

**Influence éventuelle de la chlortétracycline,  
mélangée à la nourriture du poulet  
comme adjuvant d'alimentation,  
sur la teneur en cholestérol des principaux organes  
et sur l'apparition d'athérosclérose**

par P. DUBOST, P. GANTER, L. JULOU et S. PASCAL.

Note présentée par M. BRESSOU

---

La possibilité d'une surcharge en cholestérol chez les animaux de consommation recevant un régime supplémenté en antibiotiques avec, comme corollaire, ses répercussions éventuelles sur la fréquence des maladies cardio-vasculaires chez l'homme, n'a été envisagée qu'assez récemment. Cette question a été évoquée en 1959 au cours d'une séance de l'Académie d'Agriculture de France (3).

Depuis, des travaux ont été effectués dans notre pays pour étudier les teneurs en cholestérol du sang et des principaux organes chez les animaux de consommation qui recevaient des antibiotiques dans leur nourriture. BOUFFAULT (1) a montré que la framycétine, même à dose élevée (100 g/tonne d'aliment), ne modifie pas le taux du cholestérol sanguin chez le poulet. FERRANDO et ses collaborateurs (9) ont observé de leur côté que l'oléandomycine, seule ou associée à l'oxytétracycline, et qu'un mélange d'érythromycine, de pénicilline G et de chlortétracycline sont sans effet sur la cholestérolémie du poulet. JOUSSELIN et ses collaborateurs (13) n'ont obtenu aucune modification de la teneur en cholestérol des différents tissus du poulet par adjonction d'oxytétracycline à la nourriture. BRION et ses collaborateurs (2) ont rapporté que la présence, dans la ration alimentaire du poulet, de pénicilline (8 g/tonne) et d'un mélange de pénicilline (180 g/tonne) et d'érythromycine (20 g/tonne) ne modifie pas la teneur du sang et des artères en cholestérol. Enfin FERRANDO (8) a signalé les premiers résultats d'un essai chez le porc d'où il ressort que l'adjonction à la nourriture d'oléandomycine (2 à 20 g/tonne) et d'un mélange d'oléandomycine (2 g/tonne) et d'oxytétracycline (6 g/tonne) ne modifie pas la cholestérolémie chez cet animal.

Nous nous sommes proposé, de notre côté, d'étudier l'influence éventuelle de la chlortétracycline sur la teneur en cholestérol des principaux organes et sur l'apparition d'athérosclérose chez des poulets nourris, dès leur naissance, à la Station Avicole de Jouy-en-Josas, avec une nourriture supplémentée en chlortétracycline suivant le protocole résumé dans le tableau n° 1 ci-après.

TABLEAU N° 1. — *Protocole expérimental*

Série (10 animaux par série)	Quantité de chlortétracycline en g/tonne d'aliments	Durée totale du traitement en semaines
A	0 (témoins)	12
B	15	12
C	15 pendant les 12 premières semaines puis : 100 pendant les 13 <sup>e</sup> et 14 <sup>e</sup> semaines	14

La dose de 100 g de chlortétracycline par tonne d'aliments est 5 à 10 fois supérieure aux concentrations pratiquement utilisées de façon continue.

Nous indiquons ci-dessous la composition de la ration des poulets en expérience :

Maïs .....	38
Blé .....	10
Orge .....	5
Avoine .....	3
Manioc .....	5
Tourteau de soja .....	8
» d'arachide .....	3
» de tournesol .....	4
» de germe de maïs .....	2
Farine de luzerne déshydratée .....	3
» de viande .....	6
» de poisson .....	5
Poudre de lait écrémé .....	1
Levure .....	2
Complément minéral .....	4
» vitaminique .....	0,5
Oligosels .....	0,4
Méthionine .....	0,1

Cette ration renferme 21,5 % de protéines.

Les poulets de cette expérience sont des mâles issus du croisement Rhode X Wyandotte ; ils ont été élevés en batteries. La nourriture et l'eau leur ont été distribuées à volonté.

A la fin de l'expérience, les animaux ont été sacrifiés par décapitation. Nous indiquons ci-après nos résultats et nos conclusions concernant le dosage du cholestérol total dans le foie, le rein et le muscle et les examens anatomo-pathologiques de l'aorte, du foie et du rein.

Le cholestérol total a été dosé dans le foie, le rein et les muscles de la cuisse chez 6 poulets de chaque série.

Les dosages ont été effectués selon une méthode colorimétrique que nous avons mise au point en apportant quelques modifications aux techniques de MARIE (17) et DELSAL (7).

La prise d'essai (0,5 g de tissu) est divisée en 2 fractions à peu près égales qui sont broyées successivement dans un broyeur mécanique à organes isolés. Broyer chaque fraction en présence de 0,25 ml d'eau distillée et 2,5 ml d'acétone ; transvaser le mélange obtenu dans un tube à centrifuger de 15 ml. Rincer le broyeur avec 5 ml d'acétone qu'on verse dans le tube à centrifuger. Après 15 minutes de contact, centrifuger le mélange pendant 2 minutes à 3000 tours/minute et transvaser le liquide clair surnageant dans un bécher de 30 ml. Rincer une 2<sup>e</sup> fois le broyeur avec 5 ml d'acétone qu'on verse sur le culot de centrifugation précédent, remettre le culot en suspension ; après quelques minutes, centrifuger, transvaser dans le bécher le liquide clair surnageant. Effectuer encore un lavage du culot de centrifugation en le remettant en suspension dans 5 ml d'acétone et en centrifugeant. Réunir dans le bécher tous les liquides de décantation (soit 20 ml) et ramener le volume à 5 ml environ par chauffe modérée sur le bain-marie vapeur. La liqueur acétonique d'extraction ainsi obtenue est ensuite traitée à chaud par l'alcool sodé, cette hydrolyse ayant pour but de saponifier les esters du cholestérol. Dans un erlenmeyer de 100 ml, mélanger la liqueur d'extraction avec 30 ml d'une solution alcoolique de soude caustique à 1 % dans l'alcool éthylique à 70° C. Placer l'erlenmeyer dans un bain-marie bouillant, laisser réduire le volume à 15 ml ; transvaser la liqueur refroidie dans une ampoule à décantation, extraire par l'éther et effectuer le dosage colorimétrique selon la technique classique de GRIGAUT et le mode opératoire décrit par FLEURY (10). Pour les dosages dans le foie et le rein, utiliser un étalon préparé à partir de 5 ml d'une solution de cholestérol à 0,06 g %. Etant donné les faibles quantités de cholestérol à

dosier dans le muscle, pour ce dosage on dilue au 1/10<sup>e</sup>, au moment de la lecture, l'étalon précédent avec le mélange diluant indiqué par FLEURY (10).

Le taux de cholestérol en g/kg de tissu est donné par la formule suivante, le dosage étant effectué au colorimètre Dubosc :

Soit  $h$  la hauteur en mm de la solution étalon.

»  $h'$  » de la solution à doser.

Soit  $p$  le poids de la prise d'essai (voisine de 0,5 g).

»  $c$  la quantité de cholestérol en g contenue dans l'étalon (soit 0,003 pour l'étalon normal).

$$P \text{ (cholestérol en g/kg de tissu)} = \frac{c \times h \times 1\ 000}{h' \times p}$$

Les résultats des dosages sont indiqués dans le tableau n° 2. On ne remarque aucune modification significative du taux de cholestérol dans le foie, le rein et le muscle chez les poulets traités (séries B et C) par rapport aux poulets témoins (série A).

Nous avons procédé à un examen macroscopique et histologique des aortes, et à l'examen histologique du foie et des reins des trente animaux de l'essai, suivant les techniques suivantes :

#### EXAMEN DES AORTES.

Toutes les études anatomiques sur l'athérosclérose du poulet, tant spontanée que provoquée, et en particulier les travaux de DAUBER et KATZ (5), DAUBER (4), DE BRUX, DUPONT et MATHIVAT (6), ont montré qu'il fallait distinguer chez cet animal deux ordres de lésions, non obligatoirement dépendantes l'une de l'autre : d'une part les « taches » ou « plaques athéromateuses », selon la terminologie admise en France [LENÈGRE et DE BRUX (14)], c'est-à-dire les « nodules », « crêtes » et « rayures », minutieusement décrits par les auteurs américains, toutes lésions qui se voient, à l'œil nu ou à la loupe, à l'ouverture de l'aorte et qui, histologiquement, sont représentées par les lésions proprement athéromateuses ou athéroscléreuseuses, d'autre part l'infiltration lipoidique de la média et de l'intima adjacente, qui pour DAUBER semble plus particulière à la poule et siège principalement dans l'aorte élastique (thoracique).

Pour apprécier l'existence éventuelle de ces deux ordres de lésions nous avons effectué deux sortes d'examens :

Nous avons recherché l'existence des taches et plaques athéromateuses, non pas au moyen de la vue seule, mais en appli-

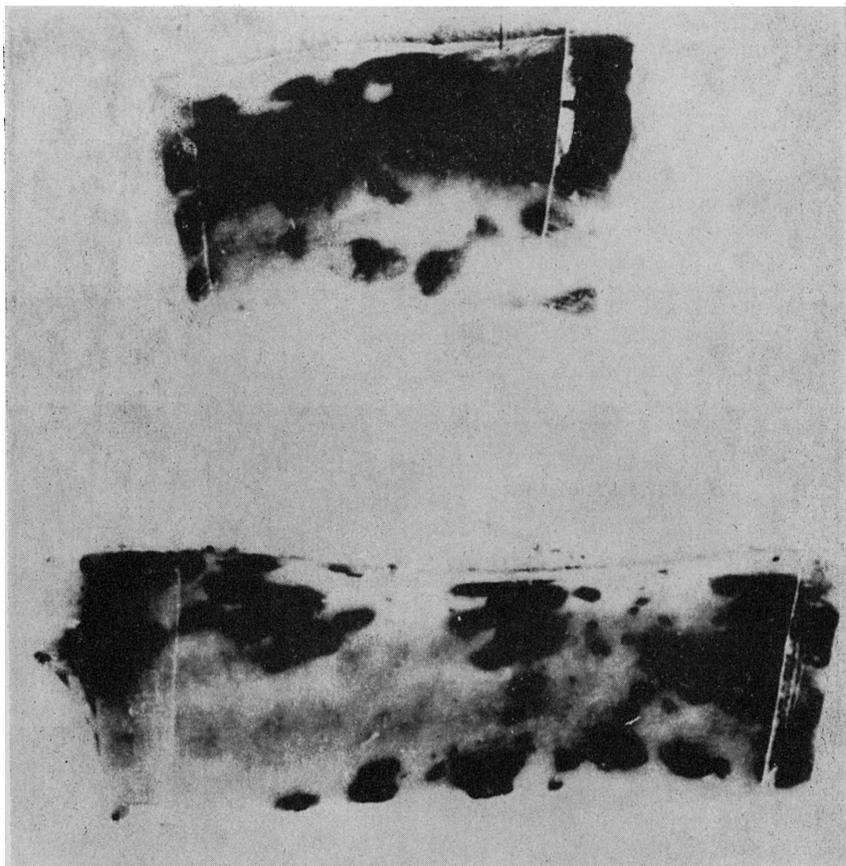
TABLEAU N° 2. — Dosage du cholestérol dans les tissus

Série	Quantité de chlortétracycline en g/t. d'aliments et durée du traitement.	cholestérol en g/kg			
		Foie	Rein	Muscle	
A	0 (témoins) 12 semaines	Résultats individuels	4,2 4,6 4,6 4,1 4 4,6	3,4 4,1 3,8 3,75 3,75 3,75	0,51 0,54 0,43 0,64 0,56 0,54
		Moyenne (*)	4,35 ± 0,12	3,76 ± 0,09	0,54 ± 0,03
B	15 g/tonne 12 semaines	Résultats individuels	3,87 4 4 4,28 4,6 4	3,3 3,75 3 3,63 3,15 3	0,6 0,76 0,68 0,58 0,57 0,5
		Moyenne (*)	4,12 ± 0,11	3,30 ± 0,13	0,61 ± 0,04
C	15 g/tonne pendant 12 semaines puis 100 g/tonne pendant 2 semaines	Résultats individuels	4,28 4,28 4,16 4,8 5 4	3,53 3,75 3,75 3,53 3,88 3,75	0,51 0,56 0,58 0,42 0,6 0,52
		Moyenne (*)	4,42 ± 0,16	3,70 ± 0,06	0,53 ± 0,03

(\*) Le nombre, indiqué après la moyenne, représente l'erreur-type calculée sur 6 animaux.

quant une technique inspirée de celle qui a été décrite par HOLMAN, MCGILL, STRONG et GEER (12) pour l'étude de l'athérosclérose du lapin : l'aorte de chaque poulet est soigneusement disséquée sur toute sa longueur, et en particulier débarrassée aussi complètement que possible de la graisse adventitielle ; elle

est ensuite ouverte longitudinalement (les valvules sigmoïdes et la bifurcation iliaque étant conservées) et appliquée par sa face périphérique contre un long copeau de bois, ce qui a pour effet de la maintenir étalée et aplatie. Fixée dans du formol-calcium de Baker, chaque aorte est ensuite colorée par le noir Soudan et lavée : les plus fins dépôts athéromateux de l'intima sont ainsi teintés en noir de façon intense et ne peuvent échapper à l'observation. Les plaques anciennes, très scléreuses et les plaques calcifiées ne se teintent qu'en gris-bleu, mais leur taille

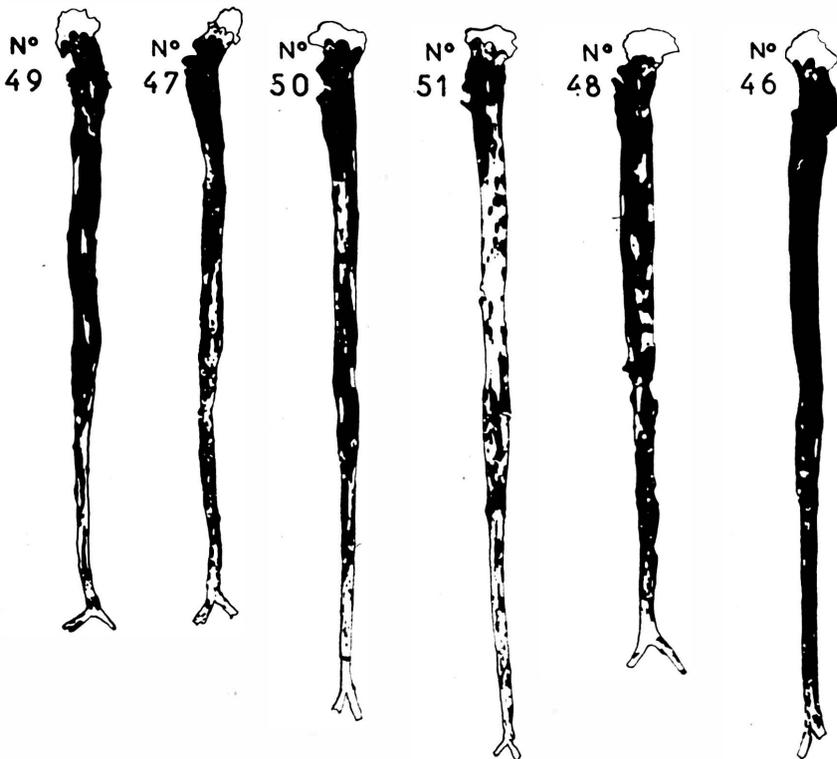


PHOTOGRAPHIE N° 1. — Paroi d'aortes de lapins, nourris par un régime riche en cholestérol et montrant de nombreuses lésions d'athérome, saillantes, situées dans l'intima, et colorées en noir par le noir Soudan (la paroi normale de l'aorte, ne prenant pas le colorant, apparaît en blanc-gris sur la photo).

et leur morphologie sont telles que, même sans coloration, leur présence est évidente (pour donner un exemple de l'aspect de lésions athéromateuses mises en évidence par cette technique, nous joignons une photographie (n° 1) d'un fragment de paroi d'une aorte de lapin parsemée de plaques d'athérome colorées par cette méthode, ces lésions ayant été obtenues par un régime riche en cholestérol).

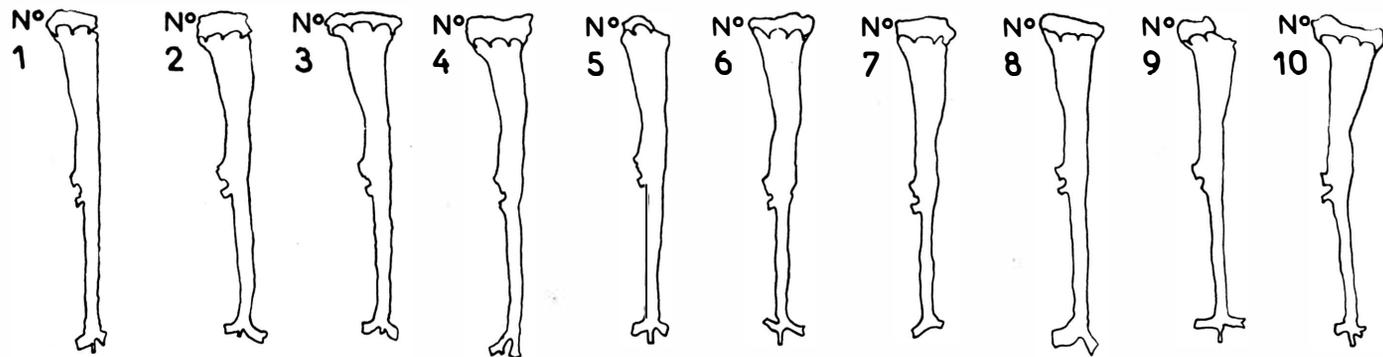
Les aortes ainsi préparées sont ensuite séchées, puis recouvertes d'une feuille de Rhodoïd transparente sur laquelle on peut dessiner avec une grande exactitude les contours de l'aorte et des éventuelles taches athéromateuses, lesquelles sont secondairement noircies à l'encre de Chine et il ne reste plus qu'à photographier l'ensemble (la photographie n° 2 montre l'aspect

### TEMOINS : CHOLESTEROL 19 semaines .



PHOTOGRAPHIE N° 2. — Aortes de lapins traités par un régime riche en cholestérol : les nombreuses lésions athéromateuses provoquées par ce régime apparaissent en noir sur ce schéma.

## POULETS SERIE C



PHOTOGRAPHIE N° 3. — Aspect des dix aortes de poulets de la série C, traités par la plus forte dose de chlortétracycline : on voit, par comparaison avec la photographie n° 2, qu'il n'existe aucune lésion athéromateuse (noter, en haut de chaque aorte, les valvules sigmoïdes, et en bas la bifurcation iliaque).

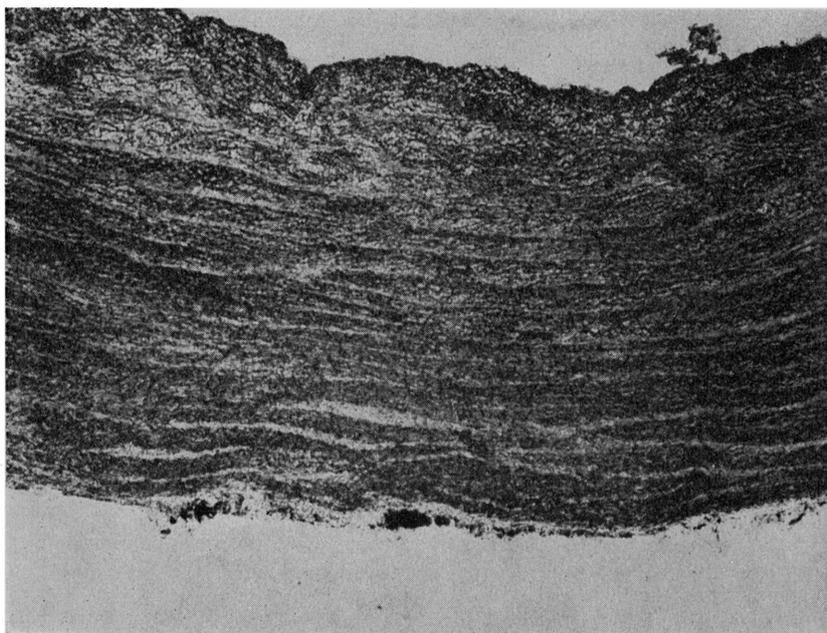


de 6 aortes de lapins ayant reçu un régime riche en cholestérol, générateur d'importantes lésions athéromateuses, relevées et photographiées comme il vient d'être expliqué).

La mise en évidence de l'infiltration lipoïdique de la média requiert des techniques proprement histologiques : coupes à congélation de fragments d'aortes fixés dans le liquide de Baker, et coloration par le rouge et le noir Soudan : les gouttelettes graisseuses apparaissent alors colorées en rouge ou en noir sur les préparations histologiques. La biréfringence des lipides a d'autre part été recherchée par l'examen microscopique en lumière polarisée. Ces recherches ont été effectuées sur des fragments d'aorte prélevés en trois endroits différents de l'aorte thoracique et abdominale, sur 3 aortes de chaque série.

#### EXAMEN DU FOIE ET DES REINS.

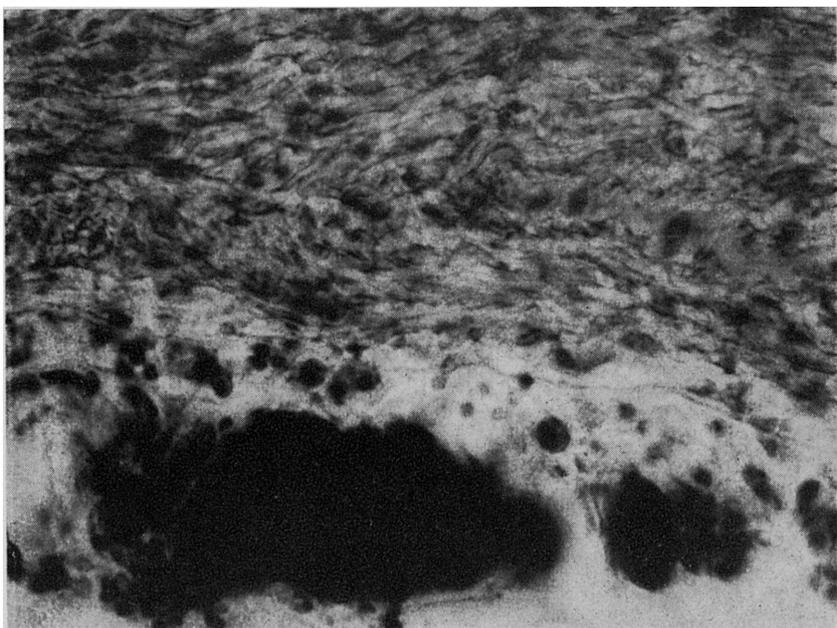
Ces organes ont fait l'objet d'un examen histologique suivant les méthodes habituelles (coupes à la paraffine et coloration par



MICROPHOTO N° 4. — Aorte du poulet n° 1 de la série C coupe à congélation, coloration par le noir Soudan. Paroi aortique normale. En haut la lumière aortique, en bas l'adventice au niveau de laquelle on observe quelques lobules adipeux normaux apparaissant en noir sur la photo.

l'hémalun-phloxine-safran) et, dans un certain nombre de cas, de coupes à congélation suivies d'une coloration par le rouge Soudan pour la mise en évidence des graisses.

Les résultats de tous ces examens se sont révélés entièrement négatifs en ce qui concerne la recherche des lésions athéromateuses et de l'infiltration lipoïdique de l'aorte : sur les trente aortes examinées, on n'a pas observé une seule tache d'athérome (la photographie n° 3 montre l'aspect des aortes des poulets de la série C qui ont reçu la plus forte dose de chlortétracycline ; les autres séries sont semblables ; on voit qu'il n'existe aucune lésion d'athérome). Dans tous les cas examinés on n'a, d'autre part, mis en évidence aucune gouttelette lipidique dans l'intima ni dans la média aortique (microphotos nos 4 et 5).



MICROPHOTO N° 5. — Même préparation. Détail des lobules adipeux normaux de l'adventice. La média est libre de toute infiltration lipoïdique.

Les reins sont apparus normaux dans toutes les séries ; en particulier il n'existe aucune lésion vasculaire.

Dans le parenchyme hépatique, on observe, dans quelques cas, chez les témoins comme chez les animaux traités, quelques

gouttelettes graisseuses dans les hépatocytes des zones péri-portales, cet aspect n'ayant rien de pathologique. Chez deux poulets de la série C, cependant (poulets n<sup>os</sup> 1 et 5) il existe, une surcharge graisseuse, demeurant d'ailleurs localisée aux régions périportales ou débordant légèrement sur les zones médio-lobulaires; les cellules ainsi chargées de graisses conservent un noyau normal; il ne s'agit donc pas d'une dégénérescence graisseuse mais d'une simple surcharge réversible.

Le bilan de l'examen anatomo-pathologique peut donc s'établir ainsi : aucune lésion athéromateuse ni infiltration lipoïdique dans les aortes, reins normaux, existence d'une légère surcharge graisseuse sans caractères dégénératifs dans le foie de deux animaux sur les trente examinés (ces deux animaux faisant partie de la série traitée par la plus forte dose de chlortétracycline).

En conclusion, l'addition de chlortétracycline à la nourriture des poulets, dès leur naissance, au taux de 15 g par tonne d'aliments pendant les 12 premières semaines puis, éventuellement, au taux de 100 g par tonne pendant 2 semaines, n'a déterminé aucune modification significative du taux de cholestérol dans le foie, le rein et le muscle, par rapport aux animaux témoins.

Il n'a été observé, d'autre part, aucune lésion d'athérosclérose chez les animaux traités; enfin, les reins ont été trouvés normaux et, au niveau du foie, la seule anomalie à signaler, avec la forte posologie de chlortétracycline seulement, est, chez quelques animaux, une surcharge graisseuse sans caractères dégénératifs.

#### BIBLIOGRAPHIE

1. BOUFFAULT (J. C.). — Bulletin de la Société Vétérinaire Pratique de France, n<sup>o</sup> 10, 391 (1959).
2. BRION (A.), FONTAINE (M.), et FONTAINE (M. P.). — Communication à la Journée d'Etudes de l'Institut Professionnel de Contrôle et de Recherches Scientifiques des Industries de l'Alimentation Animale (Paris, 6 mai 1960).
3. Comptes Rendus des Séances de l'Académie d'Agriculture de France, n<sup>o</sup> 1, 561 (1959).
4. DAUBER (D.). — Arch. Pathol., 38, 46 (1944).
5. DAUBER (D.) et KATZ (L. N.). — Arch. Pathol., 36, 473 (1943).
6. DE BRUN (J.), DUPONT (J.) et MATHIVAT (A.). — Arch. Mal. Cœur et Vaisseaux. Rev. Athéroscl., 1, 159 (1959).
7. DELSAL (J. L.). — C. R. Soc. Biol., 144, 66 (1950).
8. FERRANDO (R.). — Communication à la Journée d'Etudes de l'Institut Professionnel de Contrôle et de Recherches Scientifiques des Industries de l'Alimentation Animale (Paris, 6 mai 1960).
9. FERRANDO (R.), FLORIO (R.), THEODOSSIADES (G.), COTTHEREAU (Ph.) et FRADET (A.). — Acad. Nat. de Médecine, n<sup>os</sup> 7-8, 160 (1960).

10. FLEURY (P.). — *Fiches techniques de Chimie Biologique*, Sang 1949.
11. HOJMAN (D.), PELLEGRINO-IRALDI (A. A.), MALINOW (M. R.), PICK (R.), STAMLER (J.) et KATZ (L. N.). — *Arch. Pathol.*, 68, 533 (1959).
12. HOLMAN (R. L.), Mc GILL (M. C.), STRONG (J. P.) et GEER (J. C.). — *Laborat. Investig.*, 7, 42 (1958).
13. JOUSSELIN (W.), GANTES (P.) et LADRAT (J.). — *Comptes Rendus des Séances de l'Académie d'Agriculture de France*, n° 6, 303 (1960).
14. LENEGRE (J.) et DE BRUX (J.). — *Arch. Mal. Cœur et Vaisseaux. Rev. Atheroscl.*, 1, 3 (1959).
15. LINDSAY (S.), LORENZ (F. W.), ENTENMAN (C.) et CHAIKOFF (I. L.). — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 62, 315 (1946).
16. LINDSAY (S.), NICHOLS (C. W.) et CHAIKOFF (I. L.). — *Arch. Pathol.*, 59, 173 (1955).
17. MARIE (A. C.). — *Ann. Inst. Pasteur*, 41, 195 (1927).
18. NICHOLS (C. W.), LINDSAY (S.) et CHAIKOFF (I. L.). — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 89, 609 (1955).

### Discussion

M. BRION. — J'ai fait récemment un travail (1) comparable à celui de M. JULOU et de ses collaborateurs, mais j'avais cru devoir éliminer de mes essais les antibiotiques tétracycliques, auréomycine et terramycine, et j'avais arrêté mon choix sur la pénicilline et l'érythromycine. La raison en est que si la quantité de calcium est normale dans l'aliment, une dose de l'une des tétracyclines inférieure à 100 g par tonne ne passe qu'en quantité absolument minime dans la circulation générale. Je pensais que cela ne pouvait pas avoir d'influence sur le cholestérol, que ce ne serait pas démonstratif, et c'est pourquoi j'avais choisi de préférence la pénicilline et l'érythromycine qui franchissent facilement la paroi intestinale, même si la quantité de calcium dans l'aliment est normale. Des expériences faites par Price et collab. démontrent que chez la poule il faut arriver à des doses de 500 g d'oxytétracycline ou de chlortétracycline par tonne pour avoir des taux significatifs dans le sang. Etant donné les doses où on les ajoute dans l'alimentation normale en tant que facteurs de croissance, et qui sont de l'ordre de 10 g par tonne, il semble qu'*a priori* elles ne peuvent pas avoir une grosse influence sur le métabolisme lipidique. Les expériences faites jusqu'à présent avec divers antibiotiques ajoutés à l'alimentation ne démontrent pas de modification du taux du cholestérol ni dans les organes ni dans le sang ; d'autre part on n'a jamais trouvé la moindre trace de lésions d'athérosclérose dans les organes, en particulier dans les artères. Je crois donc que la démonstration est faite scientifiquement maintenant, qu'on peut ajouter des antibiotiques en tant que facteurs de croissance dans l'alimentation sans qu'il y ait de répercussions sur la santé du poulet, et à plus forte raison sur la santé de l'homme. De plus, même s'il reste des résidus d'antibiotiques dans la viande consommée, la cuisson suffit pour les faire disparaître.

---

(1) *C. R. Ac. Agric.*, 1960, 374-382.