



République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Tébessa
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Biologie Appliquée



Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de master
Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques
Option: Microbiologie appliquée

Thème

Recherche des résidus d'antibiotiques dans la viande

Présenté par :

Nouri Ouissal

Graidia Amina

Saci Nesrine

Devant le jury :

Dr Smaali S.	MCA	Université de Tébessa	Présidente
Mme Chadi H.	MAA	Université de Tébessa	Examinatrice
Dr Debabza M.	MCA	Université de Tébessa	Promotrice

Date de soutenance :

09/06/2022

Remerciements

Avant tout nous tenons à remercier Dieu le tout-puissant pour le courage, la volonté et la patience qu'il nous a donnés durant toutes ces années.

Nos vifs sincères remerciements aux membres de jury Dr .Smaali S et Dr Chadi H pour l'honneur qu'elles nous ont fait en acceptant de juger et corriger ce travail.

Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à notre encadreur Dr.Debabza M d'avoir proposé ce thème, de son encadrement, et aussi pour ses conseils, sa patience, aux cours des entretiens. Qu'elle trouve ici l'expression de notre sincère gratitude.

Avec la même chaleur on tient à remercier Mr .Mensaria T, Mme Yousfi A, Mme Yousfi N, Mme Filali Ghrieb R, Mme Filali N, et Mme Boutaleb .M pour leur gentillesse, aide et leur soutien qui nous a permis de réaliser cette recherche.

C'est avec plaisir que nous réservons cette page en signe de gratitude et de profonde reconnaissance à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Merci à tous

Dédicaces

Je dédie ce travail à:

A mes parents Hamid et Hadia, qui ont œuvré pour ma réussite, de par leur amour, leur soutien, tous les sacrifices consentis et les précieux conseils, pour toute leur assistance inconditionnel, à la fois moral et financière, et leur présence dans ma vie ;

Pour tout ce que vous avez fait pour moi, tout ce que le mot « merci » ne pourra jamais exprimer; et c'est avec émotion que j'exprime toute mon affection à mon petit frère Youcef.

Aux mémoires de mes grands-pères Filali Hacem et Graidia Youcef, ma tante Zada et mes cousines Saliha, Rim, Houreya, Zahra et Touness, vous me manquez tellement, je vous aime énormément et je serais jamais l' à sans vous, que Dieu vous accueille dans ses vastes paradis.

A mon Akay, tu as été la joie de ma vie et tu la resteras, je t'aime éternellement, à tous mes chats, merci pour m'accompagner dans cette longue journée et merci pour votre amour inconditionnelle, je vous adore.

A toute ma grande et aimable famille, Graidia, Filali et Ghrieb, qui ont partagé mes joies et mes peines, qui ont été toujours à mes cotés, et qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Que Dieu vous garde toujours en bonne santé.

A mes partenaires dans mémoire Ouissal et Nessrine, avec qui j'ai passé de moments inoubliables, on est finalement arrivées à terminer ces années d'étude, je vous souhaite toute la joie du monde.

A moi, bravo et merci pour tous les efforts, les prières et le courage, que ces prochaines années me portent tout le bonheur du monde.

A tous mes amies (Salsabil, Nour El Houda, Nihed, Wissal, Alla, Nour El Yakine, Youssra, Lina, Khouloud, Safa et Chadha) et ceux ou celles que j'ai oublié de citer, qu'ils me pardonnent.

A tous ceux qui me sont chers sans exception qu'ils soient proches ou loin.

Je vous aime et je vous remercie

Amina

Dédicaces

Je dédie ce mémoire,

*A mes chers parents Mohammed Rached et Leïla , à ma petite sœur Nourhane ,
merci pour tous les efforts et les sacrifices que vous avez consenti pour mon éducation et mon
avenir.*

*Merci pour votre amour, vos conseils ainsi que votre soutien inconditionnel, à la fois moral
et financière, qui m'a permis de réaliser les études que j'ai voulu.*

*J'espère être à la hauteur de vos espérances et qu'Allah m'aide à rendre un peu soit-il de ce
que m'avez donné.*

Que Dieu vous garde protège et procure santé, bonheur et longue vie.

A mes tantes et mes oncles pour leur soutien et amour inconditionnel.

*Aux animés et k drama pour savoir me monter le morale à chaque déception a cause des cours
ou contrôles , pour savoir me déstresser avant chaque interrogation et surtout pour me faire
toujours heureuse mercii*

A toutes mes amies

*A mes partenaires dans mémoire Amina et Nesrine avec qui j'ai partagé les plus dures
moments de ce travail je vous souhaite toute la joie du monde*

A mon oncle Youcef pour tout ce qu'il m'a appris.

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce travail soit possible,

Je vous dis merci.

Ouissal

Dédicaces

Nous remercions avant tout le Dieu de nous avoir gardés en bonne santé afin de mener à

Bien ce projet de fin d'étude.

Je dédie ce travail en signe de respect et d'amour à mes très chers parents mon père

AMMR et ma mère SACI FATIHA qui ont partagé mes joies et mes peines, qui ont été

Toujours à mes cotés, et qui ont Fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Que Dieu les garde

Toujours en bonne santé.

A mes chers frères ZAHREDDINE et SAAD ADAM

A mes grands parents

A mes partenaires dans mémoire

Je dédie également ce travail à ma grande famille, source d'espoir et de motivation

A tous mes cousins, tantes et oncles

Au terme de mon travail, je tiens à remercier très sincèrement mon encadreur

Enfin, nos remerciements à tous nos amis, nos collègues qui nous ont soutenu et encouragé

Pour la réalisation de cet humble mémoire.

Nesrine

ملخص

تعتبر المضادات الحيوية من الأدوية الأساسية في تربية حيوانات الإنتاج ، وتستخدم على نطاق واسع في العلاج والوقاية أو كمحفزات للنمو. ومع ذلك ، يمكن أن يؤدي الاستخدام الغير ملائم إلى وجود بقايا للمضادات الحيوية في اللحوم ، مما قد يشكل مخاطر صحية عديدة على المستهلك.

أجريت هذه الدراسة بهدف البحث عن بقايا المضادات الحيوية في اللحوم التي يتم تسويقها في منطقة تبسة. حيث تعتمد على تحليل 90 عينة موزعة بالتساوي بين : لحم و كبد الضأن، فخذ، لحم الصدر وكبد الدجاج. تم البحث عن بقايا المضادات الحيوية وفق الطريقة المرجعية للعب الأربعة ، على أساس تثبيت نوعين من بكتيريا الاختبار الحساسة : *Bacillus subtilis* و *Micrococcus luteus*.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها إكتشاف بقايا المضادات الحيوية في 13 عينة أي بنسبة تلوث 14.44%. يتعلق الأمر ب 3 عينات من كبد الضأن و 10 عينات من لحم الدجاج (5 من الكبد ، 3 من الأفخاذ و 2 لحم الصدر). بينما لم تتلوث عينات لحم الضأن بالمخلفات. وهكذا، تبين أن لحم الدجاج كان أكثر تلوثاً من لحم الضأن وأن الكبد هو العضو الذي تراكمت فيه معظم المخلفات. إضافة إلى ذلك ، تنتمي المخلفات الملوثة إلى عائلات مختلفة من المضادات الحيوية ، خاصةً " بيتا لاكتامين أو التيتراسيكلين".

الكلمات المفتاحية : بقايا المضادات الحيوية ، طريقة العب الأربعة ، لحم الضأن ، لحم الدجاج ، تربية

الأغنام ، تربية الدواجن

Abstract

Antibiotics are essential medicines in the breeding of production animals, being widely used in treatment, prevention, metaphylaxis or as growth promoters. Nevertheless, inappropriate use can lead to the presence of antibiotic residues in meat, which poses multiple health risks for the consumer.

This study was conducted with the objective of researching antibiotic residues in meat marketed in the region of Tebessa. It involved the analysis of 90 samples equally divided between: meat and liver of sheep, leg, wishbone and liver of chicken. The search for antibiotic residues was carried out according to the four plates reference method, based on the inhibition of two sensitive test bacteria: *Bacillus subtilis* and *Micrococcus luteus*.

The results obtained showed the detection of antibiotic residues in 13 samples, representing a contamination rate of 14.44%. The residues were found in 3 samples of sheep liver and 10 samples of chicken meat (5 livers, 3 legs and 2 breasts). While no sample of sheep meat was contaminated by residues. Thus, it was found that chicken meat was more contaminated than sheep meat and that the liver was the organ accumulating the most residues. Moreover, the contaminating residues belonged to different families of antibiotics, mainly to "Beta-lactams or tetracyclines".

Keywords: antibiotic residues, four plates method, sheep meat, chicken meat, sheep breeding, poultry breeding

Résumé

Les antibiotiques sont des médicaments essentiels dans l'élevage des animaux de production, étant largement utilisés dans le traitement, la prévention, la métaphylaxie ou comme facteurs de croissance. Néanmoins, une utilisation inappropriée peut conduire à la présence des résidus d'antibiotiques dans la viande, ce qui pose de multiples risques pour la santé du consommateur.

Cette étude a été menée dans l'objectif de rechercher les résidus d'antibiotiques dans la viande commercialisée dans la région de Tébessa. Elle a porté sur l'analyse de 90 échantillons équitablement répartis entre : viande et foie du mouton, cuisse, bréchet et foie du poulet. La recherche des résidus d'antibiotiques a été effectuée selon la méthode de référence des quatre boîtes, basée sur l'inhibition de deux bactéries tests sensibles : *Bacillus subtilis* et *Micrococcus luteus*.

Les résultats obtenus ont montré la détection des résidus d'antibiotiques dans 13 échantillons, soit un taux de contamination de 14,44%. Il s'agit de 3 échantillons de foie du mouton et 10 échantillons de viande de poulet (5 foies, 3 cuisses et 2 bréchets). Alors qu'aucun échantillon de viande de mouton n'a été contaminé par les résidus. Ainsi, il a été constaté que la viande de poulet s'est montrée plus contaminée que la viande du mouton et que le foie était l'organe accumulant le plus des résidus. Par ailleurs, les résidus contaminants appartenaient à différentes familles d'antibiotiques principalement aux «Béta-lactamines ou tétracyclines».

Mots clés : résidus d'antibiotiques, méthode des quatre boîtes, viande du mouton, viande de poulet, élevage ovin, aviculture.

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Ajustement du pH du milieu à différents pH	14
02	Observation microscopique des bactéries test après coloration de Gram (grossissement x100)	15
03	Préparation de la suspension bactérienne	15
04	Ajustement de la suspension bactérienne	16
05	Ensemencement du milieu MH	17
06	Préparation et dépôt des disques de viande et d'antibiotiques	18
07	Représentation graphique des résultats du foie de mouton selon les familles d'ATB	21
08	Photographie d'un échantillon positif du foie de mouton dans la boîte Bs6	22
09	Photographie d'un échantillon positif du foie de mouton dans la boîte Bs8	22
10	Représentation graphique des résultats de la viande ovine analysée selon les familles d'ATB	23
11	Représentation graphique des résultats du bréchet de poulet selon les familles d'ATB	25
12	Photographie d'un échantillon positif du bréchet de poulet dans la boîte Bs6	25
13	Représentation graphique des résultats de cuisse de poulet selon les familles d'ATB	26
14	Photographie d'un échantillon positif de cuisse de poulet dans la boîte Bs6	27
15	Représentation graphique des résultats du foie de poulet selon les familles d'ATB	28
16	Photographie d'un échantillon positif de foie de poulet dans la boîte ML8	28
17	Représentation graphique des résultats de la viande de poulet selon les familles d'ATB	29

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	Antibiotiques utilisés	19
02	Familles d'antibiotiques détectées dans les quatre boites	19
03	Résultats globaux selon les familles d'antibiotiques	32
04	Résultats globaux selon le nombre de familles d'antibiotiques contaminants	33

Liste des annexes

N°	Titre
01	Composition et préparation des milieux de culture utilisés
02	Préparation de l'étalon de turbidité McFarland 0,5

Liste des abréviations

°C	Degré Celsius
µg	Micro gramme
µl	Micro litre
AK	Amikacine
AML	Amoxicilline
ATB	Antibiotique
B	Bréchet
BN	Bouillon nutritif
BS	<i>Bacillus subtilis</i>
C	Cuisse
d	Disque
FM	Foie de mouton
FP	Foie de poulet
g	Gramme
Gram +	Gram positif
Gram -	Gram négatif
h	Heure
ML	<i>Micrococcus luteus</i>
MH	Mueller-Hinton
ml	Millilitre
mm	Millimeter
PCA	Plate Count Agar
SXT	Triméthoprim - Sulfaméthoxazole
TE	Tétracycline
VM	Viande de mouton

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

ملخص

Abstract

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des annexes

Liste des abréviations

Sommaire

Introduction.....1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1-Définition de la viande.....2

I.2 - Principales infections bactériennes chez les animaux de production.....2

I.2.1-Principales infections bactériennes chez les ovins2

I.2.2- Principales infections bactériennes chez les volailles.....4

I.3 -Usages vétérinaires des antibiotiques5

I.4-Modes d'administration des antibiotiques5

I.5- Pharmacocinétique des antibiotiques6

I.6 –Définition des résidus d'antibiotiques7

I.7 –Effets des résidus d'antibiotiques sur le consommateur.....7

I.8– Prévention des risques liés à la présence des résidus d'antibiotiques9

Chapitre II : Partie expérimentale

II.1-Objectif	11
II.2-Cadre de l'étude	11
II.3-Matériel.....	11
II.4-Méthodes.....	12
II.4.1-Echantillonnage.....	12
II.4.2-Méthode de recherche des résidus d'antibiotiques dans la viande.....	13
II.5 Résultats et discussion.....	20
II.5.1-Résultats et discussion selon le type de la viande.....	20
II.5.1.1 Viande ovine.....	20
II.5.1.2 Viande de poulet.....	24
II.5.1.3 Comparaison des résultats de la viande ovine VS résultats de viande de poulet.....	30
II.5.2.Résultats et discussion selon les familles d'antibiotiques.....	32
Conclusion.....	34
Recommandations.....	35
Références bibliographiques	
Annexes	

Introduction

Introduction

En Algérie, l'élevage des moutons et l'aviculture sont considérablement en croissance au cours des dernières années car la viande du mouton et de volaille est la source principale de protéine pour la population algérienne. L'intensification de cette production animale a été favorisée par l'emploi des médicaments vétérinaires, en particulier les antibiotiques. Ces derniers sont utilisés soit en tant que traitement curatif appliqué de manière individuelle ou collective à des animaux atteints d'affections microbiennes, soit en tant que traitement préventif pour éviter l'apparition de certaines pathologies. Mais, si leur utilisation n'est pas réglementée, ces traitements donnent lieu à la présence des résidus d'antibiotiques dans les aliments issus de ces animaux, faisant courir un risque potentiel aux consommateurs **(Wassenaar, 2005)**.

Peu de données scientifiques et d'études sont disponibles en Algérie sur la présence des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale. Devant ce constat, l'objectif de notre travail a été de rechercher les résidus d'antibiotiques dans la viande du mouton et de poulet de chair dans la région de Tébessa en appliquant la méthode microbiologique des quatre boîtes.

Ce manuscrit sera divisé en trois chapitres, le premier abordera une synthèse bibliographique sur l'utilisation des antibiotiques en élevage et les résidus d'antibiotiques. Le deuxième décrira le matériel et les méthodes utilisés dans cette démarche. Le troisième chapitre rapportera les résultats obtenus avec les discussions qui les associent. Enfin, nous clôturerons par une conclusion générale et des recommandations pour améliorer la qualité de viande de mouton et de poulet de chair dans notre pays.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I.1 Définition de la viande

Le Codex Alimentarius définit la viande de la manière suivante: «Toutes les parties d'un animal destinées, ou jugées saines et aptes, à la consommation humaine». Elle se compose d'eau, de protéines et d'acides aminés, de sels minéraux, de graisses et d'acides gras, de vitamines, et de petites quantités d'hydrates de carbone.

Du point de vue nutritionnel, la viande doit son importance à la qualité élevée de ses protéines. Elle est riche en vitamine B12 et en fer, éléments qui ne sont pas directement disponibles dans les régimes végétariens.

Les sources de viande les plus communes sont les espèces animales domestiques telles que les volailles, les bovins, les ovins, les caprins et les porcins. (FAO, 2015)

I.2 Principales infections bactériennes chez les animaux de production

Les animaux de production sont sujets à plusieurs pathologies d'étiologies différentes. Dans cette partie, on ne va citer que les maladies infectieuses bactériennes, les plus fréquentes en élevage ovin et avicole, qui nécessitent l'utilisation des antibiotiques.

I.2.1. Principales infections bactériennes chez les ovins :

- **Botulisme** : Il s'agit d'une intoxication due à l'ingestion d'une neurotoxine produite par *Clostridium botulinum*, cette maladie est caractérisée par une paralysie flasque. (Burgère et al., 2016)
- **Brucellose ovine (méliococcie)** : C'est une maladie infectieuse et contagieuse, transmissible à l'homme et aux animaux, due à *Brucella melitensis* ou *B.abortus*, la brucellose cause des avortements chez la brebis et une orchite chez les béliers. (Jeanne et al., 2011)
- **Charbon bactérien (fièvre charbonneuse, anthrax)** : Il s'agit d'une maladie aiguë causée par *Bacillus anthracis*, elle provoque généralement une septicémie rapidement mortelle. (Burgère et al., 2016)

- **Diarrhée colibacillaire (colibacillose néonatale)** : C'est due aux toxines produites par les *Escherichia coli* entérotoxigènes, les agneaux infectés sont apathiques et présentent une diarrhée jaunâtre puis grisâtre de plus en plus fluide, avec des douleurs abdominales, sans traitement la maladie évolue vers la mort rapide. (Jeanne et al., 2011)
- **Listériose** : Rencontrée principalement dans les zones tempérées, due à *Listeria monocytogenes* ubiquitaire. On distingue principalement trois formes cliniques: nerveuse, abortive et septicémique, et d'autres formes cliniques plus rares: pneumonie, mammite. Le taux de mortalité en cas d'encéphalite est proche de 100%. (Burgère et al., 2016)
- **Salmonellose abortive** : L'avortement dû au *Salmonella Abortusovis* est observé en fin de gestation, parfois brutalement. La brebis peut présenter une hyperthermie, voire une diarrhée. Des avortements avec diarrhée seront moins observés lors d'une infection par *S. Dublin*, *S. Typhimurium*, *S. Montivideo* ou *S. Arizonae*. (Jeanne et al., 2011)
- **Salmonellose non abortive** : Due au *S. Typhimurium* et *S. Dublin*, les premiers signes de la salmonellose dans un troupeau sont des morts subites touchant surtout les agneaux, d'autres symptômes peuvent également apparaître comme la diarrhée et l'hyperthermie. (Jeanne et al., 2011)
- **Tétanos** : Il s'agit d'une toxi-infection non contagieuse due à la production d'une neurotoxine par *Clostridium tetani* en milieu anaérobie (sans oxygène). Le taux de mortalité causé par le tétanos peut atteindre 80%. (Burgère et al., 2016)

I 2.2. Principales infections bactériennes chez les volailles :

Toutes les pathologies citées ci-après sont contagieuses.

- **Chlamydie aviaire** : C'est une maladie réputée légalement contagieuse (MRLC), infectieuse cosmopolite et zoonose, provoquée par *Chlamydia psittaci*, *Chlamydia avium* et *Chlamydia gallinacea*, elle touche tous les oiseaux de tout âge. (Lezzar, 2018)
- **Colibacillose aviaire** : Maladie infectieuse, à tropisme digestif, respiratoire, génital, articulaire, oculaire et nerveux, avec des troubles organiques extrêmement variables. Elle touche tous les oiseaux (poulet-dindon surtout) de tout âge et elle est causée par plusieurs sérotypes d'*Escherichia coli*. (Lezzar, 2018)
- **Hemophillose aviaire** : Maladie à tropisme respiratoire, causée par *Avibacterium paragallinarum* sérotypes (A, B et C), elle touche les poulets, faisan, pintade, pigeon de tout âge surtout adultes. (Lezzar, 2018)
- **Mycoplasmosse aviaire** : Maladie cosmopolite, à tropisme respiratoire, génital et articulaire. L'agent causal est *Mycoplasma*, dont les espèces les plus importantes sont : *M. gallisepticum*, *M. synoviae*, *M. meleagridis*, *M. iowae*. Elle touche tous les oiseaux de tout âge. (Lezzar, 2018)
- **Pasteurellose aviaire** : MRLC, à expression clinique variable, l'agent causal est *Pasteurella multocida* et *Pasteurella gallinarum*. Elle touche tous les oiseaux sauvages et domestiques, elle est souvent aigüe chez les jeunes et chronique chez les adultes. (Lezzar, 2018)
- **Salmonellose aviaire** : Maladie à tropisme digestif et génital avec des troubles organiques extrêmement variables, provoquée par *Salmonella bongori*, *Salmonella Choleraesuis*, elle touche les poulets jeunes. (Lezzar, 2018)
- **Tuberculose aviaire** : Zoonose, d'évolution chronique, MRLC (dans certains pays d'Afrique) à tropisme respiratoire, articulaire, digestif, génital, tégumentaire ou muqueux, causée par *Mycobacterium avium*, elle touche tous les oiseaux adultes (plus de 6 mois). (Lezzar, 2018)

I.3 Usages vétérinaires des antibiotiques

L'usage des antibiotiques en élevage des animaux de production est étroitement lié aux pathologies précédemment décrites. En effet, les antibiotiques peuvent être utilisés, de quatre façons différentes, avec des objectifs variables.

- Ils sont utilisés à titre thérapeutique, pour traiter des animaux cliniquement malades, afin d'éviter la mortalité et de restaurer la production (lait, viande).
- Lorsqu'une infection collective et très contagieuse se déclare dans un élevage avec de grands effectifs et évolue sur un mode aigu, l'ensemble du groupe d'animaux est traité. C'est la métaphylaxie qui permet de traiter les animaux soumis à la pression infectieuse alors qu'ils sont encore en incubation ou lorsque les manifestations cliniques sont très discrètes.
- L'antibioprévention : Les antibiotiques peuvent, parfois, être administrés, à des périodes critiques de la vie, sur des animaux soumis à une pression de contamination régulière et bien connue.
- L'usage des antibiotiques dans l'aliment à titre d'additifs en vue d'améliorer la croissance des animaux. (**Chauvin et al., 2006**)

I.4 Modes d'administration des antibiotiques

Les différentes voies d'administration sont établies par des aspects pharmacologiques (volume de distribution, rapidité d'action...) et microbiologiques (spectre d'activité...). Le choix se fera également entre les voies orale et parentérale et en fonction du nombre d'animaux à traiter.

La voie orale sera privilégiée pour les traitements collectifs. Elle peut être mise en œuvre soit par l'intermédiaire de l'eau de boisson, soit à l'aide d'un aliment médicamenteux.

Lors d'utilisation parentérale, la voie d'injection sera raisonnée en fonction des critères d'efficacité évoqués plus haut (rapidité d'action notamment), des objectifs poursuivis (limiter une infection digestive, générale, ou mammaire...) mais aussi en fonction de critères

pratiques et économiques : coût, diminution du nombre d'interventions (limiter le stress chez l'animal, limiter les risques d'accidents...).

Certains antibiotiques peuvent également être administrés par les voies locales sous forme de : collyres, pommades, oblets gynécologiques et surtout préparations intramammaires (Chauvin *et al.*, 2006).

I.5 Pharmacocinétique des antibiotiques

L'antibiotique fait l'objet d'un processus pharmacocinétique qui se déroule en quatre étapes, à savoir l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion.

- a. **Absorption** : Elle correspond à la phase de dissolution du médicament et à l'apparition du principe actif dans le sang. Cette phase représente les phénomènes régissant le passage du principe actif de son site d'administration à la circulation générale. Ce processus concerne toutes les voies d'administration extravasculaires et se fait par différents mécanismes dont la diffusion passive, le transport actif et la diffusion facilitée. (Boutrid, 2020)
- b. **Distribution**: C'est la répartition de l'antibiotique depuis son entrée dans la circulation générale jusqu'à son arrivée au site d'infection. On observe deux fractions du principe actif dans le sang: une fraction libre qui permet au principe actif de diffuser librement et de rejoindre l'organe cible où il exercera son action et une fraction liée aux protéines plasmatiques.

Les principes actifs dont la fixation tissulaire est la plus importante laisseront en général le plus de résidus. (Boutrid, 2020)

- c. **Biotransformations** : Elles représentent un phénomène majeur dans le processus de formation des résidus, elles conditionnent en grande partie la persistance des substances médicamenteuses dans l'organisme des animaux traités (et dans les denrées issues de ces animaux), la nature des résidus et leurs propriétés pharmacologiques et toxicologiques. Ainsi, seule une fraction des résidus présents dans les tissus des animaux, est identique à la molécule originelle, l'autre fraction correspondant à divers métabolites de cette molécule. (Boutrid, 2020)

- d. Elimination:** Elle correspond à l'excrétion du principe actif ou de ses métabolites à l'extérieur de l'organisme. Le taux d'élimination d'un médicament est habituellement un déterminant important de la durée de l'effet pharmacologique. **(Boutrid, 2020)**

I.6 Définition des résidus d'antibiotiques

Les résidus sont définis comme étant tous principes actifs ou leurs métabolites, qui subsistent dans les viandes ou autres denrées alimentaires provenant de l'animal auquel le médicament en question a été administré. **(Luquet, 1986)**

Le règlement 470/2009 du Parlement européen et du Conseil définit les résidus comme toute substance pharmacologiquement active, qu'il s'agisse de principes actifs, d'excipients ou de métabolites présents dans les liquides et tissus des animaux après l'administration de médicaments et susceptibles d'être retrouvés dans les denrées alimentaires produites par ces animaux. **(Mensaha et al., 2015)**

I.7 Effets des résidus d'antibiotiques sur le consommateur

a) Risque de toxicité directe :

Cette toxicité ne s'exprime qu'après une consommation répétée des denrées alimentaires contenant des résidus du même antibiotique. La toxicité directe des antibiotiques est dans l'ensemble extrêmement limitée.

Le cas de toxicité potentielle fréquemment cité est celui du chloramphénicol qui serait impliqué comme un agent causal dans plusieurs cas d'anémie aplasique chez l'homme. Aussi, les nitrofuranes sont suspectés de fœtotoxicité, ainsi que certains sulfamides qui seraient tératogènes et fœtotoxiques à forte dose en cas d'exposition au début de la grossesse et se traduisent par un ralentissement fœtal ou néonatal.

Ces molécules passent dans le lait maternel et sont toxiques pour les nourrissons de moins d'un mois, ils auraient des effets néfastes sur le matériel génétique et notamment l'ADN, sur la reproduction et la fertilité.

Les antibiotiques seraient également responsables de neurotoxicité, tels que les pénicillines. **(Boutrid, 2020)**

b) Risque d'allergie :

Les résidus d'antibiotiques provenant des denrées alimentaires sont parfois incriminés en allergologie humaine. En effet, ils réunissent plusieurs conditions pouvant donner lieu à des manifestations de type allergique : faibles concentrations, administration par voie orale et exposition occasionnelle et discontinue. Les familles d'antibiotiques qui sont souvent mises en cause sont : les β -lactamines, les tétracyclines, les quinolones, les macrolides et les sulfamides.

Les principes actifs des médicaments tout comme des molécules de faible poids moléculaire peuvent se lier de façon irréversible à des grosses molécules, très souvent protéiques, appelées molécules porteuses, il se forme alors un complexe qui peut être immunogène et allergène. Pour qu'une allergie se déclare, il faut que l'organisme ait été en contact au moins deux fois avec l'allergène :

- Un premier contact sensibilisant, généralement asymptomatique, permettant à l'organisme de reconnaître l'allergène.
- Un deuxième contact déclenchant qui va provoquer la crise allergique et ce pour des doses d'allergène même très inférieures à celles ayant provoqué la sensibilisation.

Compte tenu des très faibles taux de résidus, comparés à la concentration d'antibiotique lors de traitement ou de prophylaxie, les manifestations les plus fréquentes sont : des éruptions cutanéomuqueuses diverses, des éruptions urticariennes avec fièvre, des réactions de bronchospasme, des troubles digestives et rarement des réactions plus graves. **(Boutrid, 2020)**

c) Risque du cancer :

Les résidus d'antibiotiques peuvent avoir un effet carcinogène sur le long terme, suite à une consommation régulière d'aliments contenant ces résidus. Ceci semble être associé aux résidus issus de deux familles d'antibiotiques : les nitrofuranes et les nitroimidazoles. Ces molécules sont bien connues comme carcinogènes génotoxiques. L'expérimentation animale a montré que leur utilisation prolongée pouvait être à l'origine de modification du matériel génétique et de l'apparition des tumeurs.

La majeure partie des résidus de nitrofuranes dans les denrées alimentaires sont liés aux protéines, leur pouvoir cancérigène est alors détruit. Les nitrofuranes sont aujourd'hui interdits chez les animaux de production dans de nombreux pays. (Boutrid, 2020)

d) Risque de perturbation de la flore digestive du consommateur :

Certains résidus d'antibiotiques ayant encore une activité contre les bactéries, sont potentiellement capables de modifier la microflore intestinale de l'homme. La présence de résidus de ces antibiotiques dans les denrées alimentaires peut entraîner un risque d'affaiblissement des barrières microbiologiques et de colonisation de l'intestin par des bactéries pathogènes ou opportunistes. L'activité des résidus d'antibiotiques peut provoquer la mort de certaines bactéries ou diminuer leur aptitude à proliférer dans l'intestin (vitesse de croissance diminuée, affinité pour un substrat nutritionnel diminuée ou adhésion diminuée).

L'atteinte de certaines populations bactériennes qui font partie de la flore normale entraîne le développement d'autres populations bactériennes pouvant être pathogènes ou opportunistes. Ce phénomène est appelé « abaissement des barrières microbiologiques » ou « diminution de la résistance à la colonisation ».

L'effet de barrière est ainsi défini comme l'action antagoniste exercée par la microflore envers certaines bactéries, notamment celles qui viennent de l'extérieur. (Boutrid, 2020)

I.8 Prévention des risques liés à la présence des résidus d'antibiotiques

Deux notions sont à respecter dans ce contexte : la notion de la limite maximale des résidus (LMR), et la notion du délai d'attente.

- **Limite Maximale des Résidus (LMR) :**

Elle représente la concentration maximale de résidu d'un médicament autorisée dans un aliment au moment de sa consommation par l'homme. La consommation d'un aliment d'origine animale qui contient une concentration de résidu médicamenteux égale ou inférieure à la LMR ne présente pas de risque pour l'homme. Si la quantité de résidu de médicament dans l'aliment est supérieure à la LMR, cet aliment est considéré falsifié et impropre à la consommation humaine.

La concentration maximale de résidu résultant de l'emploi d'un médicament vétérinaire est exprimée en mg/kg ou en microgramme/kg sur la base du poids frais. **(Boutrid, 2020)**

- **Délai d'attente :**

Le temps d'attente est défini comme le délai entre la dernière administration de l'antibiotique à l'animal et le moment où celui-ci ne présente plus de résidus dans ses tissus ou dans ses productions. Le respect de ce temps d'attente permet de commercialiser les denrées qui présentent des concentrations inférieures ou proches de la limite maximale des résidus garantissant la protection de la santé du consommateur. **(Boutrid, 2020)**

Chapitre II :

Partie expérimentale

II.1 Objectif :

La présence des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale, en particulier la viande, constitue un problème pour la santé du consommateur vu les risques sanitaires multiples. Dans cette intention, l'objectif de ce travail est de rechercher les résidus d'antibiotiques dans des échantillons de certains types de viande commercialisée dans la région de Tébessa.

II.2 Cadre de l'étude :

Toutes les manipulations ont été réalisées au niveau du laboratoire de microbiologie N° 2, département de biologie appliquée, université Laarbi Tebessi –Tébessa- durant la période allant du 29 /12/ 2021 jusqu'au 22 /02 / 2022.

II.3 Matériel :

a) Solutions et milieux de culture : (Annexe 01)

- Bouillon Nutritif (BN).
- Gélose Plat count Agar (PCA).
- Gélose Mueller Hinton (MH).
- Solution d'hydroxyde de sodium (Na OH).
- Solution d'acide chlorhydrique (HCl).
- Chlorure de baryum (BaCl₂).
- Acide sulfurique (H₂SO₄).
- Eau physiologique (9g de NaCl/1000ml d'eau distillée).
- Eau distillée.

b) Verreries et appareillage : (Annexe 02)

c) Disques d'antibiotiques :

- Tétracycline (TE) 30 UI de la famille des Tétracyclines
- Amikacine (AK) 30 µg de la famille des Aminosides
- Triméthoprime - Sulfaméthoxazole (SXT) 1,25/23,75 µg de la famille des Sulfamides-Triméthoprime
- Amoxicilline (AML) 25 µg de la famille des bêta-lactamines.

d) Matériel biologique :

Les deux souches bactériennes utilisées dans le test de détection des résidus d'antibiotiques sont *Bacillus subtilis* Cip 5262 (BS) et *Micrococcus luteus* (ML) sensibles aux antibiotiques. Elles ont été fournies par Dr Menasria Taha, enseignant à l'université de Tébessa.

II.4 Méthodes**II.4.1 Echantillonnage :**

Dans le but de rechercher la présence des résidus d'antibiotiques dans la viande commercialisée dans la ville de Tébessa, on a prélevé 90 échantillons de viande de mouton et de poulet :

- Viande de mouton : 18 échantillons.
- Foie de mouton : 18 échantillons.
- Cuisse de poulet : 18 échantillons
- Bréchet de poulet : 18 échantillons.
- Foie de poulet : 18 échantillons.

Les échantillons sont prélevés à partir des différentes boucheries dans les quartiers de la commune de Tébessa, principalement : quartier Ezzouhour, rue des jardins, quartier la remonte, route d'El kouif, rue l'aqueduc, boulevard Houari Boumediene, route d'Annaba et route de Constantine.

Chaque échantillon (100g) a été conditionné dans un sac en plastique stérile unitaire, soigneusement scellé et étiqueté. On a noté sur l'étiquette : le numéro de l'échantillon, le type de viande (un code est utilisé pour chaque type), la date et le lieu de prélèvement.

Les échantillons sont transportés au laboratoire dans une glacière, puis conservés au congélateur à -20°C dans les 2 heures suivant leur prélèvement en respectant la chaîne du froid tout au long de la période d'étude.

II.4.2 Méthode de recherche des résidus d'antibiotiques dans la viande

La méthode utilisée est la méthode de référence (LMV/90/01 version 5 du 10/12/2008), il s'agit de la méthode officielle française des 4 Boîtes (**Bogaerts et Wolf, 1980**) relative à la détection des résidus d'antibiotiques dans la viande. Elle est basée sur l'inhibition des micro-organismes sensibles pour révéler des résidus de substances à activité antibiotique sans déterminer leur identité.

La détection des résidus de substances à activité antibiotique nécessite l'application de techniques de diffusion sur gélose, notamment :

- préparation de boîtes de milieu nutritif;
- préparation de souches microbiennes qu'on va utiliser pour les tests;
- ensemencement de milieu nutritif solide dans des boîtes de Pétri avec des micro-organismes sensibles aux substances à activité antibiotique;
- déposer un morceau de muscle congelé à la surface du milieu d'inoculation et incubé à la température optimale pour tester le développement microbien;
- toute substance à activité antibiotique présente inhibera la croissance du microorganisme à tester : il en résulte la formation d'une zone d'inhibition autour de l'échantillon.

a) Préparation du milieu Mueller Hinton et ajustement de pH

- Peser 38g de poudre de Mueller Hinton.
- Mettre la poudre dans une fiole et ajouter 1000ml de l'eau distillée.
- Mettre le mélange sous agitation sur une plaque chauffante jusqu'à dissolution de l'agar.
- Répartir le mélange sur des flacons stériles.
- Marquer sur les flacons les différents pH : 250ml pH 6, 250ml pH 7,4 et 500ml pH 8.
- A l'aide d'un PH mètre, maintenir le milieu Mueller Hinton à 3 pH différents (6, 7,4 et 8) par l'ajout de quelques gouttes des solutions HCl ou NaOH (**Figure 01**).
- Stériliser à l'autoclave pendant 20 min à 120 °C.

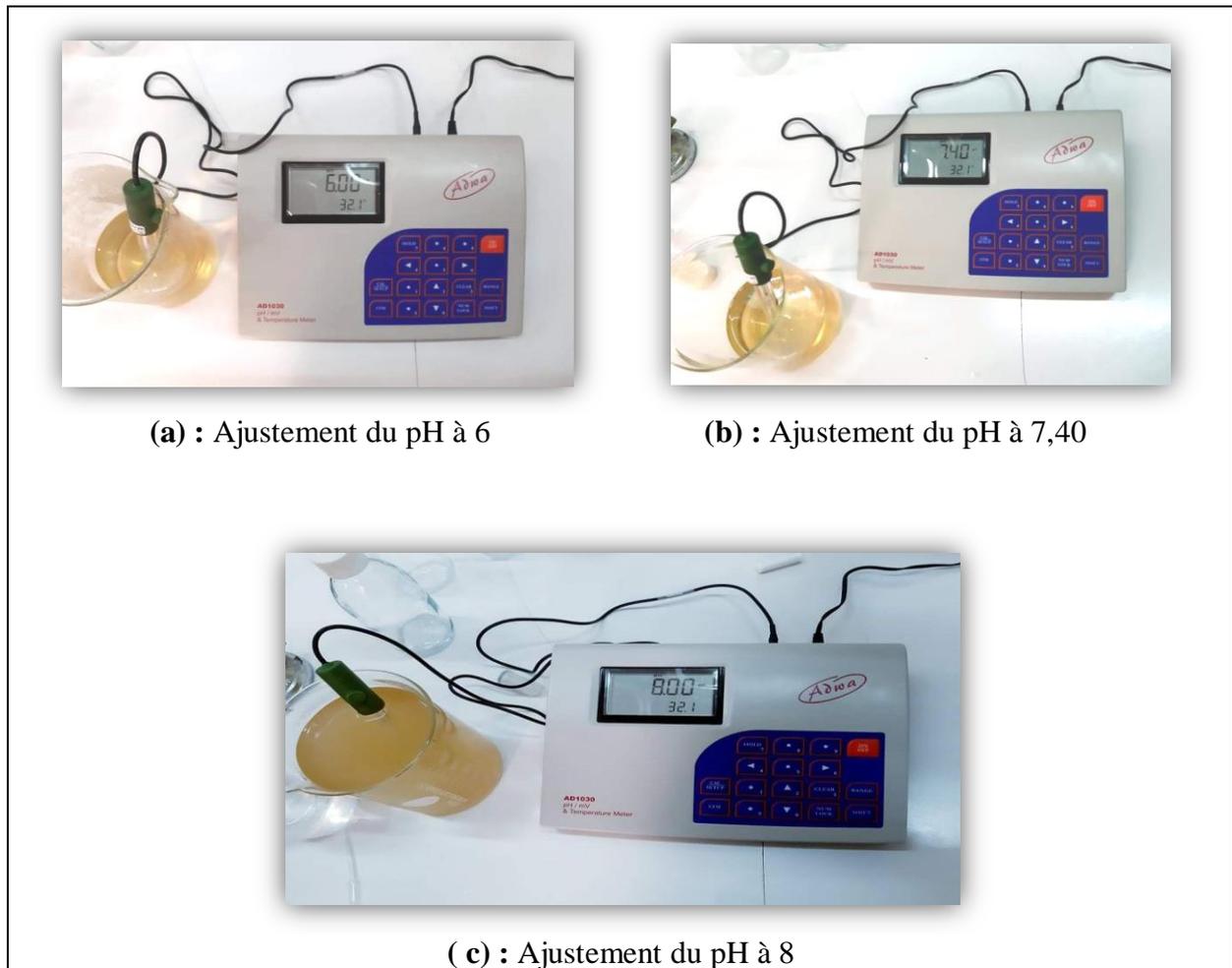


Figure 01 : Ajustement du pH du milieu a différents pH

b) Revivification des souches

Les souches test de *Bacillus subtilis* (BS) et *Micrococcus luteus* (ML) ont été enrichies dans un bouillon nutritif (BN) et incubées respectivement à 30°C et 37°C.

Après 24 h d'incubation, un ensemencement par stries, à partir des suspensions de BS et ML est réalisé sur gélose PCA (par manque de la gélose nutritive au niveau du laboratoire). Après incubation aux mêmes températures, on a vérifié la pureté des souches par coloration de Gram (**Figure 02**).

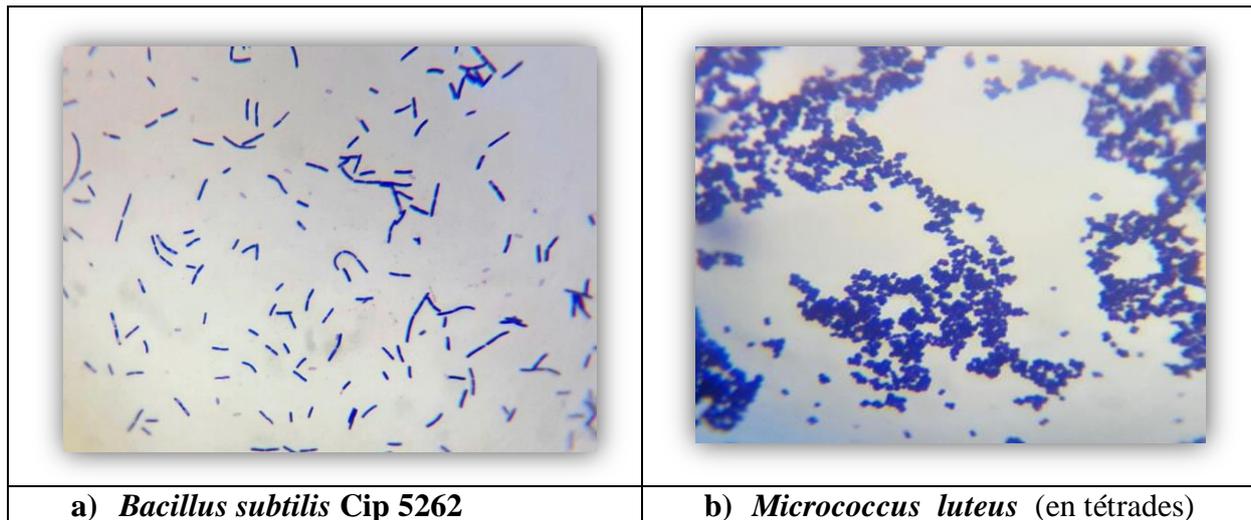


Figure 02 : Observation microscopique des bactéries test après coloration de Gram (grossissement x100)

c) Standardisation de l'inoculum

A l'aide d'une anse de platine, on a prélevé deux à trois colonies de la culture pure et jeune et les homogénéiser dans de l'eau physiologique stérile (**Figure 03**). Puis, on a ajusté les suspensions bactériennes à la densité optique (DO) 0,08-0,1 par comparaison à l'étalon de turbidité McFerland 0,5 (**Figure 04**) préparé selon le protocole décrit en **Annexe 03**.

Il faut noter que l'ensemencement sur gélose MH doit être réalisé dans les 15min qui suivent la préparation de l'inoculum.

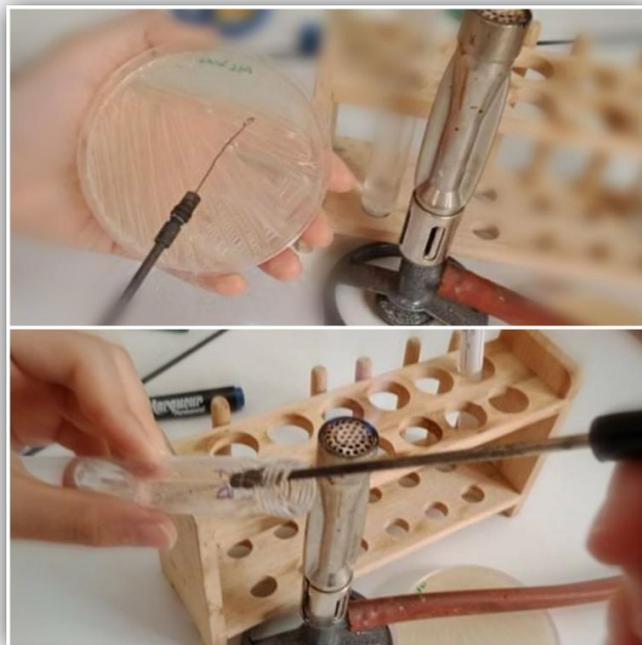


Figure 03: Préparation de la suspension bactérienne



Figure 04 : Ajustement de la suspension bactérienne

d) Ensemencement sur gélose Mueller Hinton

Le milieu MH est préalablement fondu à 100°C et refroidi à 55°C, puis coulé dans les boîtes de Pétri : une boîte pH 6, une boîte pH 7,4 et deux boîtes pH 8, et laisser se solidifier.

La nouvelle version 5 de la méthode de référence requiert l'utilisation des deux espèces bactériennes :

- *Bacillus subtilis* cultivé à 2 pH différents 6 et 8 (Bs 6 et Bs 8);
- *Micrococcus luteus* cultivé à 2 pH différents 7,4 et 8 (ML 7,4 et ML 8).

A l'aide d'écouvillon, on a ensemencé la surface des boîtes de Pétri par une suspension de *Bacillus subtilis* ou *Micrococcus luteus* selon la méthode de l'antibiogramme (**Figure 05**):

- on a plongé un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne puis on l'a égoutté sur les parois du tube pour éliminer l'excès de liquide;
- on a écouvillonné sur la totalité de la surface du milieu MH dans trois directions avec des stries serrées;
- les boîtes ont été laissées sur paillasse pendant 15 minutes pour séchage.

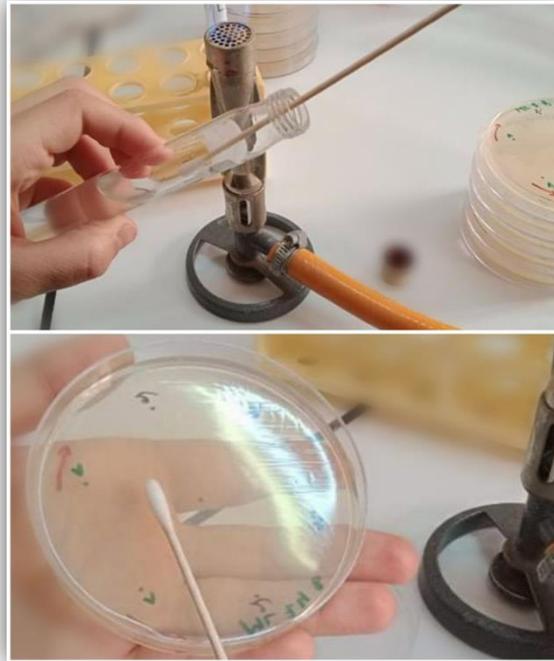


Figure 05: Ensemencement du milieu MH

e) Préparation et dépôt des échantillons

- Quelques minutes avant d'opérer, on a retiré les échantillons du congélateur et on les a placés sur un plateau en acier inoxydable.
- On a prélevé sur chaque échantillon une "carotte" cylindrique de 8 mm de diamètre et de 2 cm de long environ, à l'aide d'un emporte-pièce stérile (**Figure 06 .a**).
- Tout en poussant le cylindre de viande hors de l'emporte-pièce, on a découpé à l'aide d'un bistouri stérile huit rondelles de viande de 2 mm d'épaisseur (**Figure 06 .b**).
- On a placé deux rondelles en positions diamétralement opposées sur chacune des quatre boîtes d'essai, en utilisant des pinces stériles (**Figure 06.c**). Ainsi, chacune de ces boîtes peut contenir jusqu'à 6 disques correspondant aux 3 échantillons à tester, qui doivent tous être placés dans un cercle à environ 1 cm du périmètre de la boîte.
- On a déposé un disque d'antibiotique témoin au centre de chaque boîte (figure 06.c), selon les familles d'antibiotiques détectées dans la boîte correspondante (**tableau 01**)
- Les boîtes sont ensuite incubées à 37 °C pour *Micrococcus luteus* et à 30 °C pour *Bacillus subtilis*.

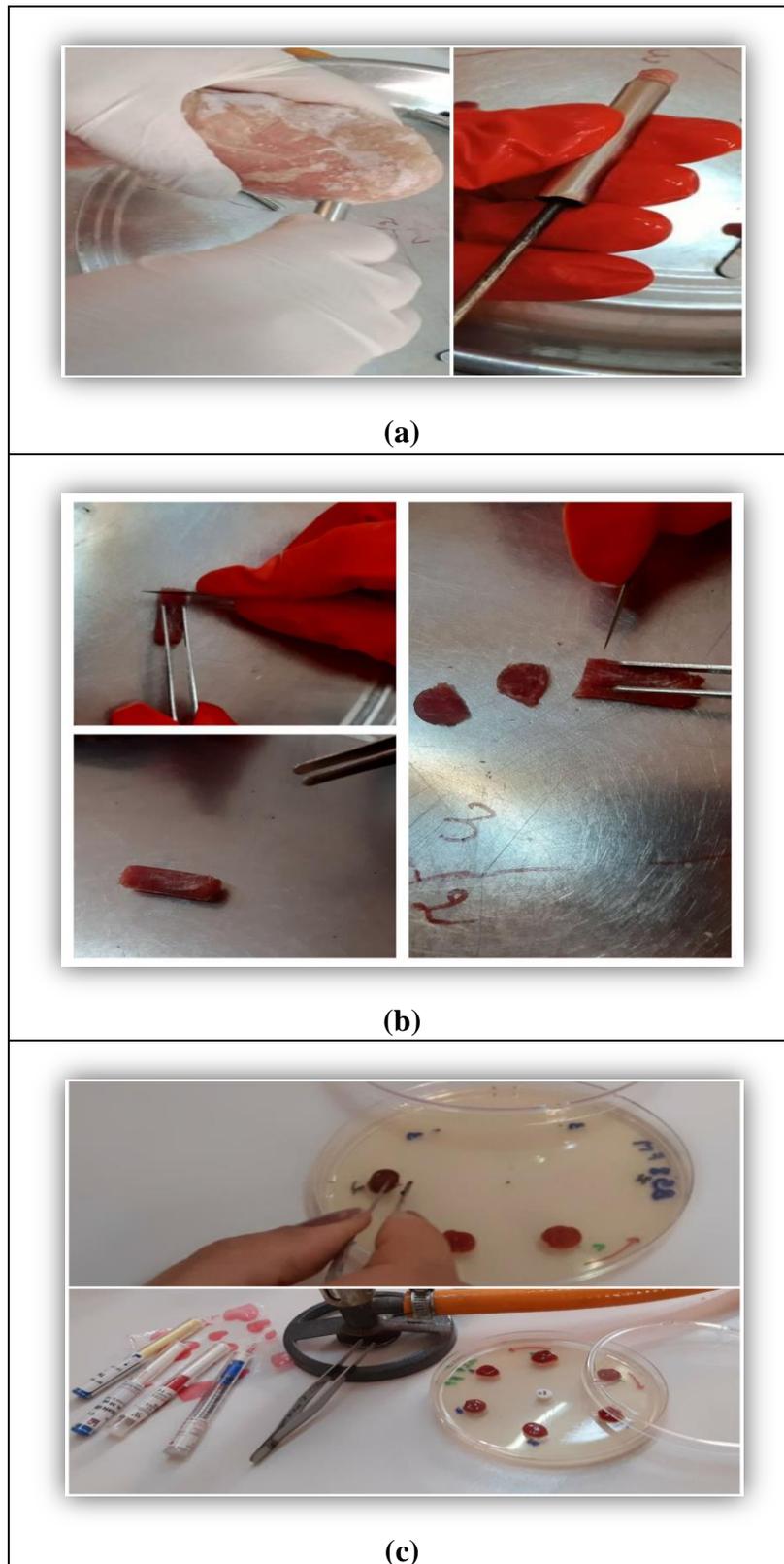


Figure 06: Préparation et dépôt des disques de viande et d'antibiotiques

Tableau 01 : Antibiotiques utilisés

Boite	Antibiotique (sigle)	Famille	Charge de disque ($\mu\text{g}/\text{UI}$)
<i>Bacillus subtilis</i> à pH 6	Tétracycline (TE)	Tétracyclines	30 UI
<i>Bacillus subtilis</i> à pH 8	Amikacine (AK)	Aminosides	30 μg
<i>Micrococcus luteus</i> à pH 7,4	Triméthoprim - Sulfaméthoxazole (SXT)	Sulfamides- Triméthoprim	1,25/23,75 μg
<i>Micrococcus luteus</i> à pH 8	Amoxicilline (AML)	Bêta-lactamines	25 μg

f) Lecture et interprétation des résultats

Après incubation, on vérifie la présence ou l'absence de zones d'inhibition autour des disques de viande. Utiliser un pied à coulisse pour mesurer le diamètre de la zone d'inhibition.

Un échantillon est considéré positif quand ses deux disques de viande donnent des zones d'inhibition dont la taille de chaque zone annulaire est au moins égale à 2 mm.

Le résultat est considéré comme douteux quand on note pour un même échantillon, une rondelle étant positive et l'autre négative, ou bien on observe des colonies bactériennes éparses dans la zone d'inhibition ou des contaminations. Dans ce cas, il faut recommencer l'essai. Si le second résultat n'est pas considéré comme positif, le résultat douteux doit être considéré comme négatif (les résultats douteux dans notre travail n'ont pas été confirmés vu certaines contraintes au niveau du laboratoire).

Les échantillons trouvés positifs par au moins l'une des 4 boites sont considérés comme contenant des résidus de substances à activité antibiotique.

Chacune des boites présente une sensibilité particulière pour certaines familles d'antibiotiques, ce qui permet de donner les orientations suivantes :

Tableau 02: Familles d'antibiotiques détectées dans les quatre boites

	Boite 1	Boite 2	Boite 3	Boite 4
Bactérie test et Ph	<i>Bacillus subtilis</i> à pH 6	<i>Micrococcus luteus</i> à pH 7,4	<i>Bacillus subtilis</i> à pH 8	<i>Micrococcus luteus</i> à pH 8
Orientation	Bêta-lactamines ou tétracyclines	Sulfamides ou bêta-lactamines	Aminosides	Bêta-lactamines et macrolides

II.5 Résultats et discussion

II.5.1 Résultats et discussion selon le type de la viande

Dans notre travail, on a appliqué la méthode microbiologique des quatre boîtes pour rechercher les résidus d'antibiotiques dans 90 échantillons de viande du mouton (foie et viande) et de poulet (bréchet, cuisse et foie).

II.5.1.1 Viande ovine

a) Viande de mouton

Notre étude montre que parmi les 18 échantillons de viande de mouton analysés, nul n'est contaminé par des résidus d'antibiotiques. Ce résultat ne signifie pas probablement l'absence de résidus dans les échantillons analysés, car ces derniers peuvent contenir des molécules d'antibiotiques à une concentration faible. D'après **Klotins (2006)**, cette situation pourrait s'expliquer par l'usage d'antibiotiques à faibles doses et pendant des périodes prolongées qui peut accélérer le gain de poids ou améliorer l'indice de conversion.

Par ailleurs, une étude réalisée (**Meziane et al., 2020**) dans la région de la wilaya de Tiaret, a montré que parmi les 10 échantillons de viande ovine analysés, 2 échantillons ont été contaminés par des résidus d'antibiotiques, soit un taux de 20%. Seulement les bêta-lactamines et/ou tétracyclines ont été détectées dans ces échantillons avec un taux de 5%.

b) Foie du mouton :

Notre étude montre que sur les 18 échantillons de foie du mouton analysés, seuls 3 échantillons (FM4, FM7 et FM12) sont contaminés par des résidus d'antibiotiques dont :

- Deux échantillons (FM7 et FM12) ont montré la présence des résidus des "**bêta-lactamines** ou **tétracyclines**" (**Figure 07**) et des "**aminosides**" (**Figure 07**) accusant un taux de 11.11 % pour chaque type des ATB.
- Un autre échantillon (FM4) est positif pour "**les sulfamides** ou **les bêta-lactamines**".

Le taux de contamination du foie de mouton est donc de 16,67%.

En outre, on a obtenu 2 échantillons douteux susceptibles d'être contaminés par "**les sulfamides** ou **les bêta-lactamines**" et un autre par "**les bêta-lactamines** et **macrolides**".

Ces résultats sont représentés dans la figure 07.

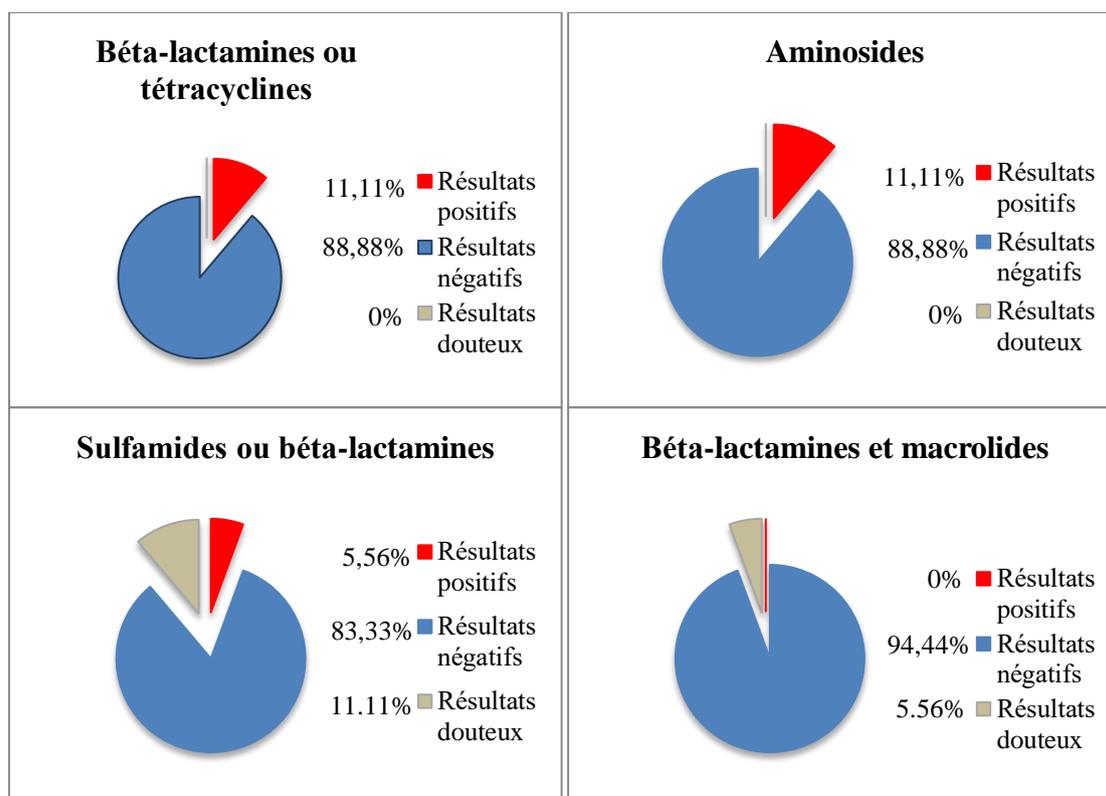
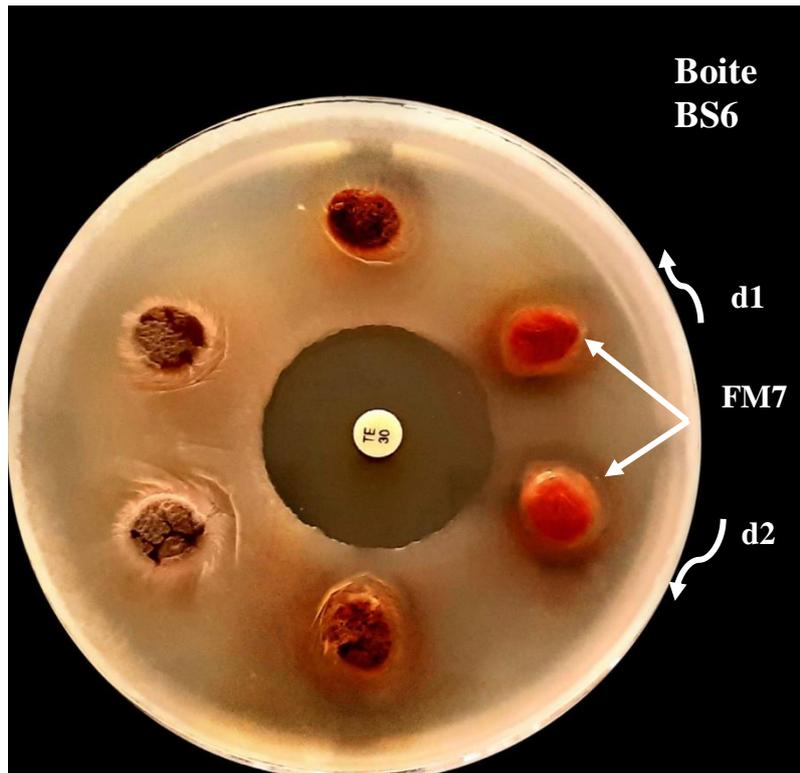
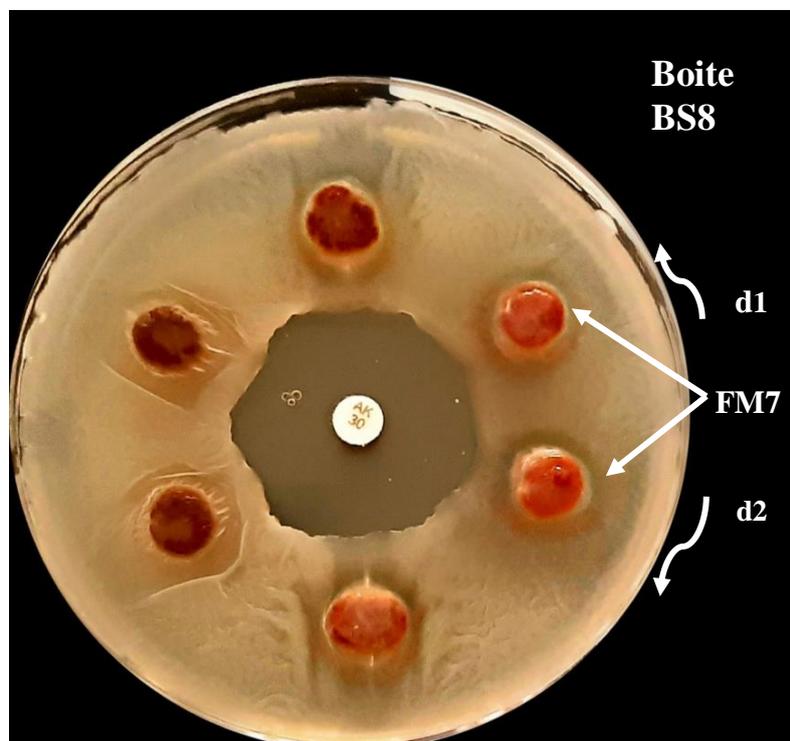


Figure 07: Représentation graphique des résultats du foie de mouton selon les familles d'ATB.



d1: Disque 1; **d2:**Disque 2; **FM7:** Echantillon 7de foie de mouton;**BS6:** *Bacillus subtilis*pH6.

Figure 08 : Photographie d'un échantillon positif du foie de mouton dans la boîte Bs6.



d1: Disque 1 ; **d2:** Disque 2 ; **FM7:** Echantillon 7 de foie de mouton ;
BS8: *Bacillus subtilis* pH8.

Figure 09: Photographie d'un échantillon positif du foie de mouton dans la boîte Bs8.

c) Viande et foie de mouton

D'après la **figure 10** qui représente les résultats des 36 échantillons de la viande ovine (viande et foie du mouton) selon les différents types d'ATB, on note :

- L'absence totale des "**béta-lactamines et macrolides**".
- La présence des résidus des "**sulfamides ou béta-lactamines**" à un taux faible (2.78%).
- "**Les aminosides**" et "**les béta-lactamines ou tétracyclines**" montrent un taux plus élevé (5.56% pour chaque famille).

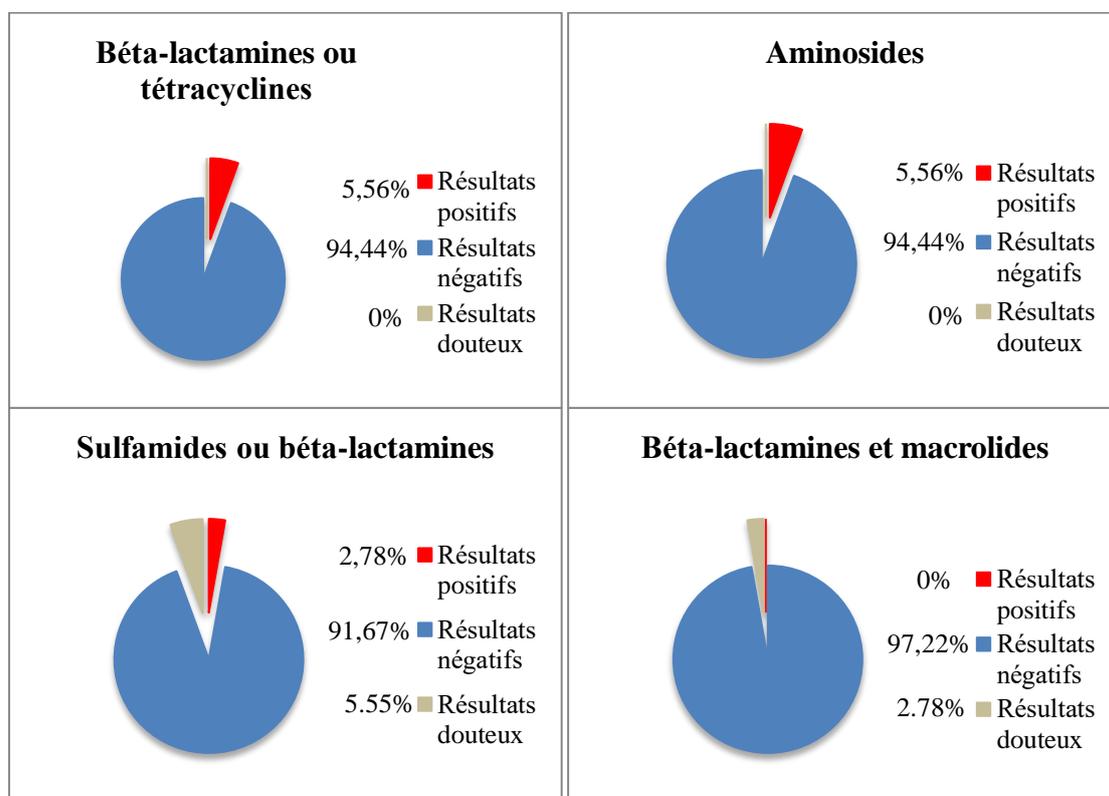


Figure 10 : Représentation graphique des résultats de la viande ovine analysée selon les familles d'ATB.

Etant donné que nos échantillons ont été prélevés dans la période d'hiver, les taux enregistrés pourraient être dus à l'utilisation des antibiotiques en hiver. On suppose que cette utilisation peut être expliquée par le fait que les éleveurs de la région de Tébessa n'hésitent pas à dépenser de l'argent dans des traitements préventifs pour protéger leur bétail, compte tenu de leur valeur marchande, contre les maladies favorisées par la saison des pluies où les conditions d'hygiène se dégradent encore un peu plus, dans des bâtiments inadaptés, avec une forte humidité ambiante, une ventilation insuffisante et parfois des inondations dans certains

élevages (**Béatrice et Antoine, 2001; Bada-Alamedji et al., 2004**),

Par ailleurs, si on compare les résultats de viande de mouton avec les résultats du foie de mouton, on trouve que le taux de contamination par les résidus d'antibiotique est plus élevé dans le foie, notamment par **les sulfamides ou les bêta-lactamines ou les tétracyclines et les aminosides**. Ceci peut être expliqué par le fait que la dégradation des antibiotiques au niveau de la viande est plus rapide que celle au niveau du foie, sans oublier que ce dernier est responsable du métabolisme des antibiotiques, c'est un facteur de persistance des molécules au niveau de cet organe. De plus, beaucoup de molécules ont une affinité pour les organes richement vascularisés dont le foie (**Ahmed et Ben Hamida, 2019**).

En plus, il a été démontré que le temps d'attente fixé par les laboratoires pharmaceutiques et indiqué sur la notice et le conditionnement des médicaments n'est pas valable pour le foie mais uniquement pour les denrées indiquées (muscles, lait, œuf) (**Ranaivo, 2005**).

II.5.1.2 Viande de poulet

a) Bréchet de poulet :

Notre étude montre que parmi les 18 échantillons de bréchet de poulet analysés, deux échantillons seulement (B11 et B12) sont contaminés par des résidus des "**bêta-lactamines ou tétracyclines**" (**Figure 11**) accusant un taux de 11.11 %. En outre, on a obtenu deux échantillons douteux susceptibles d'être contaminés par "**bêta-lactamines ou tétracyclines**" (**Figure 11**).

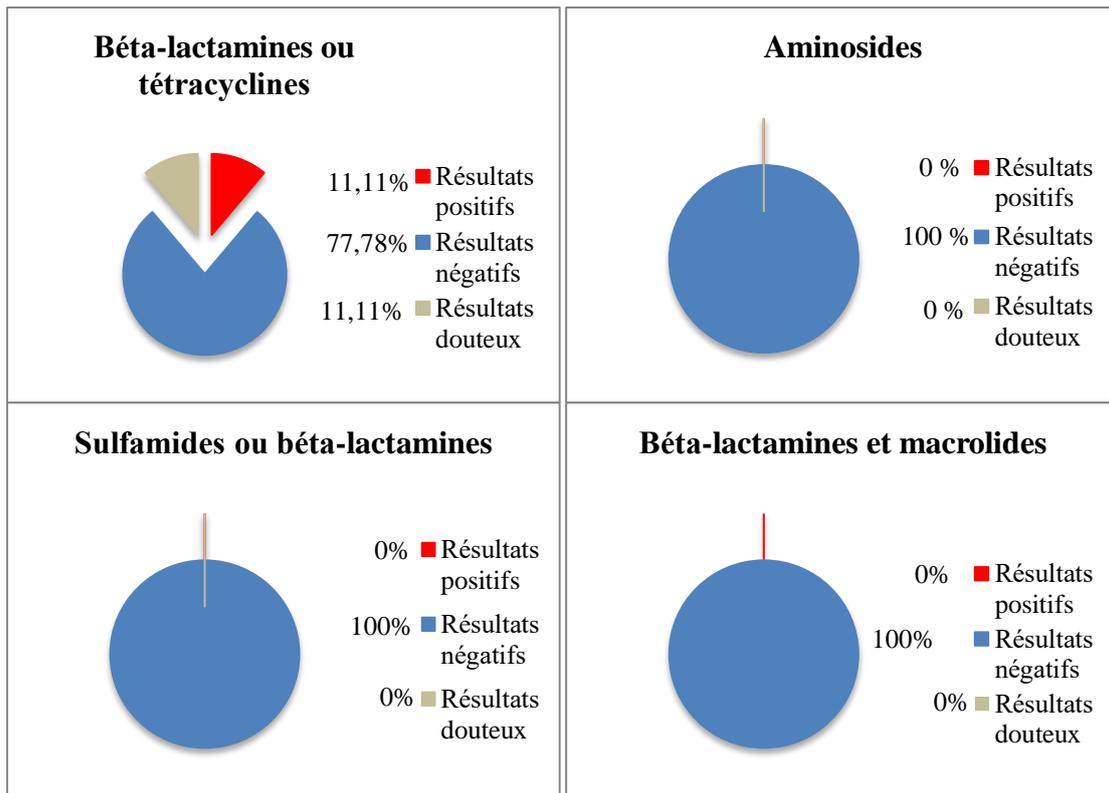
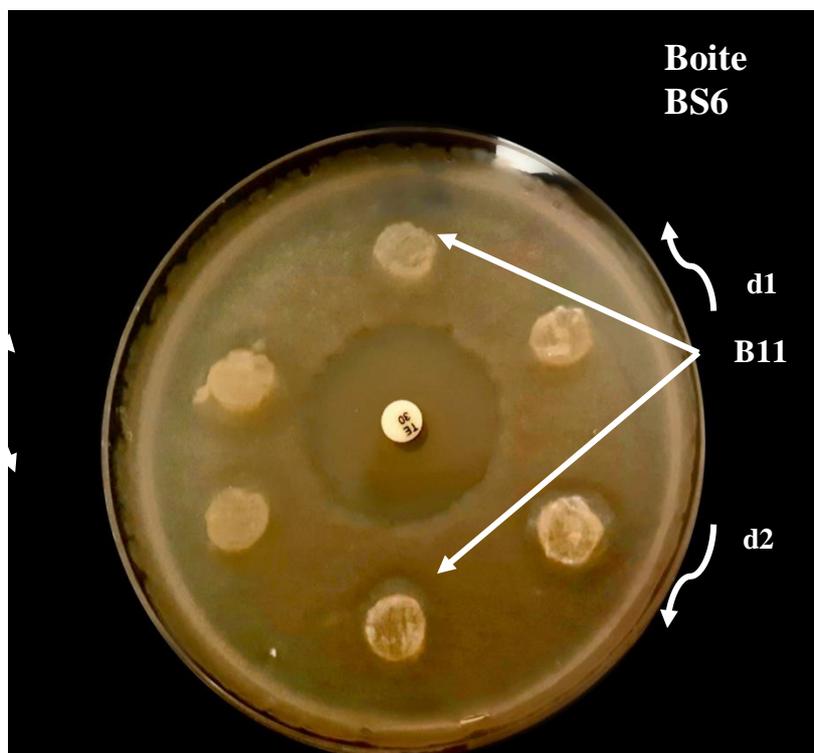


Figure 11: Représentation graphique des résultats du bréchet de poulet selon les familles d'ATB.



d1: Disque 1 ; d2: Disque 2 ; B11: Echantillon 11 de bréchet de poulet ; B12: Echantillon 12 de bréchet de poulet ; BS6: *Bacillus subtilis* pH6

Figure12: Photographie d'un échantillon positif du bréchet de poulet dans la boîte Bs6.

b) Cuisse de poulet :

Notre étude montre que sur les 18 échantillons de cuisse de poulet analysés, 3 échantillons (C10, C11 et C14) sont contaminés par des résidus d'antibiotiques dont :

- un échantillon (C14) contient des résidus des "**béta-lactamines ou tétracyclines**"(Figure 13);
- un autre échantillon (C11) a montré seulement la présence des résidus des "**aminosides**";
- un seul échantillon (C10) contient des résidus des "**aminosides**" et des "**béta-lactamines**" à la fois.

Donc, deux échantillons (C10 et C14) sont contaminés par les "**béta-lactamines ou tétracyclines**" et deux échantillons (C10 et C11) sont contaminés par des "**aminosides**". (Figure 13). Le taux de contamination de cuisse de poulet est donc de 16,67%.

Ces résultats sont représentés dans l'histogramme ci dessous :

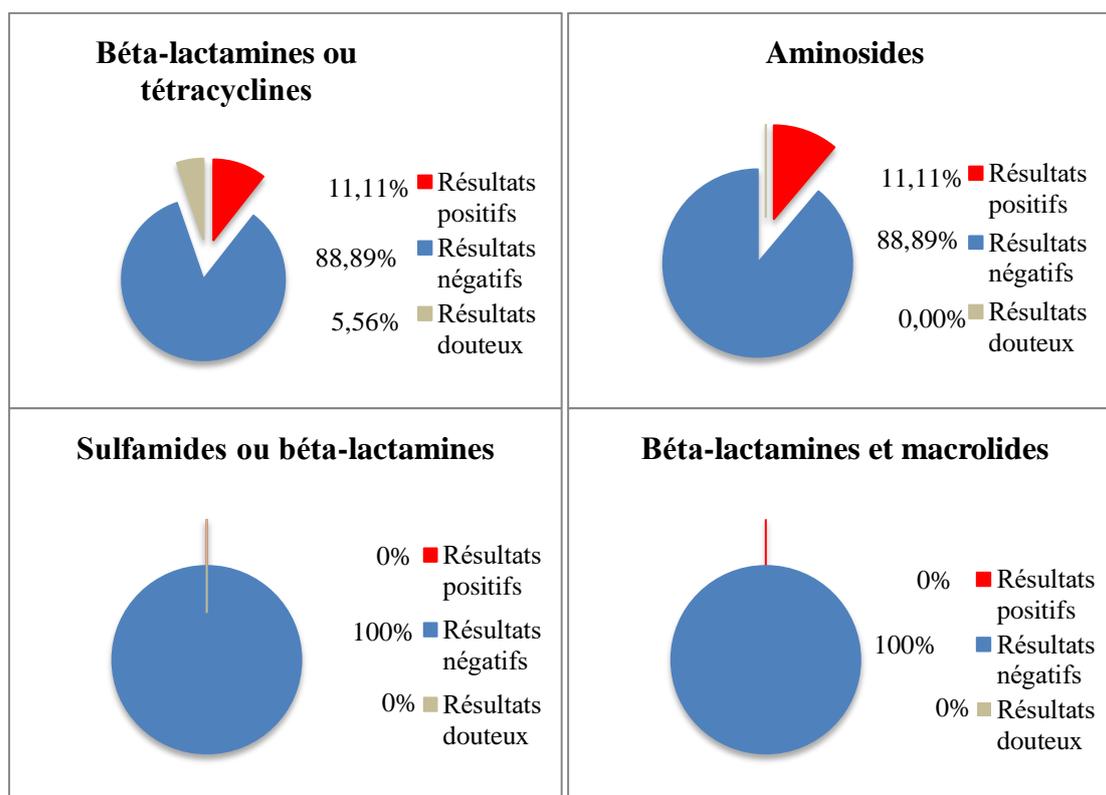
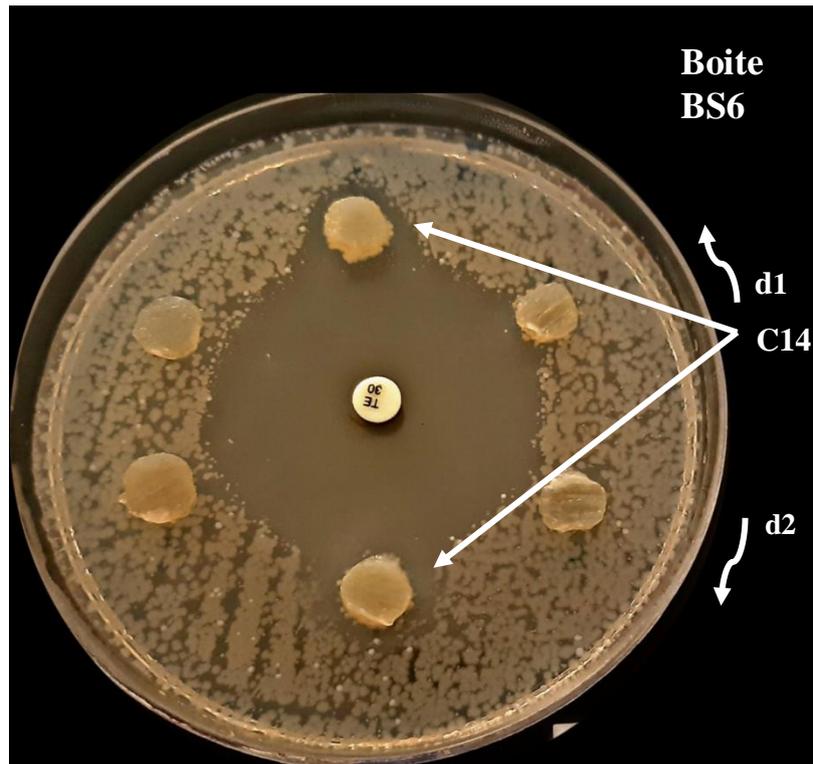


Figure 13: Représentation graphique des résultats de cuisse de poulet selon les familles d'ATB.



d1 : Disque 1 ; **d2** : Disque 2 ; **C14**: échantillon 14 de cuisse de poulet ; **BS6**: *Bacillus subtilis* pH6.

Figure 14: Photographie d'un échantillon positif de cuisse de poulet dans la boîte Bs6.

a) Foie de poulet :

Les résultats ont montré que sur les 18 échantillons de foie de poulet analysés, cinq d'entre eux sont étaient contaminés par des résidus d'antibiotiques, soit un taux de contamination de 27,78%.

Selon les familles d'ATB, un échantillon (FP4) a montré la présence des résidus des "**bêta-lactamines ou tétracyclines**" et des "**aminosides**" et deux autres (FP11 et FP12) étaient contaminés par les résidus des "**bêta-lactamines ou tétracyclines**" seulement. Donc, le taux de contamination par les "**bêta-lactamines ou tétracyclines**" est de 16.67 %.

Tandis qu'un seul échantillon (FP4) a été contaminé par "**les aminosides**" avec un taux de 5.56%. De plus, deux autres échantillons (FP9 et FP10) étaient contaminés par "**les bêta-lactamines et macrolides**" (**Figure 15**) avec un taux égal à 11.11%.

En outre, on a trouvé un échantillon douteux susceptible d'être contaminé par des résidus des "**bêta-lactamines ou tétracyclines**".

Ces résultats sont représentés dans **la figure 15**

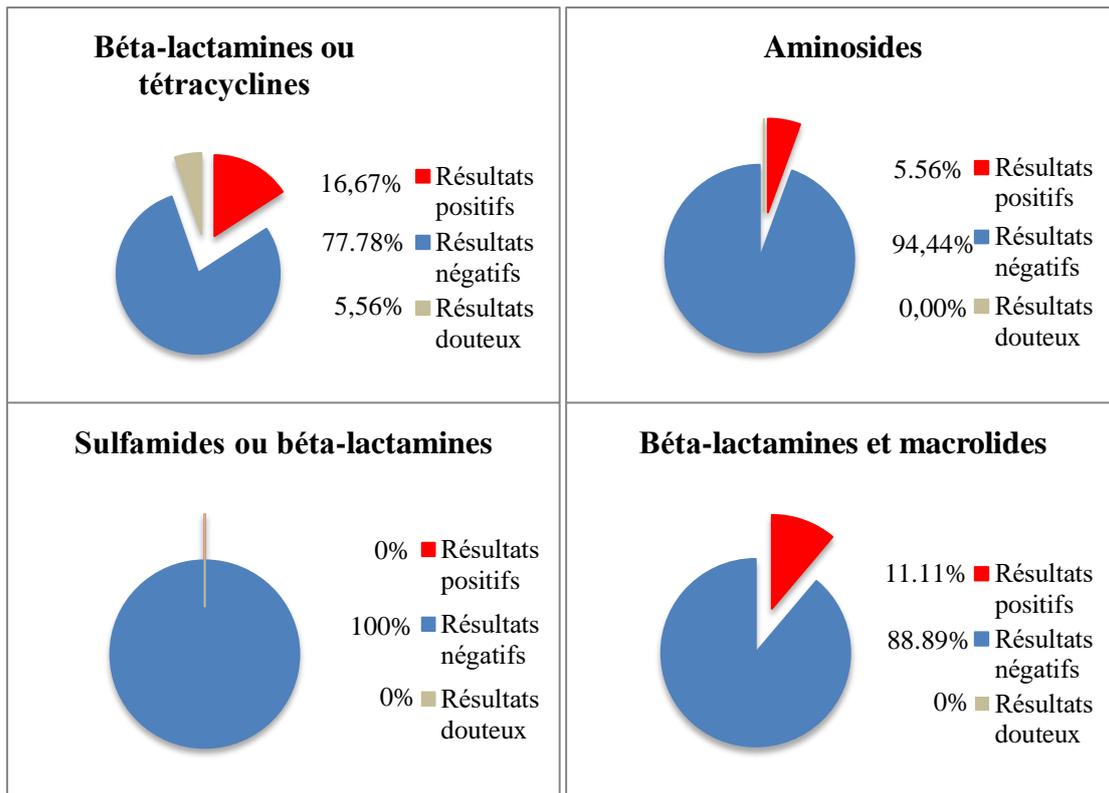
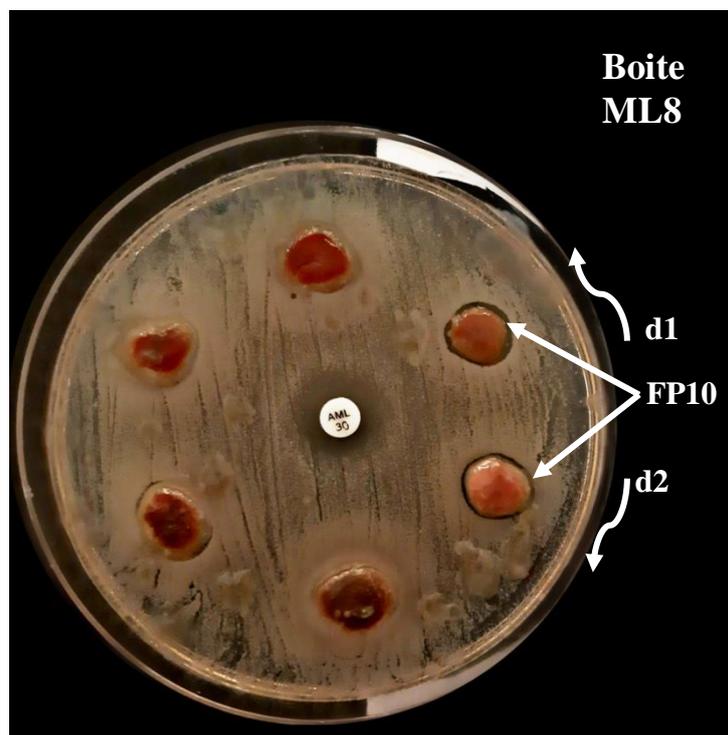


Figure 15: Représentation graphique des résultats du foie de poulet selon les familles d'ATB.



d1 : Disque 1. d2 : Disque 2. FP10 : Echantillon 10 de foie de poulet.
ML8 : *Micrococcus luteus* pH8.

Figure 16 : Photographie d'un échantillon positif de foie de poulet dans la boîte ML8.

d) Viande de poulet

Les résultats relatifs à la viande de poulet ont montré que parmi 54 échantillons, 10 étaient contaminés par les résidus d'ATB (2 échantillons de bréchet, 3 échantillons de cuisse et 5 échantillons de foie) soit un taux de 18,51%. Ces résultats montrent clairement un taux de contamination élevé dans le foie du poulet par rapport aux autres parties (cuisse et bréchet). Ceci pourrait être expliqué par le fait que la dégradation des antibiotiques au niveau de la cuisse et du bréchet est plus rapide que celle au niveau du foie, étant l'organe le plus accumulant des résidus d'antibiotiques (Biagui, 2002).

D'après la figure 17 qui représente le taux de contamination de la viande du poulet (bréchet, cuisse et foie) selon les familles d'ATB, on peut noter :

- L'absence totale des " sulfamides ou béta-lactamines".
- La présence des résidus des " béta-lactamines ou tétracyclines" et des "aminosides" à des taux de 12.96% et 5.56% respectivement.
- La présence des " béta-lactamines et macrolides" à un taux plus faible (3.70%).

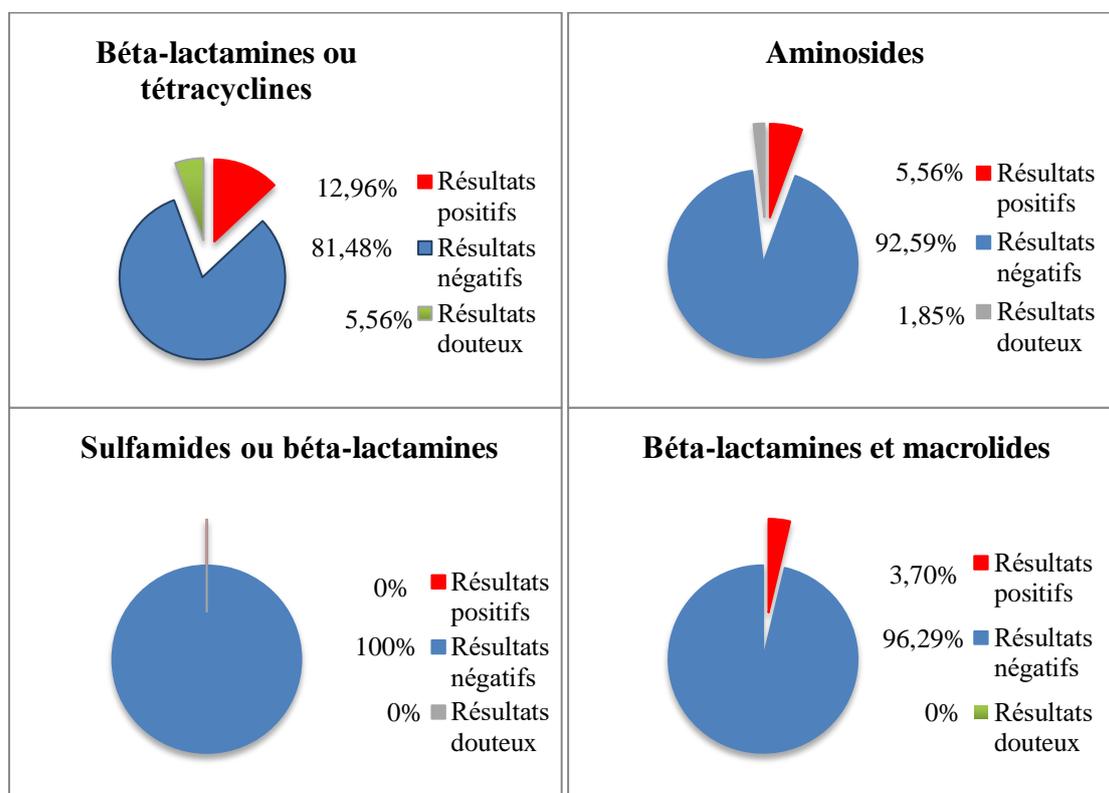


Figure 17: Représentation graphique des résultats de la viande poulet selon les familles d'ATB.

Ces résultats (**figure 17**) montrant la détection de plusieurs familles d'ATB dans la viande du poulet, pourraient indiquer une utilisation exagérée des antibiotiques dans la filière du poulet de chair largement consommé dans notre wilaya. Donc on suppose que les éleveurs ne respectent pas (ou respectent mal) le délai d'attente avant l'abattage des poulets traités par des antibiotiques.

Une étude similaire réalisée dans la wilaya de Msila (**Ahmed et Ben Hamida, 2019**) a montré que parmi les 27 échantillons de viande de poulet de chair (bréchet, cuisse et foie) analysés, les résidus d'antibiotiques ont été détectés seulement dans le foie à un pourcentage plus élevé (neufs cas positifs soit 33,33%) que celui marqué dans notre travail (10 échantillons positifs/ 54, soit 18,51%).

La présence des résidus d'ATB dans la viande du poulet peut résulter d'une utilisation prolongée de médicaments vétérinaires, que ce soit dans le cadre d'une thérapie préconisée par le praticien ou dans le cas d'une automédication. En effet, les éleveurs font des traitements préventifs contre les maladies favorisées par la période hivernale, cependant, ils ne respectent pas (ou respectent mal) le délai d'attente avant l'abattage d'un poulet traité par des antibiotiques (**Biagui, 2002; Ahmed et Ben Hamida, 2019**).

En outre, l'élevage des poulets se caractérise par une mauvaise utilisation ou un usage abusif du médicament, mais il peut s'agir également d'un non respect du délai d'attente lors d'un abattage précoce motivé par une demande plus importante, ou pour limiter les pertes suite à l'apparition d'une pathologie dans l'élevage. Dans ce cas, les résidus découlent d'une prévention ou d'un traitement avant et/ou durant la maladie. (**Biagui, 2002**). Ainsi, les animaux traités d'urgence, puis abattus sans le respect du délai d'attente constituent un réel danger pour les consommateurs (**Kone, 1992**).

II.5.1.3 Comparaison des résultats de la viande ovine VS résultats de viande de poulet

En comparant les résultats de la viande de mouton avec ceux de la viande de poulet, il est clair que cette dernière est plus contaminée par les résidus d'antibiotiques (taux de contamination de 18,51% vs 8,33%). Selon **Biagui (2002)**, plusieurs hypothèses peuvent expliquer ces résultats :

- Il est probable que les éleveurs des ovins respectent le délai d'attente beaucoup mieux que les éleveurs des poulets.

- Il faut aussi prendre en considération que les voies d'administration des médicaments sont différentes pour ces deux animaux. L'injection des antibiotiques directement dans les muscles pour les moutons peut assurer que la dose administrée respecte mieux les consignes des vétérinaires et les notices des médicaments. Tandis que la voie d'administration des antibiotiques la plus utilisée en aviculture est la voie orale par l'addition des médicaments dans l'eau de boisson ou dans les aliments proportionnellement au poids d'animal. De plus, il faut mentionner que la dose administrée est relative à la solubilité de l'antibactérien, si, par exemple, un médicament précipite au fond du récipient d'eau de boisson, les animaux ne consomment pas totalement la teneur destinée pour chaque poulet.
- Pour les poulets, leur élevage se caractérise par une mauvaise utilisation des antibiotiques et l'irrespect du délai d'attente lors d'un abattage précoce (pour limiter les pertes en cas d'apparition des maladies et pour suivre le rythme important de demande dans les marchés).
- Ainsi, il faut noter que les volailles sont caractérisées par leur statut immunitaire fragile qui nécessite à titre préventif la consommation importante des antibiotiques.

Toutes ces hypothèses ne pourront être vérifiées que par une enquête de terrain sur les pratiques de médications des animaux d'élevage dans notre wilaya.

II.5.2 Résultats et discussion selon les familles d'antibiotiques :

Sur un total de 90 échantillons de viande, 13 échantillons ont été contaminés par les résidus d'ATB soit un taux de 14,44%. La répartition des échantillons positifs aux résidus d'ATB de différentes familles est présentée dans le tableau 03.

Tableau 03: Résultats globaux selon les familles d'ATB

Type de Viande		Echantillons positifs par famille d'ATB			
		Béta-lactamines ou tétracyclines	Aminosides	Sulfamides ou béta-lactamines	Béta-lactamines et macrolides
Viande du mouton	Viande	/	/	/	/
	Foie	Echantillon N° 7 Echantillon N° 12	Echantillon N° 7 Echantillon N° 12	Echantillon N° 4	/
Viande du poulet	Bréchet	Echantillon N° 11 Echantillon N° 12	/	/	/
	Cuisse	Echantillon N° 10 Echantillon N° 14	Echantillon N° 10 Echantillon N° 11	/	/
	Foie	Echantillon N° 4 Echantillon N° 11 Echantillon N° 12	Echantillon N° 4	/	Echantillon N° 9 Echantillon N° 10

Selon ce tableau, la plupart des échantillons positifs (9/13) sont contaminés par les «**Béta-lactamines ou tétracyclines**». En second lieu, viennent les «**Aminosides**» qui sont détectés dans 5 échantillons. On peut supposer que ces familles sont les plus utilisées dans le traitement des pathologies des ovins et des poulets dans la région de Tébessa.

Concernant les «**Béta-lactamines et macrolides**», ils étaient présents seulement dans deux échantillons du foie de poulet, donc il est probable que ces antibiotiques sont plus utilisés pour les poulets et beaucoup moins pour les ovins. Enfin, les «**Sulfamides ou béta-**

lactamines » sont probablement les moins utilisés dans notre région, ils étaient présents dans un seul échantillon du foie de mouton. Donc, ces antibiotiques sont probablement plus utilisés pour les ovins et très peu utilisés en arvicole.

La répartition des échantillons positifs selon le nombre de familles d’ATB contaminants est présentée dans le tableau 04

Tableau 04: Résultats globaux selon le nombre de familles d’ATB contaminants

Type de viande		Echantillons positifs à		
		Une seule famille	Deux familles	Plus de deux familles
Viande du mouton	Viande	/	/	/
	Foie	Echantillon N° 4	Echantillon N° 7 Echantillon N° 12	/
Viande du poulet	Bréchet	Echantillon N° 11 Echantillon N° 12	/	/
	Cuisse	Echantillon N° 11 Echantillon N° 14	Echantillon N° 10	/
	Foie	Echantillon N° 9 Echantillon N° 10 Echantillon N° 11 Echantillon N° 12	Echantillon N° 4	/

Ce tableau montre que la majorité des échantillons positifs ont été contaminés par une seule famille d’antibiotiques, particulièrement les échantillons de viande de poulet. Tandis qu’un nombre plus faible des échantillons ont été contaminés par des résidus de deux familles d’antibiotiques (notamment les échantillons du foie de mouton). Aucun échantillon positif n’a été contaminé par les résidus de plus de deux familles d’antibiotiques.

Conclusion

Conclusion

Les antibiotiques sont utilisés en élevage des animaux de production pour traiter ou prévenir des pathologies microbiennes, ou comme additifs pour améliorer la croissance des animaux. Ces antibiotiques peuvent se trouver sous forme de résidus dans les denrées alimentaires d'origine animale comme la viande, à cause d'une utilisation anarchique ou abusive, ou du non-respect du délai d'attente. La présence de ces résidus à des concentrations dépassant leurs limites maximales autorisées peut entraîner de graves problèmes de santé pour les consommateurs.

Dans cette intention, notre travail a été réalisé dans l'objectif de rechercher les résidus d'antibiotiques dans la viande. Il a porté sur l'analyse des échantillons de viande de mouton et des échantillons de viande de poulet selon la méthode des quatre boîtes basée sur l'inhibition de deux bactéries tests : *Bacillus subtilis* et *Micrococcus luteus*.

Cette méthode a permis de révéler la présence des résidus d'antibiotiques dans des échantillons de foie du mouton et des échantillons de viande de poulet (cuisse, bréchet et foie). Les résultats ont montré que la viande de poulet est plus contaminée que la viande de mouton et que les résidus se trouvent davantage dans le foie. Par ordre décroissant, les résidus contaminants appartiennent aux familles : «**Béta-lactamines ou tétracyclines**», «**Aminosides**», «**Béta-lactamines et macrolides**» et enfin «**Sulfamides ou béta-lactamines**». En outre, les échantillons positifs se trouvaient contaminés au maximum par deux familles d'antibiotiques.

Cette étude préliminaire a permis de donner une idée sur la situation dans la région de Tébessa qui s'est avérée inquiétante en termes de risques sanitaires, particulièrement en ce qui concerne la viande de poulet qui est largement consommée. Une meilleure évaluation demande beaucoup plus d'investigations et des études approfondies sur les pratiques d'utilisation des antibiotiques en élevage. Par ailleurs, des méthodes quantitatives de détection des résidus d'antibiotiques, plus performantes doivent être utilisées pour avoir des résultats fiables. Ce type d'études peut être exploité pour corriger les défauts au niveau des élevages et pour mieux maîtriser la diffusion de ces résidus dans la chaîne alimentaire afin de protéger le consommateur des risques liés à la présence de ces résidus.

Recommandations

Pour prévenir la présence des résidus dans la viande, plusieurs mesures sont envisageables à plusieurs niveaux.

Les pouvoirs publics doivent :

- exercer leur rôle régalien en règlementant la qualité et la sécurité sanitaire des denrées alimentaires d'origine animale en veillant à l'application des recommandations dans le cadre de l'harmonisation de la législation de la pharmacie vétérinaire et l'élaboration des normes en matière des résidus par des structures qualifiées ;
- réglementer la diffusion et l'utilisation des antibiotiques de telle sorte qu'elles soient uniquement administrées sur ordonnance;
- mettre en place un programme national de contrôle permanent de la qualité des viandes locales et importées;
- mettre en place des structures d'aide et des centres d'information spécialisés et organiser des séminaires sur les dangers de l'utilisation anarchique des antibiotiques sur la santé publique pour conscientiser les éleveurs sur la nécessité de respecter la dose, la durée d'utilisation et le délai d'attente pour chaque médicament;
- renforcer les capacités analytiques des laboratoires d'analyses, pour le contrôle des résidus d'antibiotiques dans les aliments.

De leur part, les vétérinaires doivent :

- sensibiliser les éleveurs sur les règles à respecter pour une utilisation raisonnée des antibiotiques;
- prescrire des alternatives aux antibiotiques utilisés comme facteurs de croissance comme les probiotiques, les prébiotiques, les acides organiques, les enzymes, les argiles;
- prescrire les alternatives aux antibiotiques destinés au traitement des infections bactériennes comme les extraits des plantes, les peptides antimicrobiens.

Les éleveurs qui ont une grande part de responsabilité dans ce contexte doivent :

- être sensibilisés sur les dangers que présentent les résidus d'antibiotiques.
- respecter les délais d'attente prescrits et tenir des fiches d'abattage facilitant le contrôle
- respecter les règles de bonnes pratiques d'élevage
- proscrire l'automédication
- avoir un programme de prophylaxie et le respecter
- respecter l'hygiène de l'élevage pour prévenir l'apparition des maladies et le recours aux antibiotiques.

Ainsi, les consommateurs doivent être informés et sensibilisés sur les risques liés à la présence des résidus d'antibiotiques dans l'alimentation.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- Ahmed.F et Ben Hamida.H. (2019). Détection des résidus d'antibiotiques dans la viande du poulet de chair dans la région de M'sila. Mémoire de master en Sciences alimentaires. Université Mohamed Boudiaf -M'sila-. P 24-30.

B

- Bada-Alamedji R., Cardinal E., Biagui C. et Akakpo A.J. (2004). Recherche de résidus de substances à activité antibactérienne dans la chair de poulet consommée dans la région de Dakar (Sénégal). École Inter-États des Sciences et Médecine Vétérinaires (EISMV). Service de Microbiologie Immunologie, Pathologie Infectieuse, p.4
- Béatrice. C et Antoine. S (2001). Investigation sur la présence de résidus d'antibiotiques dans Les viandes commercialisées à Dakar. Thèse de magister. Institut Pasteur. Dakar. p66.
- Biagui, C(2002). Utilisation des médicaments vétérinaires en élevages avicoles dans la région de Dakar ; qualité de la viande à travers la recherche de résidus de substances à activité antimicrobienne (antibiotiques). Dakar. Thèse de doctorat .Méd. Vét. Dakar. p153.
- Bogaerts. R, Wolf. F. (1980). A standardized method for the detection of residues of antibacterial substances in fresh meat, Die Fleischwirtschaft, 60,p 672-674.
- Boutrid S. (2020). Recherche des résidus de médicaments vétérinaires dans les denrées alimentaires d'origine animale. Mémoire de doctorat en Biologie Cellulaire et Physiotoxicologie. Université Mustapha Benboulaïd –Batna 2- (P6-8, 41-44)
- Burgère-Picous .J , Jnj-ART, Burgère.E, (2016). Maladies du mouton. 3ème édition. Editions France agricole. 398 p.

C

- Chauvin .C, Colin .P, Guillot J.F, Laval A, Millemann Y, Moulin G, Pellanne I . Janvier 2006. Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine. Section I. Usage des antibiotiques chez l'animal. p 15-16.

F

- FAO. Viande et produits carnés: Composition de la viande). Le 5 mars 2015.
https://www.fao.org/ag/againfo/themes/fr/meat/backgr_composition.html#:~:text=Le%20Codex%20Alimentarius%20d%C3%A9finit%20la,%2C%20%C3%A0%20la%20consommation%20humaine%C2%BB>. (Date de consultation 10/03/2022)

J

- Jeanne .B-P, Paulais.A. M, Roque.M, Gurreau.J.M (2011). Les maladies infectieuses du mouton. Editions France agricole. 284 p.
- Journal officiel de la république algérienne n°74 3 (Rabie El Aouel 1436 25 decembre 2014). (P 14)

K

- Klotins K. (2006). Utilisation des antibiotiques comme stimulateurs de croissance, controverse et solutions.
- Kone, P. S (1992). Recherche des résidus de chloramphénicol dans les viandes de ruminants en Côte d'Ivoire : mise en place d'une méthode analytique. Dakar : Thèse : Méd. Vét, (P 47)

L

- Lezzar N. (2018). Polycopié pédagogique Manuel d'autopsie et de pathologie aviaires. (Institut des Sciences Vétérinaires) (P 77, 80, 83, 85, 87, 91, 95)
- Luquet, F (1986). Lait et produits laitiers, qualité – énergie et table de composition. Volume 3. Ed: Tec ET doc, Lavoisier, Paris. (P 93-122, 344-345, 348).

M

- Mensaha S, Koudande D, Gbego tossa I et Mensah G (2015) Formation et risques face à la présence de résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine

Références bibliographiques

- Meziane .B .Meziane A, Mzi .M (2020). Les résidus d'antibiotiques dans la viande
Mémoire de master en Biotechnologie alimentaire. Université Abdelhamid Ibn Badis -
Mostaganem-, (P17-19)

R

- Ranaivo JL. (2005). Mise en place d'un protocole de détection des résidus à activité
antibiotique dans les denrées alimentaires d'origine animale. Antananarivo : Mémoire
DEA – Biochimie, p.76.

W

- Wassenaar T.M. (2005). The use of antimicrobial agents in veterinary medicine and
implications for human health. *Crit. Rev. Microbiol.*, 31, 155-16

Annexes

Annexe 01 : Composition et préparation des milieux de culture utilisés

- **Bouillon nutritif**

Composition

Tryptone 10g/l
Extrait de viande 5.....g/l
Chlorure de sodium 5g/l
pH à 25°C: 7.3 ± 0.2

Préparation

- Dans un bécher, peser 20 g de bouillon nutritif en poudre
- Ajouter 1L d'H₂O et bien mélanger le contenu
- Rpartir le mélange dans des tubes à essai ou des flacons stériles.
- Stériliser à l'autoclave pendant 15 min à 115°C

- **Gélose PCA**

composition

Enzyme de digestion de caseine5.0g/l
Extrait de levure, 2.5 glucose (anhydride).....1.0g/l
Agar bactériologique..... 15.0g/l
pH final :7.0±0.2 à 25°C

Préparation

- Mettre dans un bécher 23.5g de PCA en poudre avec 1L d'eau distillée
- Mettre le mélange sur une plaque chauffante et bien agiter le contenu jusqu'à dissolution
- Faire bouillir le mélange pour une minute jusqu'une dissolution complète

- **Milieu Mueller Hinton No.2**

Composition :

Acidité TM	17.50g/L
MH infusion solide B Δ.....	2.00g/L
Amidon soluble.....	1.50g/l
Agar	17.00g/l

Δ équivalent à la chaleur de l'infusion de bœuf

pH finale à 25°C : 7.3± 0.1

Préparation :

- Mettre 38.0g dans 1000ml d'eau distillée.
- Bien bouillir le mélange jusqu'une dissolution complète du contenu.
- Stériliser le mélange a l'autoclave à 121°C pendant 15 min.
- Faire refroidir le mélange à 45-50°C et bien mélanger le tout.
- Verser dans des boites de Pétri ou dans des récipients stériles.

Annexe 02 : Verreries et appareillages

a) Appareils :

- Etuves réglées à 30°C et à 37°C
- Réfrigérateur.
- Vortex.
- Balance.
- Bec bunsen.
- Plaque chauffante.
- pH mètre.
- Autoclave.

b) Instruments et verreries

- Flacons.
- Tubes à essai.
- Portoirs métalliques.
- Portoir en bois.
- Bêchers (10 ml, 100 ml et 1000 ml).
- Boîtes de Pétri.
- Pipettes graduées (10mL et 20 mL).
- Pinces.
- Anse de platine.
- Spatule.
- Papier aluminium.
- Papier film.
- Papier absorbant.
- Couteau.
- Bistouris.
- Plateau en acier inoxydable.

**Annexe 03 : Préparation de l'étalon de turbidité McFarland 0,5
(EUCAST, 2020)**

Préparation de l'étalon de turbidité McFarland 0,5	
1	Ajouter 0,5 mL d'une solution à 0,048 mol/L de BaCl_2 (1,175% p/v $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) à 99,5 mL d'une solution 0,18 mol/L (0,36 N) de H_2SO_4 (1% v/v) et agiter vigoureusement.
2	Vérifier la densité de la suspension à l'aide d'un spectrophotomètre avec un faisceau de 1 cm et des cuvettes assorties. L'absorbance à 625 nm doit être comprise entre 0,08 et 0,13.
3	Distribuer la suspension dans des tubes de même taille que ceux utilisés pour ajuster l'inoculum. Sceller les tubes.
4	Une fois scellés, conserver ces tubes à température ambiante et à l'abri de la lumière.
5	Avant usage, mélanger vigoureusement le tube à l'aide d'un Vortex.
6	Renouveler l'étalon ou vérifier son absorbance après 6 mois de conservation.
7	Il convient de vérifier les étalons achetés dans le commerce en s'assurant que l'absorbance se situe dans les limites fixées.