

REpubLIQUE ALGERIENNE DEMO



1073THV-1

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Blida -1-

Institut des sciences vétérinaires



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de docteur vétérinaire

THEME

***La recherche des résidus d'antibiotiques
dans la viande ovine par la méthode
microbiologique dans la wilaya de Médéa***

Présenté par :

M^{lle} : DOUIFI Soumia

et

M^{me} : BELLIL Fatma Zohra

Devant le jury :

Mme DJERBOUH A,

Maître assistante A à ISV de Blida

Présidente

Mme FEKNOUS N,

Maître assistante A à ISV de Blida

Examinatrice

M^{lle} TARZAALI D,

Maître assistante B à ISV de Blida

Promotrice

Année universitaire : 2014/2015

REMERCIEMENTS

Nous remercions en premier lieu DIEU tout puissant de nous avoir donné la santé et le pouvoir d'accomplir ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance et toute notre gratitude à notre promotrice **M^{elle} TARZAALI D**, Maitre assistante de l'institut des sciences vétérinaires de l'université Saad DAHLEB de Blida, pour l'encadrement et l'encouragement qu'elle nous a donné et de nous avoir guidé dans la réalisation de ce travail, pour sa patience et sa disponibilité.

À **Madame A. DJERBOUH**, Maitre Assistante à l'institut des sciences vétérinaires de l'université Saad DAHLEB de Blida, pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de ce mémoire. Hommages respectueux.

À **Madame N. FEKNOUS**, Maitre Assistante à l'institut des sciences vétérinaires de l'université de Saad DAHLEB de Blida, qui m'a fait l'honneur de prendre part à ce jury et d'avoir accepté d'examiner ce travail. Sincères remerciements.

Nous remercions également, les membres du personnel du complexe SAIDAL précisément :

M^{me} SALHI Fouzia et **Mr BEN AISSA Mustapha**.

Nous remercions aussi, à tous les enseignants de l'institut des sciences vétérinaires qui ont participé à notre formation.

Enfin, nos remerciements vont également à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te procure bonne santé et longue vie.

A toi *Mon père.*

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, *Maman, que j'adore.*

Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour, à tous mes frères : *Abd Raouf,*

Fares et mes sœurs : *Sarah, Hadjer,* je dédie ce travail dont le grand plaisir leur revient en premier lieu pour leurs conseils, aides, et encouragements.

A mon cher petit frère *Islem.*

A ma grande mère paternelle, mes grand parents maternels.

A toutes mes tantes, mes oncles, maternels et paternels, cousins et cousines, à tous les membres de ma famille, petite et grande.

A tous ceux qui m'ont apporté leur savoir et contribué à ma formation : mes enseignants depuis mon premier pas à l'école jusqu'aujourd'hui.

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes coté, et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'étude supérieure, mes aimables amies, collègues d'études :

Fati, Sabiha, Nabila, dado, Mabrouki, Imen, Alem, Assia.

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour ce que projet soit possible, je vous dis

Merci

Soumia

Dédicace

Merci ALLAH (mon dieu) de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire « Ya Kayoum ».

A mes chers parents :

Papa qui m'a poussé vers l'avant et vers le succès, à l'ange de ma vie qui a beaucoup compté sur moi qui m'a fait confiance, tu mérites plus qu'un remerciement tu mérites un livre dont je parle de toi et c'est possible que je ne trouverai aucun mot qui peut décrire l'amour que je te porte dans mon cœur.

Maman, ma perle précieuse, ma jolie fleur, mon âme, ma source d'affection et du courage, merci maman, j'espère que je suis la fille que tu pourras toujours être fière d'elle, je t'aime maman.

A mon mari Abd Elazziz

Merci pour la joie que tu me procures et merci infiniment pour tes précieux conseils et ton aide à la réalisation de ce travail. Puisse Dieu tout puissant jouir notre vie, nous combler d'avantage, nous apporter bonheur, et nous aider à réaliser tous nos vœux.

A ma fille, A ma sœur et son mari, mes frères, mon grand-père, ma grande mère, mes oncles, mes tantes, mes cousins

A mon binôme Soumia, ainsi que sa Famille.

Fatma Zohra

RÉSUMÉ

La viande ovine est un élément qui apporte de nombreux nutriments indispensables; elle doit être avant tout un produit sain, c'est à dire exempt de résidus de médicaments et plus spécialement des résidus d'antibiotiques qui sont dangereux pour la santé humaine.

Notre étude réalisée sur 35 échantillons de viande ovine provenant de la wilaya de Médéa par la méthode microbiologique de quatre boites a révélé la contamination de 23 échantillons de viande, soit 65.71% par les résidus d'antibiotique (béta-lactamine (20%), les sulfamides (2.85%), les aminosides (28.57%) et les macrolides (14.28%).

Les résultats obtenus soulignent l'impérieuse nécessité de la mise en place d'un contrôle systématique depuis l'animal vivant jusqu'à la carcasse puis la viande.

Mots clés : Viande ovine, résidus d'antibiotique, méthode microbiologique.

ABSTRACT

Meat is an element that provides many nutrients essential; therefore must be above all a healthy product, but also residues of drugs and especially of antibiotic residues that are harmful to human health.

Our study of 35 sheep meat samples from the province of Médéa by microbiological method, which revealed that 23 samples of contaminated meat, represented by a rate of 65.71% of antibiotic residues. (bêta-lactamine (20%), les sulfamides (2.85%), les aminosides (28.57%) et les macrolides (14.28%)).

The results underline the urgent need for the establishment of a systematic control from the live animal to the carcass and meat.

Keywords: Sheep meat, antibiotic residues, microbiological method.

ملخص

اللحم هو العنصر الذي يوفر العديد من المواد الغذائية الأساسية. ولذلك يجب ان يكون منتج صحي، أي خالي من بقايا الأدوية خصوصا بقايا المضادات الحيوية التي تضر بصحة الإنسان.

لدينا دراسة 35 عينة للحوم الأغنام من محافظة المدية بطريقة الميكروبيولوجية كشفت عن 23 عينة من اللحوم الملوثة ممثلة بنسبة 65.71% من متبقيات المضادات الحيوية (بيتا لاكتامين بنسبة 20%) (سيلفا ميد بنسبة 2.85%) (امينوزيد بنسبة 28.57%) و (ماكغوليد بنسبة 14.28%)

النتائج تؤكد على الحاجة الملحة لإنشاء عنصر تحكم منتظم من الحيوانات الحية إلى الذبيحة واللحوم.

الكلمات المفاتيح: لحوم الأغنام، بقايا المضادات الحيوية، طريقة الميكروبيولوجية.

LISTES DES FIGURES

Figure 1 : Plage de couleurs de Premi®Test	20
Figure 2 : Principe de BETA –STAR.	21
Figure 3 : Chauffage le mélange l'eau +TSA.	25
Figure 4 : Refroidissement de Gélose	25
Figure 5 : Dispersion les flacons par la gélose.	25
Figure 6 : Réglage de PH de la gélose	25
Figure 7 : Ensemencement les bactéries devant un bec benzène.	26
Figure 8 : Prélèvement d'un cylindre de viande.	27
Figure 9 : Incubation des boites.	28
Figure 10 : Apparition des zones d'inhibition.	28
Figure 11 : Lecteur de diamètre de zones d'inhibition.	28
Figure 12 : Résultat de la recherche des résidus de béta-lactamine dans la willaya de Médéa	30
Figure 13 : Résultat de la recherche des résidus de la béta-lactamine par rapport à Chaque région.	30
Figure 14 : Résultat de la recherche des résidus de la Sulfamide dans la willaya de Médéa.	31
Figure 15 : Résultats de la recherche des résidus de la Sulfamide par rapport à chaque région.	31
Figure 16 : Résultats de la recherche des résidus des Aminosides dans la willaya de Médéa.	31

Figure 17 : Résultats de la recherche des résidus des Aminositides par rapport à chaque Région.	31
Figure 18 : Résultats de la recherche des résidus du Macrolides.	32
Figure19: Résultats de la recherche des résidus du Macrolides par rapport à chaque région.	32
Figure 20: Représentation Graphique des Résultats globaux.	33

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Composition moyenne du muscle squelettique	2
Tableau II : Délai d'attente de quelques antibiotiques	15
Tableau III : Comparaison entre les méthodes bactériennes et les méthodes Physico-chimiques et immunologiques pour la recherche des résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale.	19
Tableau IV : Présentation de la méthode des 4 boîtes utilisées pour le contrôle officiel	20
Tableau V : Diamètres d'inhibition des antibiotiques témoins.	29
Tableau VI : Résultats de la recherche des bêta-lactamine	29
Tableau VII : Résultats de la recherche des Sulfamides	30
Tableau VIII : Résultats de la recherche des résidus d'aminosides.	31
Tableau IX : Résultats de la recherche des résidus de Macrolides	32
Tableau X : Résultats par rapport à chaque antibiotique testé.	33
Tableau XI : Résultat global de la recherche des résidus d'antibiotiques dans les échantillons Analysés.	33

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique

APCI : Atmospheric Pressure Chemical Ionization.

ATB : Antibiotique.

°C : Degré de Celsius.

CO : Monoxyde de carbone.

D.J.A : Détermination de la dose journalière acceptable.

D.S.E : Dose Sans Effet.

ELSA: Enzyme-Linked-ImmunoSorbent-Assay.

g: Gramme

H₂S : Sulfate d'hydrogène.

HCL : Clorure d'hydroge.

HPLC : Chromatographie liquide haute performance.

HPLC-ESI : Chromatographie liquide haute performance avec ionisation électro-spray à pression atmosphérique.

LMR : Limite Maximale de Résidus.

NAOH : Hydroxyde de sodium.

O₂ : Gaz de l'oxygène

Ppb : Parties Par Billion (milliard).

Ppm : Parties Par Million

RIA: Radio-Immuno-Assay.

SM: Spectrométrie de Masse.

TSA : Trypticaséine Soja Agar.

UI/G : Unité international /Gramme

TABLE DES MATIERS

INTRODUCTION	1
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITE 1 : LA VIANDE.	
1.1. Définition de la viande	2
1.2. Composition de la viande	2
1.3 .Valeur nutritive de la viande	3
1.3.1. Valeur énergétique	3
1.3.2. Valeur protidique	3
1.4. Qualité de la viande	3
1.4.1. Définition	3
1.4.2. Qualité nutritionnelle	4
1.4.3. Qualité hygiénique	4
1.4.4. Qualité de service ou d'usage	4
1.4.5. Qualité organoleptique	4
1.4.5.1. Couleur	4
1.4.5.2. Tendreté	5
1.4.5.3. Flaveur	5
1.4.5.4. Jutosité	6
1.5. Signes d'altération de la viande	6
1.6. Risques de l'excès de consommation de la viande	6

CHAPITRE 3 : LES ANTIBIOTIQUES

2.1. Définition	8
2.2. Historique	8
2.3. Classification des antibiotiques	9
2.4. Pharmacocinétique des antibiotiques	10
2.4.1. Absorption	10
2.4.1.1. Absorption digestive	11
2.4.1.2. Absorption parentérale	11
2.4.2. Distribution	11
2.4.3 Biotransformation	11
2.5. Mode d'action des antibiotiques	12

CHAPITRE 3 : LES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES

3.1. Définition	13
3.2. Facteur de persistance	13
3.3. Conséquences négatives de l'utilisation des antibiotiques chez les animaux	13
3.4. Délai d'attente	14
3.4.1. Définition	14
3.4 .2. Seuil de toxicité de tolérance	14
3.4.3. Fixation du temps d'attente	15
3.5. Limite Maximale de Résidu (LMR) des antibiotiques	15
3.5.1. Définition	15
3.5.2. Fixation de la LMR	16
3.6 Risques liés à la présence de résidus d'antibiotiques	16
3.6.1. Réactions allergiques chez les personnes sensibilisées	16

3.6.2. Toxicité aigüe	17
3.6.3. Toxicité chronique	17
3.6.4. Modification de flore intestinale	17
3.6.5. Foeto-toxicité	17

CHAPITRE 4 : LES METHODES DE DEPISTAGE DES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES

4.1. Introduction	18
4.2. Dépistage	18
4.2.1. Méthode de dépistage biologique (Microbiologique)	20
4.2.1.1. Méthode alternative (premitest)	20
4.2.1.2. Test européen à 4 boites	20
4.2.2. Méthodes biologiques	21
4.2.2.1. Méthode enzymatique (Penzym test)	21
4.2.2.2. Méthode sur Tigettes (le Test Beta Star)	21
4.2.3. Méthodes immunologiques	22
4.3. Confirmation	22

PARTIE EXPERIMENTALE

1. Période et lieu de travail	23
2. Matériel et méthode	23
3. Résultats	29
4. Discussion	34
Conclusion	37
Recommandations	38
Références bibliographiques	
Annexes	

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Les antibiotiques sont des médicaments administrés aux animaux notamment les petits ruminant, soit par injection ou par l'intermédiaire de la nourriture, passent dans les muscles, les reins ou le foie. Ceux-ci génèrent des résidus pendant une durée variable [9], la présence de résidus d'antibiotiques dans les aliments d'origine animale liée au non-respect des conditions d'utilisation (posologie et temps d'attente) ou à des erreurs dans les conduites d'élevage peut avoir de graves conséquences sur la santé des consommateurs [28, 38], parmi ces risques [24, 64] :

- Sélection de bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques, transmises à l'homme par ingestion.
- Modifications de la flore intestinale.
- Déclenchement de réactions allergiques chez les personnes qui le sont. Ces réactions sont bénignes le plus souvent, parfois mortelles (œdème de Quincke, choc anaphylactique).
- Action cancérigène de certains résidus médicamenteux, dont l'ingestion répétée et prolongée peut induire le développement de tumeurs cancéreuses.
- Enfin, il ne faut pas négliger l'effet toxique.

Ce travail s'attache à présenter ce que sont les résidus d'antibiotiques et leurs dangers ainsi que leur recherche dans la viande ovine par la méthode microbiologique des quatre boîtes.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1

LA VIANDE

1.1. Définition de la viande

Dans le sens général, on entend par « la viande » : la chair des animaux dont on peut se nourrir pour une définition scientifique : la viande est l'ensemble de matières alimentaires obtenues par la mise à mort des mammifères domestiques réputés comestible [24].

On distingue trois catégories de viande [67] :

- Viande rouge : des viandes bovines, ovines, équines, caprines et camelines.
- Viande blanche : des volailles et les veaux nourrir au lait.
- Viande noires : du gibier.

En dehors de ces catégories on trouve dans d'autres cultures nombres d'animaux consommés pour leur chairs : chiens « dans plusieurs pays d'Asie » [67].

1.2. Composition de la viande

La composition globale de la viande est variable. Elle varie selon l'espèce et chez une même espèce d'un animal à un autre (selon l'état d'engraissement) et au sein d'un même animal, d'un muscle à un autre.

On peut toutefois retenir comme composition moyenne les chiffres indiqués dans le tableau I :

Tableau I : Composition moyenne du muscle squelettique [60].

Composant chimique	Pourcentage (%)
Eau	75
Protéines totales	20
Lipides	2.5
Glucides	1.2
Substance soluble non protéiques	1.3

Les protéines constituent, après l'eau, la fraction pondérale la plus importante, la composition en acides aminés des protéines de la viande est remarquablement équilibrée ; elles sont riches en acides aminés indispensables, en particulier en acides aminés soufrés.

1.3. Valeur nutritive de la viande

1.3.1. Valeur énergétique

La viande est une source d'énergie, elle est surtout en proportion de sa surcharge en graisse [48].

La teneur en glucides est négligeable car il n'y a pratiquement plus de glycogène dans la viande au stade de sa commercialisation [4].

1.3.2. Valeur protidique

Les protéines d'origine animale ont une meilleure digestibilité que les protéines d'origine végétale.

La viande est une source d'azote de grande valeur biologique, cet azote est présent sous forme de protéines [7], ces protéines sont composées essentiellement de myosine, myoalbumine et de collagène. Il s'agit, pour la myosine et la myoalbumine, de protéine d'excellente qualité comportant tous les acides aminés indispensables, ce qui confère aux viandes un très bon coefficient d'efficacité protidique [4].

1.4. Qualité de la viande

1.4.1. Définition

Selon LUDOVIC [51], la qualité se définit comme « l'ensemble des propriétés et l'aptitude de satisfaire des besoins exprimés ou implicites ».

En l'occurrence pour la viande, il s'agit de satisfaire les consommateurs et les industries de la transformation, qui constituent les utilisateurs à hauteur respective de 20 à 35% et de 65 à 80% de la carcasse produite [3].

VAUTIER [75], ajoute que pour le consommateur, la qualité d'un aliment peut être définie à partir d'un certain nombre de caractéristiques, à savoir :

- la qualité nutritionnelle.
- la qualité hygiénique.
- la qualité de service ou d'usages.
- les qualités organoleptiques.

1.4.2. Qualité nutritionnelle

La première fonction d'un aliment est de couvrir les besoins physiologique d'un individu. Cette caractérisation est prouvée scientifiquement et s'appuie sur des données relatives à sa composition (protéine, glucides, lipides, oligo-éléments) [76].

Les viandes ont pour un principal intérêt nutritionnel l'apport en protéines et en fer. La teneur en protéines est en moyenne de 16 à 20 g pour 100 g de viande avant cuisson.

La viande contient également du fer, du zinc et les vitamines de groupe B surtout B3 et B12.

La viande peut être une source d'acide gras poly insaturé à chaîne longue (en particulier acides gras de la série n-6chez les volailles) [78].

1.4.3. Qualité hygiénique

L'aliment doit garantir une totale innocuité et de ce fait préserver la santé du consommateur. De ce fait, il ne doit contenir aucun résidu toxique, aucun parasite, ni être le siège d'un développement bactérien susceptible de produire des éléments nocifs.

Cette caractéristique doit satisfaire aux normes sanitaires et règlements en vigueur. Ainsi, ne peuvent être mis sur le marché que des aliments ne présentant aucun risque pour la santé [76].

La viande doit être mise dans des conditions de sécurité quasi absolue ; il faut donc qu'elle soit protégée des différentes contaminations à tous les stades de la filière [28].

1.4.4. Qualité de service ou d'usage

Elle répond à la praticité en rapport avec un produit. Ainsi la facilité de préparation des aliments ou la durée de conservation représentent des critères essentiels aux yeux du consommateur [75].

1.4.5. Qualité organoleptique

1.4.5.1. Couleur

La couleur est chronologiquement, le premier critère d'appréciation de la viande par le consommateur. C'est un facteur déterminant l'achat ou le rejet par ce dernier.

La couleur dépend de la teneur et l'état de la myoglobine et sa structure du muscle. Les conditions alimentaires peuvent modifier ces paramètres [14].

La myoglobine chromoprotéine sarcoplasmique qui assure le transport de l'O₂ mitochondrie dans la cellule musculaire *in vivo*, est responsable de la couleur de la viande ; la couleur est liée principalement à [33] :

- La qualité du pigment.
- L'état chimique du pigment.
- L'état physique des autres composants de la viande.
- L'état de fraîcheur de la coupe, la nature de l'atmosphère, la température de l'entreposage, les interactions avec les composés lipidiques sont les éléments qui conditionnent l'état chimique du pigment et donc la couleur de la viande.

1.4.5.2. Tendreté

La tendreté correspond à une somme de sensations perçues lors de la mastication de la viande et désigne la facilité avec laquelle celle-ci se laisse trancher ou mastiquer. A l'inverse, la dureté désigne la résistance que la viande présente au tranchage ou à la mastication [45]. La dureté de la viande dépend essentiellement de deux composants structurels protéiques [60].

Le premier est le collagène, constituant principal du tissu conjonctif. On n'observe pas de modification importante du collagène *post mortem*. Sa résistance mécanique est donc considérée constante et on l'associe à ce que l'on appelle souvent la 'dureté de base'. Le deuxième composant est constitué par les myofibrilles, plus particulièrement par les protéines myofibrillaires. Leur résistance mécanique n'est pas constante *post mortem* [44].

1.4.5.3. Flaveur

La flaveur d'un aliment correspond à l'ensemble d'impressions olfactives et gustatives éprouvées au moment de la consommation [47]. La flaveur conditionne l'acceptabilité de l'aliment, elle résulte de la teneur et de la nature des lipides du muscle, elle dépend également de la race et du sexe de l'animal [38].

Les différents composés chimiques responsables de la flaveur de la viande sont libérés principalement au moment de la cuisson [47]. En effet la viande crue possède une faible odeur, un goût sanguin et une flaveur peu prononcée. Elle contient des précurseurs de la flaveur qui donneront naissance aux composés d'arômes lors de la cuisson par le biais de réactions chimiques complexes [39, 55].

1.4.5.4. Jutosité

Appelée aussi succulence, elle caractérise la faculté d'exsudation de la viande au moment de la dégustation, le facteur essentiel qui va jouer sur la jutosité est le pouvoir de rétention d'eau du muscle [47].

La jutosité est en fonction persillés ou marbre, c'est-à-dire de la présence de graisse interstitielle visible également sur les découpes des muscles, une viande dépourvue de persillé est moins succulente [36].

1.5. Signes d'altération de la viande

Les principaux défauts que l'on peut malheureusement parfois rencontrer sur les viandes conditionnées sont [10] :

- un mauvais goût et une odeur désagréable (d'acide, de pourri, de moisi, etc.). Ces odeurs anormales résultent de la production de composés volatils par des bactéries aéro-anaérobies ou anaérobies strictes ;
- un changement de couleur et une odeur de pourriture (exemple : œufs pourris) qui vont se développer ensuite.
- un gonflement des sacs avec la production de gaz (CO et H₂S) par des bactéries présentes sur les viandes conditionnées.

Les viandes présentant de tels défauts doivent être écartées de la consommation humaine en raison du danger potentiel qu'elles représentent pour la santé du consommateur.

1.6. Risques de l'excès de consommation de la viande

La surconsommation de viande, en particulier de viande rouge, tend à augmenter le risque de certaines maladies (comme le cancer du côlon, les maladies cardio-vasculaires, l'obésité ou le diabète de type 2) et plus généralement en augmentant la mortalité [63].

Des chercheurs de l'école de santé publique de Harvard ont publié en mars 2012 une étude établissant un lien direct entre la consommation de viande rouge et un risque de mortalité accru :

L'étude a porté sur l'observation de près de 40000 hommes et 80000 femmes sur une trentaine d'année. Ces personnes étaient contactées tous les 4 ans pour répondre à un questionnaire sur leurs habitudes alimentaires. Après analyse des données, les chercheurs montrent que le fait de remplacer un plat de viande rouge par jour par une autre source de protéine (animale ou végétale) diminue le risque de mortalité de 7% à 19%. Ces 19% sont obtenus lorsque la portion de viande journalière est remplacée par des noix (Notons pour être objectif que le fait de remplacer la viande par de la viande de volaille est aussi très bénéfique puisque dans ce cas le risque de mortalité est diminué de 14%) [5].

CHAPITRE 2

LES ANTIBIOTIQUES

2.1. Définition

Un antibiotique est une substance antibactérienne d'origine biologique, c'est à dire produite par des micro-organismes (champignons microscopiques et bactéries) ou de synthèse chimique et qui est capable d'inhiber spécifiquement la vitalité d'autres micro-organismes par un mécanisme particulier jouant sur les mécanismes vitaux du germe [32, 34, 58].

Selon **BOURIN et al** [9], les antibiotiques sont définis par leur :

- Activité antibactérienne (spectre d'activité).
- Toxicité sélective (mode d'action).
- Activité en milieu organique (pharmacocinétique).
- Bonne absorption et diffusion dans l'organisme.

2.2. Historique

La découverte des antibiotiques revient au sir **FLEMING** Alexander en 1929 au cours d'examen de routine de cultures de staphylocoques en boîtes de pétri au saint mary's hospital de Londres, il découvre le développement accidentel de certaines moisissures de *pénicillium notatum* autour desquelles les colonies bactériennes ne cultivaient pas.

Il émit l'hypothèse que ce champignon devait sécréter une substance nuisible à la croissance des staphylocoques et il a démontré que le bouillon filtré de ce champignon permet de reproduire ce phénomène. Il a donné à ce produit qui a pu empêcher la croissance de ces bactéries le nom pénicilline qui est introduit en thérapeutique pendant la deuxième guerre mondiale (1941).

Parallèlement sont préparés en 1935, les sulfamides, le premier groupe d'antibactérien artificiel. Par la suite de nombreux autres antibiotiques ont été isolés à partir de champignons inférieurs, mais aussi et surtout des bactéries telluriques (genre *Actinomycès*, *Bacillus*...) les plus productrices d'antibiotiques.

Les tétracyclines sont découvertes dans les années 1950 [25, 66].

La première question qui se pose, lorsqu'on veut parler d'antibiotique, est la définition de ce terme. Il dérive de «antibiose», utilisé " en 1889 par **PAUL VUILLEMIN**, qui proposa également le terme "antibiote" pour les micro-organismes qui provoquent l'antibiose. Un antibiotique est un dérivé produit par le métabolisme de micro-organismes possédant une activité antibactérienne à faible concentration et n'ayant pas de toxicité pour l'hôte [66].

2.3. Classification des antibiotiques

Selon **DUVAL ET FONTANE [25, 30]**, les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères :

- Leur origine (biosynthèses par des champignons, des bacilles ou des Streptomyces issus du génie chimique).
- Leur composition chimique (dérivés d'acides aminés, hétérosidiques ou polycycliques).
- Leurs activités (antibactériens, antifongiques, antimitotiques). Nous nous intéresserons ici uniquement aux antibiotiques à activité antibactérienne.
- Mode d'action.
- Modalité d'action.

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

Dans chaque famille on retrouve :

- Une structure chimique voisine, plus ou moins homogène.
- Des caractères physiques et chimiques voisins, déterminant un devenir dans l'organisme en général assez proche.
- Une activité antibactérienne du même ordre.

❖ Les bêta-lactamines

Sont caractérisées, sur le plan chimique, par un cycle dit betalactame.

Deux groupes distingués dans cette famille :

- Les pénicillines, extraites de souches de pénicillium (pénicilline G) et leurs dérivés de semi-synthèse.
- Les Céphalosporines, extraites de souches de Céphalosporium.

❖ Les aminosides

Dont le plus connu est la Streptomycine, extraits de diverses souches de Streptomyces (moisissures).

❖ Le chloramphénicol

Antibiotique de structure chimique simple, initialement extrait d'une souche de Streptomyces, obtenu aujourd'hui par synthèse totale.

❖ Les tétracyclines

A structure tétracyclique (quatre cycles), extraits de diverse souches de Streptomyces.

❖ Polypeptides

Constitués de chaînes d'acides aminés d'où leur nom de polypeptides) extraits de bactéries du genre Bacillus.

❖ Les macrolides et antibiotiques apparentes

Contenant dans leur structure volumineux cycle lactone (ou « olide ») extraits de diverses souches de streptomyces, Exemple : érythromycine, tylosine.

❖ Antifongiques

Actifs contre champignons parasites (mycoses).

❖ Divers

Antibiotique de structure et de provenance très diverse, utilisé notamment en antibiosupplémentation (flavospholidol, avoparcine).

2.4. Pharmacocinétique des antibiotiques

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 [39, 50, 69].

Les antibiotiques possèdent des structures très différentes les unes des autres, ont chacun un comportement pharmacocinétique spécifique qui est conditionné par leurs propriétés physiques et chimiques et principalement par leur solubilité (liposolubilité, hydrosolubilité), leur ionisation (acides, basiques, neutres), ainsi que leur stabilité (hydrolyse, oxydation) [66].

2.4.1. Absorption

L'absorption correspond au transfert du principe actif depuis son lieu d'administration vers le secteur plasmatique [59].

2.4.1.1. 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 [39, 50] :

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

2.4.1.2. Absorption parentérale

L'administration par voie parentérale, peut se faire soit par injection intraveineuse, soit par injection intramusculaire, elle est particulièrement utilisée en médecine vétérinaire car elle représente souvent une voie plus commode que la voie orale [39]. 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.

2.4.2. 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 [40, 50]. Toutefois, l'importance de la diffusion dans les tissus est variable selon les médicaments.

2.4.3 Biotransformation

Au cours de leur passage dans l'organisme, la plupart des médicaments subissent diverses modifications de leur structure chimique du fait de l'intervention de nombreux systèmes enzymatiques. Le foie est le principal lieu de ce métabolisme. Le plus souvent, les transformations métaboliques inactivent le médicament mais c'est parfois l'inverse qui se produit. Certains médicaments ne sont pas du tout métabolisés et traversent tels quels l'organisme qui les reçoit [9]. Il existe essentiellement quatre principaux types de biotransformations : l'hydrolyse, l'oxydation, la réduction et la conjugaison, qui aboutissent généralement à des métabolites plus polaires et plus hydrosolubles, susceptibles d'être éliminés plus rapidement que la molécule initiale [9].

Aussi, on peut définir les biotransformations comme un ensemble de réaction biochimique, en général enzymatiques, ayant pour effet de modifier la structure des substances introduites dans l'organisme [30, 41, 50].

2.5. Mode d'action des antibiotiques

A la différence des antiseptiques et des désinfectants, les antibiotiques agissent en général de façon très spécifique sur certaines structures de la cellule bactérienne ; cette grande spécificité d'action explique pourquoi les antibiotiques sont actifs à très faible concentration. Cette action s'exerce selon les molécules sur des sites variés

[19, 54] :

- **Paroi bactérienne** : en inhibant la dernière étape de la biosynthèse du peptidoglycane (muréine composant essentiel de la paroi bactérienne, qui confère à la bactérie sa forme et sa rigidité ce qui lui permet de résister à la forte pression osmotique intra cytoplasmique) au cours de la multiplication cellulaire, la nouvelle bactérie n'est plus protégée entraînant ainsi une lyse bactérienne.
- **Membrane cellulaire** : en désorganisant sa structure et son fonctionnement, ce qui produit des graves troubles d'échanges électrolytiques avec le milieu extérieur.
- **Ribosomes** : ce qui entraîne l'arrêt de la biosynthèse des protéines ou la formation de protéines anormales.
- **ADN** : en empêchant sa réplication et en inhibant la biosynthèse protéique.
- **Autres** : en agissant tant qu'anti métabolites bactériens (c'est à dire au niveau des étapes du métabolisme intermédiaire des bactéries).

CHAPITRE 3

LES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES

3.1. Définition

Les médicaments administrés aux animaux de ferme et en particulier les antibiotiques, soit par injection ou par l'intermédiaire de la nourriture, passent dans le lait, les muscles, les reins ou le foie. Ceux-ci génèrent des résidus pendant une durée variable [72]. L'expression "résidus de médicaments vétérinaires" désigne les résidus de substances originales, de leurs métabolites ou de leurs impuretés appliquées ou administrées par les différentes voies à des animaux à titre de médicaments et restant dans certains produits d'origine animale destinés à l'alimentation [15, 43].

3.2. Facteur de persistance

La persistance des résidus varie selon plusieurs facteurs [59] :

- L'antibiotique lui-même.
- La forme pharmacocinétique.
- Les modalités d'injection.
- Le site d'injection.
- La sévérité de l'irritation locale.

Ces facteurs diffèrent d'un ATB à un autre. Ainsi pour réduire l'incidence de ces résidus, sont conseillées sous forme de « liste positive », l'utilisation sélective molécules et de certaine forme d'administration.

3.3. Conséquences négatives de l'utilisation des antibiotiques chez les animaux

Les conséquences négatives de l'utilisation des antibiotiques chez les animaux sont [42] :

- Présence de résidus dans les produits alimentaires d'origine animale (si les délais d'attente avant l'abattage ne sont pas respectés).
- Contamination de l'environnement (excrétion des antibiotiques par les fèces, urines...).

Selon **SCIPPO** [70], ces conséquences sont surtout dues aux mauvaises pratiques :

- Produits du marché noir.
- Administration sans prescription vétérinaire.
- Non-respect des doses et des délais d'attentes.

3.4. Délai d'attente

3.4.1. Définition

Selon l'article L. 617-2 du CSP de la CEE, le temps d'attente est défini comme étant le délai à observer entre la dernière administration du médicament à l'animal dans les conditions normales d'emploi et l'obtention des denrées alimentaires provenant de cet animal, afin de garantir qu'elles ne contiennent pas de résidus en quantités supérieures aux limites maximales établies par le règlement n° 90-2377 (CEE) [56].

Le délai d'attente ou période de retrait représente donc le temps nécessaire à l'excrétion complète d'un médicament après sa dernière prise, [11]. C'est aussi le délai à observer entre l'administration du médicament à un animal, dans les conditions normales et l'utilisation des denrées alimentaires provenant de cet animal pour garantir que ces denrées alimentaires ne contiennent pas de résidus pouvant présenter des dangers pour la santé du consommateur, [55]. Les délais d'attente indiqués sur les notices qui accompagnent les produits sont valables pour les doses recommandées par le fabricant. Lorsque des doses supérieures sont prescrites par le vétérinaire, le délai d'attente est prolongé et on doit tenir compte de ce qui est inscrit sur l'ordonnance [11].

3.4.2. Seuil de toxicité de tolérance

D'un point de vue toxicologique, les fondements de la notion de seuil de toxicité de tolérance deviennent de plus en plus larges et sûrs. On est alors amené à réaliser une étude toxicologique pour chaque substance. Cette étude comprend plusieurs étapes qui sont :

- Détermination de la dose sans effet (D.S.E) qui est la dose la plus élevée avec laquelle aucun effet toxique n'a été dépisté chez aucune espèce animale.
- Détermination de la dose journalière acceptable (D.J.A) qui est la quantité totale de résidus.

Pouvant être quotidiennement ingérée par le consommateur. Pour les antibiotiques les calculs ont été effectués de façon à ce que les denrées alimentaires ne contiennent pas de résidus décelables.

La fixation de tolérance et son corollaire de temps d'attente pour les antibiotiques apparaissent indispensables pour deux raisons principales :

D'une part, éviter la présence de résidus toxiques ou dangereux dans les denrées destinées à l'alimentation humaine et d'autre part, éviter que les viandes ne deviennent impropres à toute transformation industrielle [17].

3.4.3. Fixation du temps d'attente

Pour fixer le temps d'attente d'une substance, il faut dans ce cas étudier son métabolisme pour connaître les lieux d'accumulation et les voies d'excrétion du composé de départ et de ses métabolites et étudier leur décroissance en fonction du 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 doser. Les différents temps d'attentes proposés devront assurer qu'il n'y a pas de résidus mesurables dans les productions de l'animal vivant (lait, œufs) ou dans les denrées alimentaires obtenues après l'abattage [55].

Le délai d'attente de quelques antibiotiques chez différents animaux est résumé dans le tableau II.

Tableau II : Délai d'attente de quelques antibiotiques [55].

Antibiotiques	Animaux de Boucherie	Animaux Laitiers	Volailles pondeuses (Œufs)
Oxytétracycline	2 semaines	1 semaine	
Spiramycine	3 semaines	3 semaines	3 jours (Voie orale) 3 semaines (autres voies)
Oléandomycine.	Par voie oral 5 jours	5 jours	
Tylosine	3 semaine	3 semaines	3 jours (Voie orale), 2 semaines (formes injectables)
Polymyxine B	Voie orale 3 jours Autres voies 1 mois		

3.5. Limite Maximale de Résidus (LMR) des antibiotiques

3.5.1. Définition

Une LMR est la concentration maximale de résidus ((exprimée en parties par million (ppm) ou parties par milliard (ppb) qui peut demeurer dans les tissus ou les produits alimentaires (lait, viande, œufs...) issus d'un animal destiné à l'alimentation humaine à qui l'on a administré des médicaments vétérinaires et que les scientifiques et les autorités la considèrent sans risque sanitaire pour le consommateur et sans effet sur les processus de fabrication. Cette LMR ne doit pas être dépassée pour des aliments issus des productions animales [26, 64].

3.5.2. Fixation de la LMR

La notion de LMR constitue une synthèse entre les attentes des consommateurs et les contraintes des producteurs permettant, sans interdire l'utilisation des médicaments, leur utilisation en toute sécurité. Cette LMR est calculée en prenant en compte d'une part le risque toxicologique et, d'autre part, l'effet potentiel des résidus sur la flore digestive de l'homme.

La LMR toxicologique est définie pour assurer la sécurité du consommateur. Cette notion intègre tous les éléments liés à la toxicité de la molécule à court ou à long terme, quelle que soit la nature des effets observés sur l'individu ou sur sa descendance [26].

La LMR bactériologique est une limite qui vise, quant à elle, à garantir l'absence d'effet des résidus d'antibiotiques sur la flore digestive humaine. Elle est prise en compte indépendamment du fait que cette modification ait ou non un effet sur l'homme. La LMR finale (officielle) prend la valeur la plus basse entre la LMR toxicologique et bactériologique [27].

Selon **FABRE et al** [26], la fixation de la LMR s'appuie sur trois notions essentielles :

- Recherche de la Dose Sans Effet (DSE) sur l'animal par différents tests biologiques.
- Partant de cette DSE et de facteurs de sécurité (100 ou 1000), calcul d'une Dose Journalière Admissible (DJA) : consommation inférieure à 1 pour 100 ou pour mille de la concentration qui entraîne un effet.
- Partant de cette DJA, de la connaissance de la consommation alimentaire moyenne des habitants et de l'analyse de la répartition dans les différents tissus et organes, on calcule les LMR (lait, viande...).

3.6 Risques liés à la présence de résidus d'antibiotiques

Bien que la contamination microbienne des aliments d'être la cause de la majorité des cas de maladie, l'inquiétude des consommateurs persiste concernant les résidus chimiques présents dans les aliments [1].

La présence possible de résidus d'antibiotiques dans les viandes ovines soulève des préoccupations, parmi lesquelles :

3.6.1. Réactions allergiques chez les personnes sensibilisées

La pénicilline, qui cause les réactions indésirables les plus graves, est impliquée plus fréquemment que tous les autres produits antimicrobiens réunis. De petites quantités de pénicilline sont métabolisées dans l'organisme en acide pénicilloïque, qui est un puissant allergène. L'allergie aux sulfamides est également courante [1].

3.6.2. Toxicité aigüe

Les résidus peuvent avoir des effets toxiques directs et aigüe, tel le chloramphénicol qui est un antibiotique interdit depuis 1995 en Europe [73]. Ainsi, certaines molécules comme le chloramphénicol, est interdit en Europe sur les animaux de rente, en raison du risque potentiel d'apparition d'effet secondaire tels que des formes idiosyncratique d'anémie aplasique chez l'homme. Cet effet secondaire a été mis en évidence non seulement lors traitement systémique mais aussi lors d'application locale et même lors d'exposition professionnelle [16].

3.6.3. Toxicité chronique

L'exposition à de faibles concentrations de certains composés chimiques sur des périodes prolongés pourrait entraines une toxicité chronique. Cette préoccupation vise principalement les produits cancérigène et ceux qui s'accumulent dans les organismes vivants, telle la furazolidone interdite depuis 1994 en Europe [2].

3.6.4. Modification de flore intestinale

Les autres effets potentiellement dues aux résidus sont d'ordre toxicologique et pharmacologique. On note entre autre une modification de la flore intestinale humaine [16].

Des études in vivo sur des animaux visant à évaluer les effets de doses thérapeutiques et de résidus de tétracycline sur la flore intestinale humaine ont mis en évidence les modifications engendrées sur la flore intestinale.

Il y a effectivement une sélection de bactérie résistance à la tétracycline, ainsi qu'un effet sur les populations fécales aérobies et anaérobies, sans compter les modifications les modifications de certains paramètres métaboliques de la microflore. Par contre la barrière contre les salmonelles exogènes a été maintenue [16, 63].

3.6.5. Foeto-toxicité

Les nitrofuranes sont soupçonnés de foetotoxicité. Certains sulfamides sont foetotoxiques pour les nourrissons de moins d'un mois [22].

CHAPITRE 4

LES METHODES DE DEPISTAGE DES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES

4.1. Introduction

Le contrôle des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale s'effectue en deux étapes avec la recherche d'un effet antibiotique par une méthode de dépistage et la confirmation de la présence de l'antibiotique par une méthode physico-chimique [32].

4.2. Dépistage

Méthode de dépistage est une méthode de routine réalisée par les laboratoires départementaux d'analyses ; cette méthode est selon les cas, uniquement qualitative ou doit nécessairement être confirmée par une méthode de confirmation [57].

Deux types de tests sont utilisés pour rechercher les résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale [29] :

- Des tests microbiologiques qui utilisent le principe de la croissance bactérienne ; ce sont des méthodes bactériennes encore appelées méthodes d'inhibition,
- Des tests qui utilisent des méthodes physico-chimiques, tel que la chromatographie en couche mince, la chromatographie en phase liquide ou la chromatographie en phase gazeuse, des techniques enzymatiques ou des techniques immunologiques

La comparaison entre les différentes méthodes est représentée dans le Tableau III.

Tableau III : Comparaison entre les méthodes bactériennes et les méthodes physico-chimiques et immunologiques pour la recherche des résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animales [12, 26].

	Méthodes bactériennes	Méthodes physico-chimiques et immunologiques
Principe	Mise en évidence du pouvoir d'inhibition de la croissance des souches sélectionnées	Dosage des molécules (résidus)
Les différentes méthodes	<ul style="list-style-type: none"> - Méthode officielle des quatre boîtes. - Méthode des trois boîtes - Le « Fast antibiotic screen®test » - Le Premi®Test - Le Delvo®test - Le Copan® test Pet S 100 - Le Valio® T101 	<ul style="list-style-type: none"> - Spectrométrie de masse - Chromatographie en phase liquide - Chromatographie en phase gazeuse - Chromatographie en couche mince - La méthode E.L.I.S.A - Tests enzymatiques : exemple : le Penzym - Tests immun enzymatiques
Particularités	<ul style="list-style-type: none"> - Large spectre de recherche de molécule antibiotique - Première étape des plans de contrôle - Utilisées quand l'antibiotique est inconnu 	<ul style="list-style-type: none"> - Grande variabilité des seuils de détection - Utilisées pour doser un antibiotique connu

4.2.1. Méthode de dépistage biologique (Microbiologique)

4.2.1.1. Méthode alternative (Premi Test)

Est un test à large spectre, il détecte un grand nombre d'antibiotiques couramment utilisés pour la viande. Au bout de 4 heures et donne un résultat fiable.

Le Premi Test est d'une utilisation simple :

- Verser un peu de jus de viande dans le tube à essai
- préchauffer l'incubateur pendant 20 minutes
- incuber l'échantillon à 64 °C pendant trois heures environ et vérifier la couleur.

Si l'échantillon vire nettement du violet au jaune, cela signifie que la quantité de composés antimicrobiens se situe en dessous des limites de détection du Premi®Test. Une couleur violette indique un taux d'antibiotiques supérieur ou égal à la limite de détection du test al [46].

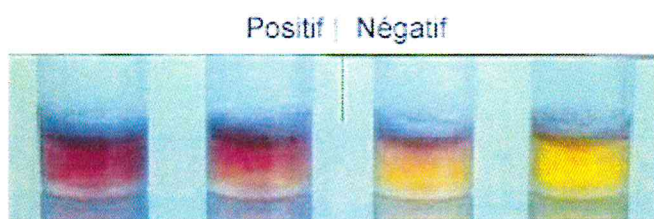


Figure 1 : Plaque de couleurs de Premi®Test [31].

4.2.1.2. Test européen à 4 boites

Repose sur l'utilisation des boîtes de Pétri sur lesquelles sont déposés des disques de la viande à tester. Ces boîtes contiennent différents milieux de culture, sontensemencées avec différentes bactéries sensibles à des familles d'antibiotiques différents (tableau IV). La présence d'antibiotique dans la viande se traduit, après 24 heures de culture, par une zone d'inhibition autour du disque de viande. Si le diamètre d'inhibition est supérieur à 2 mm, le morceau de viande est considéré comme positif [52].

Tableau IV : Présentation de la méthode des 4 boites utilisées pour le contrôle officiel [3].

Boite	1	2	3	4
Souche	Bacillus subtilis	Bacillus subtilis	Bacillus subtilis	Micrococcus Luteus
PH	6	7.4	8	8
Observation		Ajout Trimethoprime (1)		
Molécule cible	Bétalactames + Tétracyclines	Sulfamides	Aminosides	Bétalactames + Macrolides

4.2.2. Méthodes biologiques

4.2.2.1. Méthode enzymatique (Penzym test)

Ce test qui sert pour la détection des résidus d'antibiotiques de type Béta-lactamines (test qualitatif) dans le lait a été adapté à la mise en évidence de ces résidus dans la viande toute en tirant parti de la propriété de l'hydroxylapatite d'adsorber les protéines à faible force ionique et à pH neutre. C'est un test enzymatique colorimétrique, basé sur l'inhibition d'une DD carboxypeptidase par les B-lactames. Il permet une estimation semi-quantitative des antibiotiques dans la viande à une concentration de 0.016 à 0.018 UI/G. L'application de ce test à la détermination des antibiotiques dans la viande est entravée par la présence des pigments rouges liés à des protéines (hémoglobine, myoglobine) [20].

4.2.2.2. Méthode sur Tigettes (le Test Beta Star)

Est un test rapide spécifique des bêta lactamines fondé sur l'emploi d'un récepteur spécifique lié à des particules d'or.

C'est un test très simple d'emploi, la lecture s'effectue sur des bandelettes (figure 2) [31].

2 situations sont représentées a) échantillons sans antibiotique b) échantillon avec antibiotique

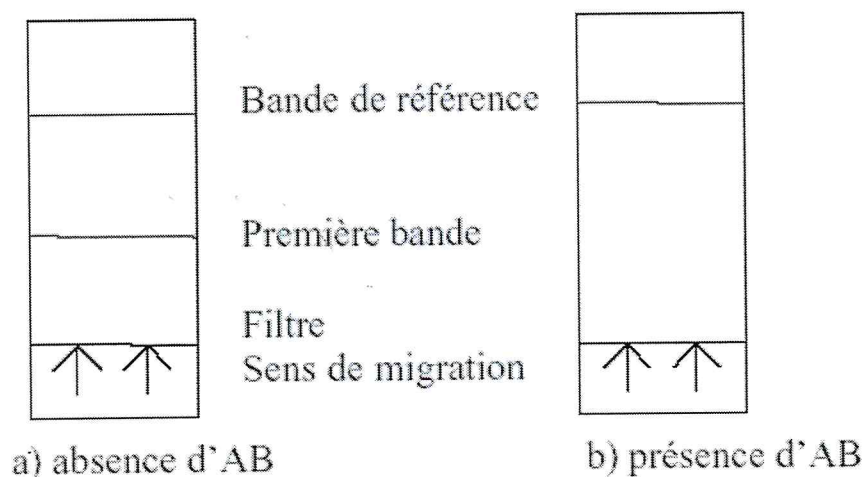


Figure 2 : Principe de BETA -STAR [53].

4.2.3. Méthodes immunologiques

Les méthodes immuno-enzymatiques et immunologiques sont basées sur l'interaction antigène-anticorps, qui est très spécifique pour un résidu particulier. La technique la plus répandue est l'Enzyme-Linked-ImmunoSorbent-Assay (E.L.I.S.A.) et le système de détection peut être basé sur des réactifs à enzymes marquées. Il y a différentes méthodes pour la quantification des antigènes, comme la méthode « double anticorps » encore appelée ELISA sandwich et le test de compétition directe ELISA. Les Radio-Immuno-Assay (R.I.A.) sont basés sur la mesure de la radioactivité du complexe immunologique. D'autres tests utilisent la luminescence ou la fluorimétrie comme méthode de détection.

Aujourd'hui, il existe de nombreux kits ELISA de différent type utilisables pour un grand nombre de substances et notamment de nombreux antibiotiques. Ils sont disponibles pour un résidu spécifique ou pour un groupe de composés apparentés comme par exemple le groupe des fluoroquinolones [38]. Dans certains cas, il faut tenir compte de la possibilité de réactions croisées. Les kits ELISA ont montré une bonne performance pour l'analyse des résidus d'antibiotiques dans la viande comme la tylosine, les tétracyclines, le chloramphénicol, les nitroimidazoles et les sulphonamides.

Les tests enzymatiques et immuno-enzymatiques sont utilisés par les laiteries pour réaliser le dépistage dans le lait de résidus d'antibiotiques spécifiques, en général les β lactamines ou les tétracyclines. Ces tests permettent un dépistage simple, peu cher, rapide et à un seuil proche ou inférieur à la LMR, de ces résidus d'antibiotiques et ainsi permettent le contrôle de la conformité des laits de collecte. Exemple de tests immuno-enzymatiques :

Le Delvo X Press TM BL β , le β etastar β , le MRL Test β , le Snap B β talactamine β , le Snap Tétracycline β [12].

4.3. Confirmation

La méthode de confirmation est beaucoup plus fine d'un point de vue technique que la méthode de dépistage. Elle permet d'identifier précisément la molécule en cause et sa concentration [70].

Les méthodes de confirmation sont aujourd'hui des méthodes physico-chimiques, la confirmation des échantillons positifs se fait au moyen de méthodes analytiques comme :

- La chromatographie liquide haute performance avec ionisation électro-spray à pression atmosphérique (HPLC-ESI) associée à la spectrométrie de masse (SM) [21]. C'est la technique de choix pour identifier et doser le chloramphénicol par exemple [67].
- L'HPLC-SM avec ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI en anglais) [21, 67].

*PARTIE
EXPERIMENTALE*

PARTIE EXPERIMENTALE

Au cours de la réalisation de ce travail, nous nous sommes fixés l'objectif suivant :

- La recherche des résidus d'antibiotiques notamment les Béta-lactamines ; les sulfamides ; les macrolides et les aminosides dans la viande ovine de la wilaya de Médéa.

1. période et lieu de travail

Cette partie expérimentale a été réalisée au sein du service microbiologique du complexe ANTIBIOTICAL de groupe SAIDAL, situé au niveau de Deraa Smar dans la wilaya de Médéa du 1^{er} janvier jusqu'au 15 mars 2015.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel

2.1.1. Matériel biologique

- 35 échantillons de viandes ovines.
- Souche bactérienne (*Bacillus subtilis* et *Micrococcus luteus*).

2.1.2. Matériel non biologique

Nous avons utilisé le matériel suivant :

- Flacons de 250 ml.
- Seringues.
- Balance.
- Boîtes de Pétries.
- Emporte Pièce.
- Bistouri.
- Bain marie.
- Autoclave.
- pH metre.
- TSA milieu de culture (Trypticaséine Soja Agaar).
- Solution HCL, Solution NAOH.

2.2. Méthodes

2.2.1. Prélèvement des échantillons

Les 35 échantillons de viande ovine prélevés, ont pour origine les différentes régions de la wilaya de Médéa (Ouled Brahim, Berrouagia, Ksar Elboukharie, Sidi Naamane, Swagie et Omaria).

Une partie des échantillons proviennent des différents points de vente, et l'autre ont été ramené à partir des abattoirs de la wilaya de Médéa.

Les échantillons missent dans des sacs en plastique hermétiquement fermés et stériles, identifiés et transportés dans des glacières à 4°C, puis conservés au congélateur jusqu'au moment de leurs analyses.

2.2.2. Analyse par la méthode microbiologique

Il y'a plusieurs méthodes de détection des résidus d'antibiotiques dans la viande, afin de réaliser notre objectif qui a été fixés, nous avons utilisé **la méthode microbiologique de quatre boîtes.**

2.2.2.1. Principe de la Méthode

C'est une méthode de détection qualitative qui utilise deux bactéries et plusieurs pH ; basé sur la diffusion sur gélose et la zone d'inhibition autour de l'échantillon, cette méthode est réalisée comme suit :

- Nécessite l'utilisation des deux espèces suivantes : *Bacillus subtilis* cultivé à trois pH différents (6, 7,2 et 8) et *Microcoques luteus* cultivé à pH 8 dans un milieu nutritif solide coulé en boîtes de pétri.
- A la surface du milieu nutritif ; déposer des cylindres de viande à tester.
- Formation des zones d'inhibitions autour des cylindres de viande résultant de la diffusion des substances à activité antibiotique présentes dans l'échantillon.

2.2.2.2. Etapes de la méthode microbiologique de quatre boîtes

2.2.2.2.1. Préparation des milieux de culture

Le milieu utilisé est le TSA (Trypticaséine Soja Agar) préparé comme suit :

- Dans une marmite, mettre un volume d'eau, pour le chauffer.
- Peser 40 g de la poudre du TSA pour chaque litre d'eau, mélanger avec l'eau chauffée (**figure 3**).

- Refroidir le milieu à 45°C (**figure 4**).



Figure 3 : Chauffage du mélange l'eau et TSA



Figure 4 : Refroidissement de la gélose

- Disperser dans des flacons de 250 ml (**figure 5**).
- Revaloriser le pH des flacons à l'aide d'un pH mètre, par l'addition de la solution HCL jusqu'à l'obtention d'un pH de 6 et par l'addition de solution NAOH jusqu'à l'obtention d'un pH de 8. (**figure 6**)



Figure 5 : Dispersion de la gélose dans les flacons



Figure 6 : Réglage du pH de la g

- Stériliser les flacons dans un autoclave.
- Laisser les flacons refroidir, après couler la gélose dans des boites de pétri sous la haut.
- Couler la gélose dans des boites de pétri.

2.2.2.2. Réactivation des souches bactériennes utilisées

Fournies par l'institut Pasteur, les souches de référence sont :

- *Bacillus subtilis* qui permet la détection des B-lactamines, tétracyclines, macrolides et sulfamides (Réf : BGA 935/2).
- *Micrococcus luteus* qui permet la détection des aminosides (Réf : TCCA 697/2).

Le mode opératoire de la réactivation des souches bactériennes utilisées se fait comme suit :

- Introduire une anse de platine stérile dans le tube de conservation jusqu'à la gélose inclinée, en évitant de toucher les parois puis prélever une parcelle qui se trouve à la surface.
- Ensemencer dans une boîte de pétri de TSA.
- Incuber à une température de 30 à 37°C pendant 24h à 48h.

2.2.2.3. Préparation des souches bactériennes

Après l'étape précédente :

- Prendre 2 tubes stériles, contenant de l'eau physiologique **0,9%**.
- Prendre une petite quantité de la souche bactérienne et la mettre dans le tube à l'aide d'une anse platine.
- Ensemencer avec un écouvillon les boîtes qui vont être utilisées par les solutions préparées. Toujours travailler au près du bec benzène (**figure 7**).



Figure 7 : Ensemencement des bactéries.

2.2.2.2.4. Préparation des solutions d'antibiotiques témoins (voir annexe 1).

- Préparer 3 solutions témoins : de pénicilline G, érythromycine et de streptomycine pour tester les conditions de développement et de sensibilité de la bactérie.

2.2.2.2.5. Traitements des échantillons

- Décongeler les échantillons, quelques minutes avant d'opérer, et les déposer sur un plateau en acier inoxydable.
- A l'aide d'un emporte-pièce, prélever sur chaque échantillon une carotte cylindrique de 8 mm de diamètre et de 2 cm de long environ. (figure 8)
- Découper par un bistouri stérile les carottes en rondelles de viande de 2 mm d'épaisseur.



Figure 8 : Prélèvement d'un cylindre de viande.

- Placer deux rondelles sur chacune des quatre boîtes d'essai, en utilisant des pinces.
- Mettre les solutions témoin sur les disques d'antibiotiques, ces derniers placer dans les boîtes de pétri.
- Incuber les boîtes (*Bacillus subtilis* à 30°C pendant 24h, *Micrococcus luteus* à 37°C pendant 24h) (figure 9).
- Lire les zones d'inhibitions. (figure 10 et 11).



Figure 9 : Incubation des boîtes

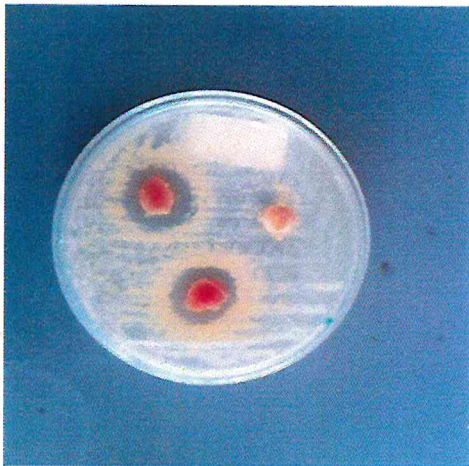


Figure 10 : Apparition des zones d'inhibition.

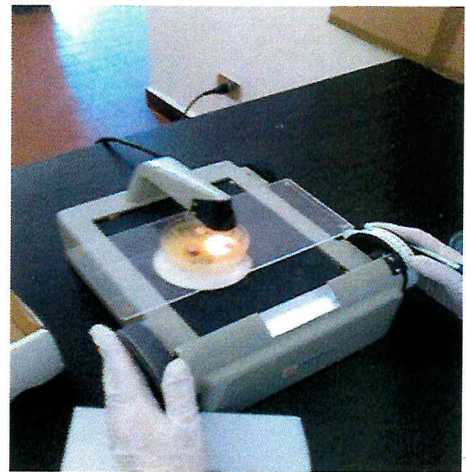


Figure 11 : Lecteur de diamètre de la zone d'inhibition.

3. Résultats

Avant de commencer la lecture des zones d'inhibitions des échantillons analysés, nous commençons par la lecture des disques d'antibiotiques témoins, afin de vérifier la conformité des souches test utilisées (Tableau V).

Selon AFSSA [2], les disques imprégnés des solutions témoins doivent présenter une zone d'inhibition nette dont la taille minimale de la zone annulaire est de 6mm. Les résultats du lecteur figurent dans le tableau suivant :

Tableau V : Diamètres d'inhibition des antibiotiques témoins

Espèce	pH	Antibiotiques	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)
Bacillus subtilus	6,0	Pénicilline G	27
	7,2	Sulfathiazol	20
	8,0	Dihydrostreptomycine	23
Micrococcus lutéus	8,0	Erythromycine	25

- Les échantillons considérés comme positifs doivent donner des zones d'inhibition dont la taille de la zone annulaire est au moins 2mm.
- Les deux rondelles d'un même échantillon doivent étaler la même zone d'inhibition,

En se basant sur ces appuis, nous avons obtenu les résultats suivants :

3.1.Résultats par rapport à chaque antibiotique test

❖ Bêta-lactamines

Les suivis de la recherche des résidus de bêta-lactamines sont indiqués dans le tableau et les figures suivants :

Tableau VI: Résultats de la recherche des bêta-lactamines.

Région	Nbrs d'échantillons	Positifs	Pourcentage (%)	Négatifs	Pourcentage (%)
Omaria	7	0	0	7	20
Ksar el Bokhari	10	4	11.43	6	17.14
Swagie	5	1	2.86	4	11.43
Berouagia	8	0	0	8	22.86
Sid.Naamane	5	2	5.71	3	8.57
Total	35	7	20	28	80

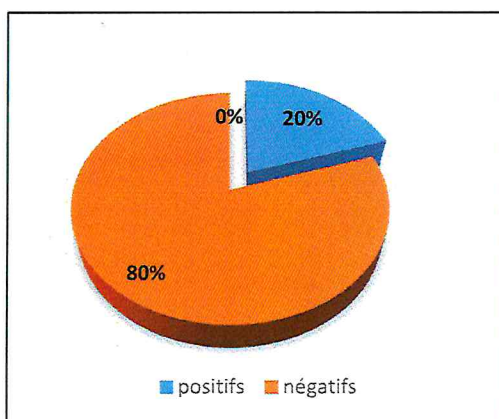


Figure 12 : Résultats de la recherche des résidus de bêta-lactamine dans la willaya de Médéa

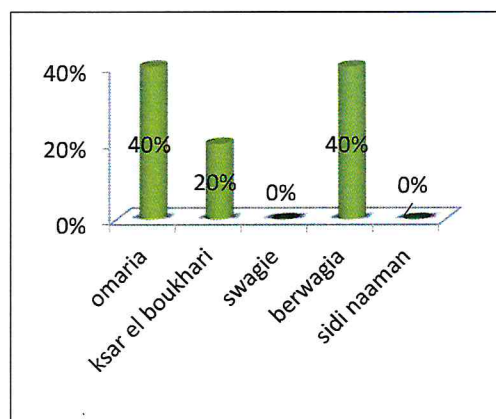


Figure 13 : Résultats de la recherche des résidus de la bêta-lactamine par rapport à chaque région.

❖ Sulfamides

Les suivis de la recherche des résidus de Sulfamides sont indiqués dans le tableau et les figures suivants :

Tableau VII : Résultats de la recherche des Sulfamides.

Régions	Nbrs d'échantillons	Positifs	Pourcentage (%)	Négatifs	Pourcentage (%)
Omaria	7	0	0	7	20
Ksar el Boukharie	10	1	2.86	9	25.71
Swagie	5	0	0	5	14.29
Berouagia	8	0	0	8	22.86
Sidi.Naamane	5	0	0	5	14.29
Total	35	1	2.86	34	97.14

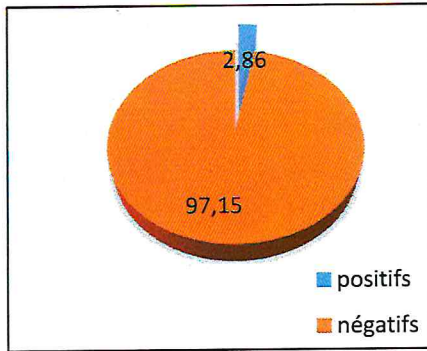


Figure 14 : Résultat de la recherche des résidus de la Sulfamide dans la willaya de Médéa.

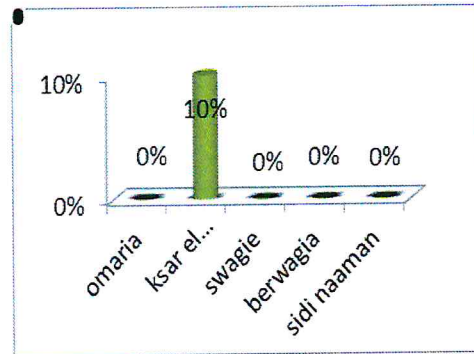


Figure 15 : Résultats de la recherche des résidus de la Sulfamide par rapport à chaque région.

❖ Aminosités

Les suivis de la recherche des résidus d'Aminosides sont indiqués dans le tableau et les figures suivants :

Tableau VIII : Résultats de la recherche des résidus d'Aminosides

Régions	Nbrs d'échantillons	Positifs	Pourcentage (%)	Négatifs	Pourcentage (%)
Omaria	7	3	8.57	4	11.43
Ksar el Boukharie	10	4	11.43	6	17.14
Swagie	5	0	0	5	14.29
Berouagia	8	2	5.71	6	17.14
Sidi.Naamane	5	1	2.86	4	11.43
Total	35	10	28.57	25	71.43

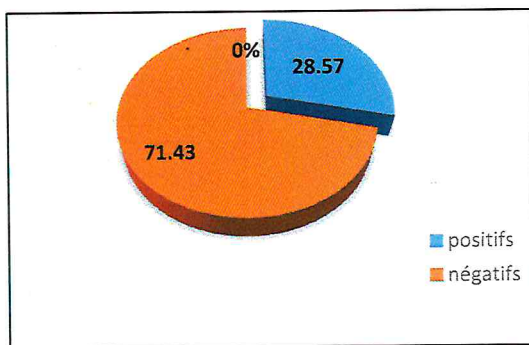


Figure 16 : Résultats de la recherche des résidus d'Aminosides dans la willaya de Médéa.

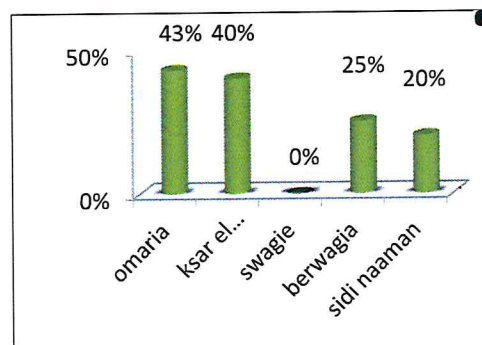


Figure 17 : Résultats de la recherche des résidus d'Aminosides par rapport à chaque région.

❖ Macrolides

Les suivis de la recherche des résidus de Macrolides sont indiqués dans le tableau et les figures suivant :

Tableau IX : Résultats de la recherche des résidus de Macrolides.

Endroit	Nbrs d'échantillons	Positifs	Pourcentage %	négatifs	Pourcentage %
Omaria	7	0	0	7	20
Ksar el Boukharie	10	4	11.43	6	17.14
Swagie	5	0	0	5	14.29
Berouagia	8	0	0	8	22.86
Sidi.Naamane	5	1	2.86	4	11.43
Total	35	5	14.29	30	85.72

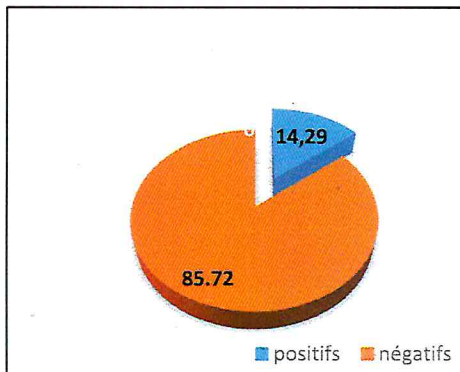


Figure 18 : Résultats de la recherche des résidus de Macrolides.

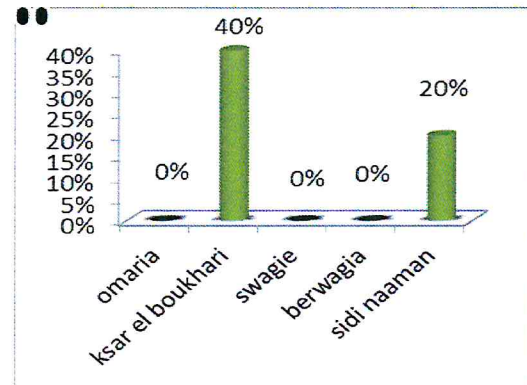


Figure 19 : Résultats de la recherche des résidus de Macrolides par rapport à chaque région.

3.2.Résultat global par rapport à chaque antibiotique

L'analyse des 35 échantillons par rapport à chaque groupe d'antibiotique testé montre les résultats suivants :

Tableau X : Résultats globaux par rapport à chaque antibiotique testé :

La famille d'ATB	Béta-lactamine	Sulfamides	Aminosides	Macrolides
Nombre positifs	7	1	10	5
%	20	2.86	28.57	14.28
Nombre négatifs	28	34	25	30
%	80	97.15	71.43	85.72
Total	35	35	35	35
%	100%	100%	100%	100%

Ces résultats sont représentés dans la figure suivante

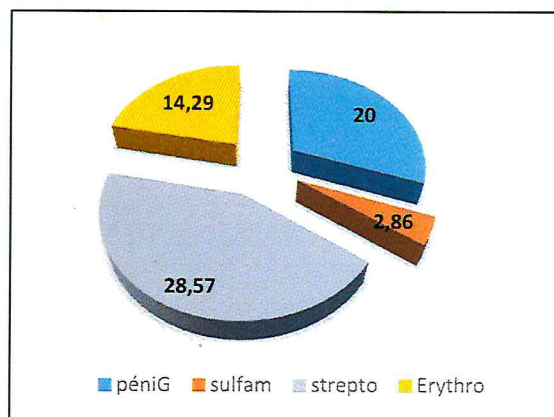


Figure 20 : Représentation des résultats globaux des résidus des quatre familles d'antibiotique.

3.3. Résultat globaux de la recherche des résidus d'antibiotiques dans la viande ovine

L'analyse des 35 échantillons de viande ovine a révélé les résultats représentés dans le tableau XI.

Tableau XI : Résultat globaux de la recherche des résidus d'antibiotiques dans les échantillons analysés.

	Nombre	Pourcentage (%)
Prélèvements	35	100
Prélèvements positifs	23	65.71
prélèvements négatifs	12	34.29

4. Discussion

Notre étude expérimentale portée sur la recherche des résidus d'antibiotiques, essentiellement les bêta-lactamines, les aminosides, les macrolides et les sulfamides a été menée sur la viande ovine dans la wilaya de Médéa au moyen de la méthode microbiologique de quatre boîtes. Les résultats obtenus ont montré des réponses positives et des réponses négatives pour chaque échantillon.

❖ Les bêta-lactamines

La pénicilline G est un antibiotique bactéricide qui agit sur les bactéries en phase de multiplication en bloquant la biosynthèse de leur paroi. Son spectre étroit est limité aux bactéries Gram + et aux pasteurelles (Voir annexe 2).

Parmi les échantillons traités, nous avons constaté que sur un total de 35 échantillons de viande ovine analysés, nous avons trouvé 7 échantillons, soit 20 % sont positifs pour la pénicilline et 28 échantillons, soit 80% sont négatifs.

Avec absence des échantillons positifs dans les prélèvements réalisés au niveau d'Omaria et Berouagia, soit 0%, 1 seul échantillon a été positif parmi les prélèvements effectués au niveau de la région de Swagie, soit 2.86%, 4 échantillons au niveau de Ksar el Boukharie, soit 11.43% qui représente le pourcentage le plus élevé de contamination par la peni G. Cette contamination peut être liée au choix des vétérinaires qui est orienté souvent à cette molécule.

Ce résultat est semblable à l'étude de BEATRICE ET ANTOINE en 2003 [6], qui a été réalisé sur 228 échantillons de viande ovine au Dakar, et qui a révélé un taux de positivité de 11.4%, soit 6.96% de bêta-lactamine, et aussi avec une étude multicentrique en 1998 [79], à travers les pays d'Europe avec un taux de positivité de 4.9%.

Certaines suppositions peuvent être propagées pour expliquer l'existence de résidu de pénicilline qui appartienne à la famille de bêta lactamine dans les viandes analysés à savoir :

- Utilisation de bêta-lactamine de forte doses, et non-respect de l'âge et l'état physiologique de l'animal.
- Traitements des animaux par leurs propriétaires de façon aléatoire sans le contrôle de vétérinaire.
- Non-respect du délai d'attente dans la viande, qui est normalement pour les pénicillines.

❖ Les sulfamides

Ils ont un spectre large mais présente de nombreuses résistances (voir annexe 2).

Nos résultats montrent que sur 35 échantillons analysés, 1 seul échantillon est positif, soit 2.86%, et 34 sont négatifs, soit 97.15%.

L'échantillon positive a été détecté au niveau de la région de Ksar el Boukharie, le reste tous les échantillons a été négatif dans la région d'Omaria, Swagie, Berougia et Sidi-Naamane. Nos résultats sont différents à ceux rapportés par l'étude de STOLTZ en 2008 [74], à l'université de Claude-Bernarde-Lyon 1 qui a révélé un taux de positivité de 83.33% sur 18 échantillons analysé.

Nos résultats peuvent être justifié par :

- L'utilisation des doses faibles de sulfamides à cause des effets allergiques remarquables sur les consommateurs de viandes
- L'utilisation de sulfamide en synergie avec d'autres médicaments.

❖ Les Aminocyclitolides

C'est un antibiotique à large spectre (Gram négatif et Gram +), inactifs sur tous les anaérobies, actifs sur Pseudomonas (amikacine), bactéricide de type "Concentration - dépendant" (voir annexe 2).

Sur un nombre totale de 35 échantillons analysés, 10 échantillons se sont révélés positifs (contiennent la streptomycine), soit 28.57%, le pourcentage le plus élevé est obtenu dans les échantillons prélevés au niveau de la région de ksar el Boukharie, soit 11.43%. Ce résultat diffère de celui rapporté par l'étude de BEATRICE ET ANTOINE en 2003 [6], qui a été réalisée sur 228 échantillons de viandes ovines au Dakar, et qui a révélé un taux de positivité de 2.04% pour les aminocyclitolides, mais semblable à l'étude de ZOUBIRI ET MAKHLOOF en 2002 [78], qui ont trouvé un taux de positivité de 30% pour les aminocyclitolides.

En conséquence nous pouvons expliquer ce taux élevé par l'utilisation importante de ces molécules pour un but curatif au préventif par les vétérinaires ou par les éleveurs qui ne respectent ni les doses indiquées ni le délai d'attente.

❖ Les Macrolides

Elles ont un spectre limité et similaire à celui de la pénicilline, actifs sur les mycoplasmes par contre totalement inactifs sur les entérobactéries et Pseudomonas, Remplacent les pénicillines en cas d'allergie (voir annexe 2).

Après l'analyse de 35 prélèvements de la viande nous avons trouvé 5 prélèvements positifs, soit 14.29%. Exclusivement, 1 seule prélèvement a été détecté positif parmi les prélèvements de la région de Sidi Naamane, soit 2.86%, 4 prélèvements sont positifs au niveau de la région de ksar el Boukharine, soit 11.43% qui est la valeur la plus élevée.

Un taux élevé de contamination peut être expliqué par l'usage fréquent de ces molécules notamment l'érythromycine en élevage ovin surtout pour le traitement des problèmes locomoteurs à savoir le piétin.

CONCLUSION

La consommation de la viande rouge (ovine) reste un luxe pour la majorité de la population algérienne, et l'antibiothérapie joue un rôle important dans le traitement et la prévention des infections et des maladies ovines, le nombre d'antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire ne cesse d'augmenter année en année.

A l'issue de l'analyse réalisée par la méthode microbiologique, nous avons révélé la présence de résidus d'antibiotiques de quatre familles à savoir, les Béta-lactamines, les Macrolides, les Aminosides et les Sulfamides donc nous pouvons dire que les résidus d'antibiotiques sont bien présents dans un produit essentielle dans l'alimentation d'origine animale telle que la viande ovine, il suffit juste de les rechercher.

La présence de ces résidus dans la viande ovine est un critère majeur du non qualité, qui engendre des risques pour le consommateur et par conséquent pour la santé publique, car elle favorise l'apparition de souches de bactéries résistantes, à côté des problèmes sanitaires qu'ils causent (allergie, fetoetoxicitéetc).

C'est pourquoi, la recherche des résidus d'antibiotiques n'aurait de valeur sure que si son application devenait systématique sur toutes les viandes destinées à la consommation humaine donc il semble nécessaire de mettre en place un plan de surveillance permanent de la qualité des viandes (résidus d'antibiotiques et résistances bactériennes) et surveiller particulièrement les pratiques lors de l'étape d'embouche des animaux.

RECOMANDATIONS

Notre étude a montré une forte proportion de résidus dans les viandes ovines, ces conséquences sur la santé humaine. Donc, pour garantir un aliment sain aux consommateurs sans risque pour leur santé, nous recommandons les mesures suivantes :

- L'application rigoureuse de mesures zootechniques et hygiéniques.
- Le diagnostic des pathologies doit être correct, permet l'identification des situations qui nécessitent un usage ou non des antibiotiques.
- L'administration des antibiotiques doit être réalisée uniquement par les vétérinaires.
- Les vétérinaires doivent indiquer les temps d'attentes dans la viande sur les ordonnances.
- Les éleveurs doivent respecter les temps d'attentes fixés par le vétérinaire dans sa prescription.
- Mettre un plan de surveillance permanent de la qualité des viandes.
- Renforcer les capacités analytiques des laboratoires en Algérie, pour le contrôle des résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments notamment les viandes ovines.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **ACIA (2007)** « Échantillonnage et analyses, Résidus chimiques ». Agence Canadienne d'Inspection des Aliments, 232p.
2. **AFSSA (2006)** « Usage vétérinaire des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine ». Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, 214p.
3. **ANDERSON K (1998)** « détection of milk antibiotic residues by use of screening tests and liquid chromatography after intramammary administration of amoxicillin or penicillin G in cows with clinical mastitis. Am-J-Vet-Res. 59(9).
4. **ANONYME 1 F (2007)** « Cours de nutrition humaine. Chapitre viandes, poissons et œufs ».Magistère surveillance de la chaîne alimentaire de la filière viande. Département des sciences vétérinaires El Khroub (UMC), page 2-4.
5. **ANONYME 11 (2008)** « Recherche des résidus d'antibiotiques dans la viande : De nouvelles méthodes pour de nouveaux besoins », page 2-60.
6. **BEATRICE ET ANTOINE** « Investigation sur la présence de résidus d'antibiotiques dans les viandes commercialisées à Dakar », projet PACEPA de fin d'étude, 66p.
7. **BELHADJ. M-T (2008)** « Contribution à l'étude de la qualité bactériologique des viandes blanches commercialisées dans la Wilaya de Bordj Bou Arreridj », Mémoire de magistère, école nationale vétérinaire El Harrach, Alger, page 7.
8. **BEVERLEY. S ET SHARMAN M (2001)** « Improvement to the screening of antimicrobial drug residues in food by the use of Premi®Test », Veterinary Science, Vol. 70 – Avr.
9. **BOURIN.M, MICHEL.L ET ALLAIN.H, (1994)** « MEDICAMENTS –ANTIBIOTIQUES. Cours de Pharmacologie 3ème Edition ». Traité de Chimie Thérapeutique Vol 2.
10. **BRIGITTE. M, COLLIN. P ET ERIK. M, 2005** « La microbiologie des aliments : maitises et critères ».2eme édition .355p .
11. **BROES. A, BOUTIN. R, DELORME. M (1999)** « Utilisation des médicaments. Guide porc, comité production porcine », page 4-6.
12. **BROUILLET. P (2002)** « Les tests rapides de détection des antibiotiques dans le lait Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires », p183-189.
13. **BRYSKIER. A, (1999)** « Agents antibactériens et antifongiques », Paris : Ellipses ; 1216p.

14. **BULTOT.D, DUFRASNE.I, CLINQUART.A, HOCQUETTE.J.F, ISTASSA.L(2002)** « Performances zootechniques et qualité de la viande de taurillons Blanc Bleu Belge, Limousins et Aberdeen Angus engraisés avec deux types de rations. Renc. Rech. Ruminants », p 271.
15. **CARTIER P (2007)** « Le point sur la qualité des carcasses et des viandes de gros bovins Compte rendu final n° 17 05 32 022 », Institut de l'Élevage Département Techniques d'Élevage et Service Qualité des Viandes p 67.
16. **CHATAIGNER.B, STEVENS.A, (2002)** « Investigation sur les résidus d'antibiotiques dans les viandes commercialisées à DAKAR », Thèse ; Ecole Nationale vétérinaire, p6-8,12-15,18.
17. **CLEMENT M C, DEMARIA M, PETITM ET THEVENOT C (1978)** « Résidus de cloxacilline et de neomycine dans le lait après leur administration ; en association, par voie galactophore ». Rec.Méd.Vet, 154 (11), p 951-956.
18. **COMBS M.T., ASHRAF-KHORASSANI M., TAYLOR L.T (1999)** « HPLC/atmospheric pressure chemical ionization - mass spectroscopy of eight regulated sulfonamides J. Pharm. Biomed. Anal », 19, (3-4), p301-308.
19. **CUQ. J-L (2008)** « Microbiologie alimentaire. Chapitre les agents antimicrobiens », page 125-130. Date de consultation le 25/11/2007.
20. **DANHAIVE. P (1986)** « Détection d'antibiotiques de type B-lactames dans les viandes par la méthode Penzym® », page 61-63. Annales de médecine vétérinaire (périodique mensuel), ISSN 0003 – 4118, 1986 – T.130 – N° 1 (JANVIER).
21. **DELEPINE B., HURTAUD-PESSEL D., SANDERS P (2002)** « Les méthodes récentes d'analyse physico-chimique des résidus d'antibiotiques dans le lait Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires », p191-19649.
22. **DERACHE.R, (1991)** « Toxicologie et sécurité des aliments –Techniques et alimentation-Lavoisier », Paris PP1746303.
23. **DEWDNEY J.M., MAES L., RAYNAUD J.P., BLANC F., SCHEID J.P., JACKSON T., LENS S,VERSCHUEREN C** : Risk assessment of antibiotic residues of β -lactams and macrolides in food products with regard to their immuno-allergic potential Food and Chemical Toxicology 385-388.
24. **DIRIEUX. H, FERRANDO. R, JACQUOT.R (1962)** « Caractéristiques alimentaires de la viande de boucherie », Vigot frères éditeurs, Paris VI, p 9, 143.

25. **DUVAL. J, SOUSSY. C-J (1990)** « Antibiothérapie » 4^{ème} édition, page 3-58.
26. **FABRE J.M., MIRCOVICH C, GEIJP E, MORETAIN J.P, BENETEAU E, MARTINEAU G.P (2004)** « Résidus d'antibiotiques dans la viande de porc et de volaille en France : situation actuelle et évaluation d'un nouveau test de détection Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires », p21-25.
27. **FAGBAMILA I., KABIR J., ABDU P., OMEIZA G., ANKELI P., NGULUKUN S., MUHAMMAD M. & UMOH J (2010)** « Antimicrobial Screening of commercial eggs and determination of tetracycline residue using two microbiological methods. Int. J. Poult. Sci », 9 (10), 959-962.
28. **FAO, 1994** « Technique et règles d'hygiène en matière d'abattage et de la manipulation de la viande dans l'abatage », ISBN. Rome, P23-24.
29. **FERGUSON J.P., BAXTER G.A., MAC EVOY J.D.G., STEAD S., RAWLING E., SHARMAN M (2002)** « Detection of streptomycin and dihydrostreptomycin residues in milk, honey and meat Samples using an optical biosensor The Analyst », 127, p951-956.
30. **FONTAINE. M (1992)** « vade-mecum du vétérinaire, formulaire vétérinaire de pharmacologie, de thérapeutique et d'hygiène », 15^{ème} édition, page 106-119. volume 1.
31. **GAUDIN. V, FABRE. J-M, RAULT. A (2006)** « Validation AFNOR des méthodes alternatives d'analyse – Application à la détection des résidus d'antibiotiques et autres molécules à effet antibactérien dans les produits agroalimentaires », Rapport d'étude préliminaire pour la validation AFNOR du Premi Test®, page 5-9.
32. **GAUTHIER. E (2006)** « Les antibiotiques : l'envers du miracle », page 1-3.
33. **GIRARD J.P et VALIN C, 1988** « Technologie de la viande et des produits carnés. APRIA, INRA, Lavoisier technique et documentation », Paris. pp01.p280.
34. **GOGNY. M, PUYT. J-D (2001)** « Classification des principes actifs », Editions le point vétérinaire, page 2-6.
35. **GOGNY. M, PUYT. J-D, PELLERIN. J-L (2001)** « Classification des principes actifs. L'arsenal thérapeutique vétérinaire », Editions le point vétérinaire, page 165-168.
36. **HENRY M, 1992** « Les viandes de boucherie dans l'alimentation et la nutrition humaine », ESF. Paris, pp738-750.p1533.pp739-741, pp747-748.

37. HSIEH M.K., SHYU C.L., LIAO J.W., FRANJE C.A., HUANG Y.J., CHANG S.K., SHIH P.Y. & CHOU C.C. (2011) «Correlation analysis of heat stability of veterinary antibiotics by structural degradation, changes in antimicrobial activity and genotoxicity», *Vet. Med.*, 56 (6), 274–285.
38. HUET A.C., CHARLIER C., TITTELMIER S.A., SINGH G., BENREJEB S., DELAHAUT P (2006) «Simultaneous determination of (fluoro)quinolone antibiotics in kidney, marine products, eggs, and muscle by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, p 54, p2822-2827.
39. KECK 1, (1978) « Métabolisme des médicaments et des toxiques », 1-L'absorption. Le point vétérinaire, volume 7, n 35.
40. KECK 2, (1978) « Métabolisme des médicaments et des toxiques 2-La distribution », Le point vétérinaire, volume 7, n 35.
41. KECK 3, (1978) « Métabolisme des médicaments et des toxiques 3-La biotransformations », Le point vétérinaire, volume 7, n 35.
42. KLOTINS. K (2006) « Utilisation des antibiotiques comme stimulateurs de croissance : controverse et solutions ».
43. KÖLBENER P, DISERENS J. M, KÄNZIG A, JAUS A, HOCHSTRASSER K, KAUFMANN A, DOERING T, REBER S, EDDER P, KAUFMANN T, LEUENBERGER U, NOSER J, ZEHRINGER M ET GREMAUD G (2005) « Résidus de médicaments vétérinaires », 1ere édition, p 2.
44. KOOHMARAIE M., CROUSE J.D. AND MERSMANN H.J. (1989) « Acceleration of postmortem tenderization in ovine carcasses through infusion of calcium chloride: effect of concentration and ionic strength. *Journal of Animal Science*, 67(4); 934-942.
45. KOOHMARAIE M., KENT M.P., SHACKELFORD S.D., VEISETH E. AND WHEELER T.L (2002) «Meat tenderness and muscle growth: is there any relationship? *Meat Science*», 62(3):345-352.
46. KORSRUD G.O (1998) « Bacterial inhibition tests used to screen for antimicrobial Veterinary Drug Residues in Slaughtered Animals », *Journal of AOAC International* 81, 1, 21-24.
47. LAMELOISE.P, ROUSSEL-CIQUARD.N, ROSSET.R (1984) « Evolution des qualités organoleptiques, Les viandes, *Informations Techniques des Services Vétérinaires* ».
48. LAURENT C (1974) « Conservation des produits d'origine animale en pays chauds.

2eme edition .ed .presses universitaires de france, paris », p154.

49. LAURENTIE M., CREFF-FROGER C., GAUDIN V (2002) « Surveillance des résidus d'antibiotiques. Apport des méthodes de spectrométrie de masse à l'identification des contaminants Bull. Acad », Vét. De France, p283-294.

50. LE CHAT (2007) « Pharmacologie, Service de pharmacologie Université Paris », VI. Édition DCEM, p307.

51. LUDOVIC COIBION, (2008) « Acquisition des qualités organoleptiques de la viande bovine : Adaptation à la demande du consommateur. Thèse : Méd. Vét. Toulouse 03 »,96p. 7, 14, 18.

52. MAGHUIN-ROGISTER G (2001) « Résidus et contaminants des denrées alimentaires : 25 ans de progrès dans leur analyse I. Evolution de la stratégie de contrôle Ann », Méd. Vét, p183-187.

53. MAGHUIN-ROGISTER G, JANOSI A, HELBO V, VAN PETEGHEM C, SANDERS E, VANEECKHOUT N, CORNELIS M ET JOURET M (2001) « Stratégie intégrée d'analyse qualitative et quantitative des résidus de substances Antimicrobiennes dans les denrées alimentaires »

54. MEVIUS. D-J, RUTTER. J-M, HART. C-A, IMBERECHTS. H, KEMPF. G, LAFONT. JP, LUTHMAN. J, MORENO. M-A, PANTOSTI. A, POHL. P, WILLADSEN. C-M (1999) «Antibiotic resistance in the European Union associated with therapeutic use of veterinary medicines, Report and qualitative risk assessment by the committee for veterinary medicinal products »,Editions Le point vétérinaire 2001, page 1-57.

55. MILHAUD. G (1978) « L'utilisation rationnelle des médicaments vétérinaires et le temps d'attente », Rec. Méd. Vêt 154 (2), École vétérinaire d'ALFORT (France), page 177-185.

56. MILHAUD .G, PINAULT. L (1999) « Législation de la pharmacie vétérinaire. Editions le point vétérinaire. Chapitre III : évaluation des médicaments vétérinaires : Autorisation de Mise sur le Marché (AMM), limites maximales de résidus (LMR) », Editions Le Point vétérinaire 2001, page 25-40.

57. MIRCOVICH C, BOZEC A. (2004) « Résidus dans la viande de porc Résultats des plans français de 2001 à 2004.Sciences et technique », Viandes Prod, Carnés Vol 25 (1) p 4.

58. MORIN. R, UHLAND. C, LEVESQUE. G (2005) « L'utilisation des antibiotiques en pisciculture au Québec », L'AQUICOLE Vol. 9 no3, page 6.

59. NEUMAN M (1979) «Vade-mecum des antibiotiques et agents chimiothérapeutiques anti-infectieux », 4ème édition, Paris, 7-25.

60. **OUALI. A (1991)** « Conséquences des traitements technologiques sur la qualité de la viande », page 196, 197. INRA prod. Anim. 1991, 4 (3), 195 – 208.
61. **OXOBY. M (2002)** « Etudes sur la synthèse totale des antibiotiques naturels de la famille des angucyclinones », Thèse de docteur en chimie organique de l'université Bordeaux I, école doctorale des sciences chimiques, page 3-1.
62. **Pan, An, Qi Sun, Adam M. Bernstein, Matthias B. Schulze, JoAnn E. Manson, Meir J. Stampfer, Walter C. Willett, et Frank B. Hu. (2012)** « Red Meat Consumption and Mortality : Results from 2 Prospective Cohort Studies ». Archives of Internal Medicine, 172 (7), p 63-555.
63. **PERRIN-GUYOMARD A., COTTIN S., CORPET D.E., BOISSEAU J., POUL J.M (2001)** « Evaluation of residual and therapeutic doses of tetracycline in the human-flora associated (HFA) mice model, Regulatory Toxicology and Pharmacology », 34, (2), p125-13691, 29, (7), p477-483.
64. **POULIQUEN. H ET LE BRIS. H (2001)** « Residues of antibacterial drugs in foodstuff of fish origin: risk assessment », page 676-677. Revue Méd. Vét., 2002, 153, 10, 675-678.
65. **PUYT. J-D (2002)** « Médicaments anti-infectieux en médecine vétérinaire : Base de l'antibiothérapie », ENV Nantes, 201p.
66. **PUYT ET GUERIN-FAUBLEE (2006)** « Médicaments anti-infectieux en médecine vétérinaire. Bases de l'antibiothérapie », Edition 2006, page 1-27.
67. **REIG M., TOLDRA F (2008)** « Veterinary drug residues in meat: Concerns and rapid methods for detection Meat Science », 78, (1-2), p60-67.
68. **RUPERT WINGFIELD-HAYES (2002)** « China's taste for the exotic. BBC ».
69. **SAUX (2006)** « Pharmacocinétique et modalité d'administration des antibiotiques. Laboratoire de Pharmacocinétique et de Pharmacie Clinique EA 525 Université V. Segalen Bordeaux 2 et Pharmacie centrale hôpital Haut - Lévêque CHU de Bordeaux », 7èmes JNI 08.06.06, p3.
70. **SCIPPO. M-L (2008)** « Technologie, sécurité et qualité des aliments introduction à la qualité et la sécurité des aliments : aspects chimiques. Contrôle des résidus et des médicaments Vétérinaires », page 2-36. Université de Liège, faculté de médecine vétérinaire.
71. **SCIPPO M.-L, MAGHUIN-ROGISTER G (2006)** « Résidus et contaminants des denrées alimentaires : 25 ans de progrès dans leur analyse (méthodes biologiques de dépistage) Ann », Méd. Vét., 150, p 125-1303

- 72. SHARMAN B (2001)** « Improvement to the screening of antimicrobial drug residues in food by the use of Premi®Test ». Veterinary Science : Vol. 70 - Avril 2001.
- 73. SIM.V (2003)** « Syndicat des Industries du Médicaments Vétérinaires et réactifs », Synthèse du 03 octobre 2003.
- 74. STOLTZ (2008)** « les résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale, évaluation et maîtrise de danger, thèse de doctorat, université Claude Bernard, Lyon-1, page 101.
- 75. TOURAILLE.C (1994)** « Incidence des caractéristiques musculaires sur les qualités organoleptiques des viandes », Renc. Rech. Ruminants, 1, 169-176.
- 76. VAUTIER.A (2005)** « Valeurs nutritionnelles de la viande de porc : facteurs de variation », Version 2. Paris. 40p. pp6, 12, 14.
- 77. VIRLING.E (2003)** « Les viandes dans l'aliment et boissons », CRDP. France .pp58-78.p170.
- 78. ZOUBIRI ET MAKHLOOF (2008)** « la recherche des résidus d'antibiotiques dans les viandes rouges », mémoire de magistère, Université de Tiaret, page 35-36.
- 79. ZWITZERLAND ET GENEVA (1998)** « Use of pénicilline in food animals and potential impact on human health ». WHO/EMC/ZDI/98.10.

ANNEXES

ANNEXE 1 :

PREPARATION DES SOLUTIONS D'ANTIBIOTIQUES TEMOINS

Après la vérification des conditions de manipulations, notamment le développement et la sensibilité du microorganisme, nous avons préparé les quatre solutions de sulfathiazol, érythromycine, triméthoprim et dihydrostreptomycine à partir d'antibiotiques sous forme déshydratée.

❖ Solution contenant du sulfathiazol

Dissoudre 55 mg de sulfathiazol dans 5 ml de NaOH 0,1 N et ajuster à 50 ml dans l'eau distillé stérile dans une fiole jaugée.

Au moment de l'emploi diluer cette solution mère au 1/50.

La concentration de la solution finale est de 0.02 mg de sulfathiazol par ml et la solution mère peut être conservé a +4C° et +6C° pendant une semaine.

❖ Solution contenant de pénicilline

Dissoudre 61 mg de pénicilline G sodique dans l'eau distillé stérile et ajuster à 100 ml dans une fiole jaugée.

Au moment de l'emploi, diluer cette solution mère au 1/5000 en effectuant deux dilutions :

- La première au 1/100.
- La deuxième au 1/50.

La concentration de la solution finale est de 0,2 UI de pénicilline par ml et la solution mère doit être utilisée le jour même.

❖ Solution contenant de l'érythromycine

Dissoudre 54 mg d'érythromycine dans 3ml de méthanol de l'eau distillé stérile et ajuster à 50 ml avec l'eau distillé dans une fiole jaugée.

Au moment de l'emploi, diluer cette solution mère au 1/4000 effectuant deux dilutions :

- La première au 1/200.
- La deuxième au 1/20.

La concentration de la solution finale est de 0,25 µg, d'érythromycine par ml et la solution mère peut être conservé a +4C° et +6C° pendant deux semaines.

❖ **Solution contenant de la dihydrostreptomycine**

Dissoudre 64 mg dihydrostreptomycine dans l'eau distillé stérile et ajuster à 50 ml dans une fiole jaugée.

Au moment de l'emploi, diluer cette solution mère au 1/200.

La concentration de la solution finale est de 5 mg, dihydrostreptomycine par ml et la solution mère peut être conservé a +4C° et +6C° pendant un mois.

ANNEXE 2 :

CARACTERISTIQUES DES PRINCIPES ACTIFS ETUDIES

La famille	Spectre	Nom De Produit	Principale Indications	Contre-Indications	Particularités
Aminosides Dihydrostréptomycines	Bactéricides Gram – et spectre étroit	Shotapen Streptapen	Septicémie Infections broncho- pulmonaires Infections urinaires Infections à Pseudomonas (Gentamycine)	Interdis en (antibio supplémentatio n animale Contre indiqué en VG chez insuffisante Rénaux sévères à ne pas employer en association avec d'autres ATB néphrotoxique	
Aminosides Gentamycine	Bactéricides Spectre large (Gram- et Gram+)				
Béta-lactamines Pénicilline G	Bactéricides Gram +		Septicémie Infections pulmonaires (Pseudomonas)		Bactéricides actif sur germes en multiplication peuvent être associé aux aminosides, ATB polypeptidiques, Quinolones.
Béta-lactamines Pénicilline groupe G	Gram+				
Béta-lactamines Pénicillines groupe M	Gram+		Titre prophylactique		
Béta-lactamines Pénicillines	Gram- et Gram+		A titre thérapeutique : traitement		

groupe A			générale des infections septicémiques et urinaire, à titre Prophylactique : élevage industrielle de veau, porc, volailles		
Béta-lactamines Céphalosporines	Bactériostatique Gram+ et mycoplasme		Infections broncho-pulmonaires Infections urinaires		Intolérance locale au point d'injections
Tétracyclines	Bactériostatique Gram+, Gram- et mycoplasme		Septicémies. Infections pulmonaires. Infections urinaires		Injections douloureuses en IM
Sulfamides	Bactériostatique Gram+, Gram- et coccidies	Anticox Vetrax biaprim	Septicémies Infections broncho-pulmonaires, coccidiose		Intolérance locale au point d'injections
Macrolides	Spectre limité & similaire à celui de pénicilline : coque Gram+, bacille Gram-		Actifs sur les mycoplasmes Totalement inactifs sur les entérobactéries et Pseudomonas Remplacent les pénicillines en cas d'allergies.		