1 .,(2014)

[www . oie.int](http://www.oie.int) • 2014 • Contact : media@oie.int

.Anonyme2.,(2014).

<http://eaduniv-angers.fr/Page2/COURS/6CoursDEUST/CHROMATOGRAPHIE> ,

.Anonyme 3., (2014)

www.ac-nancy-metz.fr/enseign/Physique/CHIM/Jumber/Default.htm - 17k .pdf

Tableau 5 : calendrier apicole (Sabot, 1990 ; Anonyme 2, 1994)

MOI	A FAIRE	A NE PAS FAIRE
MARS	<ul style="list-style-type: none"> -Un calendrier des opérations pour les 04 mois à venir. -Changement des plateaux de vol. -Premières visites. -Nourrisse ment. -Commander une jeune reine. -La superposition. -Luttez contre les moisissures. -Disperser les colonies faibles. 	<ul style="list-style-type: none"> -Ouvrir trop tôt dans la fraîcheur. -Nourrir trop tôt au sucre liquide. -Nourrir trop tôt abondement.
AVRIL	<ul style="list-style-type: none"> -Donner de l'eau. -Centrer le nid à couvain. -Placer les premières hausses. -Essaimage artificiel (avec des cellules naturelles). -Surveillez l'essaimage naturel. -Elevage des reines. -Agrandir les colonies en démarrant avec des cadres bâtis. -Insertion des cadres sains de cire gaufrée. -réunion des colonies faibles. -Supprimer les cadres noirs. -Nourrisse ment stimulant. -Remplacement des rayons défectueux 	<ul style="list-style-type: none"> -Trop nourrir. -Mettre des cires gaufrées immédiatement au bord du nid à couvain. -Mettre une cire gaufrée au centre du nid à couvain.
MAI	<ul style="list-style-type: none"> -Surveillez la floraison. -Récupération des essaims 	<ul style="list-style-type: none"> -Nourrir les ruches de production. -Ne pas faire de sélection.

	<p>naturels.</p> <ul style="list-style-type: none"> -Aider les colonies faibles. -Placer les trappes à pollen à l'entrée des ruches. -Transhumer les ruches. -Placer la deuxième hausses (si possible). -Elevage des reines. -Nourrir les essaims. -Agrandissement des habitations. -Prévention des essaims secondaires. -Miel en section. -Récolte du printemps. 	<p>-faire des essaims avec des souches essaime usés.</p>
<p>JUIN</p>	<p>Transhumer les ruches.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Supprimer les trappes à pollen. - Elever les reines. - Extraction du miel. - Méfiez vous encore des essaims naturels. - Récolte et extraction du miel (ROMARNI). - Dégagez les entres des ruches envahies par l'herbe. - Des essaims artificiels. - Nourrir chaque semaine les essaims. - Nourrir deux fois les ruches sans provision. 	<ul style="list-style-type: none"> - Nourrir les ruches déjà pourvues en miel. - Nourrir les ruches porteuses de hausses.

	<ul style="list-style-type: none"> - Marquer les reines. -Aérations. 	
JUILLET	<ul style="list-style-type: none"> -gare à la fausse teigne. -Aération (intercaler entre corps de ruche et plateau). -Donnez à boire. -récoltez le miel. -renouvellement des défectueux par des cadres bâtes. 	
AOUT	<ul style="list-style-type: none"> -donnez à boire. -vaporiser par temps chaud. - aération. -nourrisse ment stimulant, nourrisse ment d'été. -surveillez les parasites poux (BRAULA COECA) enfumer les colonies au moyen de déchets de TABAC 	<ul style="list-style-type: none"> - nourrir le jour (risque pillage).
SEPTEMBRE + OCTOBRE :	<ul style="list-style-type: none"> - Eviter l'ouverture et déplacement des ruches. - reuferer les colonies (les plus petites c'est à dire moins de 05 cadres) - surveillez l'état sanitaire. - avoir de jeunes reines (02 ans). 	<ul style="list-style-type: none"> - hiverner les faibles ou malades. - laisser les lanières de traitement antivarroa tout l'hiver. - nourrir les colonies, sirop léger. - pillage.
NOVEMBRE + DECEMBRE +	<ul style="list-style-type: none"> -respecter les calmes des abeilles (respecter le calme). -vérifier que les toits sont bien place. 	<ul style="list-style-type: none"> -Ouvrir les ruches (respecter les calmes des abeilles). -Donner de la nourriture liquide.

JANVIER	<ul style="list-style-type: none"> -enlever les obstacles (neige, branche, ronces). : -Nourrir au CAMDI (sucre pâte). -entretenez votre matériel (revue du matériel). -calfeutrer les ruches. -placer les grilles d'entres (éviter le sphinx tête de mort). -sur élevez légèrement l'arrière des ruches. -déblayer la neige sur le trou de vol et le plateau. 	
FEVRIER	<ul style="list-style-type: none"> -soupeser les ruches à bout de bras. -Nettoyer le rucher. -Nourrir au candi. -Recaler, déplacer de quelques mètres (sans trop secouer). -Prépare les ruchettes. (Matériel). -Sélection des souches (reproduction, douces, résistantes aux maladies, hygiéniques). -Ouvrez les entrées des ruches (régions côtières). -Prevoier la boisson. -Déplacer les ruches. -Surveiller l'acariose. -Passez vos commandes. 	<ul style="list-style-type: none"> -Ouvrir les ruches. -Les déplacer. -Nourrir au sirop

Résumé:

L'utilisation des ATB en apiculture est très importante afin de lutter contre les maladies infectieuses des abeilles mais ces ATB peuvent laisser des résidus dans les produits apicoles (le miel, la gelée royale) ce qui peut constituer un danger pour le consommateur.

L'objectif de cette étude est de déterminer les effets toxiques des résidus des antibiotiques dans le miel sur la santé du consommateur algériens pour cela nous avons procédé à une étude approfondie sur l'apiculture, l'abeille et ses maladies et les produits de la ruche. Nous avons étudié aussi les antibiotiques utilisés en apiculture puis nous avons entamé les différents effets toxiques liés à la présence des résidus dans le miel pour ce fait, il est indispensable de recourir à des méthodes fiables pour la détection et la quantification de ces résidus tel que : Charm test et l'HPLC afin de protéger la santé publique.

Mots clés:

Abeilles- Loque américaine- Loque européenne- Résidus des antibiotiques- Problèmes d'allergies- Antibiorésistance - Toxicité- Méthodes de détection- HPLC.

المخلص

إن استعمال المضادات الحيوية في مجال تربية النحل مهم جدا للقضاء على الأمراض البكتيرية التي تصيب النحل لكن هذه المضادات تترك بقايا في منتجات النحل -عسل، غداء الملكات- و التي قد تشكل خطر على صحة المستهلك. - الهدف من هذه دراسة هو تحديد الآثار السمية للبقايا المضادات الحيوية على صحة المستهلك الجزائري. لهذا قمنا بدراسة معمقة على مجال تربية النحل، النحلة و أمراضها , و منتجات الخلية , كذا قمنا بدراسة المضادات الحيوية المستعملة في مجال تربية نحل ثم تناولنا مختلف الآثار السلبية و السمية المتعلقة بتواجد بقايا المضادات في العسل و لهذا وجب اللجوء إلى طرق و تقنيات فعالة للكشف و تكميم هذه البقايا. مثل: كاشف شارم و الكروماتوغرافيا السائلة العالية الفعالية.

الكلمات المفتاحية :

النحل، الأمريكية، الأوروبية، بقايا المضادات الحيوية، مشاكل الحساسية، مقاومة البكتيرية، السمية، طرق الكشف، الكروماتوغرافيا السائلة العالية الفعالية.