

II. Présentation de la Division de la pharmacie et des intrants vétérinaires (DPIV)

Le médicament vétérinaire est un facteur très important de la santé du cheptel. Son usage doit être strictement contrôlé car, s'il doit avant tout être efficace, il ne doit en aucun cas constituer un risque ni pour l'animal, ni pour le consommateur des denrées animales ou d'origine animale, ni pour l'environnement. Les médicaments vétérinaires ne peuvent donc être utilisés qu'après avoir reçu une autorisation de mise sur le marché (AMM) de la part de la division de la pharmacie et des intrants vétérinaires (DPIV). Cette autorisation ne peut être délivrée par ce service compétent qu'après une étude approfondie du dossier, accompagnée d'une analyse des produits soumis à autorisation.

La DPIV relevant de l'Office national de sécurité sanitaire des produits alimentaires (ONSSA) vient d'être accréditée en tant qu'organisme d'inspection de type A pour réaliser les inspections dans le domaine de la pharmacie vétérinaire. Ce dernier a reçu le certificat de l'accréditation NM ISO/CEI 17025 par le Service marocain d'accréditation (SEMAC) relevant du ministère de l'industrie, du commerce et des nouvelles technologies.

Ses principales missions et attributions

Le Service du Contrôle et des Expertises est un service public attaché à la Division de la Pharmacie et des Intrants vétérinaires de la Direction des Services Vétérinaires de l'ONSSA. Ses principales missions et attributions sont :

- ◆ Expertise analytique et microbiologique des médicaments vétérinaires, y compris les vaccins, les produits biocides d'élevage et les additifs de l'alimentation animale.
- ◆ Analyse des résidus de médicaments vétérinaires dans les denrées animales et d'origine animale.
- ◆ Contribution aux travaux de recherches dans le domaine de la pharmacie vétérinaire et de la recherche des résidus de médicaments vétérinaires.
- ◆ Diagnostic de certaines maladies animales (rage et IAHP).

Les différentes sections du service :

Le service est organisé en diverses sections pour une meilleure gestion de l'activité :

- ◆ Section Chimie :
 - Contrôle analytique du médicament vétérinaire (antiparasitaire, antibiotique, vitamines, vaccins, ...).

- Recherche des résidus de médicaments vétérinaires dans les denrées animales et d'origine animale.

- ◆ Section Microbiologie.
- ◆ Section Diagnostic.
- ◆ Section Animalerie.
- ◆ Section Maintenance et Métrologie. (3)

III. Généralités sur les résidus des médicaments vétérinaires

1. Généralités sur les médicaments vétérinaires :

Un médicament vétérinaire est « toute substance appliquée ou administrée à tout animal producteur de nourriture, tels que les animaux producteurs de viande ou de lait, la volaille, les poissons ou les abeilles, que ce médicament soit utilisé dans un but thérapeutique, prophylactique ou de diagnostic, ou pour la modification de fonctions physiologiques ou du comportement ». (4)

Le médicament contient :

- ◆ Un **principe actif**, substance d'origine chimique ou naturelle caractérisée par un **mécanisme d'action curatif ou préventif** précis dans l'organisme,
- ◆ **Des excipients**, substances d'origine chimique ou naturelle qui facilitent la fabrication et l'utilisation du médicament mais ne présentent pas d'effet curatif ou préventif.

Les médicaments vétérinaires se présentent sous plusieurs formes. C'est ainsi qu'on distingue les formes :

- Solides (les poudres, les comprimés, les granulés, etc.),
- Liquides (les collyres, les solutions injectables, etc.),
- Pâteuses (les pommades, les pâtes dermiques, etc.)
- Gazeuses (les sprays, etc.).

Chaque médicament vétérinaire possède une activité (ou plusieurs) appropriée, et une efficacité contre certaines maladies, on trouve parmi les médicaments les plus utilisés : les antibiotiques prenant l'exemple de l'enrofloxacin, les sulfamides et les quinolones qui font l'objet de ce projet.

Après l'étape de la recherche et développement, puis celle de l'enregistrement, vient la production. Elle fait appel aux principes de l'assurance qualité et notamment aux bonnes pratiques de fabrication (BPF). Le médicament vétérinaire est un produit qui conformément à la réglementation, doit subir de nombreux contrôles de façon à garantir un produit de qualité.

La qualité des médicaments vétérinaires est assurée par les conditions particulières de leur fabrication, conditionnement, détention et commercialisation, conformément aux dossiers agréés par la commission mixte (Ministère de l'Agriculture, du Développement Rural et des Pêches Maritimes - Ministère de la Santé) d'autorisation de mise sur le marché. Elle est due aussi à l'action de l'inspection conjointe (Ministère de l'Agriculture, du Développement Rural et des Pêches Maritimes - Ministère de la Santé) des établissements pharmaceutiques vétérinaires.

2. Généralités sur les antibiotiques :

Les antibiotiques sont des médicaments utilisés pour traiter et prévenir les infections bactériennes. Ils agissent sur les bactéries de diverses manières. Certains empêchent la formation de leurs enveloppes protectrices (membrane et paroi). D'autres substances agissent en bloquant certaines réactions chimiques indispensables à leur métabolisme. Enfin, certains antibiotiques empêchent la traduction de leur information génétique (leurs gènes) en protéines.

L'utilisation d'antibiotiques comme médicaments vétérinaires est un problème de santé publique pour le consommateur. En effet, ils sont susceptibles d'être à l'origine d'effets néfastes tels que :

- ◆ La sélection de bactéries résistantes d'origine animale directement par le traitement antibiotique appliqué, et la transmission de cette résistance via l'alimentation, à des bactéries présentes dans le tube digestif de l'homme ;
- ◆ La modification de la flore intestinale humaine, directement par l'action de résidus d'antibiotiques ;
- ◆ A court terme, les réactions immédiates d'hypersensibilité ou à long terme, les phénomènes de mutagenèse et de cancérogenèse liés à la présence des résidus.
- ◆ L'usage abusif ou excessif des antibiotiques accélère le phénomène de la résistance des bactéries, de même que de mauvaises pratiques de prévention et de lutte contre l'infection. (11)

3. Définition des résidus :

Toutes les substances pharmacologiquement actives, exprimées en mg/kg ou g/kg sur la base du poids frais, qu'il s'agisse de substances actives, d'excipients ou de produits de dégradation. (6)

a. Selon l'OMS

Un résidu de médicament vétérinaire est «toutes les substances médicamenteuses, ainsi que leurs métabolites qui subsistent dans les viandes ou les autres denrées alimentaires d'origine animal auquel le médicament en cause a été administré conformément au mode d'emploi recommandé». (7)

b. Selon le comité du codex alimentarius

Un résidu de médicament vétérinaire est défini par «les composés souches ou leurs métabolites ainsi que les impuretés associées au médicament vétérinaire concerné, présents dans toute partie comestible du produit animal». (8)

Les résidus peuvent parfois être décelés dans les produits d'origine animale. Cela peut entraîner :

- Des effets immédiats très spécifiques comme par exemple un effet pharmacologique, similaire ou différent de celui produit chez l'animal, une allergie ou une sensibilisation.
- Des effets à plus long terme par ingestion régulière de faibles quantités d'une même substance comme par exemple un effet cancérigène.
- Le développement d'antibiorésistance par sélection de bactéries devenues résistantes aux antibiotiques dans la flore intestinale du consommateur.
- Le risque de perte d'efficacité de certains médicaments en raison d'une accoutumance de l'organisme des parasites.

La présence des résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale est préoccupante en raison des risques toxicologiques pour le consommateur et du risque de non-conformité aux exigences réglementaires lors d'échanges commerciaux.

4. Temps de retrait ou délai d'attente

Pour chaque médicament vétérinaire on parle du délai d'attente « Il s'agit du délai entre la dernière administration d'un médicament et le prélèvement de tissus ou produits comestibles sur un animal traité, garantissant que la teneur des résidus de médicament dans les aliments est conforme à la limite maximale de résidu pour ce médicament vétérinaire ». Le temps d'attente est déterminé en fonction des limites maximales de résidus et en se basant sur des études de déplétion tissulaire.⁽⁹⁾

5. La limite maximale de résidus

La limite maximale de résidu est la «Concentration maximale de résidu résultant de l'emploi d'un médicament vétérinaire (exprimé en mg/kg ou en µg/kg sur la base du poids frais)».⁽¹⁰⁾

IV. Les quinolones

1. Généralités

La famille des quinolones ou acide pyridine- β -carboxylique représentent l'une des principales classes d'agents au sein de l'arsenal antimicrobien actuel⁽¹²⁾, elles forment une large classe d'antibactériens de synthèse.

Les premières quinolones développées ont eu une application clinique limitée (infections urinaires) due à leur faible absorption lors d'une administration orale, à une activité antibactérienne modérée, à une liaison aux protéines importantes et à une toxicité importante. Dans les années 1980, l'addition d'un atome de fluor en position 6 et la substitution pipérazine en position 7 a augmenté l'activité des ces composés ainsi que leur absorption orale et leur distribution dans les tissus.

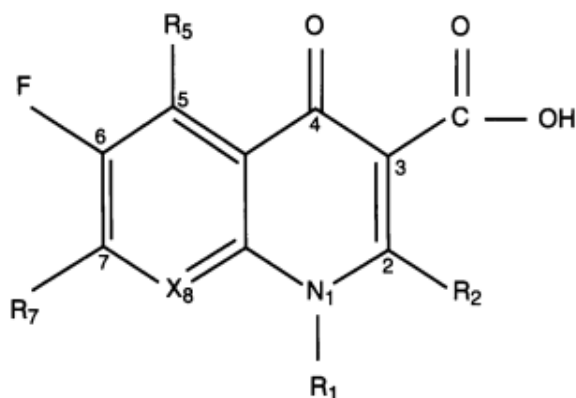


Figure 1 : Structure des quinolones ⁽¹³⁾

Les quinolones sont classées en quatre générations basées sur leur activité et leur spectre d'action. En médecine vétérinaire, seules les 3 premières générations de quinolones sont utilisées, les fluoroquinolones de 4ème génération étant réservées à la médecine humaine ⁽¹⁴⁾:

- Les quinolones de première génération: comme l'acide nalidixique ou l'acide oxolinique, du fait de leurs faibles concentrations sériques, étaient réservées aux infections urinaires.
- Les quinolones de deuxième génération: qui sont des fluoroquinolones, comme la ciprofloxacine, la norfloxacine ou l'ofloxacine en médecine humaine et la flumequine en médecine vétérinaire ont une activité plus importante sur les bactéries à Gram négatif ainsi que contre certains pathogènes atypiques. Ces substances ont une bonne

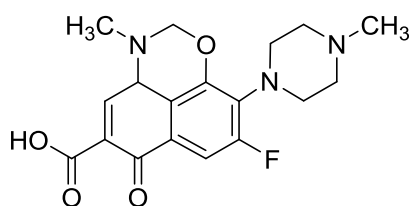
biodisponibilité orale. Leur principal inconvénient est leur efficacité limitée envers les bactéries à Gram positif.

- Les fluoroquinolones de troisième génération: comme la gatifloxacine, la grepafloxacine, la levofloxacine, la moxifloxacine ou la sparfloxacine en médecine humaine et la danofloxacine, l'enrofloxacine, la difloxacine, la sarafloxacine, l'orbifloxacine, l'ibafloxacine ou la marbofloxacine en médecine vétérinaire ont une activité étendue aux bactéries à Gram positif.
- Les fluoroquinolones de quatrième génération: comme la gémifloxacine ou la trovafloxacine ont un spectre d'activité étendu aux bactéries anaérobies.

2. Présentation des molécules recherchées

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à certaines quinolones ayant des structures différentes, utilisées en qualité antibactérienne. Parmi les produits qui faisaient l'objet de ce mémoire, on peut citer :

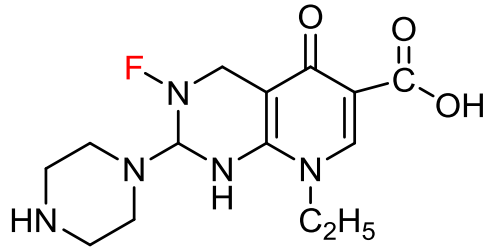
- Marbofloxacine: Elle présente plusieurs groupements d'intérêts. Les deux oxygènes, communs à toutes les quinolones, permettent la liaison à la cible bactérienne. Le fluor permet une activité sur les bactéries à Gram positif car il facilite le passage de la membrane de ces bactéries. La présence du cycle pipéridinique et du groupement méthyl sur celui-ci permettent d'élargir son activité aux Pseudomonas, Streptocoques ainsi qu'aux Mycoplasmes. Le cycle oxadiazine permet quant à lui d'allonger la demi-vie de la molécule et d'augmenter sa biodisponibilité⁽¹⁴⁾.



Marbofloxacine

Figure 2 : structure chimique du Marbofloxacine

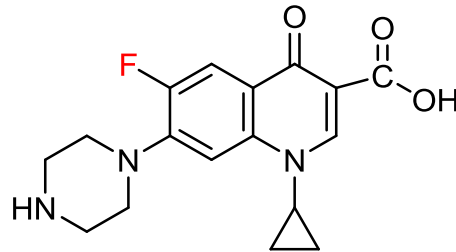
- Norfloxacine: Nouvelle molécule qui présente un spectre élargi à Pseudomonas aeruginosa et à certaines bactéries à Gram positif et une activité plus importante contre les bactéries à Gram négatif. Elle est peu liée aux protéines plasmatiques, offre une meilleure absorption ainsi qu'une excellente distribution tissulaire⁽¹⁵⁾.



norfloxacin

Figure 3: structure chimique du Norfloxacin

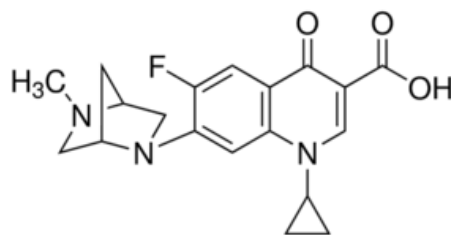
- Ciprofloxacin : Possède une activité plus importante sur les bactéries à Gram négatif ainsi que contre certains pathogènes atypiques. Cette substance a une bonne biodisponibilité orale. Son principal inconvénient est son efficacité limitée envers les bactéries à Gram positif. (14)



ciprofloxacin

Figure 4 : structure chimique du ciprofloxacin (12)

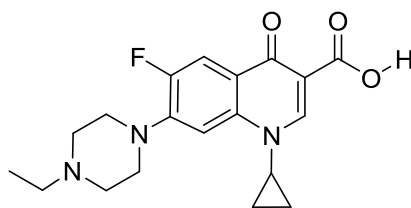
- Danofloxacin : cette molécule a été étudiée pour une utilisation dans les bovins, porcins, poulets et moutons pour le contrôle d'infection bactérienne respiratoire et entérique. C'est très efficace contre de nombreux Gram positif et négatif pathogènes ainsi que des mycoplasmes (16)



Danofloxacin

Figure 5 : Structure chimique du danofloxacin (17)

➤ Enrofloxacin :



Enrofloxacin

Figure 6 : structure chimique de l'enrofloxacin

- Sarafloxacin : il s'agit d'un antibiotique Fluoroquinolone, utilisée pour le traitement et le contrôle des infections bactériennes chez les volailles causées par *Escherichia coli* et *Salmonella* spp.

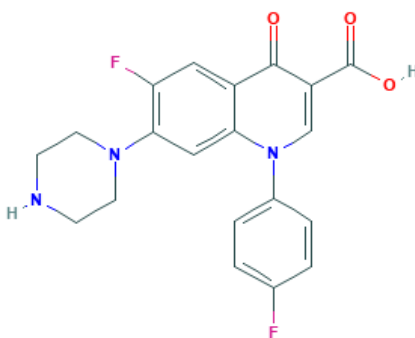


Figure 7 : structure chimique du sarafloxacin⁽¹⁸⁾

- Difloxacin : Utilisée comme un traitement des infections respiratoires chroniques causées par des souches sensibles d'*Escherichia coli* et de *Mycoplasma gallisepticum* (poulets et dindes), traitement des infections causées par *Pasteurella multocida* (dindes)

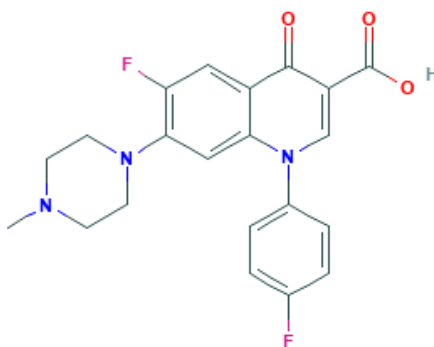
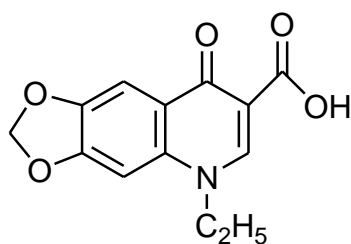


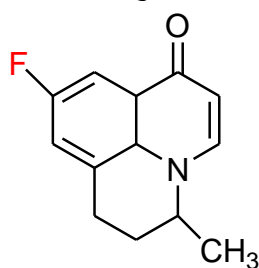
Figure 8 : structure chimique du Difloxacin⁽¹⁹⁾

- Acide oxolinique et Flumequine : sont deux antibiotiques de synthèse appartenant à la famille des quinolones, l'acide oxolinique est classé parmi les quinolones de première génération qui ne possèdent pas d'atome de fluor dans leur formule brute.



acide oxonilique

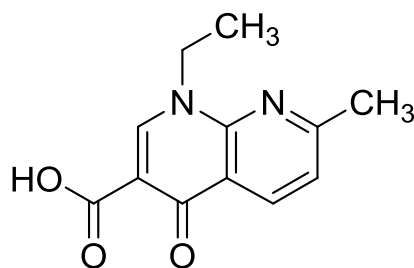
Figure 9: structure chimique de l'Acide oxolinique₍₂₀₎



fluméquine

Figure 10 : structure chimique du Flumequine₍₂₀₎

- Acide nalidixique : La première quinolone, largement utilisée, a été découverte par hasard comme sous-produit de la synthèse de la chloroquine. Il est efficace pour les infections des voies urinaires car il est concentré dans l'urine, il a peu d'activité systémique₍₁₉₎.



Acide nalidixique

Figure 11: structure chimique de l'Acide nalidixique₍₁₅₎

3. Principaux risques sanitaires des quinolones

Les médicaments vétérinaires sont utilisés pour prévenir ou traiter certaines maladies, néanmoins, on ne peut pas parler de médicaments sans parler des risques sanitaires.

Des résidus d'antibiotiques sont parfois retrouvés dans le lait ou la viande. Après un traitement antibiotique préventif ou curatif des animaux, l'éleveur ne respecte pas le

délai d'attente prescrit par la législation. Chez certains animaux il est possible de retrouver des résidus antibiotiques même après le temps d'attente officiel mais ce risque est très faible. Les résidus d'antibiotiques présents dans les denrées animales représentent un danger dont les risques associés sont d'ordre allergique, toxicologique, microbiologique et industriel. Ces résidus peuvent notamment perturber la flore intestinale humaine. En effet, même à très faibles doses les antibiotiques ingérés ont un impact sur l'écologie de la flore intestinale. (14) L'antibiorésistance est devenu l'un des problèmes majeurs en santé à la fois humaine et animale, Il est donc du devoir du vétérinaire de lutter contre ces résistances, notamment en adoptant une antibiothérapie raisonnée et prudente. Ainsi, lors de la mise en place d'une thérapeutique antibiotique, le choix de la molécule mais aussi la décision d'une posologie adaptée s'imposent. (15)

4. Les limites maximales en résidus et les concentrations de travail

Les limites maximales en résidus exprimées en $\mu\text{g}/\text{kg}$ des molécules recherchées, des matrices muscle blanc, muscle rouge et poisson. Dans le cas où la molécule ne possède pas une LMR, le laboratoire fixe une concentration de travail LWC.

Tableau 1: Les limites maximales de résidus ou la concentration de travail (selon le règlement (UE) No 37/2010). (21)

Famille	Analyte	LMR ($\mu\text{g}/\text{kg}$)				LWC
		Ovin	Bovin	Volaille	Poisson	
<i>Quinolones</i>	Marbofloxacin	150	150	150	150	-
	Norfloxacin	-	-	-	-	30
	Ciprofloxacin	100	100	100	100	-
	Danofloxacin	200	200	200	200	-
	Enrofloxacin	100	100	100	100	-
	Sarafloxacin	-	-	-	-	30
	Difloxacin	400	400	300	400	-
	Acide oxolinique	100	100	100	100	-
	Acide nalidixique	-	-	-	-	50
	Flumequine	200	200	400	600	-