

INTRODUCTION

La croissance rapide du secteur de l'élevage s'est accompagnée de celle du secteur avicole au Sénégal. Cette augmentation va de paire avec une importante demande en médicaments aviaires. Les risques hygiéniques et sanitaires que peuvent générer ces médicaments en l'absence d'un contrôle adéquat à tous les niveaux de la chaîne de production, de transformation et de commercialisation des denrées animales et d'origine animale sont généralement connus.

Dans le but de préserver la sécurité chimique des denrées animales et de protéger le consommateur, nous envisagerons de faire une étude qualitative et quantitative dans le domaine des résidus de médicaments aviaires dans la zone des Niayes au Sénégal.

Au plan spécifique, il s'agit de faire une photographie instantanée de la situation des résidus de médicaments vétérinaires dans les produits aviaires au Sénégal, en nous limitant à la recherche de résidus de quelques substances chimiques qui à première vue peuvent :

- compromettre la salubrité des denrées et la sécurité du consommateur ;
- constituer de véritables freins aux échanges internationaux.

Quatre résultats sont attendus de cette étude. Il s'agit de faire le point :

- sur l'aviculture au Sénégal;
- des anti-infectieux utilisés dans les élevages avicoles au Sénégal ;
- de la synthèse du contrôle actuellement en place ;

- des taux de contamination des denrées aviaires par certains composés étudiés dans la zone des Niayes.

Ce travail est structuré en deux parties :

- la première partie présente l'aviculture au Sénégal ;
- la deuxième partie est consacrée à nos investigations personnelles.

Rapport-gratuit.com 
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

**PREMIERE PARTIE: AVICULTURE AU SENEGAL ET
GENERALITES SUR LES RESIDUS**

Avant d'entamer l'étude de l'aviculture au Sénégal, nous présentons d'abord la zone des Niayes pour permettre une meilleure approche de la suite de l'étude.

La zone des Niayes est située en bordure du littoral océanique et s'étend sur environ 120 km de Dakar à l'embouchure du fleuve Sénégal (figure n°1). Les Niayes sont des dépressions plus ou moins inondées permanentes ou semi-permanentes, qui s'étendent à faible distance de la côte dans les creux existant entre les dunes d'origine diverse. Elle bénéficie d'un climat très différent du reste du Sénégal à la même latitude ; c'est le climat sub-canarien qui est influencé par deux masses d'air que sont l'alizé et le courant marin froid des Canaries. Ce climat fait de cette région une zone d'excellence pour la production avicole. Au plan démographique, elle regroupe plus de 65% de la population sénégalaise (DPS, 1998), d'où l'existence d'un marché pour l'écoulement des produits. La population des Niayes est constituée en majorité de peulh et de wolof ainsi que de lébou et de sereer dont la principale activité est l'agriculture mixte qui associe maraîchage et aviculture.



Figure 1. Situation de la zone des Niayes

CHAPITRE I : L'AVICULTURE AU SENEGAL

I-1) Aviculture traditionnelle

L'aviculture traditionnelle compte environ **18 millions** de têtes. C'est un type d'élevage pratiqué essentiellement en milieu rural sous un mode extensif où chaque famille possède un effectif relativement faible (LY C, 2001). La race couramment utilisée est la poule locale. La taille moyenne des unités de production est de 10 sujets (DIOP, 1982). Ici l'apport d'intrants tels que les aliments ou les médicaments vétérinaires est réduit voire nul. L'aviculture traditionnelle est caractérisée par la reproduction naturelle des poules locales avec des coqs locaux, la rusticité des animaux, la modicité des techniques et du matériel d'élevage, une alimentation sommaire, une vulnérabilité aux épizooties, une production très auto consommée (BOYE, 1990 ; DIOP, 1982 ; SAVANE, 1996).

I-2) L'aviculture moderne

L'aviculture moderne a connu des progrès considérables depuis 1987 avec l'augmentation des investissements privés qui permet l'exploitation d'effectifs plus importants (1 million en 1980 et 5 millions en 1996). Les effectifs de la volaille du secteur industriel sont connus avec une certaine précision grâce au contrôle de la production des couvoirs et des importations de poussins d'un jour (70% des effectifs).

L'aviculture moderne comprend deux aspects à savoir la spéculation chair et celle des œufs de consommation.

I-2-1) La production de poulets

Selon les données statistiques de la DIREL/CNA (2001) sur la filière avicole moderne, la production de poulets (chair et pondeuses réformées) au Sénégal s'élevait à environ 5,5 millions de têtes pour une consommation annuelle de 7 700 tonnes.

I-2-2) La production d'œufs de consommation

L'effectif des pondeuses au Sénégal est évalué à 1 052 451 têtes en 2001, pour une production nationale d'œufs de consommation estimée à 254 millions d'unités, soit un chiffre d'affaire à la vente au détail de l'ordre de 12,7 milliards de F CFA.

Cette production a connu une hausse de 30 % par rapport à l'année 2000. Ceci s'explique d'une part par le fait que beaucoup de producteurs de viande de poulets de chair se sont convertis en producteurs d'œufs de consommation et d'autre part par une bonne vente de la production qui a entraîné un intérêt pour la filière (extension des exploitations pour de nouvelles mises en place, arrivée de nouveaux éleveurs) (DIREL/ CNA-, 2001).

I-2-3) Circuit de commercialisation des produits aviaires

Pour le secteur moderne , les circuits de commercialisation sont bien établis car les fermes vendent directement aux consommateurs. Cependant, certains intermédiaires peuvent entrer dans ce circuit. Il s'agit des restaurateurs, des libres services, des collectivités ou des commerçants (Bana Bana) permanents. Ces derniers distribuent soit directement les poulets aux consommateurs soit indirectement par l'intermédiaire des Bana Bana informels qui approvisionnent les commerces de proximité (figure n°2).

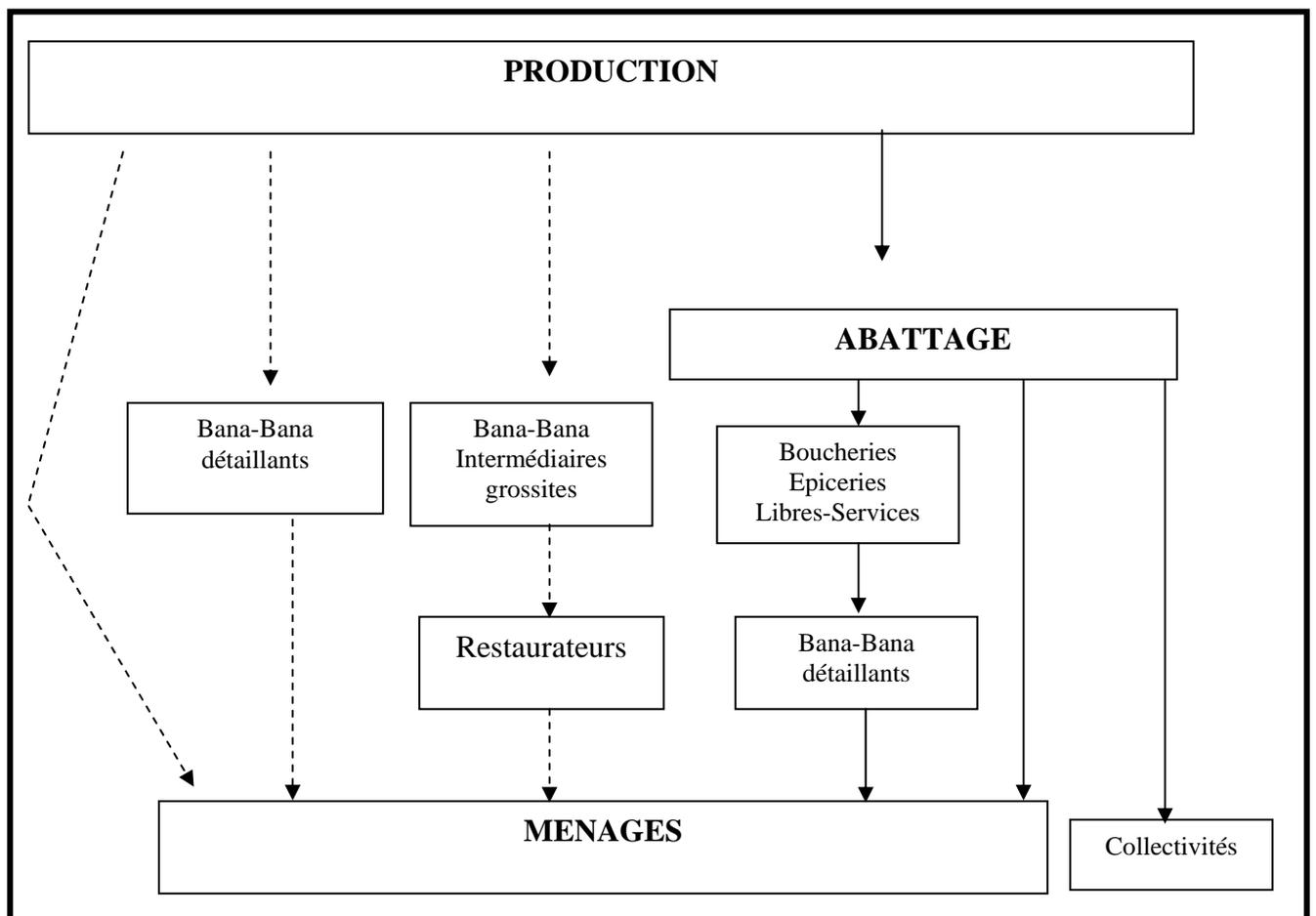


Figure n°2: Circuit de commercialisation des produits aviaires (HABAMENSHI, 1994)

Légende: —> Circuits morts ; - - - -> Circuits vifs

Bana – Bana : Commerçant ambulant

I-2-4) Intrants avicoles

Dans la filière avicole, les intrants regroupent :

- les poussins;
- les aliments volaille;
- les médicaments aviaires.

Au Sénégal , l’approvisionnement des aviculteurs en ces différents intrants est assuré par diverses sociétés du pays (tableau n°I)

Tableau n° I: Sociétés d'intrants avicoles depuis 1997
(source : DIREL/ CNA 1999)

SOCIETES	SERVICES	STATUT
Moulin SENTENAC	aliment	Société privée créée en 1958- Dr Paturel
Complexe Avicole de Mbao	-reproducteur -couvoir -aliment	Crée en 1990 par Jourdain International
SENDIS	-aliment -couvoir	Société privée créée en 1987- Dr Kébé
SEDIMA	-reproducteur -couvoir -aliment -abattoir	Société privée créée en 1988- Mr Ngom Abattoir mis en place en 1994
CAMAF	couvoir	Société privée créée en 1995
HORIA	couvoir	Département avicole de SHAMS International mis en place en 1997
SONACOS	aliment	industrie
SOPELA	médicament	Importateur, grossiste et détaillant
SENEVET	médicament	Central d'achat
SOSEDEL	médicament	Société anonyme (S.A)

I-2-4-1) Approvisionnement en poussins de 1 jour

Au Sénégal, les poussins sont fournis par les accoueurs locaux (tableau n°II) qui se partagent le marché avec les importateurs.

Tableau n° II : Accoueurs locaux

Couvoirs	Capacités de production par semaine
SEDIMA	100 000
CAMAF	58 000
Complexe Avicole de Mbao	56 000
SENDIS	19 000
SENAF	16 000
Couvoir de Petit Mbao	16 000

(source : DIREL/ CNA, 2000)

I-2-4-2) L'alimentation

Au Sénégal, la production d'aliment volaille est assurée par des fabriques d'aliment spécialisées ou non dans l'alimentation de la volaille. Elles sont au nombre de (8) huit et sont toutes localisées dans la ville de Dakar ou dans sa zone périurbaine.

Ces (8) huit sociétés sont :

- Moulin SENTENAC
- SEDIMA
- CAMAF
- SETUNA/ Sonacos
- SODAVI
- PRODAS
- NMA Sanders

Les matières premières sont produites localement sauf le maïs et le complexe minéral vitaminé (CMV) qui sont importés et représentent environ 60% à 65%

des matières premières utilisées. Cette importation influence le prix du kilogramme d'aliment (DIREL/ CNA , 2000).

I-2-4-3) Matériels avicoles

Le matériel avicole utilisé est soit de fabrication locale, c'est-à-dire artisanale ou importé. Ces matériels sont les abreuvoirs, les mangeoires, les radiants, les thermomètres et les alvéoles.

I-2-5) Prix des produits aviaires

Une étude de la Direction de la Statistique pour le calcul de l'indice des prix au niveau de cinq marchés de Dakar (Tilène, Sandaga, Pikine, Grand-Dakar et Gueule Tapée) en 2001, a donné les résultats suivants:

- le prix moyen du poulet du pays (1850 FCFA à 2000 FCFA le kg) est supérieur de 34% à celui du poulet de chair (1430 FCFA à 1500 FCFA le kg) en 2001. On note une baisse du prix du kg de poulet de chair et une augmentation du kg du prix du poulet du pays, l'écart entre les deux catégories de volailles a ainsi augmenté;
- le poulet de chair au Sénégal est depuis quelques années la viande la moins chère sur les marchés. Ce constat signe l'amélioration des performances de la filière avicole industrielle;
- On observe de brutales variations saisonnières des prix des poulets correspondant aux périodes de fêtes.

(Source : DIREL/ CNA, 2001)

I-3) production viande volaille

En intégrant à ces données sur la production de poulets modernes celles de la production de l'aviculture traditionnelle (estimée à 11700 tonnes), la consommation annuelle par habitant s'établit à 2,5 kg au Sénégal contre 12 kg

au Kosovo, 22 kg dans l'Union Européenne et 45 kg au Etats Unis (F.A.F.A. 2003). On estime que la consommation de viande de poulet continuera d'augmenter au Sénégal, à l'image du marché mondial qui tend vers des niveaux de consommation plus élevés de viande de volaille.

Ce taux de consommation encore faible peut s'expliquer par les nombreuses contraintes de l'aviculture sénégalaise.

I-4) Contraintes de l'aviculture au Sénégal

I-4-1) Personnel non qualifié

La plupart des employés des fermes avicoles au Sénégal n'ont subi aucune formation (BIAGUI, 2002), ce qui constitue un réel frein pour le développement de la filière. Cette situation favorise l'émergence et le maintien des pathologies aviaires, tout en exposant le consommateur à des risques d'ordres sanitaires. Cela a suscité une prise de conscience des aviculteurs qui se regroupent dans des organisations professionnelles (UNIA, GAS, AVICAP ...) pour mieux défendre leur intérêt et participer à des ateliers ou séminaires de formation. Ces derniers sont souvent organisés par la FAFA en partenariat avec l'Etat ou les ONG intervenant dans la filière.

Malgré cette organisation pour augmenter la production locale, des produits aviaires d'origine diverse inondent le marché sénégalais

I-4-2) Importations galopantes de produits avicoles

Au Sénégal 70% des poulaillers de chair ont fermé, pour 25% de poulaillers pondeuses. Favorisant ainsi une perte de 5000 emplois sur les 10 000 créés. La capacité de production de poussins de la filière locale se chiffre à 17 millions. Actuellement la production globale tourne autour de 5 millions à cause des importations de sous produits avicoles(NOUVEL HORIZON, 2002) . En effet, l'orientation de plus en plus marquée de la consommation de viande de volaille

dans les pays développés au bénéfice du blanc ou escalope crée dans l'industrie agroalimentaire avicole une accumulation de sous produits et de déchets sous formes de cuisses, ailes et croupions. La progression onéreuse de stocks de ces produits nécessite leur évacuation à tout prix. Ceci fait des pays en voie de développement et plus particulièrement le Sénégal un marché de déversement et à vil prix de sous produits et déchets avicoles.

Les chiffres des statistiques sur les importations directes de produits de la douane sont très parlants car rien que pour l'année 2000 les importations en sous produits aviaires s'élèvent à 207 130 000 millions de F CFA (DOUANE, 2000). Mais d'après les données plus récentes, ces importations sont devenues plus importantes. Selon le service de l'élevage, de janvier à octobre 2002, 5150 tonnes de cuisses de poulet et 400 tonnes d'œufs sont rentrées au Sénégal. Cette importation dépasse de moitié la production nationale et de plus 3150 tonnes seulement ont utilisé la voie normale (INFO 7, 2002).

Ces produits proviennent pour la plupart de l'Union Européenne, du Brésil, des Etats- unis, mais aussi de l'Inde. Les produits importés le sont de façon informelle par des privés spécialisés dans les poulets et dérivés importés.

Outre les dommages économiques posés par ces importations, le risque pour le consommateur n'est pas à négliger car l'âge de ces produits n'est pas connu. De plus on ne dispose pas de documents à l'importation permettant la traçabilité du produit. Par ailleurs aucun contrôle n'est effectué sur ces produits. Plus grave encore les conditions de transport et de stockage ne sont guère respectées et le produit subit d'importantes variations de températures au cours de leur commercialisation. Ces mauvaises conditions sont propices au développement des agents pathogènes et néfastes à la santé du consommateur.

Cet état des choses est dû probablement à un environnement fiscal peu favorable.

I-4-3) Environnement fiscal

Les produits avicoles importés arrivent sur le marché sénégalais à des prix de dumping, souvent inférieurs à leurs propres coûts de revient. Cette situation a été fortement aggravée par l'entrée en vigueur du tarif extérieur commun (TEC) qui s'est traduite par une baisse des droits de douanes sans que les mécanismes prévus par l'UEMOA comme taxe conjoncturelle à l'importation (TCI) et la taxe dégressive de protection (TDP) ne soient mis en application pour accompagner la filière dans ses efforts d'adaptation aux choix d'intégration sous régionale.

Avec l'application récente d'une taxe sur la valeur ajoutée (TVA) de 18% sur des intrants agricoles qui étaient exonérés (poussins) ou avec une taxation réduite à 10% (aliment), la filière avicole sénégalaise subit un différentiel de taxation de 26% qui est directement supporté par les producteurs alors que la taxation est plus faible dans les pays développés (par exemple, 5,5% sur les produits avicoles en France).

Ainsi, il en découle une nouvelle pression sur les coûts de revient à la production qui n'est pas répercutée sur les produits finis que sont les poulets et les œufs de consommation (FAFA, 2002).

En dehors de cette contrainte fiscale, viennent s'ajouter les problèmes sanitaires.

I-4-4) Pathologies aviaires

Au Sénégal les pathologies les plus rencontrées en aviculture sont la maladie de Gumboro, la coccidiose, la maladie de Marek, la variole et la Newcastle (tableau n° III)

Tableau n° III: Principales pathologies en aviculture au Sénégal

Maladies	Symptômes	Agent pathogène
GUMBORO	Hémorragies musculaires Bourse de Fabricius hémorragique	<i>Birnavirus</i>
Coccidiose	Tiflite hémorragique, nécrose de la muqueuse intestinale	<i>Eimeria sp.</i>
Maladie de MAREK	Tumeur ovarienne, hypertrophie pro- ventriculaire, nerf sciatique hypertrophié (en haut) et nerf normal (en bas) prostration et paralyse.	<i>Herpes virus</i>
Variole	crête en Croûtes et grenouillette	<i>Poxvirus</i>
Newcastle	Hémorragies pétéchiales au niveau des papilles pro- ventriculaire et de l' intestin, poumons œdémateux et hémorragiques	<i>Paramyxovirus</i>

(Source : BIAGUI, 2002)

Pour lutter contre ces pathologies et rendre plus performantes leurs exploitations avicoles, les éleveurs ont de plus en plus recours aux médicaments vétérinaires. Ces médicaments peuvent être utilisés soit à but thérapeutique ou préventif.

I-5) Le marché des médicaments vétérinaires

I-5-1) Importance du marché du médicament vétérinaire en Afrique

L'utilisation des médicaments vétérinaires est aujourd'hui incontournable dans les productions animales. Le but de cet usage est de sécuriser les productions et d'extérioriser les potentialités des animaux.

Le marché africain des médicaments vétérinaires représente selon ABIOLA (2001) 1,6% du marché mondial estimé à 11,2 milliards d'euros, soit 7500 milliards de francs CFA. Environ quatre vingt pour cent (80%) de cette part

marginale reviennent à l'Afrique du Sud et au Maghreb, l'Afrique de l'Ouest et du Centre ne comptent que pour 10%.

I-4-2) Marché du médicament vétérinaire au Sénégal

L'importance des médicaments vétérinaires dans les productions animales suscite une dynamique toute particulière aussi bien au niveau des laboratoires pharmaceutiques qu'au niveau des utilisateurs.

C'est ainsi que le marché sénégalais du médicament vétérinaire, avec 1,2 milliards de F CFA de chiffre d'affaires en 1996-1997 (TCHAO, 2001), connaît un dynamisme qui se manifeste par une croissance moyenne de l'ordre de 1,5% par an au lendemain de la dévaluation du franc CFA intervenue en janvier 1994. Cette tendance semble être maintenue avec la nouvelle dynamique de relance de la filière avicole. Le marché des médicaments et vaccins pour volaille a été estimé à 750 millions de francs CFA en 1998. En 1999, les médicaments aviaires représentent 17% du chiffre d'affaires des médicaments vétérinaires (BA, 2001) (figure n° 3 et n° 4).

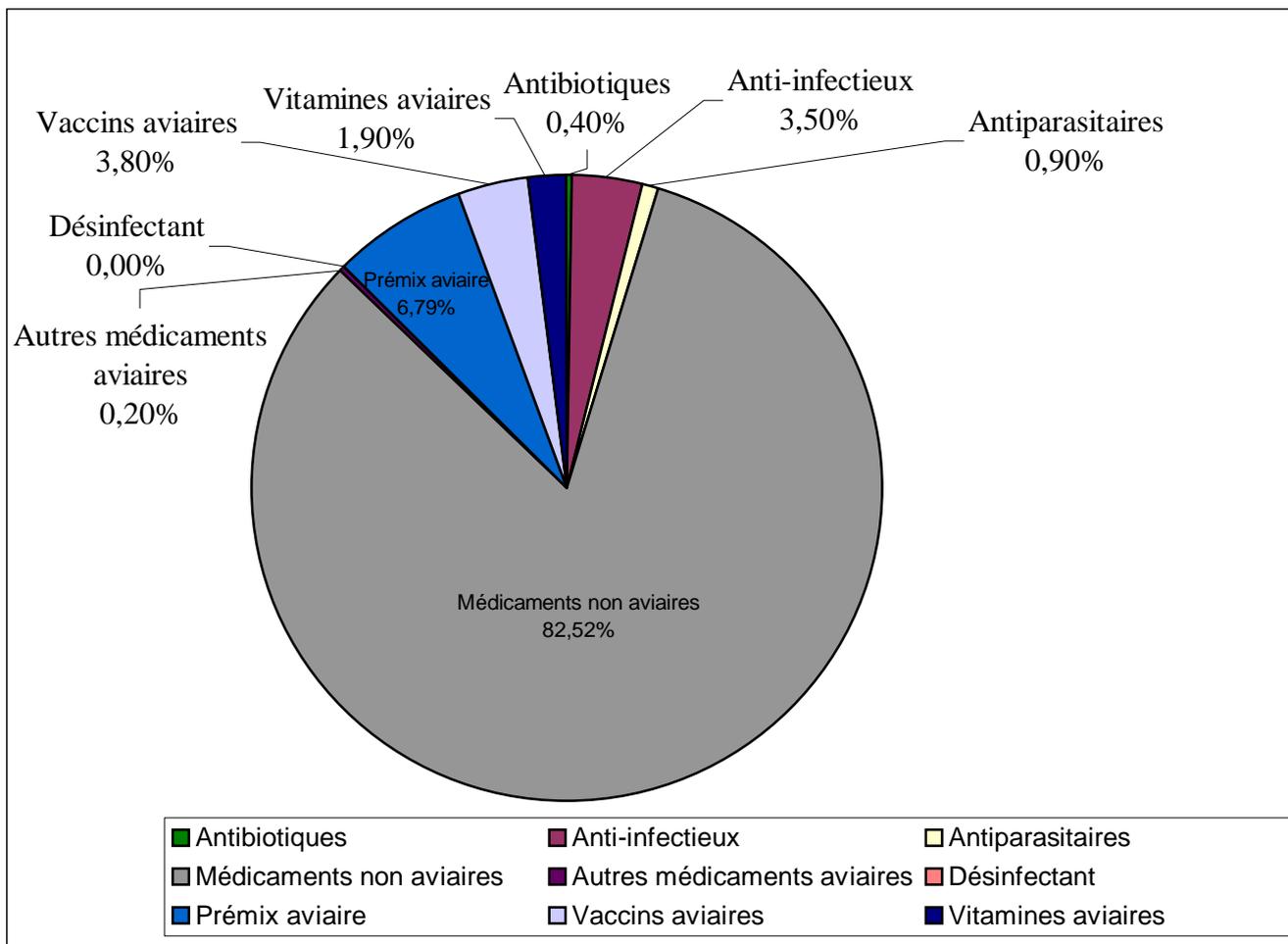


Figure n° 3 : Répartition du marché des médicaments aviaires au Sénégal en 2000 (BA, 2001)

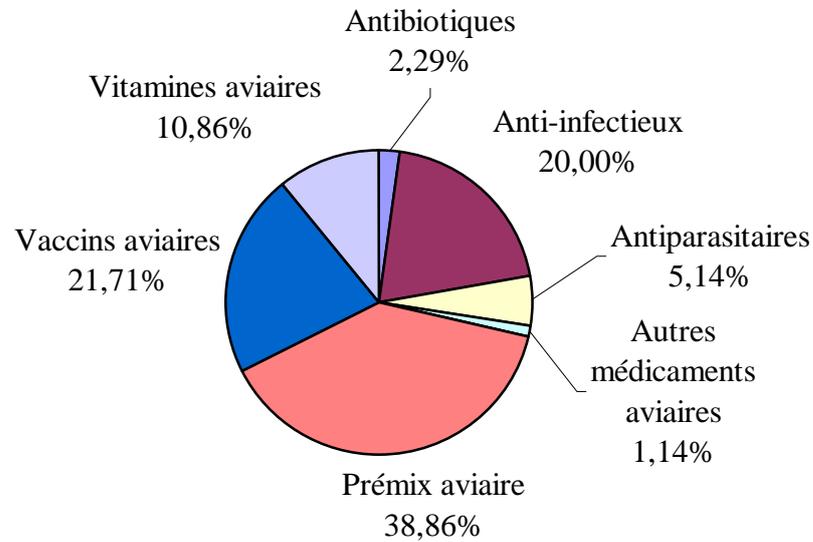


Figure n° 4 : Part de marché des médicaments aviaires par classe thérapeutique (BA, 2001)

Avec 2,29% des parts de marché des médicaments vétérinaires aviaires, les anti-infectieux n'en sont pas des moins représentatifs. En effet, une gamme composée de plusieurs spécialités d'anti-infectieux se retrouve sur le marché sénégalais des médicaments aviaires. L'utilisation de ces anti-infectieux doit se faire dans le respect des délais d'attente (tableau n° IV).

Tableau n° IV: Liste des anti-infectieux distribués en élevage avicole au Sénégal

N°	Nom de la spécialité	Principes actifs	Effet	Délai d'attente
1	Coliterravet	Oxytétracycline Colistine	Bactériostatique Bactéricide (repos)	2 jours
2	Vetacox	Sulfamide Diavéridine	Bactériostatique Bactériostatique	12 jours
3	Neoterramycine	Néomycine Oxytétracycline	Bactéricide (repos) Bactériostatique	2 jours
4	Erycolcine	Erythromycine Colistine	Bactériostatique Bactéricide	21 jours
5	Imequyl	Fluméquine	Bactéricide (croiss.)	2 jours
6	Biaprim	Sulfadiméthoxine Triméthoprime	Bactériostatique Bactériostatique	12 jours
7	Furaltone	Furaltone	Bactériostatique	
8	Anticox	Sulfamidine Diavéridine	Bactériostatique Bactériostatique	12 jours
9	Trisulmycine	Sulfadiazine Triméthoprime	Bactériostatique Bactériostatique	12 jours
10	Terramycine	Oxytétracycline	Bactériostatique	2 jours
11	Vigal-2X	Erythromycine	Bactériostatique	21 jours
12	Flumequyl	Fluméquine	Bactéricide	2 jours
13	Amino-stress	Oxytétracycline Colistine	Bactériostatique Bactéricide (repos)	2 jours
14	Colisultrix	Triméthoprime Colistine	Bactériostatique Bactéricide (repos)	10 jours
15	Fluquick	Fluméquine	Bactéricide	2 jours
16	Hipraseryl	Erythromycine oxytétracycline streptomycine	Bactéricide (repos) Bactériostatique Bactéricide (repos) Bactéricide(repos)	21 jours
17	Super-layer	Oxytétracycline	Bactériostatique	2 jours
18	Emericid	Sulfamidine Diavéridine	Bactériostatique Bactériostatique	12 jours
19	Diavacid	Sulfamidine Diavéridine	Bactériostatique Bactériostatique	12 jours
20	Clortadona-TS	Erythromycine Néomycine Sulfamidine Triméthoprime	Bactériostatique Bactéricide (repos) Bactériostatique Bactériostatique	21 jours
21	Lutricylone	Tétracycline Chloramphénicol	Bactériostatique Bactériostatique	

Sources : BIAGUI (2002) , enquête (2003), codex alimentarius (1995)

Ainsi tous les médicaments utilisés en aviculture au Sénégal sont des médicaments de masse. Les travaux de BIAGUI (2002) ont montré que les délais d'attente ne sont toujours pas tenus en compte au moment de l'abattage des poulets. Ce qui peut induire un risque lié aux résidus.

La production de poulets de chair en aviculture moderne, emploie une importante quantité de médicaments vétérinaires apparemment sans respect du délai d'attente.

Il n'est pas possible dans le cadre de ce travail, de faire tout le tour de la question. C'est pour cette raison que nous avons méthodologiquement fait un choix sur certaines molécules d'importance toxicologique et économique. Les substances chimiques retenues à cet effet sont:

- le chloramphénicol;
- les nitrofuranes;
- les tétracyclines;
- les sulfamides.

Les dangers liés à ces molécules en terme de résidus seront étudiés dans le deuxième chapitre de ce travail.

CHAPITRE II: GENERALITES SUR LES RESIDUS

II-1) Définition

D'après l'OMS, un résidu est « toute substance chimique qui persiste dans un milieu donné en quantité généralement très faible, après qu'elle même ou d'autres composés lui donnant naissance aient été introduits volontairement ou non dans ledit milieu, et dont la présence est de ce fait qualitativement ou quantitativement anormale » (ROZIER et al., 1982).

A cette définition on associe toute substance chimique quelque soit sa catégorie. Par contre d'autres substances ne répondent pas à cette définition et qui posent des problèmes en matière de résidus, c'est le cas de certaines substances produites par des micro-organismes (bactéries, champignons) en particulier les *Mycotoxines*.

II-2) Origines des résidus

Les résidus dans les aliments de l'homme et des animaux sont d'origine variée. Ainsi l'environnement, les traitements agricoles et phytosanitaires, les traitements sanitaires et zootechniques et les industries alimentaires sont les sources les plus probables (IMAD, 1998).

II-2-1) Environnement

La pollution de l'environnement est due essentiellement aux rejets industriels et domestiques, à la pulvérisation de produits divers ainsi qu'au vidange accidentel ou intentionnel de produits pétroliers en pleine mer.

Après une dilution soit dans l'atmosphère, soit dans les eaux, les substances chimiques ainsi dispersées peuvent subir des phénomènes de concentration et de transformation par des agents physico-chimiques, les micro-organismes des sols et des milieux aqueux, ainsi que par les plantes et les animaux (ROZIER et al., 1982). Ceci donne naissance à des métabolites plus ou moins toxiques, c'est le cas par exemple du mercure minéral qui est transformé en méthyl-mercure plus toxique.

II-2-2) Traitement sanitaire et zootechnique

L'utilisation des médicaments vétérinaires chez les animaux de rente permet de distinguer deux types de médicaments (RICO, 1986) :

- les médicaments dits occasionnels appliqués pour la thérapeutique individuelle sur un nombre réduit d'animaux à la fois, c'est le cas notamment des tranquillisants utilisés pour la suppression du stress avant l'abattage ou encore des médicaments utilisés pour le contrôle de la reproduction (prostaglandines), ces cas ne présentent pratiquement pas de risque pour le consommateur;
- les médicaments dits de masse qui sont administrés à des lots d'animaux importants, d'une manière régulière à titre thérapeutique, prophylactique ou zootechniques c'est le cas notamment des antibiotiques, des antiparasitaires, des anabolisants, etc... Ils sont les plus susceptibles d'être retrouvés dans les produits destinés à l'alimentation humaine.

Quelque soit la voie d'administration dans l'organisme, le médicament subit une métabolisation qui va favoriser son élimination essentiellement par les urines. Toutefois il peut demeurer à l'état de résidus dans les denrées alimentaires d'origine animale tels que le lait, les œufs, viande et abats (RUCKEBUSCH et TOUTAIN, 1982).

II-2-3) Industrie alimentaire

Les transformations physiques, chimiques ou biologiques subies par les denrées alimentaires brutes, peuvent être sources de contamination.

En effet, le fumage ou le salage peuvent donner lieu à des produits très hautement toxiques par formation des produits mutagènes ou cancérigènes tels que les benzopyrènes, pyrolysats d'acides aminés, les nitrates et nitrites (RICO A.G., 1984).

A ces deux sources de contamination, peuvent s'ajouter les matériaux de contact en libérant certains constituants: impuretés des matériaux métalliques, matière de base des plastiques (acrylamide, butadiène, styrène), plastifiants et autres adjuvants (ROZIER et al, 1982).

II-2-4) Traitements agricoles et phytosanitaires

Face aux besoins en protéine croissants des populations, différents traitements agricoles et phytosanitaires sont utilisés pour augmenter les rendements.

Mais, de nombreuses substances chimiques utilisées lors de ces traitements laissent des résidus dans les denrées alimentaires. C'est le cas des pesticides qui diffusent dans le milieu naturel à partir des zones de traitements.

II-3) La formation des résidus

Après administration d'une substance, elle subit successivement les étapes d'absorption, de distribution, de transformation et éventuellement de stockage sous forme de résidus, et enfin l'élimination par différentes voies.

Des études approfondies sur le métabolisme de certains composés ont montré l'existence de 3 types de résidus (DELATOUR et al., 1984; CODEX ALIMENTARIUS, 1995)

II-3-1) Les résidus totaux

Les résidus totaux sont les substances parentales ainsi que tous ses métabolites et ses produits dérivés, subsistant dans les denrées animales suite à l'administration du médicament à des animaux producteurs de nourriture. Leur valeur est déterminée par une estimation quantitative de la radioactivité résiduelle après administration du composé marqué. Cette valeur est souvent utilisée mais elle a le défaut de n'exprimer qu'une radioactivité non spécifique. Ces résidus peuvent être également divisés en deux catégories :

- les résidus extractibles, représentant la fraction qui peut être extraite des tissus et des liquides biologiques, en utilisant divers solvants avant et après dénaturation des macromolécules, et/ou par hydrolyse enzymatique (sulfatase ou glucuronidase par exemple) pour hydrolyser des conjugués. Les conditions d'extraction doivent garantir l'intégrité des composés pertinents (F.A.O/O.M.S, 1989; AERTS M.M..L., 1990).

- les résidus non extractibles ou liés, représentant la fraction qui persiste dans les tissus après les traitements mentionnés ci-dessus. La nature de ces résidus ne peut être déterminée qu'après une dénaturation presque complète des protéines notamment. En fait cette fraction contient:

- les résidus d'un médicament incorporé par des voies métaboliques normales dans des composés endogènes (acides aminés, protéines, acide

nucléique, par exemple). Ces résidus ne présentent pas de problèmes toxicologiques. (CODEX ALIMENTARIUS, 1995)

---les résidus chimiquement liés et dérivés par l'interaction de résidus d'un médicament mère ou de ses métabolites avec les macromolécules. Ces résidus peuvent présenter un problème toxicologique (CODEX ALIMENTARIUS, 1995). Comme exemple nous pouvons citer le cas de l'anthelminthique P. Tolyol Chlorphenyl Hydrazone (PTCH), après administration à des moutons de PTCH, on observe des résidus persistants (5-6 ppm) dans le sang pendant au moins 21 jours. Les résidus marqués au C¹⁴ sont largement localisés dans les érythrocytes, et des liaisons covalentes les lient à la fois à l'hème et à la globine.

Ces résidus ne sont pas extractibles de la macromolécule par des techniques de dénaturation, de solubilisation ou d'extraction exhaustive (CODEX ALIMENTARIUS, 1994).

Les complexes covalents sont très impliqués dans la toxicité des résidus. Cependant, de nombreux auteurs affirment que ces composés covalents sont pratiquement atoxiques. Ceci, d'autant plus qu'ils présentent généralement une faible biodisponibilité et que leur réactivation chez le consommateur est extrêmement improbable (BURGAT S.V., RICO A.G., 1981).

II-3-2) Les résidus biodisponibles

Les résidus biodisponibles sont des substances dont l'absorption peut être démontrée dans le système circulatoire, au moyen d'une méthode appropriée (Méthode Gallo Torres, par exemple) lorsqu'ils sont administrés à des animaux de laboratoire (CODEX ALIMENTARIUS, 1995).

Ils incluent la substance parentale ou ses métabolites qui sont absorbés par voie gastro-intestinale et qui peuvent être trouvés dans les cellules de la voie gastro-

intestinale, les tissus, les fluides ou le dioxyde de carbone expiré, chez les animaux auxquels ils sont administrés (BURGAT S.V., RICO A.G., 1981).

II-3-3) Les résidus liés

Ce sont des résidus dérivés de la liaison covalente du médicament souche ou d'un métabolite de celui-ci avec un produit biologique cellulaire soluble ou une macromolécule insoluble. Ces résidus ne sont pas extractibles de la macromolécule par des techniques de dénaturation, de solubilisation ou d'extraction exhaustive. Ils ne résultent pas de l'incorporation de fragments métabolisés radio-étiquetés du médicament dans des composés endogènes, ou de la même molécule par voies biosynthétiques normales.

II-4) Résidus de médicaments vétérinaires

II-4-1) Définitions

Pour l'OMS, on entend par résidus des médicaments vétérinaires « toutes les substances médicamenteuses, ainsi que leurs métabolites qui subsistent dans les viandes ou d'autres denrées alimentaires provenant de l'animal auquel le médicament en cause a été administré conformément au mode d'emploi recommandé » (F.A.O/ O.M.S., 1984). Cette définition a évolué pour donner dans la deuxième édition du codex alimentarius celle qui stipule que:

"les résidus de médicaments vétérinaires sont les composés souches ou leurs métabolites ainsi que les impuretés associées au médicament vétérinaire concerné, présents dans toute partie comestible du produit animal" (CODEX ALIMENTARIUS, 1995)

Pour faire une évaluation toxicologique des résidus, il est important de connaître certains paramètres.

II-4-2) La dose sans effet (D.S.E)

C'est la dose de substance qui, administrée régulièrement pendant un temps suffisamment long n'entraîne chez l'animal d'expérience aucune anomalie. Cette dose sans effet (D.S.E) permet de calculer la dose journalière admissible (MILHAUD G, 1974)

II-4-3) La dose journalière admissible (D.J.A)

La D.J.A est une estimation faite par le JECFA de la quantité de médicaments vétérinaires, exprimée sur la base du poids corporel et pouvant être absorbée quotidiennement pendant toute une vie sans présenter de risque appréciable pour la santé.

Plus simplement c'est la dose qui, ingérée journallement par un consommateur n'entraîne aucun trouble. Généralement la D.J.A est fixée au 1/100 de la D.S.E pour l'animal, mais ce coefficient ne doit pas être appliqué d'une façon systématique. Dans certains cas, ce coefficient est de 1/10 alors que dans d'autres cas celui de 1/1000 peut sembler nécessaire (MILHAUD G, 1974).

II-4-4) Bonnes pratiques d'utilisation des médicaments vétérinaires (BPMV)

Ce sont les usages officiels recommandés ou autorisés et comprenant les temps d'attente approuvés par les autorités nationales, pour les médicaments vétérinaires dans des conditions pratiques (CODEX ALIMENTARIUS, 1995).

II-4-5) Le délai d'attente

Le délai d'attente est le délai à observer entre l'administration du médicament à l'animal dans les conditions normales d'emploi et l'utilisation des produits de ce dernier afin qu'ils soient exempts de résidus pouvant présenter des dangers pour le consommateur (EECKHOUTTE M, 1978).

II-4-6) La limite maximale de résidus (L.M.R)

La limite maximale de résidus est la concentration de résidu permise légalement ou reconnue acceptable dans une denrée alimentaire.

II-4-7) Limite maximale de résidus pour les médicaments vétérinaires (LMRMV)

La LMRMV est la concentration maximale de résidu résultant de l'emploi d'un médicament vétérinaire (exprimé en mg/kg sur la base du poids frais) et recommandée par la Commission du Codex Alimentarius comme légalement permise ou estimée acceptable dans ou sur un aliment (CODEX ALIMENTARIUS, 1995). Quelques LMRMV dans la volaille figurent dans le tableau n° V.

Cette limite est basée sur le type et la quantité de résidu que l'on juge sans danger toxicologique pour la santé humaine tel qu'il est exprimé par la DJA, ou sur la base d'une DJA temporaire utilisant un facteur supplémentaire de sécurité. Elle tient également compte d'autres risques de santé publique pertinents ainsi que de certains aspects technologiques alimentaires.

Lors de l'établissement d'une LMR, on tient également compte des résidus se produisant dans les aliments d'origine végétale et/ou dans l'environnement. De plus, la LMR est susceptible d'être réduite pour respecter les bonnes pratiques

d'utilisation de médicaments vétérinaires, dans la mesure où des méthodes permettant de faire des analyses pratiques sont disponibles.

Tableau n°V: exemple de LMRMV pour certains antibiotiques

	<i>Substances</i>	<i>Matrice</i>	<i>LMRMV</i>
Volaille	Sulfamide	Bréchet	100µg/kg
		Foie	100µg/kg
		Reins	100µg/kg
	Nitrofurane	Bréchet	-
		Aliment intestin	
	oxytétracycline	Muscle	100µg/kg
		Foie	300µg/kg
		reins	600µg/kg
	Chloramphénicol	Bréchet	-
		Aliment	

Source : CODEX ALIMENTARUS, 1995

II-5) Risques liés à la présence de résidus de médicaments vétérinaires dans les denrées

Les médicaments vétérinaires sont utilisés soit à but thérapeutique, prophylactique ou d'adjuvant. Le non respect du délai d'attente, le surdosage ou une mauvaise condition d'utilisation, peut être à l'origine de l'existence de résidus de médicaments vétérinaires dans les produits animaux. Cette présence de résidus dans les denrées alimentaires d'origine animale peut avoir des répercussions sur la santé du consommateur et la sélection de souches

bactériennes résistantes (RERAT A, 1994). Ces risques sont à toxicité chronique ou à toxicité directe.

toxicité chronique

Les résidus des substances chimiques, notamment des médicaments vétérinaires, se trouvent généralement à des doses très faibles dans les denrées alimentaires d'origine animale. Ainsi, leur présence n'entraîne que très rarement une symptomatologie d'intoxication aiguë ou subaiguë. Ce sont en effet, les risques d'intoxication chronique qui sont les plus à craindre.

Ces résidus ingérés de façon régulière et répétée même à des doses très faibles, pendant une durée relativement longue, peuvent atteindre une concentration critique dans certains organes cibles.

Toxicité directe

Certaines molécules présentent un danger indépendamment de la dose absorbée. C'est le cas du chloramphénicol par exemple, pouvant induire une aplasie médullaire à très faible concentration dans les denrées alimentaires. C'est pour cette raison qu'il n'a pas été possible de définir une dose sans effet et par conséquent une LMR.

II-5-1) Risque cancérigène ou mutagène

L'effet carcinogène ou mutagène de certaines molécules se manifeste généralement au terme d'une période de latence souvent assez longue. Il est à noter que certaines molécules sont dotées d'une potentialité carcinogénique.

Par ailleurs il existe des molécules dont la toxicité de court et moyen termes entraînerait une symptomatologie de type précancéreux. C'est l'exemple des substances qui provoquent chez les animaux de laboratoire des nécroses hépatiques ou rénales, une hyperplasie des canaux biliaires ou enfin une modification de l'endomètre et dont l'incidence lésionnelle semble irréversible. Les cancérologues estiment que les œstrogènes naturels ne sont pas de vrais

cancérogènes. Ce sont en effet des molécules dites épigénétiques c'est à dire des produits facilitant le développement d'une tumeur préexistante, alors que le diethyl silboesterol (DES) est un génotoxique vrai, reconnu formellement responsable de cancérisation (RICO, 1983).

II-5-2) Risque allergique

Les résidus de médicaments vétérinaires sont le plus souvent incriminés en allergologie humaine. Ces résidus peuvent soit avoir un effet sensibilisant soit un effet déclenchant. Les travaux de ORMEROD et al (1987) ont montré que sur 15 patients déjà très sensibles à la pénicilline, 3 ont manifesté une réaction systémique après consommation de lait récemment additionné de pénicilline à raison de 0,1 UI/ml.

Ce sont essentiellement des réactions anaphylactiques ou phénomènes allergiques de type I, dans lesquelles il y'a induction de la synthèse d'anticorps spécifiques, les IgE par une molécule exogène qui agit comme un haptène.

Un premier contact avec cet allergisant sensibilise l'organisme alors qu'un second contact peut déclencher la réaction (ZEIL, 1988).

Dans le cas des résidus, trois particularités sont à souligner :

- les doses en cause sont faibles;
- l'administration est exclusivement orale (par cette voie la réponse immunitaire est difficile à obtenir);
- le contact avec l'allergène est discontinu.

Selon BURGAT-SACAZE (1984), DEWDNEY ET EDWARDS (1984) les résidus des médicaments vétérinaires ne peuvent pas être mis en cause comme source de sensibilisation directe. Cet effet est le plus souvent dû à un usage thérapeutique direct chez l'homme. L'intervention des résidus s'effectue surtout au niveau de l'effet déclenchant.

L'exemple le plus classique reste celui de la pénicilline. Des observations faites à partir d'une dizaine de cas ont permis de quantifier les doses efficaces, elles sont de 0,01 à 0,04 UI/ml dans le lait et de 0,45 UI/g dans la viande.

Ainsi d'après (IMAD, 1998), si les résidus des médicaments vétérinaires n'ont pas d'effets sensibilisants, ils peuvent être responsables d'effets déclenchants, notamment les antibiotiques.

II-5-3) Antibiorésistance

L'antibiorésistance est le risque en matière de résidus le plus préoccupant à ce jour. Avec d'une part la sélection de micro-organismes résistants dans l'appareil digestif du consommateur qui peut se produire en cas d'absorption régulière de résidus de médicaments vétérinaires, notamment les résidus d'antibactériens, dont les niveaux dépassent la concentration minimale pour les bactéries sensibles. Ces résidus d'antibiotiques peuvent également être à l'origine de la transmission de souches de bactéries résistantes entre l'homme et les animaux (BAAJ A.J., LAHLOU-AMINE. I, 2002).

Cette apparition de souches résistantes, soit de façon naturelle par sélection, soit de façon acquise par transfert plasmidique d'une bactérie à une autre, inquiète les bactériologistes, il s'agit là d'un mécanisme d'épidémie plasmidique franchissant la barrière des espèces.(IMAD, 1998). Cette résistance peut ne pas se manifester sur le plan clinique (SY K.R., 1996).

Ainsi en 1997, plusieurs réunions scientifiques ont porté sur l'antibiorésistance chez les bactéries d'origine animale et la santé publique (ANONYMOUS , 1997). L'utilisation élevée et de plus en plus anarchique des antibiotiques dans les élevages de type industriel suscite d'énormes problèmes .

Des antibiotiques qui jadis traitaient avec succès certaines pathologies sont actuellement inefficaces contre ces mêmes agents pathogènes.

Chez les animaux élevés de façon intensive la proportion de bactéries résistantes, pathogènes ou saprophytes est très élevée. Ainsi les souches

d'*E. coli* et de *Salmonella* isolées dans les élevages de poulets sont fréquemment résistantes aux Tétracyclines, Sulfamides et à la Streptomycine (TOURE A., 1989).

Cette situation est très alarmante et concerne actuellement plusieurs antibiotiques et bactéries mais ce sont surtout les antibiotiques de grande utilisation comme l'ampicilline, la néomycine, la gentamicine qui sont concernés .

Ainsi, d'après SANDERS (1998), il faut développer de nouvelles molécules d'antibiotiques. Pour cela l'amélioration des connaissances en biologie cellulaire permet d'espérer le développement de nouvelles armes dans les années à venir. Mais compte tenu des coûts de développement et du temps nécessaire à la réalisation permettant de s'assurer de la sécurité et de l'efficacité de ces nouvelles molécules, ces nouveaux médicaments ne seront pas disponibles avant quelques années.

II-5-4) Risque tératogène

Les effets embryotoxiques et tératogènes ont une intensité qui augmente avec la dose. En effet, ce risque n'apparaît qu'à des doses supérieures à celles impliquées dans les autres effets. Mais il peut se manifester suite à une ingestion unique réalisée lors d'une période critique de la gestation avec des effets tératogènes suspectés (dérivés du benzimidazole).

II-5-5) Autres risques

Au niveau des technologies de transformation laitière, les résidus d'antibiotiques entraînent une inhibition totale ou partielle des phénomènes fermentaires d'origine bactérienne nécessaires à la fabrication des produits laitiers tels que le yaourt, les fromages et le lait caillé (LABIE, 1981).

En outre certains nitrofuranes à forte dose (nitrofurazone et nitrofurantoin) ont été cités comme responsables d'une toxicité hépatique (ENRIQUEZ et CLAUW., 1990).

I-5-6) Importance d'ordre économique ou commercial

Dans le nouveau contexte de mondialisation, les règles sanitaires et phytosanitaires (S.P.S) de l'Organisation Mondiale du Commerce (O.M.C), organisent les échanges internationaux. Ces règles imposent aux pays membres de l'O.M.C et notamment les pays en voie de développement, de relever un certain nombre de défis. Les S.P.S se basent sur cinq points majeurs à savoir :

- l'harmonisation ;
- la reconnaissance de l'équivalence des mesures ;
- l'évaluation des risques ;
- la transparence ;
- le règlement des différends.

Sur la base de ces cinq principes, les barrières sanitaires aux échanges, qui sont des mesures techniques prises par le pays importateur visant à protéger la santé animale et la santé publique de ce pays, seront scientifiquement fondées et contrôlées.

De ce fait, et afin de favoriser la compétitivité entre les partenaires commerciaux en matière d'échange d'animaux et de produits d'origine animale, il sera nécessaire que les pays en voie de développement mettent à niveau la qualité de leurs denrées animales ou d'origine animale. Pour ce faire ils doivent se référer à la réglementation sur les résidus.

I-6) Législation des résidus

La présence de résidus dans les denrées alimentaires destinées à l'homme et aux animaux, provoque une certaine inquiétude chez le public déjà sensibilisé, et soulève des difficultés dans le commerce international des produits alimentaires d'origine animale. D'où la nécessité de prendre des mesures pour éviter la présence des résidus nocifs dans les denrées alimentaires destinées à l'homme et aux animaux, ce qui a entraîné la mise en place d'une réglementation relative à l'utilisation de substances chimiques chez les animaux d'élevage.

Au plan international, l'instance chargée de la mise sur pied et du suivi de cette réglementation est la commission du Codex Alimentarius qui applique les décisions du comité mixte F.A.O/O.M.S. Le codex travaille en étroite collaboration avec l'O.I.E et l'O.M.C dans le règlement des différends en matière d'échanges internationaux.

Au niveau de la communauté Européenne on assiste à une harmonisation de la législation en matière de médicaments vétérinaires et de résidus par la mise en place de l'agence européenne pour l'évaluation des médicaments (A.E.E.M). La réglementation en matière de résidus est organisée par le règlement (C.E.E n°2377/90 du 26 juin 1990) qui fixe les L.M.R appliquées dans les pays de la CEE. Ainsi certaines substances sont interdites d'utilisation et de ce fait n'ont pas de LMR. C'est l'exemple des nitrofuranes et du chloramphénicol.

La directive 96/23/CE du conseil du 29 avril 1996, donne les mesures de contrôle à mettre en œuvre à l'égard de certaines substances et de leurs résidus, dans les animaux vivants et leurs produits. La décision 2002/657/CE donne les méthodes de recherche adaptées pour chaque substance, tout en indiquant les laboratoires de référence pour chaque méthode. Le critère de choix des laboratoires d'analyse, est que la limite de détection de leur méthode doit être inférieure à la L.M.R en vigueur dans l'espace C.E.E.

Au niveau Africain, le Maroc est l'un des pionniers en matière de législation sur les résidus. Il a entrepris dans ce cadre une démarche de mise à niveau pour les exigences de la communauté Economique Européenne (C.E.E). son objectif est d'avoir des produits compétitifs sur le marché européen.

Au Sénégal il y a un vide en ce qui concerne la législation en matière de résidus de médicaments vétérinaires et des autres substances chimiques tel que les pesticides. Ce qui fait que le consommateur sénégalais est toujours exposé aux risques éventuels que peuvent engendrer ces résidus. Ce vide n'aide pas à rendre nos produits compétitifs sur le marché international.

Le contrôle des résidus de médicaments vétérinaires dans les denrées animales et d'origine animale nécessite la mise en place des techniques d'analyse. Ces techniques d'analyse qui peuvent être microbiologiques ou physico-chimiques feront l'objet de notre prochain chapitre.

CHAPITRE III: METHODES DE RECHERCHE ET DE DOSAGE DES RESIDUS D'ANTI INFECTIEUX DANS LES PRODUITS ALIMENTAIRES

La recherche des résidus se fait par la détection et le dosage de la substance à rechercher dans les tissus et les produits animaux et d'origine animale. Ce dosage nécessite une séparation préalable de la ou des substances chimiques recherchées des autres constituants de la matrice, donc nécessite plusieurs étapes d'extraction, de purification et de concentration. Les méthodes utilisées sont de ce fait, délicates et nécessitent un appareillage et une validation précise. D'où la nécessité de maîtriser les critères qui déterminent la qualité d'une méthode analytique.

III-1)Qualités d'une bonne méthode

Les critères déterminant la qualité d'une bonne méthode ont été établis par RICHOUBAL ET CUMONT, cité par DENIER (1991). Les critères sont: la précision, la sensibilité, la spécificité, la détectabilité et le taux de récupération.

III-1-1) La précision

Elle est définie comme la différence entre la valeur mesurée par la méthode et la valeur vraie de la grandeur à mesurer. Elle est évaluée par:

- **la fidélité** qui est l'étroitesse de l'accord entre les résultats obtenus en appliquant le procédé à plusieurs reprises dans des conditions déterminées;
- **la répétabilité**: ce sont les résultats obtenus par le même opérateur dans le même laboratoire avec les mêmes équipements;

- **la reproductibilité:** résultats identiques obtenus dans des conditions différentes;
- **la justesse:** étroitesse de l'accord entre la vraie valeur et le résultat moyen obtenu en appliquant le procédé expérimental, un grand nombre de fois. Elle dépend de:
 - +**l'exactitude** du calibrage ou d'étalonnage (accord entre la droite observée et la droite théorique d'étalonnage)
 - +**la précision** d'estimation qui est l'étroitesse de l'accord entre une méthode dite de référence et une méthode de routine sur un matériel identique.

III-1-2) La sensibilité

C'est le rapport de l'accroissement de la grandeur observée sur celui correspondant à la grandeur à mesurer au voisinage d'une valeur donnée. Elle est souvent confondue à tort avec la limite de détection de la méthode.

III-1-3) La spécificité

C'est la possibilité pour une méthode de répondre exclusivement à la substance recherchée: une méthode spécifique s'oppose à une méthode polyvalente ou méthode multirésiduelle.

III-1-4) La détectabilité ou limite de détection

C'est la plus faible valeur de la grandeur à mesurer qui puisse être effectivement détectée et mesurée, distincte du bruit de fond. Elle doit être reproductible. Il faut travailler de telle façon que la limite de détection soit d'un ordre de grandeur suffisant en dessous de la norme réglementaire de tolérance. Il faut savoir

qu'opérer dans la zone du seuil de détection expose obligatoirement à des problèmes de non reproductibilité ou de mauvaise interprétation des résultats obtenus.

III-1-5) Le taux de récupération

Ce critère permet de tester l'efficacité en terme de détection d'une méthode. Il est évalué grâce à la réalisation d'une gamme d'ajout. Il faut ajouter une quantité connue d'un standard à un substrat donné puis rapporter ensuite cette valeur connue à la teneur déterminée à la suite de l'analyse.

Ce critère, nous permet d'apprécier les pertes occasionnées par les divers manipulations au cours de l'analyse. Il est d'autant meilleur qu'il est grand. Cette donnée devrait toujours pondérer les résultats des analyses effectuées.

III-2) Choix de la méthode et objectifs

Ce choix est dicté par la nature de l'information demandée et par l'utilisation des résultats fournis. Il dépend également du type et du nombre d'échantillons à analyser.

Une méthode de recherche de résidus d'antibiotiques a plusieurs objectifs :

- savoir s'il y a absence ou présence d'antibiotiques dans une denrée;
- connaître sa nature si possible;
- sa quantité importe moins, mais elle doit être inférieure à la limite maximale de résidus en vigueur.

Chaque méthode a en plus un rôle propre. Sur cette base le codex alimentarius a classé les méthodes en trois types:

III-2-1) Les méthodes de type I

Ce sont des méthodes de confirmation, ils déterminent la quantité de la substance ou des catégories de substances spécifiques à doser et identifient avec certitude la substance considérée. Ces méthodes font appel à un appareillage spécifique notamment la chromatographie couplée à la spectrométrie de masse.

III-2-2) Les méthodes de type II

Ces méthodes déterminent habituellement la concentration de la substance à doser, mais sans identifier avec une certitude absolue la structure de la substance, c'est le cas par exemple de la chromatographie phase liquide. Deux méthodes de type II peuvent fournir des informations pouvant convenir à une méthode de type I lorsqu'elles font appel à des modes opératoires chimiques différents.

III-2-3) Les méthodes de type III

Ces méthodes déterminent généralement la présence ou l'absence d'un composé ou d'une classe de composés. Elles font souvent appel à des techniques ne comportant pas d'appareillage telle que la méthode des quatre boîtes. Les méthodes de type III sont couramment désignées sous le nom de méthodes de dépistage ou méthodes semi-quantitatives.

Ainsi dans le cadre des plans de surveillance proposés, l'approche méthodologique de laboratoire qui sera adoptée pour l'analyse des échantillons reposera en premier lieu sur les méthodes de type III, qui serviront pour le dépistage des échantillons positifs. Les échantillons positifs seront analysés en deuxième lieu par les méthodes de confirmation et de quantification qui peuvent être de type II ou de type I selon l'équipement du laboratoire concerné.

III-3) Méthodes de recherche et de dosage des résidus d'antibactériens dans les viandes et abats

De nombreuses méthodes microbiologiques et physico-chimiques ont été développées pour l'identification et le dosage des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale.

III-3-1) Méthodes microbiologiques

Elles sont comparables à un antibiogramme. L'échantillon suspecté remplaçant les pastilles d'antibiotiques, on utilise une souche bactérienne très sensible aux antibiotiques, si elle se multiplie au contact d'un échantillon celui-ci ne contient pas d'inhibiteurs. Le résultat se juge soit sur le diamètre d'inhibition, soit sur le changement de la couleur du milieu (BILLON, 1981). Les techniques diffèrent selon la denrée suspectée.

III-3-1-1) Le test sur *Sarcina lutea* appliqué au cortex rénal

PRINCIPE

Deux disques de papier d'un diamètre de 12,7 mm sont insérés dans le cortex rénal pendant 30 à 60 mn. Puis ils sont placés à la surface d'une gélose ensemencée avec une culture standard de *Sarcina lutea* (actuellement appelée *Micrococcus luteus*). Après 18 à 24 heures d'incubation à 37°C, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés (F.O.R.M.A/ S.E.A., 1983).

Le test est positif si les deux disques sont entourés d'une zone dont le diamètre est supérieure à 15 mm.

Cette méthode est particulièrement adaptée à la mise en évidence des bêta-lactamines, mais sa sensibilité est nettement moins bonne vis à vis des tétracyclines, des aminosides, des sulfamides et le chloramphénicol.

III-3-1-2) Le test sur *Bacillus subtilis* B.G.A

Principe

Une gélose estensemencée à l'aide d'une suspension standardisée de *Bacillus subtilis*, la recherche des résidus est pratiquée sur des échantillons de rein ou de muscles préalablement congelés. Après décongélation, les échantillons sont découpés en lamelles de 2 mm d'épaisseur, sur ces lamelles sont prélevés à l'emporte-pièce des disques de 9 mm de diamètre, qui sont disposés à la surface des géloses (F.O.R.M.A / S.E.A., 1983).

La réaction est positive lorsque le diamètre d'inhibition est supérieur à 14 mm. Cette méthode comparée à celle utilisant *Sarcina lutea* est moins sensible aux bêta-lactamines, mais elle est d'avantage sensible aux aminosides, tétracyclines et au triméthoprime. En revanche elle ne permet pas elle non plus de déceler les sulfamides et le chloramphénicol.

III-3-1-3) La méthode des quatre boites

Les micro-organismes tests employés sont : *Bacillus subtilis* souche B.G.A et *Micrococcus luteus* souche ATCC 9341 ainsi chaque prélèvement musculaire peut être étudié avec 4 géloses différentes (F.O.R.M.A/ S.E.A., 1983) :

- *Bacillus subtilis* à pH = 6,0
- *Bacillus subtilis* à pH = 7,2
- *Bacillus subtilis* à pH = 8,0
- *Micrococcus luteus* à pH = 8,0

La gélose avec *Bacillus subtilis* à pH = 7,2 est préparée avec une solution de triméthoprime de concentration adéquate (BILLON, 1981).

L'interprétation des résultats, consiste à rechercher les échantillons pour lesquels il y a eu inhibition de croissance bactérienne, dans une zone annulaire ayant au moins 2 mm de large (BILLON, 1981).

III-3-1-4) la méthode STAR

Principe

elle est basée sur le principe suivant:

- un micro-organisme sensible aux substances anti-bactériennes est ensemencé à l'intérieur d'un milieu gélosé, coulé en boîte de pétri,
- les 5 microorganismes tests suivants sont utilisés, soit 5 boîtes différentes:

+ *Bacillus Subtilis* B.G.A cultivé à pH 7,2

+ *Kocuria varians* ATCC 9341 ex *Micrococcus luteus*
cultivé à pH 8

+ *Bacillus cereus* ATCC 11778 cultivé à pH 6

+ *Escherichia coli* ATCC 11303 cultivé à pH 8

+ *Bacillus Stearothermophilus* ATCC 10149 cultivé à pH
7,4

- pour l'analyse du muscle, des disques de papier contenant une substance antibactérienne comme témoins et une rondelle de muscle congelé sont placés sur la surface du milieu inoculé, et sont ensuite incubés à une température optimale pour la croissance du microorganisme test.

Après diffusion, la présence de substance antibactérienne peut produire une zone d'inhibition autour de l'échantillon en inhibant la croissance bactérienne du microorganisme test. (AFSSA, 2000).

Pour l'interprétation des résultats les échantillons seront considérés positifs s'ils donnent une zone d'inhibition supérieure ou égale à 2 mm sur les boîtes Kv8, Bc6, Ec8, et Bs7,2. Pour la boîte Bst un résultat sera considéré positif si la zone d'inhibition est supérieure ou égale à 4 mm.

Remarque: cette méthode est aussi applicable sur le lait. A côté de celle ci d'autres méthodes microbiologiques peuvent être appliquées au lait tel que:

- le Test d'acidification;
- la méthode de Galesloot-Hassing;
- l'Inter-test;
- le Delvotest.

III-3-2) Méthode enzymatique : Méthode de «Penzym»

C'est un test enzymatique colorimétrique permettant la détection des antibiotiques de type bêta-lactamines dans le lait ou la viande.

Elle permet une estimation semi-quantitative de ces antibiotiques dans la viande à des concentrations de 0,016 à 0,018 UI/g de viande.

Cette méthode est 25 fois plus sensible que celle d'inhibition de la croissance de *Sarcina lutea*.

III-3-3) Méthode radio-microbiologique (Microbial Receptor Assay)«Charm Test 11»

Elle est basée sur la compétition entre l'antibiotique froid à analyser et l'antibiotique radio-marqué vis à vis des sites immobiles de fixation au niveau d'une «cellule bactérienne» particulière : *Bacillus thermophilus* (CHARM S.E. et CHI R., 1988; LEBRGUI K., 1992).

Remarque: Cette méthode est capable de détecter avec des sensibilités différentes sept familles d'antibiotiques dans le lait notamment : bêta-

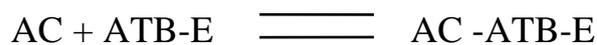
lactamines, tétracyclines, phénicolés, sulfamides, aminosides, macrolides et novobiocine.

Le Charm test 11 est la méthode de choix pour la détection des résidus des antibiotiques dans le lait.

La méthode **B STAR** est aussi très spécifique à la recherche de résidus dans le lait.

III-3-4) Méthode immuno-enzymatique type ELISA (Direct Competitive Enzyme, Linked Immuno Soebent Assay)

Cette méthode est basée sur la compétition entre l'antibiotique marqué par l'enzyme (ATB-E) et l'antibiotique non marqué (ATB°) à analyser vis à vis de l'anticorps spécifique (AC) de l'antibiotique fixé sur la paroi interne du tube de polystyrène.



On mesure l'activité enzymatique du complexe AC-ATB-E après addition du substrat spécifique de l'enzyme. Cette activité enzymatique est proportionnelle à la concentration de l'antibiotique dans l'échantillon à analyser.

Les limites de détection de l'ELISA pour la sulfaméthazine sont respectivement de 10 ng/ml, 20 ng/g et 1 ng/ml à 1000 ng pour l'urine, le muscle et le lait.

L'ELISA est relativement spécifique et hautement sensible pour la détection et le dosage de la sulfaméthazine dans les denrées alimentaires d'origine animale (DIXON H. et KATZ S.E., 1988; DOBBINS et al., 1985).

Remarque: pour le lait on a un test immunologique automatisé pour la détection des résidus de Bétalactamines, des sulfamides et des tétracyclines, c'est le PARALLUX (solid phase fluorescence immunoassay)

III-3-5) Méthodes physico-chimiques

Ce sont des méthodes très utilisées et qui appartiennent pour la plus part aux méthodes de type I et II car permettant d'identifier et de quantifier les résidus.

Les principales méthodes sont:

- **la colorimétrie** : chloramphénicol et sulfamides
- **la spectrophotométrie en ultra violet** : doser la cloxacilline
- **la fluorimétrie** : chloramphénicol et tétracyclines
- **la titrimétrie** : pénicilline et tétracyclines
- **l'électrophorèse à haute tension** : elle détecte les aminosides
- **la polarographie** : utilisée pour la chlortétracycline
- **les méthodes chromatographiques** :

- +Chromatographie sur couche mince (CCM) : presque tous les antibiotiques

- +Chromatographie liquide à haute pression HPLC: surtout pour le chloramphénicol et les tétracyclines

- +Chromatographie en phase gazeuse (CPG) : méthode très sensible pour le dosage des résidus d'antibiotiques.

Les recherches de plus en plus pointues dans le domaine de la détection et quantification des résidus, ont permis de mettre sur place des méthodes basées sur le couplage LC/MSMS ou GC/MSMS.

Deux méthodes de détection à savoir la méthode STAR et la méthode CCM, et trois méthodes d'identification et de quantification par HPLC, LC/MS-MS et GC/MS-MS ont été utilisées pour la partie expérimentale de cette étude.

DEUXIEME PARTIE: ETUDE DES RESIDUS
D'ANTIBACTERIENS VETERINAIRES DANS LES
PRODUITS AVIAIRES

CHAPITRE I: MATÉRIEL ET MÉTHODES

Dans ce chapitre nous décrirons l'échantillonnage et le matériel de laboratoire, puis nous parlerons des méthodes utilisées pour obtenir des résultats quantitatifs et qualitatifs

I-1) Echantillonnage

Le travail de terrain a consisté en des prélèvements de produits aviaires dans la zone des Niayes qui est la principale zone de production avicole du Sénégal.

I-1-1) Matériel de prélèvement

Ce matériel comprend:

- une paire de ciseaux;
- une pince à dents de souris;
- des gants latex jetables;
- une glacière ;
- des tubes conservateurs de glace;
- du papier aluminium pour denrées;
- des sachets plastiques pour congélation;
- un congélateur;
- un marqueur.

I-1-2) organisation

Pour cette étude des résidus d'antibiotiques dans les produits aviaires nous avons opté de travailler sur le gésier et le foie. Ce choix a été guidé d'une part par Le comportement pharmacocinétique des molécules et d'autre part par la grande

accessibilité et le fort taux de consommation de ces denrées, ce qui nous a permis de travailler à la fois sur du muscle et sur un abat.

I-1-2-1) choix des sites

Comme le problème des résidus intéresse en priorité l'homme, nous avons voulu avoir des résultats sur des zones de fortes productions et de grande consommation. La zone des Niayes répond à ces deux critères, ce qui a motivé notre choix de Dakar, Malika, Keur massar, Ndiakhirate et Thiès comme les sites de prélèvement (figure n°1).

I-1-2-2) Fréquence des prélèvements

La récolte des échantillons s'est faite sur une période de quatre (4) mois, allant de Février 2003 à Mai 2003. Cette période a été choisie dans le souci de couvrir les périodes de fortes productions qui correspondent aux fêtes religieuses (**Tamkharite, Magal de Touba, Pâques et le Maouloud**) (tableau n°VI)

I-1-2-3) Conditions des prélèvements

Le prélèvement des échantillons a été fait au hasard sur des carcasses de poulets. Nous avons prélevé quatre à six échantillons de foie et de gésier par prélèvement, selon les conditions du terrain. Au total 28 lots d'échantillons de foie et 21 lots d'échantillons de gésiers ont été récoltés (tableau n°VI). dont 12 dans les exploitations, 10 au niveau des grands marchés de Dakar et 6 dans des abattoirs de Dakar et Malika.

Les échantillons prélevés sont enveloppés dans du papier aluminium, puis mis dans des sachets de congélation en plastique où le vide a été réalisé. Les sachets sont identifiés par un numéro.

Chaque échantillon est accompagné d'une fiche individuelle d'identification (annexe) qui porte son numéro permettant d'avoir une traçabilité des échantillons.

I-1-2-4) Technique de conservation

Les échantillons après les prélèvements sont conservés dans une glacière avec des conservateurs de glace pour le transport, puis congelés à -20°C. Le délai qui s'est écoulé entre le premier prélèvement et le début des analyses est de cinq mois. L'acheminement au laboratoire d'essai s'est fait dans les meilleures conditions en utilisant des caisses isothermes en polyester et des conservateurs

I-2) Analyse de laboratoire

I-2-1) Matériel de laboratoire

I-2-1-1 Verrerie

La verrerie utilisée est commune à celle utilisée dans les laboratoires de contrôle de résidus.

I-2-1-2) Réactifs

Les réactifs utilisés sont de qualité analytique, et répondent aux normes européennes et françaises en matière d'étalonnages et d'essais de laboratoire (NF EN ISO/CEI 17025 Mai 2000).

I-2-1-3) Appareils

Les appareils sont constitués de:

- pipette automatique réglable de 10 à 1000 µl (type EPPENDORF, GILSON, ou équivalent);
- distributeur de solvant type EPPENDORF multipette;
- agitateur électrique pour tubes à essais (type VORTEX ou équivalent);
- agitateur rotatif type HEIDOLPF Rheax 2;
- cuve à ultrasons type BRANSONIC 220 (120 w);
- Congélateur dont la température doit être inférieure ou égale à -18°C;
- Réfrigérateur dont la température doit être comprise entre +4°C et +6°C;
- Centrifugeuse (type JOUAN JR4.11 ou équivalent);
- Balance de précision analytique (0,1 mg);
- Broyeur type "Maxi hache tout" TERRAILLON;
- Platine chauffante type PROLABO ref 05 626 040;
- Concentrateur d'échantillons par balayage de gaz;
- sèche cheveux type philips professionnel 1005 (1000 W);
- seringue de précision de 50 *1 type HAMILTON;
- PH-mètre (précision de réglage de 0,1 unité à 20°C);
- Scalpel;
- Colonnes d'extraction en phase solide remplie de silice (690 lg), type WATERS Sep Pak 51900;
- Hachoir électrique, type Moulinex Moulinette;
- Etuves à 30+/-1°C et 55+/-°c;
- Imprimantes.

Pour la microbiologie le matériel suivant a été utilisé en complément:

- bain d'eau réglable jusqu'à 100°C;
- microscope à contraste de phase;

- spectrophotomètre à 620 nm+/- 20 nm.

Pour le matériel spécifique à la chromatographie on retrouve:

- En chromatographie couche mince (CCM)
 - pompe à membrane 0,4 bar, 12 W type PROLABO M 99 287;
 - table UV, 366 nm, type PROLABO ref. 05 209 026 (6X 15 W);
 - plaques HPTLC gel de silice Si 60 sans indicateur de fluorescence et avec zone de concentration type MERCK 10X 10 cm ref. 137 48 ou MERCK 10 X 20 cm ref. 137 49.
- En chromatographie liquide haute performance (HPLC)
 - pompe HPLC, type Spectra-Physics SP 8700;
 - détecteur UV, type Kratos Spectroflow 773;
 - Intégrateur, type Spectra-Physics SP 4290;
 - Vanne d'injection, type Rheodyne 7125 avec boucle d'échantillonnage de 50 µl;
 - Colonne analytique (125 x 4 mm) remplie de silice greffée en C18, type MERCK LICHROSPHER 100RP-18^E, 5 µm, avec précolonne (4 x 4 mm), type MERCK remplie de la même phase statinaire.
- En chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM)
 - Chromatographe en phase gazeuse équipé d'un injecteur Split/splitless, four à température programmable jusqu'à 300°C (Hewlett-Packard 6973) et d'un injecteur automatique (Hewlett-Packard 7683);
 - Colonne capillaire 5% phényl, 95% méthylsiloxane, longueur 30 m, diamètre interne 0,25 mm, épaisseur du film 0,25 µm;
 - Spectromètre de masse quadripolaire (Hewlett-Packard MSD 5973), mode d'ionisation chimique négative; gaz réactant: méthane N45;

- Station de travail type Chemstation.

- En chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse
 - pompe HPLC: Hewlett-Packard type 1100;
 - injecteur automatique: Hewlett-Packard type 1100;
 - dégazeur à membrane: Hewlett-Packard type 1100;
 - colonne type Luna Phenomenex C18, 3 μm (150*2 mm), précolonne Symmetry C18, 3.5 μm (2,1 x 10 mm);
 - spectromètre de masse en tandem de type quadripolaire: Micromass QUATTRO LCZ;
 - interface: electrospray.

I-2-2) Méthodes d'analyse des résidus

Les méthodes utilisées émanent du laboratoire d'études et de recherches sur les médicaments vétérinaires et les désinfectants de l'AFSSA Fougères de France .

Pour les besoins de ce travail, 6 méthodes d'analyse ont été utilisées. Il s'agit de:

- la méthode STAR de détection des résidus d'antibiotiques (AFSSA, 2000 d);
- la méthode de détection des résidus de sulfamides dans le muscle d'animaux de boucherie par CCM (AFSSA, 1992 a);
- la méthode de dosage des sulfamides dans le muscle par chromatographie liquide haute performance (AFSSA, 1992 b);
- la méthode de recherche et confirmation de résidus de chloramphénicol dans les matrices d'origine biologique par chromatographie en phase gazeuse avec détection par spectrométrie de masse et ionisation chimique négative (AFSSA, 2000 a);

- la méthode de détermination de résidus de nitrofuranes (métabolites) dans les tissus par CL/SM-SM (AFSSA, 2000 b);
- la méthode de détection et d'identification des résidus d'antibiotiques dans les denrées par CL/SM-SM (AFSSA, 2000 c);

Toutes ces méthodes ont été validées sur les critères décrites par le guide de validation analytique (SANDERS et al 1995).

Des numéros d'analyse ont été affectés à nos échantillons. Ainsi nous avons la correspondance suivante (tableau n°VI).

Tableau n°VI : identification des prélèvements

Date de prélèvement	identification	Lieu de prélèvement	origine	foie	gésier	N* analyse
28-02-03	013-016	Félix éboué	sédima	X		22
29-02-03	017-019	Félix éboué	sédima	X		28
03-03-03	020-026	sandaga	pikine	X		24
06-03-03	027-032	sandaga	Keur massar	X		25
06-03-03	033-038	Félix éboué	Rufisque	X		26
11-03-03	039-045	sandaga		X		27
12-03-03	046-052	Félix éboué	bargnie	X		23
18-03-03	st001-st008	thies	thies	X	X	16
12-04-03	II009-II016	EISMV	Name	X	X	1
18-03-03	053-055	thiléne		X	X	18
14-0403	056-062	thiléne	malika	X	X	17
15-04-03	063-070	thiléne	yén	X	X	12
16-04-03	071-077	sandaga	banbilore	X	X	4
17-04-03	077-084	Félix éboué		X	X	20
18-04-03	085-091	sandaga	bayakh	X	X	6
23-04-03	092-098	sandaga	bayakh	X	x	15
24-04-03	099-105	sandaga	Keur ndiaye lo	X	X	5
08-03-03	N017-N021	Keur massar	KM	X	X	8
12-03-03	NP022-NP029	Malika	Malika	X	X	3
07-04-04	ST030-ST037	Thies	TH	X	X	19
14-04-03	ST038-ST045	Thies	TH	X	X	21
01-05-03	MI046-MI051	Malika		X	X	7
01-05-03	MI052-MI057	Malika l		X	X	13
02-05-03	ND058-ND063	Ndiakhirate	ND	X	X	14
02-05-03	ND064-ND069	NDIakhirate	ND	X	X	2
02-05-03	ND070-ND075	NDIakhirate	ND	X	X	11
02-05-03	ND076-ND081	Ndiakhirate	ND	X	X	10
02-05-03	ND082-ND088	NDIakhirate	ND	X	X	9

I-2-2-1) Méthode STAR de détection des résidus d'antibiotiques

I-2-2-1-1) Principe

Ce test est basé sur le principe suivant :

- Un micro-organisme sensible aux substances anti-bactériennes est ensemencé à l'intérieur d'un milieu gélosé, coulé en boîte de Petri;
- Pour l'analyse du muscle, des disques de papier contenant une substance antibactérienne comme témoins et une rondelle de muscle congelé sont placés sur la surface du milieu inoculé, et sont ensuite incubés à une température optimale pour la croissance du micro organisme test.

Après diffusion, la présence de substance antibactérienne peut produire une zone d'inhibition autour de l'échantillon en inhibant la croissance bactérienne du micro organisme test.

Les micro organismes test suivant sont utilisés :

- *Bacillus subtilis* cultivé à pH 7,2;
- *Kocuria varians* ex. *Micrococcus luteus* cultivé à pH 8;
- *Bacillus cereus* cultivé à pH 6;
- *Escherichia coli* cultivé à pH 8;
- *Bacillus stearothermophilus* cultivé à pH 7,4.

Les échantillons qui ont été analysés par cette méthode figurent dans le tableau n°VII.

Tableau N°VII: Liste des échantillons analysés par la méthode Star

N° de Prélèvement	N° D'Analyse	Matrice
II009-II016	1	Foie
NP022-NP029	3	Foie
N017-N021	8	Foie
ND082-ND088	9	Foie
ND070-ND075	11	Foie
MI052-MI057	13	Foie
ND058-ND063	14	Foie
092-098	15	Foie
ST001-ST008	16	Foie
ST030-ST037	19	Foie
077-084	20	Foie
020-026	24	Foie
027-032	25	Foie
033-038	26	Foie

I-2-2-1-2) Mode opératoire

La préparation des échantillons comprend les étapes suivantes:

➤ **Préparation des échantillons;**

-Sortie des échantillons du congélateur quelques minutes avant et les placer sur un plateau en acier inoxydable.

-prélevons sur chaque échantillon un « carotte » cylindrique de 8 mm de diamètre et de 2 cm de long environ, à l'aide d'un emporte-pièce.

Tout en poussant le cylindre de muscle hors de l'emporte-pièce, découper à l'aide d'un bistouri 10 rondelles de muscles épaisseur de 2 mm.

-A l'aide de pinces, déposer deux rondelles à l'opposé l'une de l'autre sur chacune des 5 boîtes.

De cette façon, il est possible de déposer sur chaque boîte jusqu'à 4 rondelles, c'est-à-dire 2 échantillons. Les disques doivent former un cercle à environ 1 cm du bord de la boîte.

➤ **Technique de diffusion;**

+Réserve une boîte de Pétri pour déposer les témoins négatif et positif.

- Témoins négatifs :

A partir d'un échantillon de muscle exempt d'antibiotiques congelés, procéder comme pour les échantillons. Déposer deux rondelles à l'opposé l'un de l'autre sur chacune des 5 boîtes de Pétri.

- Témoins positifs:

✓ *Bacillus cereus* à pH (Bc6)

- *Bacillus cereus* ATCC 11778 sous forme sporulé, ensemencé à raison de 3.10^4 spores / ml de milieu Test agar pH6,
- Répartir 5 ml de milieu ensemencé par boîte de Pétri de diamètre 90 mm,
- Refroidir les boîtes sur une surface plane,
- Dépôt des rondelles de viande ou de disques imbibés de lait,
- Témoin : solution de chlortetracycline à 0.2 µg / ml. Solution mère à 1 mg / ml *1/100*1/50, 30 µl de la solution finale est déposé sur des disques de papier filtre d'un diamètre de 9 mm,
- Incubation à 30°C pendant 18 heures.

✓ *bacillus stearothermophilus* à pH 7.4 – D.S.T. (Bst)

- *Bacillus stearothermophilus* ATCC 10149 sous forme sporulée, ensemencer à raison de 5.10^5 spores / ml de milieu Diagnostic

Sensitive Test + 1 % d'une solution de triméthoprime à 0.5µg / ml (solution mère diluée au 1 / 200),

- Répartir 5 ml de milieuensemencé par boîte de Pétri de diamètre 90 mm,
- Refroidir les boîtes sur une surface plane,
- Dépôt des rondelles de viande ou des disques imbibés de lait,
- Témoin : solution de sulfadimidine à 1 µg / ml. Solution mère à 1 mg / ml *1/20*1/50, 30 µl de la solution finale est déposé sur des disques de papier filtre d'un diamètre de 9 mm,
- Incubation à 55°C pendant 12 à 15 heures.

✓ *Escherichia coli* à pH 8 (Ec 8)

- *Escherichia coli* ATCC 11303, à partir d'une culture fraîche (réalisé le jour avant l'essai) faire une suspension de D.O. = 0.450* 0.005 à 620 nm (cette D.O.) correspond à une concentration de 10⁷ germes / ml)ensemencer à raison de 1 % avec cette suspension, le milieu test agar pH 8,
- Répartir 5 ml de milieuensemencé par boîte de Pétri de diamètre 90 mm,
- Refroidir les boîtes sur une surface plane,
- Dépôt des rondelles de viande ou des disques imbibés de lait,
- Témoin : solution de ciprofloxacine à 0.1 µg / ml. Solution mère à 0.1 mg / ml *1/20*1/50, 30 µl de la solution finale est déposé sur des disques de papier filtre d'un diamètre de 9 mm,
- Incubation à 37°C pendant 16 à 18 heures.

✓ *Bacillus subtilis* à pH 7.2. (Bs 7.2)

- *Bacillus subtilis* B.G.A. sous forme sporulée, ensemencer à raison de 5.10⁴ spores / ml de milieu Test agar pH 7.2,

- Répartir 5 ml de milieuensemencé par boîte de Pétri de diamètre 90 mm,
- Refroidir les boîtes sur une surface plane,
- Dépôt des rondelles de viande ou des disques imbibés de lait,
- Témoin : solution de streptomycine à 2 µg / ml. Solution mère à 1 mg / ml *1/20*1/25, 30 µl de la solution finale est déposé sur des disques de papier filtre d'un diamètre de 9 mm,
- Incubation à 30°C pendant 18 heures.

✓ *Kocuria varians* (Kv 8)

- *Kocuria varians* ATCC 9341, ensemencer à raison de 5.10^5 germes / ml de milieu Test agar pH 8,
- Répartir 5 ml de milieuensemencé par boîte de Pétri de diamètre 90 mm,
- Refroidir les boîtes sur une surface plane,
- Dépôt des rondelles de viande ou des disques imbibés de lait,
- Témoin : solution de tylosine à 1 µg / ml.

Solution mère à 1 mg / ml *1/20*1/50, 30 µl de la solution finale est déposé sur des disques de papier filtre d'un diamètre de 9 mm,

Incubation à 37°C pendant 24 heures.

• **Lecture des résultats**

➤ Solutions témoins

Sur chacune des 5 boîtes témoin, mesurer la largeur de la zone annulaire et exprimer le résultat en mm (la zone annulaire est la distance comprise entre le bord du disque et la limite externe de la zone d'inhibition).

Après incubation, les disques imprégnés des solutions témoin doivent présenter des zones annulaires dont les valeurs limites sont les suivantes (tableau VIII)

Tableau n°VIII: Condition de lecture des solutions témoins

	Streptomycine	Tylosine	Chlortétracycline	Ciprofloxacine	Sulfadimidine
Zone annulaire moyenne	4,5	5,5	6,0	5,5	5 zip*
Ecart-type	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5

* : zone d'inhibition partielle

➤ Echantillons

Chaque boîte oriente vers une ou plusieurs familles d'antibiotiques (tableau n°IX)

Tableau n°IX: Orientation des boîtes

Boîte	Bs 7.2	Kv 8	Bc 6	Ec 8	Bst
Famille	Aminoglycosides	Macrolides et bêta-lactamines	Tétracycline	Quinolones	Sulfamides et bêta-lactamines

Un échantillon de muscle est considéré comme positif quand il donne une zone d'inhibition supérieure à 2 mm, sur au moins une des boîtes Bs 7.2, Kv 8, Bc 6, et Ec 8 et / ou supérieur à 4 mm pour la boîte Bst. deux rondelles provenant du même échantillon doivent donner le même résultat.

Si le résultat est douteux (une rondelle étant négative et l'autre positive pour le même échantillon, contamination, etc.), l'essai devra être répété. Si le second résultat est négatif, le résultat douteux doit être considéré négatif et inversement.

I-2-2-2) Méthode de détection des résidus de sulfamide dans les denrées par CCM

I-2-2-2-1) Principe

La détection de ces sulfamides nécessite leur extraction du muscle haché, par un solvant organique. Après centrifugation, la phase organique est évaporée et le résidu, repris dans un autre solvant est chromatographié sur plaque de gel de silice. Après migration dans un solvant adéquat, un révélateur est pulvérisé sur la plaque qui est examinée visuellement sous une lumière UV 366 nm. Les sulfamides apparaissent comme des taches jaune-vert sur fond pourpre.

Cette méthode nous a permis de faire un dépistage des résidus de sulfamide dans les échantillons qui figurent dans le tableau n°X.

Tableau n°X : Liste des échantillons analysés par les méthodes CCM sulfamide et CG/SM-SM Chloramphénicol

N° de prélèvement	N° d'analyse	matrice
II009-II016	1	gésier
ND064-ND069	2	gésier
NP022-NP029	3	gésier
071-077	4	gésier
099-105	5	gésier
085-091	6	gésier
MI046-MI051	7	gésier
N017-N021	8	gésier
ND082-ND088	9	gésier
ND076-ND081	10	gésier
ND070-ND075	11	gésier
063-070	12	gésier
MI052-MI057	13	gésier
ND058-ND063	14	gésier
092-098	15	gésier
ST001-ST008	16	gésier
056-062	17	gésier
053-055	18	gésier
ST030-ST037	19	gésier
077-084	20	gésier
ST038-ST045	21	gésier

I-2-2-3-2) Mode opératoire

✓ Préparation

- Solution de standards

-Peser 20,0 mg de sulfanilamide, de sulfadiazine, de sulfadimérazine et de sulfadiméthoxine dans une même jaugée de 100 ml.

-Solubiliser dans du méthanol, et agiter dans la cuve à ultra-sons. Compléter à 100 ml.

-Diluer la solution obtenue au dixième avec du méthanol.

-Diluer cette solution au centième dans du chloroforme. On obtient ainsi la solution de référence

- Le milieu de migration est composé des mélanges CHCl_3 / nBuOH, 4/1 (V/V) et CHCl_3 / THF, 2/1 (V.V).
- Pour préparer la solution de révélation on pèse 10 mg de fluorescamine, dissoudre et compléter à 100 ml avec de l'acétone.

Après il faut décongeler et broyer les échantillons de muscles à analyser, puis

Peser $1 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$ de broyat dans un tube à essai.

Ajouter 2 ml de DMC. Disperser de façon homogène la viande dans le solvant.

Agiter 10 minutes dans la cuve à ultra-sons.

Centrifuger 15 minutes à 4500 tours/mn (environ 4000 g) à une température inférieure à 10°C .

Eliminer soigneusement les phases supérieures aqueuses et médianes solides.

Evaporer la phase organique, concentrer le résidu au fond du tube.

Reprendre par 250 μl de méthanol avec agitation 10 mn dans la cuve à ultra-sons.

Centrifuger 15 minutes à une température inférieure à 10°C .

✓ Chromatographie

On dépose 20 μl de la phase organique sur la zone de concentration de la plaque HPTLC. Les dépôts sont espacés d'au moins 8 mm et ne dépassent pas 5 mm de diamètre. Puis déposer également 10 μl et 20 μl de solution de référence correspondant respectivement à 2 et 4 ng de chaque sulfamide .

Chromatographier la plaque, à température ambiante, laisser migrer sur une distance d'environ 4 cm.

Sécher la plaque avec un flux d'air chaud.

Pulvériser environ 10 ml des solution de fluorescamine pour une plaque 10 x10 cm.

Placer la plaque 15 minutes à l'obscurité.

Observer dans le noir la plaque irradiée à 366 nm. Les sulfamides donnent des taches jaune-vert sur fond violet.

✓ Lecture des résultats

Sur la piste correspondant au dépôt de 2 ng de chaque sulfamide, 4 taches doivent être nettement distinguées ; sinon on recommence la pulvérisation. Les taches des essais deviennent perceptibles à partir d'une concentration voisine de 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Les essais donnant une (des) tache (s) d'une intensité estimée égale ou supérieure à celle de l'une des taches de la piste standards 4 ng seront considérés comme positifs (équivalent à 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$).

Tout échantillon estimé positif (ou douteux) avec cette méthode de dépistage devra être soumis à une analyse quantitative de confirmation, par H.P.L.C. dans les plus brefs délais.

I-2-2-3) Méthode de dosage des sulfamides dans le muscle par HPLC

La méthode a pour objet l'identification et le dosage de cinq sulfamides (sulfadiazine, sulfadimerazine, sulfamethoxyypyridazine et sulfadimetoxine) dans le muscle après un dépistage éventuel par chromatographie sur couche mince. La méthode est applicable à des échantillons de viandes conservées à -20° jusqu'au moment de l'analyse, le dosage sera effectué le plus rapidement possible après la mise en évidence d'un sulfamide par chromatographie sur couche mince .

Pour cela nous avons analysé avec cette méthode deux lots suspects à la CCM et deux non suspects.

La limite de quantification est de 0.05 µg/g alors que la limite maximale de résidus (L.M.R.) est actuellement fixée à 0.1µg/g.

I-2-2-3-1) Principe

La méthode comporte 4 étapes :

- homogénéisation des échantillons;
- extraction par le dichlorométhane;
- purification sur colonne d'extraction remplie de silice;
- dosage par chromatographie liquide (HPLC) sur colonne de silice greffée de type C18 et détection photométrique dans l'ultraviolet à 254 nm. Le dosage peut s'effectuer en mode isocratique avec deux mélanges éluants différents selon les sulfamides à quantifier ou avec gradient d'élution si le matériel est disponible (pompe binaire).

La concentration en sulfamides est calculée par interpolation à partir de la droite d'étalonnages en tenant compte du pourcentage de récupération

I-2-2-3-2) Mode Opérateur

✓ Extraction

- décongeler l'échantillon à température ambiante .
- homogénéiser 20g de foie au hachoir électrique.
- peser 5g dans un tube à centrifuger
- ajouter 25ml de dichlorométhane et boucher le tube.
- agiter à l'agitateur 30s à vitesse maximum.
- placer le tube dans le bac à ultra son pendant 10mn puis agiter de nouveau 15s à l'agitateur.
- centrifuger 2mn à 2000 g.
- prélever la totalité de la phase aqueuse surnageante et le transférer dans un tube.
- prélever la phase organique au dessous de la phase solide et la transférer dans un erlenmeyer.
- procéder à une nouvelle extraction de la viande après avoir ajouté la phase aqueuse
- transférer la phase organique dans le même erlenmeyer que le premier extrait et ajouter 40 ml de n-hexane.

✓ Purification

- adapter la colonne d'extraction sur le système d'extraction et le réservoir sur la colonne.
 - laver la colonne avec 10 ml de n-hexane.
 - transférée l'extrait de muscle dans le réservoir et filtrer sous vide avec un débit de 15 ml/mn.
 - laisser la colonne sous vide 2 min pour la sécher .
 - eluer avec 10 ml de solution de phosphate dipotassique à 0.05 mol/l.
- Recueillir le l'éluat dans un tube à centrifuger.

- ajuster le pH de l'éluat à 7.0 plus ou moins 0.1 mol/l ou de l'acide orthophosphorique 1mol/l .
- ajouter à l'éluat 20 ml d'acétate d'éthyl et agiter 1 min à l'agitateur à vitesse maximum.
- centrifuger 5 min à 1100g.
- transférer précisément 18 ml de la phase organique avec une pipette de 20 ml dans un ballon.
- évaporer à sec dans l'évaporateur rotatif à 30°C

il faut noter que le ballon n'est pas plongé dans le bain d'eau pendant la première minute afin d'éviter l'ébullition de l'acétate d'éthyle.

- dès la fin de l'évaporation, dissoudre le résidu sec dans 0,9 ml d'un mélange acetonitrile, acétate d'ammonium 0,01 mol/l. Agiter 30 s à l'agitateur. Déposer le ballon dans le bac à ultrasons pendant une minute et agiter 30 s à l'agitateur .
- introduire une quantité suffisante d'extrait dans l'injecteur .

✓ Supplémentation

- décongeler à la température ambiante et homogénéiser une quantité suffisante de muscle témoin.
- peser dans 4 tubes à centrifuger 5 g de viande homogénéisée .
- ajouter à chaque tube 0,2 ml de l'une des solutions de supplémentation pour obtenir des échantillons de muscles supplémentés à 1, 0.5, 0.1 et 0.05µg /g.
- homogénéiser avec une baguette de verre .
- laisser en contact 15 mn à température ambiante et à l'abri de la lumière .
- procéder pour chaque échantillon supplémenté à l'analyse telle qu'elle est décrite dans la partie extraction.

✓ Dosage chromatographique

Débit de la pompe :1ml/mn

Longueur d'onde du détecteur 254nm.

Phase mobile :A= acetonitrile

B= acétate d'ammonium 0.01mol/l

L'injection de la phase mobile s'est faite en mode isocratique avec les différents temps de rétention pour les sulfamides recherchés qui sont présentés dans le tableau n°XI.

Tableau n°XI: Temps de rétention des sulfamides en mode isocratique HPLC

16% A	84% B
sulfadiazine	3.1mn
sulfadimerazine	5.5mn
Sulfamethoxypyridazine	6.2mn
Sulfadoxine	10.3mn
20% A	80% B
sulfadoxine	6.7mn
sulfadiméthoxine	15.5mn

I-2-2-4) Méthode de détermination des résidus de Nitrofuranes (métabolites) dans les denrées par LC/SM-SM

I-2-2-4-1)Principe

-Extraction des métabolites des tissus et dérivation simultanée en milieu acide avec le 2-nitrobenzaldéhyde.

-Extraction des dérivés produits : NPAOZ, NPAHD, NPAMOZ et NPSEM par l'acétate d'éthyle.

-Evaporation à sec

-Injection dans le système CL / SM / SM.

Les échantillons figurant dans le tableau n°XII ont été analysés par cette méthode.

Tableau n°XII: Liste des échantillons analysés en LC/SM-SM nitrofuranes

N° de prélèvement	N° d'analyse	matrice	
II009-II016	1	foie	gésier
ND064-ND069	2	foie	gésier
NP022-NP029	3	foie	
071-077	4	foie	
099-105	5	foie	gésier
085-091	6	foie	
MI046-MI051	7	foie	gésier
N017-N021	8	foie	
ND082-ND088	9	foie	gésier
ND076-ND081	10	foie	gésier
ND070-ND075	11	foie	
063-070	12	foie	gésier
MI052-MI057	13	foie	
ND058-ND063	14	foie	gésier
ST001-ST008	16	foie	gésier
056-062	17	foie	
053-055	18	foie	
ST030-ST037	19	foie	gésier
077-084	20	foie	gésier
ST038-ST045	21	foie	gésier
013-016	22	foie	
046-052	23	foie	
020-026	24	foie	
027-032	25	foie	
033-038	26	foie	
039-045	27	foie	

I-2-2-4-2) Mode opératoire

➤ échantillons

- décongeler les échantillons à analyser et les broyer;
- peser 1+/- 0.1 g d'échantillons et les broyer dans un tube de 50 ml.

- Supplémentation

Dans un tube de 50 ml, ajouter:

- blanc : 1 g tissu + 50 µl de std interne SI D4/D 0.1 ppm;
- sup 0.5 : 1 g tissu + 50 µl S°0.01 ppm AOZ – SEM – AMOZ- AHD + 50 µl de std interne SI D4/D5 0.1 ppm;
- sup 1 : 1 g tissu+ 100 µl S°0.01 ppm AOZ – SEM – AMOZ- AHD + 100 µl de std interne SI D4/D5 0.1 ppm.

- Standard dérivé

Dans un tube de 50 ml, ajouter :

- STD 1 :200 µl S°0.01 ppm AOZ – SEM – AMOZ- AHD + 50 µl de std interne SI D4/D5 0.1 ppm

- Échantillon

- ajouter + 500 µl de std interne SI D4/D5 0.1 ppm

- Dérivation

- ajouter 4 mld'eau , 0.5 ml d'HCL 1 M et 150 µl de 2 – NBA
- agiter 40 S au vortex;
- placer au bain marie à 37°C pendant 16 heures.

- Neutralisation :

- ajouter 5 ml de tampon di-potassium hydrogen orthophosphate 0.1 M;
- ajouter environ 120 µl de NaOH 1 M;
- agiter et contrôler le pH avec une bandelette;
- ajuster le pH à 7 ± 0.5 par addition supplémentaire de NaOH si nécessaire.

- Extraction à l'acétate d'éthyle :
 - ajouter 5 ml d'acétate d'éthyle
 - agiter à l'heidolph pendant 20 min à 100 tr/min
 - centrifuger 5 min à 3000 g
 - transférer le surnageant dans un tube en plastique
 - ajouter 3 ml d'acétate d'éthyle
 - agiter à l'heidolph pendant 20 min à 100 tr/min,
 - centrifuger le surnageant dans le même tube en plastique
 - évaporer à sec sous N₂

- Préparation des échantillons :
 - reprendre le résidu par 400µl d'acide acétate 0.01 %
 - placer les tubes 1 min aux ultra-sons
 - transvaser dans des tubes eppendorf
 - centrifuger pendant 20 min à 20000 g
 - filtrer le surnageant sur des filtres 45 µl
 - mettre dans des microvials (attention à la présence de bulle au fond du vial.

- Analyse CL / SM-SM.
 - Conditions chromatographiques

Colonne type Luna Phenomenex C18 (2 x 150mm) + précolonne Waters Symmetry C18 (2.1 x 10 mm)

Phase mobile : d'ammonium 0.5 mM / MeOH –

Le gradient d'injection de la phase mobile est décrit dans le tableau n°XIII

Tableau n° XIII: Gradient d'injection de la phase mobile LC/MS-MS

Temps (min)	Acétate d'ammonium 0.5 mM	MeOH
0	76	24
5	40	60
11	40	60
11.50	76	24

Débit : 0.2 ml / min

volume injecté : 25 µl

stop time : 20mn

-condition de détection (spectrométrie de masse)

interface : ESI en mode positive

température de nébulisation : 350 °C

température de bloc source : 150°C

débit du gaz de nébulisation : 80 lit.hr

débit du gaz de désolvatation : 770lit/hr

pression du gaz dans la cellule de collision (Argon) : $2.2 \cdot 10^3$ mbar

capillaire : 3,2kVolts

détection en mode MRM :

2 transiions (ion parent ->ion fils) sont sélectionnées pour identifier chaque composé (tableau n°XIV)

Tableau n°XIV : Transitions ion parent vers ions fils

	Ion parent >ion fils	Dwell (sec)	Cone voltage	Col.energy
NP-SEM	209.1>192	0.4	20	10
NTF2	2091>166	0.4	20	10
NP – AOZ	236.1 >134	0.25	25	15
	236.1>104	0.25	25	20
NP –D4AOZ	240.1>134	0.25	25	15
NP-AHD	249.1>134	0.6	25	15
	249.1>178	0.6	25	15
NP – AMOZ	335.1>262.1	0.4	20	20
	335.1>291.1	0.4	20	15
NP-D5AMOZ	340.1>296.1	0.4	20	20

✓ Lecture des résultats

Chaque composé est identifié par son temps de rétention et les transitions spécifiques correspondantes (tableau n°XV). Tout échantillon à confirmer est extrait deux fois et quantifié par rapport à une gamme d'échantillons supplémentés (0.5 à µg/kg). Une moyenne des deux valeurs obtenues est réalisée si les critères de confirmation sont atteints pour les 2 échantillons. Ainsi la présence de résidu de métabolite est confirmée et la teneur en analyte est estimée comme la moyenne des 2 valeurs, sinon l'échantillon est déclaré négatif.

Tableau N°XV: Temps de rétentions et transitions spécifiques des ions fils

	Ion parent > ion fils	Temps de rétention (min) de l'ordre de	Intensité relative de l'ordre de
NP – SEM	209.1>192	12.3	104 %
	209.1>166		100 %
NP- AOZ	236.1>134	11.9	100 %
	236.1>104		75 %
NP-D4AOZ	240.1>134	11.8	-
NP – AMOZ	335.1>262.1	13.2	25 %
	335.1>291.1		100 %
NP-D(AMOZ	340.1>296.1	13.1	-

I-2-2-5) Méthode de recherche et de confirmation de résidus de chloramphénicol dans les denrées par CG/SM-SM

Cette méthode permet la détection du chloramphénicol avec une concentration critique $CC_{\&}$, au seuil de risque 1 % (concentration dans la matrice à partir de laquelle la probabilité de détection est de 99 %) calculée inférieure à 0.20 µg/kg.

I-2-2-5-1) Principe

La méthode comprend 6 étapes principales :

- supplémentation de la prise d'essai avec une solution de chloramphénicol D5;
- extraction par un solvant organique;
- purification d l'extrait sur une colonne de gel de silice;
- dérivation de l'extrait;
- chromatographie en phase gazeuse;
- détection par spectrométrie de masse en mode ionisation chimique négative.

✓ le gaz utilisé est composé de:

-hélium C (Air Liquide);

-méthane N 45 (air liquide).

✓ Solutions

Il faut noter que les solutions mères de chloramphénicol D5 et H5 seront préparées dans l'éthanol .

Solution D : solution de standard interne, chloramphénicol D5 à 1ng/ml dans l'eau

Solutions étalon :

Solution E : chloramphénicol à 0,25ng/ml et CAP As à 1 ng /ml dans l'eau

Solution A : chloramphénicol à 0.5 ng /ml et chloramphénicolD5 à 1 ng dans l'eau

Solution B : chloramphénicol à 1ng et chloramphénicol D5 à 1 ng /ml dans l'eau

Solution C : chloramphénicol à 2 ng/ml et chloramphénicol D5 à 1 ng / ml dans l'eau

I-2-2-5-1) Mode opératoire

Echantillon

• extraction

- mesurer $2 \pm 0,1$ g de muscle broyé

- ajouter 2 ml de solution D, agiter le tube manuellement. Pour assurer la qualité des essais, préparer trois témoins positifs en ajoutant $2 \pm 0,05$ ml de solution A, B, C, (témoins positifs 0,25 μ g/kg à 0,5 ; 1 ; 1 et 2 μ g/kg).

- ajouter 5 ml d'acétate d'éthyle, agiter manuellement jusqu'à obtention d'une pâte homogène (1 min.environ)

- centrifuger 10 min à 3000g

- récupérer la phase organique et l'évaporer à sec sous flux d'azote à 60 °C

- ré-extraite par 5 ml d'acétate d'éthyle

- centrifuger 10 min à 3000 g

- combiner les phases organiques et les évaporer à sec sous flux d'azote à 60°C
- reprendre le résidu par 3 ml d'acétonitrile et 2 ml d'hexane
- agiter au vortex pendant 1 min, centrifuger 5 min à 3000 g et séparer les deux phases organiques
- combiner les phases acétonitrile et évaporer à sec sous flux d'azote (phase inférieure)
- Purification
 - reprendre par 3 fois 1 ml de toluène, déposer successivement ces volumes sur une cartouche Si 500 mg
 - rincer la cartouche par 2 ml de toluène
 - rincer par 4,5 ml d'un mélange toluène/acétone 80/20 (v/v)
 - eluer par 2,5 ml d'un mélange toluène/acétone 60/40 (v/v)
 - évaporer à sec sous flux d'azote à 60°C
- Dérivation
 - évaporer sous flux d'azote
 - ajouter 100µl de la solution de dérivation, agiter la fiole au vortex. Placer 1 h dans une étuve ou enceinte à environ 60°C . Evaporer à sec sous flux d'azote.
 - reprendre par 100 µl d'hexane, boucher, agiter au vortex, transvaser dans les vials propyleniques.

Chromatographie et détection par CG-SM

- Conditions chromatographiques
 - Gaz vecteur : hélium
 - Pression : environ 11 ;5 psi
 - Purge : 50 ml/min 1 min
 - Gaz saver : 20 ml/min 7 min
 - Injection
 - Mode pulsed splitless (pulse 25 psi, 1 min)

Volume injecté 1 µl

Séquence : supplémenté 0,25 ; 0,5 ; 1 et µg/kg , essais

-Températures

Injecteur : 280°C

Four : initiale 120°C, rampe 12°C/min jusqu'à 240°C, plateau 6 min, rampe 25°C/min jusqu'à 300 °C, plateau 5 min

Ligne de transfert : 300 °C

- Conditions spectrométriques (mode SIM)

Gaz réactant : méthane N45

Ions sélectionnés sont identifiés dans le tableau n°XVI

Tableau n°XVI: Ions sélectionnés pour CG/MS-MS CAP

Ion m/z(masse sur charge)	Dwell (en ms)	Molécule concernée
466	50	CAP
468	50	
376	50	
378	50	
471	50	
473		

Cycle : 3,035S-1

Vérifier que l'ion m/z 466 fournisse un rapport signal /bruit environ de 100 et l'ion m/z 378 fournisse un rapport signal/bruit environ de 10 pour 1 pg de chloramphénicol injecté.

I-2-2-6) Méthode de détection et d'identification des résidus d'antibiotiques dans les denrées par LC/SM-SM

I-2-2-6-1) principe

Cette méthode est utilisée pour l'identification et la quantification de 44 molécules issues de 6 familles d'antibactériens comme: les tétracyclines, les bêtalactamines, les macrolides, les aminoglycosides et les quinolones dans le muscle. Elle peut détecter les LMR et a une méthode d'extraction très simple. (liste des molécules détectées avec cette méthode en annexe)

I-2-2-6-2) Mode opératoire

- décongeler les échantillons
- broyer les échantillons
- peser 2x2 g de muscle car pour balayer les différentes familles d'antibiotiques concernées par cette méthode il faut procéder par 2 injections du même échantillon en utilisant 2 méthodes d'extraction: A et B.

la méthode d'extraction A suit les étapes suivants:

- ajouter 0,5 ml d'eau au peser;
- puis passer au vortex;
- ajouter 0,2 ml de standard interne;
- ajouter 8 ml de TCA à 5%;
- centrifuger à 14000g x5 mn;
- filtrer avec des cartouches de 0,45 µm (E1);
- mettre dans des vials et passer à la machine.

pour l'extraction B elle se fait de la sorte:

- ajouter 8 ml d'acétonitrile;
- agiter pendant 10 mn à 100 rpm;
- centrifuger à 14000g x 5 mn;

- récupérer 2 ml de la phase acetonitril et l'évaporer sous flux d'azote;
- récupérer les résidus par 1 ml d'acétate d'ammonium 0,2 M;
- filtrer avec des cartouches de 0,45 µm (E1);
- mettre dans des vials et passer à la machine.

Chromatographie et détection par LC/SM-SM

Les conditions pour la chromatographie liquide sont:

- LC: HP 1100 avec injecteur automatique;
- Colonne: Chromolith RP 18^e 100x4,6 (col 161);
- Volume injecté: 20 µl débit 0,6 ml/mn gr;
- Phase mobile: PFPA 0,1% /ACN (multi met).

L'identification des résidus est basée sur le temps de rétention , la présence des 2 ions fils d'une molécule mère et leurs intensités relatives. La répétabilité de cette méthode a été évaluée sur 5 jours avec des essais à des pics de 25, 50, 100, 200, 400 et 800 µg/kg. Pour la linéarité, le coefficient de corrélation est supérieur à 0,99% à des doses 3 à 4 fois inférieures aux LMR des molécules concernées par cette méthode. Lorsqu'une molécule est identifiée, elle est automatiquement quantifiée.

Après avoir décrit les méthodes utilisées pour notre étude, nous allons vous présentés les résultats obtenus.

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Dans ce chapitre nous présentons les résultats obtenus après applications des différentes méthodes citées dans le chapitre VI de la deuxième partie, ces résultats seront discutés.

II-1 Résultats

Dans un premier temps les résultats sont présentés selon la méthode utilisée avant une présentation globale des résultats dans un second temps.

II-1-1) Résultats des méthodes qualitatives

II-1-1-1) Résultat des analyses par la méthode microbiologique (STAR)

Pour cette méthode 14 échantillons ont été analysés et les résultats montrent que:

1 échantillon sur 14 est suspect à la boîte Bc6;

7 échantillons sur 14 sont suspects à la boîte Kv8;

3 échantillons sur 14 sont suspects à la boîte Bs 7,2 ou 11.

les résultats la boîte Bst sont inexploitable (tableau n°XVII) et ceux de la boîte Ec8 sont négatifs. Ces résultats reviennent à 7% de suspect à Bc6, 21% de suspect à Bs 7,2 ou 11 et 50% de suspect à Kv8 (figure n°5, abc).

Tableau n°XVII: Résultats méthode STAR

	Bc6	Kv8	Ec8	Bst	Bs 7,2 ou 11
Suspects	1	7	0	Non Exploitable	3
Non Suspects	13	7	14	Non Exploitable	11

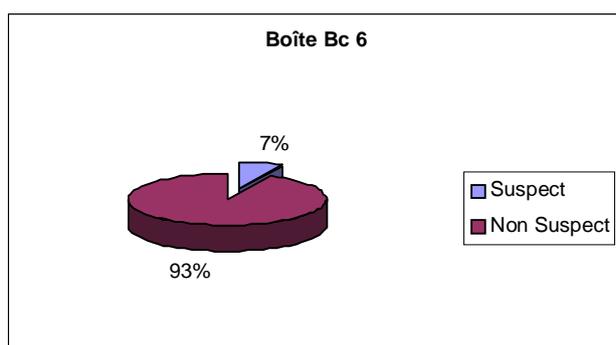


Figure n°5 a

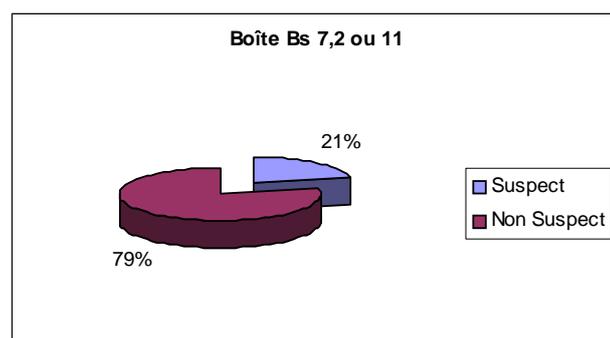


Figure n°5 b

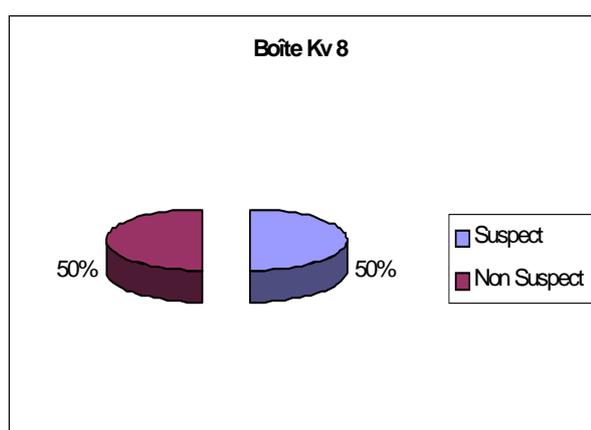


Figure n°5 c

Figure n°5 abc: Résultats méthode STAR

Ces résultats montrent que :

- ✓ le lot 20 est suspecté de contenir des résidus de tétracycline, d'Aminoglycoside, de macrolide et Bétalactamine;
- ✓ Les lots 9 et 19 sont suspectés de contenir des résidus de macrolides, Bétalactamine et d'Aminoglycoside;
- ✓ Les lots 1, 14 et 25 sont suspectés de contenir des résidus de macrolide et Bétalactamine.

II-1-1-2) Résultats des analyses par la méthode CCM sulfamides

Après analyse 2 échantillons sont suspectés de contenir des sulfamides sur 21 soit 11% des échantillons analysés (figure n°6).

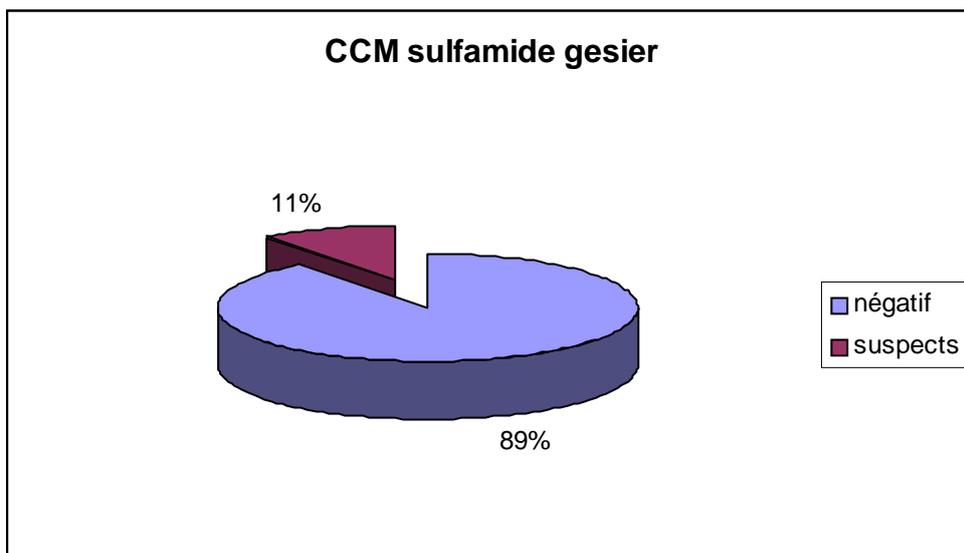


Figure n°6: Résultats analyse méthode CCM

II-1-2) Résultats des méthodes quantitatives

II-1-2-1) Résultats des analyses par la méthode HPLC/UV sulfamide

Les résultats d'analyse nous donnent les quantités suivantes de sulfamides dans les lots 12 et 19:

- lot 12: sulfadiazine (SDZ) **187,91 µg/kg** et sulfadiméazine (SDM) **63,22µg/kg**;
- lot 19: sulfadiazine (SDZ) **114,22 µg/kg**.
(exemple d'un chromatogramme en annexe)

II-1-2-24) Résultats des analyses par la méthode CG/SM-SM chloramphénicol

Après analyse 1 échantillon sur 21 est suspecté de contenir du chloramphénicol soit un taux de 5% (figure n°7).

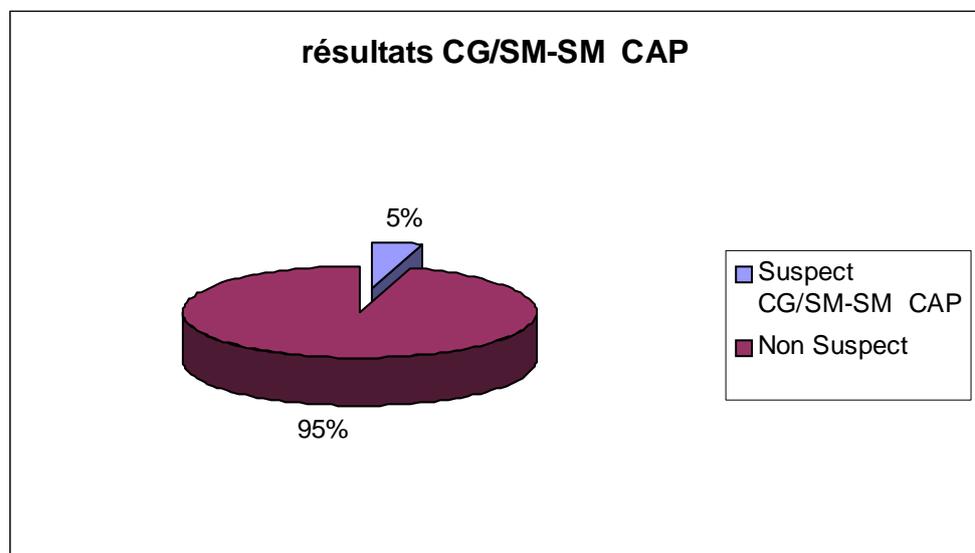


Figure n°7: Résultats analyse méthode CG/MS-MS CAP

II-1-2-3) Résultats des analyses par la méthode LC/SM-SM nitrofurane

L'analyse donne 4 lots de gésiers positifs sur 12 analysés soit un taux de contamination de 33% (figure n°8) et puis 11 lots de foies positifs sur 26 analysés (tableau n°XVIII) soit un taux de contamination de 42% (figure n°9)

✓ Les teneurs en nitrofurane obtenues dans les échantillons positifs de gésiers sont de:

- lot 5 ; **77 µg/kg** AMOZ (métabolite dérivée de la furaltadone);
- lot 10; **2 µg/kg** AMOZ;
- lot20; **45 µg/kg** AMOZ;
- lot 21; **28 µg/kg** AMOZ.

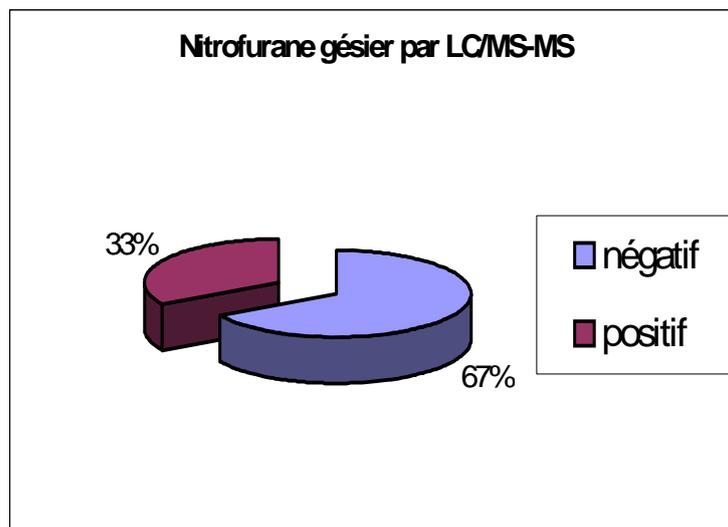


Figure n°8: Résultats analyse gésier nitrofurane LC/MS-MS

Tableau N°XVIII: Résultats en LC/SM-SM nitrofurane foie

lots	Quantité en µg/kg d'AMAZ dans le foie
2	0,73
4	13
5	243
6	111
14	26
20	21
21	21
24	169
25	16
26	19
27	158

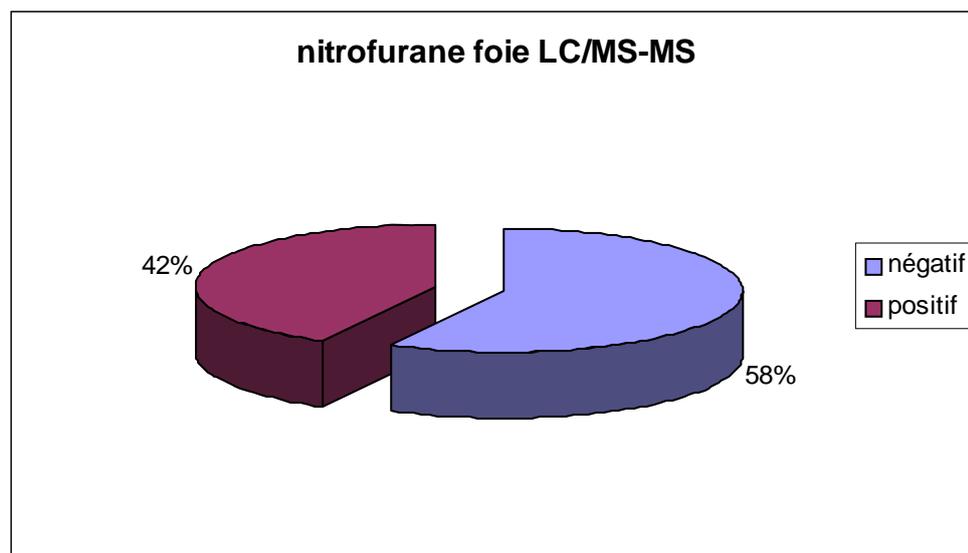


Figure N° 9: Résultats nitrofurane foie LC/MS-MS

II-1-2-4) Résultats des analyses par la méthode LC/SM-SM multi résidus

Les résultats suivants ont été obtenus (tableau n°XIX)

Tableau N°XIX : Résultats LC/SM-SM multi résidus dans le foie et le gésier

lots	matrice	molécules	Quantité en ng/g
2	foie	Oxytétracycline	99
5	gésier	Oxytétracycline	77
10	gésier	Oxytétracycline	294
11	gésier	Oxytétracycline	93
17	gésier	Oxytétracycline	99
		Tétracycline	376
19	foie	Sulfadiazine	120
	gésier	Sulfadiazine	179

19% des gésiers analysés contiennent de l'oxytétracycline, 5% contiennent du tétracycline, la sulfadiazine est aussi retrouvée dans 5% des échantillons (figure n°10).

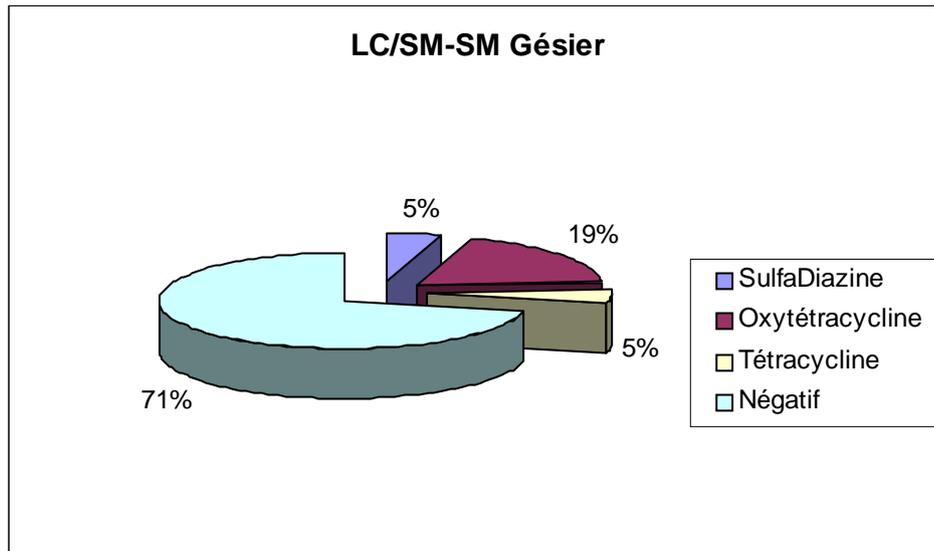


Figure N°10: Résultats analyses gésier LC/MS-MS multi résidus

Pour les échantillons de foie la sulfadiazine est présente dans 4% des échantillons analysés et l'oxytétracycline aussi dans 4% des échantillons (Figure N°11).

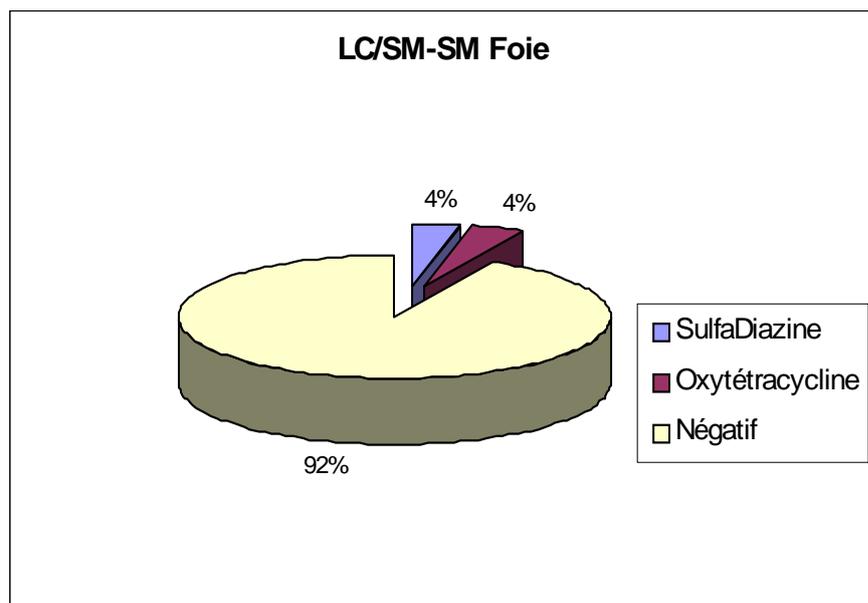


Figure n°11: Résultats analyses foie LC/MS-MS multi résidus

II-1-3) Résultats globaux

La synthèse des résultats obtenus par les différentes méthodes d'analyse montre la présence de résidus d'antibiotiques dans 43% des échantillons de foie (figure n°12) et de même dans 43% des échantillons de gésier (figure n°13). soit respectivement 12 échantillons contaminés sur 28 de foie et 9 échantillons contaminés sur 21 de gésier.

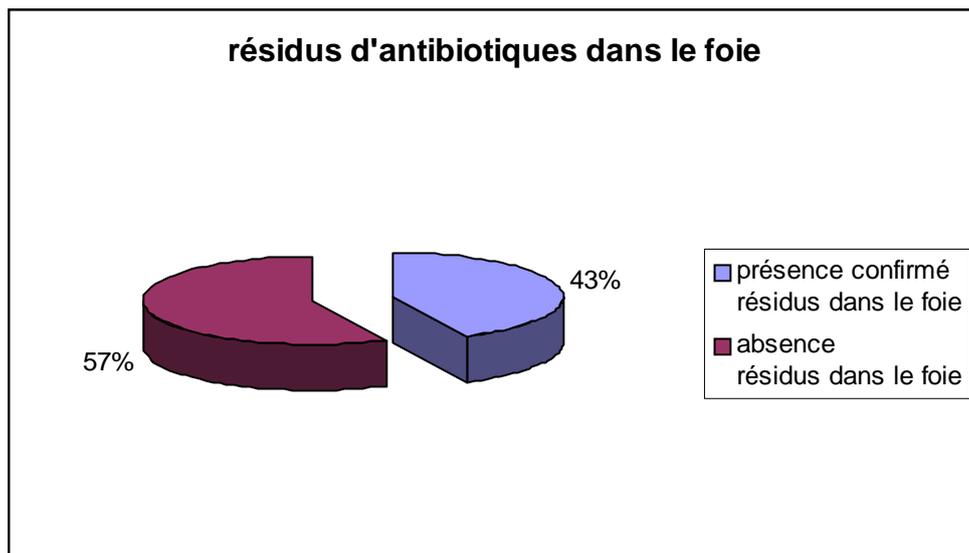


Figure n°12: Résultat final des analyses sur le foie

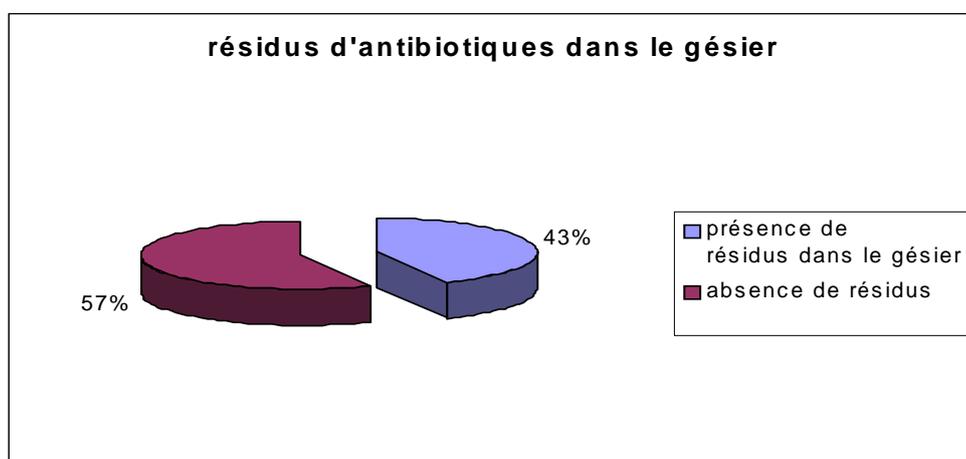


Figure n°13: Résultat final des analyses sur le gésier

Le tableau n°XX (a et b) récapitule tous les résultats obtenus.

Tableau n° XX a: Récapitulatif des résultats obtenus dans les lots de gésier

lots	nitrofuranes	sulfamides	tétracycline	CAP
1				
2				
3				
4				
5	positif		positif	
6				
7				
8				
9				
10	positif		positif	
11			positif	
12		positif		
13				
14				
15				
16				
17			positif	
18				
19		positif		
20	positif			
21	positif			positif

Tableau n° XX b: Récapitulatif des résultats obtenus dans les lots de foie

lots	nitrofuranes	sulfamides	tétracyclines
1			
2	positif		positif
3			
4	positif		
5	positif		
6	positif		
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14	positif		
15			
16			
17			
18			
19		positif	
20	positif		
21	positif		
22			
23			
24	positif		
25	positif		
26	positif		
27	positif		
28			

II-2) Discussion

Ce travail est une des études pionnières dans le domaine des résidus de médicaments vétérinaires dans les produits aviaires provenant des Niayes. L'étude s'est focalisée sur les poulets de chair mais dans la suite, les œufs de consommations seront également étudiés.

La discussion va porter sur le choix des molécules, la méthode d'étude et les résultats d'analyse.

II-2-1) Choix des molécules

Notre choix de travailler sur le chloramphénicol, les nitrofuranes, les sulfamides et les tétracyclines a été motivé par :

- la large utilisation de ces antibactériens dans les élevages avicoles (BIAGUI, 2002; enquête, 2003);
- l'interdiction au plan international de l'utilisation des nitrofuranes et du chloramphénicol du fait du danger qu'ils représentent pour la santé public (MILHAUD, 1985; directive 2377/90 CE; CODEX ALIMENTARIUS, 1995).

II-2-2) Méthode d'étude

II-2-2-1) Choix du site

Le choix des Niayes pour cette étude est motivé par le fait qu'elle représente la principale zone d'aviculture du Sénégal qui regroupe près de 80% des exploitations du pays et 65% de la population sénégalaise y vivent. Pour cette étude, l'idéal aurait été de couvrir toute la zone des Niayes mais pour des raisons d'accessibilité et dans le souci d'avoir des échantillons en bon état, nous nous

sommes limités aux deux principales régions de la zone que sont: Thiès et Dakar.

II-2-2-2) Echantillonnage

Nos prélèvements ont été réalisés au niveau des abattoirs et des fermes conformément aux recommandations du Codex alimentarius et de la directive 96/23 CE. Mais nous avons voulu en plus faire des prélèvements au niveau des marchés dans le but de contrôler directement les denrées qui arrivent sur le plat du consommateur Sénégalais.

L'étude a concerné 49 échantillons dont 21 de gésiers et 28 de foies. Ce nombre peut paraître insuffisant si on se réfère au Codex alimentarius qui fixe à 75, le nombre d'échantillons pour la recherche de substances interdites et à 150 pour les antibiotiques autorisés. Ces chiffres concernent des contrôles au plan national, mais pour les besoins de cette étude, on a pris comme référence le projet du programme de surveillance des résidus de médicaments vétérinaires et autres contaminants du Maroc et les travaux de (IMAD, 1998).

Le choix du foie et du gésier comme matrices est justifié par la pharmacocinétique des différentes molécules (PUYT, 1994) et des recommandations de BIAGUI (2002) qui suggère de prendre des matrices telles que le foie pour une étude sur les résidus suite aux peu de résultats qu'elle avait obtenu en travaillant sur le muscle .

II-2-2-3) analyse de laboratoire

La partie expérimentale de cette étude a été faite au laboratoire de l'agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA) site Fougères suite à la signature d'une convention entre l'EISMV et la direction de l'AFSSA. Ce choix se justifie par le fait que ce laboratoire est le laboratoire communautaire de

référence pour les résidus d'antibiotiques. Cette partie de l'étude s'est déroulée sur une période de 1 mois.

Tous les médicaments étudiés, ont été dépistés puis identifiés et quantifiés.

Le dépistage des résidus d'antibiotiques est fonction des limites des méthodes utilisées. Deux types de méthodes de dépistage ont été utilisées dans l'étude. La première qui est une méthode microbiologique permet d'avoir une orientation rapide sur la présence ou non de résidus dotés de propriétés antibiotiques. Cette méthode est simple par sa mise en œuvre et peu coûteuse. Mais elle n'est pas spécifique car elle ne permet pas de faire une identification des antibiotiques, ni de les quantifier. De plus, elle peut être positive en cas de présence d'inhibiteurs non spécifiques autres que les résidus d'antibiotiques. Ainsi dans notre étude, elle a permis de dépister 3 échantillons de foie positifs qui n'ont pas été confirmés par la méthode par LC/SMLSM qui permet la quantification et l'identification univoque des 40 molécules antibiotiques testées mais ne permet pas de conclure si il y a ou non d'autres substances antibiotiques.

La deuxième méthode de dépistage utilisée est la chromatographie sur couche mince (CCM) qui permet une première étape d'identification de l'anti-infectieux sur la base de leurs propriétés physico-chimiques (rétention et révélation) mais pas la quantification. Elle est utilisée en parallèle à la méthode microbiologique. Sa limite de détection est de 100 µg/kg pour les sulfamides ce qui est compatible avec la LMR. Ce type de méthode peut être utilisé pour la recherche de substances interdites telle que le chloramphénicol ou les nitrofuranes. La difficulté pour ces substances interdites est que les objectifs de détection et de confirmation définis par la réglementation européenne sous forme de limites minimales de performance requise sont très faibles en terme de concentration et donc difficile à atteindre avec ce type de méthode.

Les méthodes qui permettent les identifications et quantifications sont toutes des méthodes chromatographiques. Trois ont été utilisées dans le cadre de cette étude. Il s'agit de l'H.P.L.C, de la G.C/MS et de la L.C/MS-MS. La

chromatographie liquide est couplée à différents types de détecteurs (UV, fluorimétrique, etc) qui permet de travailler dans des domaines de concentrations dans les produits animaux compris entre 10 et 1000 µg/kg. Les méthodes permettent une quantification précise et reproductible mais même si elles sont sélectives (capacité de séparer les analytes), elles ne sont pas totalement spécifiques. La CG/MS permet d'obtenir une information spécifique sur le composé analysés (spectre de masse) et a des limites de détection compatibles avec la recherche des résidus. La limite de cette technique est qu'elle est réservée à l'analyse de composés volatils, thermo-stables ce qui suppose pour les substances antibiotiques de réaliser des dérivations. La recherche du chloramphénicol peut être réalisée avec cette méthode avec une limite de détection compatible avec la LPMR. Les méthodes couplées a la spectrométrie de masse sont spécifiques car elle permette l'identification des molécules par l'obtention d'ions fils qui est très spécifique. Par rapport à l'HPLC couplée à des détecteurs classiques, la LC/SM-SM présente aussi des avantages au plan consommation de solvants et de temps de travail. Mais l'acquisition de l'appareillage est très onéreuse. C'est la raison pour laquelle l'HPLC classique reste une méthode de référence pour la recherche de résidus préconisée par le Codex alimentarius (1995).

II-2-2-4) Résultats

Un nombre important d'échantillons contient des résidus de médicaments vétérinaires, soit 9 sur 21 pour les gésier ce qui représente environ 43% des échantillons analysés et 12 sur 28 pour les foies ce qui représente environ 43% des échantillons analysés.

Nous observons également un fort taux d'échantillons dont la teneur en résidus dépasse la LMR fixée par le Codex alimentarius (1995) et la directive 2377/90 CE. Ainsi **33%** des gésiers analysés et **42%** des foie analysés ont des teneurs

allant de **0,73 µg/kg** à **243 µg/kg** pour les nitrofuranes qui sont des substances interdites. Ces résultats peuvent être comparés à ceux obtenus au Maroc en 1998 par (IMAD, 1998) qui a eu un taux de présence de résidus de furaltadone de l'ordre de **92%** avec des teneurs beaucoup plus basses allant de **0,56 µg/kg** à **31,56 µg/kg** . Ce fort taux de présence de résidus de nitrofuranes peut être dû à sa large utilisation du fait d'un spectre d'activité large et qu'il est bon marché. Pour les sulfamides 11% des gésiers et 4% des foies analysés sont positifs. On y retrouve le sulfadiazine à des teneurs allant de **114,22 µg/kg** à **187,91 µg/kg** et la sulfadimérazine à **63,22µg/kg**. Les teneurs en sulfadiazine dépassent de peu les LMR fixées par le Codex alimentarius (1995). La recherche de tétracycline dans nos échantillons révèle que 2% des gésiers analysés ont des teneurs en tétracycline allant de **294 µg/kg** à **376 µg/kg** supérieures aux LMR. Concernant le chloramphénicol des traces ont été retrouvées dans 5% des échantillons de gésiers analysés.

Les résultats de notre étude sont inquiétants comparés à ceux obtenus en Suisse dans le cadre de leur programme de contrôle des résidus 2001 (SUISSE, 2001) où seulement **6,25%** des échantillons analysés contiennent des résidus d'antibiotiques autorisés.

Les forts taux de contamination des produits aviaires peuvent être expliqués par:

- le non existence d'un vétérinaire pour le suivi car d'après BIAGUI (20002) sur 61 exploitations étudiées dans la zone des Niayes 77,05% ne disposent pas d'un docteur vétérinaire ;
- le manque de professionnalisme qui selon HABYARYMANA (1998) affecte 80 % des aviculteurs;
- le non respect des doses d'utilisation des antibiotiques souligné par BIAGUI (2002) qui révèle des traitements avec surdosage aux antibiotiques dans 58,14% des exploitations étudiées dans la zone d'étude;

- le manque de contrôle ou de surveillance des résidus par les structures étatiques;
- le non respect des durées d'utilisation des antibiotiques qui peut conduire dans certains cas au non respect des délais d'attente qui selon KONE (1992) constituent un réel danger pour les consommateurs.

Les risques pour le consommateur sont les suivants: risques d'aplasie médullaire, risques cancérigènes, risques allergiques et risques d'antibiorésistance.

- risque d'aplasie médullaire

Le chloramphénicol peut entraîner une anémie aplasique chez l'homme qui a un délai d'apparition supérieur à deux mois. Elle se rencontre uniquement chez l'homme comme une atteinte spontanée non liée à la dose de chloramphénicol reçue. Le risque d'anémie aplasique a été évalué par VINCENT (1986). En outre MILHAUD (1985) évoque ce type d'accident suite à une utilisation de collyre ophtalmique contenant du chloramphénicol. Du fait de l'impossibilité de fixer une dose sans effet pour ce risque, le chloramphénicol a été interdit d'utilisation chez les animaux producteurs de denrées alimentaires aux USA, dans l'union européenne et au niveau international.

- risque cancérigène

Les nitrofuranes sont classés comme cancérigènes potentiels et ont un métabolisme entraînant une disparition rapide des molécules parentales et la formation de métabolites liés aux protéines. Les teneurs en nitrofurane (furaltadone) retrouvées dans nos échantillons démontrent une utilisation importante de furaltadone en élevage. Selon COHEN ET AL (1973) le furaltadone est cancérigène et Mc CALLER (1974) a montré qu'il s'agit sans doute du plus mutagène des nitrofuranes. Compte tenu du potentiel cancérigène de ces substances et de la formation de métabolites liés, dotés d'un potentiel mutagène et étant en partie biodisponible, ces molécules ont été exclues d'une

utilisation chez les animaux producteurs de denrées alimentaires par les agences d'évaluation des médicaments vétérinaires et les groupes d'experts internationaux. Au niveau de l'élevage sénégalais, une information sur les risques encourus par les éleveurs lors de la manipulation de ces produits est à réaliser et des mesures sont à prendre pour en arrêter l'usage en élevage.

- risque allergique

C'est l'un des risques médicaux les plus sérieux en matière de résidus de médicaments vétérinaires. Il peut être provoqué par les pénicillines, la streptomycine ou par les tétracyclines. Ainsi LABIE (1981) a montré que les taux résiduels d'antibiotiques dans le lait sont suffisants pour déclencher une crise allergique, quelque fois de type choc anaphylactique gravissime chez les sujets préalablement sensibilisés. Ce risque est pris en compte dans la détermination des limites maximales de résidus pour les substances autorisées. Le bon usage des médicaments, dans un cadre réglementaire adapté, permet de minimiser ce risque pour le consommateur.

- l'antibiorésistance

Le développement de l'antibiorésistance est un problème majeur de santé public qui fait l'objet de plans d'action au niveau international du fait du caractère épidémique de ce problème. Par exemple, il a été démontré que l'épidémie de fièvre typhoïde qui s'est déclarée au Mexique en 1972 était due à des souches de *Salmonella typhi* chloramphénicol résistante, cette résistance étant conférée par un plasmide. Plus récemment, les pays occidentaux ont été confrontés à la propagation de souches de *Salmonella typhimurium*, penta-résistante (ampicilline, chloramphénicol, sulfamide, tétracycline, streptomycine) responsable de pathologies graves chez l'animal et l'homme.

Par ailleurs des études menées au Centre Hospitalier Universitaire (C.H.U) de Dakar donnent des chiffres éloquentes en ce qui concerne la résistance des staphylocoques aux bêtalactamines (KABAMB J.T., 1984).

-74% des souches isolées sont résistantes à l'ampicilline;

-82% des souches isolées sont résistantes à l'amoxicilline.

L'utilisation des antibiotiques en élevage contribue à sélectionner des bactéries résistantes qui peuvent constituer un réservoir de souches pathogènes pour l'homme (bactéries zoonotiques comme *Salmonella*, *Campylobacter*, *E. coli*) ou de souches vectrices de gènes de résistance aux antibiotiques. Ces souches résistantes aux antibiotiques lorsqu'elles sont pathogènes chez l'animal sont également un problème pour les éleveurs et les vétérinaires car elles réduisent l'efficacité des traitements, peuvent leur faire courir un risque pour leur santé et diminuer la rentabilité de l'élevage.

Les résultats de l'étude peuvent avoir des conséquences économiques sur le plan des échanges internationaux avec le nouveau contexte de la mondialisation, où c'est l'organisation mondial du commerce avec ses règles sanitaires et phytosanitaires qui établit les bases de ces échanges. Ces règles font référence aux normes du Codex alimentarius en matière de limites maximales de résidus. La maîtrise des résidus de médicaments vétérinaires est importante si l'on souhaite développer l'exportation de denrées d'origine animale mais également comme moyen de contrôle de la sécurité des produits importés pour les comparer à celle associée aux productions nationales. Dans un contexte de développement économique des échanges internationaux, la maîtrise de ces résidus passe par la mise en œuvre d'une réglementation adaptée concernant le médicament vétérinaire et son usage et celle d'un outil de mesure de l'efficacité des actions mises en œuvre.

II-3) Recommandations

Nous pouvons à l'issue de tous ces considérations que nous venons de faire, tenter les recommandations suivantes:

- vis à vis des pouvoirs publics;
- vis à vis des vétérinaires;
- vis à vis des aviculteurs;
- vis à vis des consommateurs.

II-3-1) Recommandations vis à vis des pouvoirs publics

Pour préserver la santé des consommateurs et assurer aux produits sénégalais l'accès au marché international, l'Etat doit mener des actions concrètes à plusieurs niveaux : la formation des acteurs de la filière et la mise en place d'un programme de surveillance des résidus dans les produits aviaires.

➤ Formation des acteurs de la filière avicole

La première richesse d'un pays, le premier outil de tout développement sont les hommes (ABIOLA, 1997). Dans le cadre de cette étude, les ressources humaines regroupent les agents techniques de l'Etat, les vétérinaires privés et les aviculteurs .

La formation des agents techniques de l'Etat mettra l'accent sur le contrôle de la qualité des médicaments vétérinaires et des résidus dans les denrées.

La formation des vétérinaires privés sera axée sur des sessions de recyclage par rapport aux normes et aux dangers que représentent les résidus.

La formation des aviculteurs passe par des sessions périodiques de formation et des campagnes de sensibilisation, pour une bonne maîtrise des techniques d'élevage et des règles de bon usage des médicaments vétérinaires.

➤ Mise en place d'un programme de surveillance des résidus dans les produits aviaires

Pour résoudre le vide juridique, l'Etat doit adopter des textes législatifs et réglementaires régissant l'utilisation des médicaments vétérinaires et le contrôle de leur résidus dans les denrées destinées à l'homme.

Pour l'application de ces textes l'Etat doit adopter une politique de gestion du risque par la mise en place d'une autorité réglementaire, chargée de la mise en œuvre des programmes nationaux de contrôle des résidus de médicaments vétérinaires. D'où la nécessité d'avoir des laboratoires de contrôle bien équipés qui répondent aux normes de qualité en matière de contrôle de résidus pour la fiabilité de leurs résultats et qui ont un personnel qualifié.

La mise en œuvre de ce type de programme et l'équipement des laboratoires nécessite de lourd investissement pour un seul Etat. Aussi doit-on développer ce type de programme dans le cadre de projets régionaux avec l'appui de l'UNION AFRICAINE par le biais du NEPAD ou sous régionaux avec l'appui de l'UEMOA. Cette coopération permettra d'avoir un réseau de contrôle efficace par la mise en place de laboratoires régionaux à l'instar de la CEE. En effet dans le contexte actuel de la mondialisation les produits africains ne pourront plus être compétitifs que s'ils répondent aux normes sanitaires et phytosanitaire fixées par l'OMC.

II-3-2) Recommandations vis à vis des vétérinaires

Les vétérinaires jouent un rôle crucial dans l'utilisation judicieuse des produits de santé animale dont les antibactériens. Les vétérinaires doivent disposer de moyens de diagnostic et d'analyse microbiologique pour la reconnaissance des agents pathogènes leur permettant de choisir des traitements sûrs et efficaces. Ils doivent respecter les règles de bonnes pratiques vétérinaires, en ne vendant pas des médicaments aux aviculteurs sans consultation préalable des animaux et en respectant les doses de prescription.

Les vétérinaires doivent aussi se mobiliser autour de l'Ordre des Docteurs Vétérinaires du Sénégal (O.D.V.S) pour l'obtention de textes régissant la profession et la pharmacie vétérinaire mais aussi la mise en place de textes réglementaires sur l'utilisation des médicaments.

II-3-3) Recommandations vis à vis des aviculteurs

Ils doivent être conscientisés par rapport à l'importance de l'hygiène en aviculture afin de limiter le développement du microbisme d'élevage par une bonne attitude préventive. Ils devraient adhérer aux groupements des aviculteurs pour bénéficier des formations offertes par l'Etat ou les organismes d'appui à l'aviculture. Ces formations leur permettront d'avoir une meilleure organisation et une meilleure sensibilisation aux dangers d'une mauvaise conduite d'élevage.

II-3-4) Recommandations vis à vis des consommateurs

Ils sont les principaux concernés et doivent avant tout avoir une bonne hygiène alimentaire pour exiger des produits de qualité ne représentant pas de danger pour leur santé. A cet égard ils devraient se regrouper en associations de consommateurs fortes pour exiger de l'Etat des contrôles rigoureux des produits qu'ils consomment.

CONCLUSION GENERALE

La demande de plus en plus croissante en protéines animales des populations urbaines en Afrique de l'Ouest, et plus particulièrement au Sénégal, fait que l'élevage intensif des volailles s'est développé ces dernières années.

Ce choix de l'aviculture pour répondre à la forte demande en protéines peut se justifier par son court cycle de production, la richesse en protéine de ses produits (20%) et son coût relativement faible qui s'adapte assez bien au pouvoir d'achat du consommateur moyen.

Toutefois cette production ne se fait pas à vitesse égale sur l'ensemble du territoire sénégalais. Ainsi la zone des Niayes avec ses atouts naturels liés à sa position géographique et sa démographie très galopante, regroupe à elle seule près de 80% de la production nationale de produits aviaires.

Cette production comme toutes les autres productions de denrées alimentaires d'origine animale, est soumise à des contraintes. Ces contraintes sont d'ordre :

- économique par la présence sur le marché de sous produits aviaires de qualité douteuse, mais qui sur le plan financier défient toute concurrence ;
- technique avec un manque de professionnalisme des ouvriers avicoles et une mauvaise organisation de la filière ;
- sanitaire ou hygiénique avec la forte prévalence de pathologies diverses.

Face aux contraintes pathologiques, les producteurs ont de plus en plus recourt à l'utilisation des médicaments vétérinaires soit dans un but préventif ou curatif.

Ces derniers en l'absence du respect des règles d'utilisation peuvent engendrer l'apparition de résidus dans les denrées. La présence de ces résidus dans les denrées constitue un risque d'ordre sanitaire pour le consommateur.

Aussi, dans le but de préserver la sécurité chimique des denrées d'origine animale et de protéger le consommateur, avons-nous envisagé de faire une étude qualitative et quantitative des résidus de médicaments vétérinaires dans les produits aviaires de la zone des Niayes. Mais vu la large gamme de ces médicaments utilisée en aviculture et pour être plus pragmatique, nous nous sommes limités à l'étude de quatre molécules qui pourraient en terme de résidus, présenter un danger potentiel pour le consommateur. Ces molécules sont les nitrofuranes, les sulfamides, les tétracyclines et le chloramphénicol.

Cette étude s'est déroulée sur une période de 11 mois allant de Septembre 2002 à Juillet 2003. Les foies et les gésiers de poulet prélevés au niveau de deux grands marchés, deux abattoirs et douze exploitations de la zone des Niayes et plus particulièrement dans les régions de Thiès et Dakar, constituent les matrices dans lesquelles les résidus ont été recherchés. Au total 49 échantillons dont 21 gésiers et 28 foies ont été prélevés et analysés au laboratoire de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA). AFSSA constitue le laboratoire communautaire de référence pour les contrôles de résidus d'anti-infectieux de la CEE.

Les méthodes utilisées pour les analyses sont toutes développées et validées par l'AFSSA. Deux catégories de méthodes ont été utilisées. La première catégorie concerne les méthodes dites qualitatives ou de suspicion parmi lesquelles il y a la méthode microbiologique STAR et celle de détection des sulfamides par CCM. La deuxième catégorie concerne les méthodes d'identification et de quantification. Quatre méthodes de cette catégorie sont utilisées :

- la méthode de détermination des résidus de nitrofuranes dans les tissus par LC/SM-SM ;
- la méthode de dosage des sulfamides dans le muscle par HPLC ;
- la méthode de recherche et de confirmation de résidus de chloramphénicol dans les matrices d'origine biologique par CG/SM-SM et ionisation négative;

- la méthode de recherche multi résiduelle par LC/MS-MS;

Les résultats d'analyses montrent que **43%** des échantillons contiennent des résidus d'anti-infectieux.

Ces résultats sont alarmants, d'autant plus que les risques sanitaires liés à ces résidus ont été démontrés. Ces risques concernent :

- l'aplasie médullaire avec le chloramphénicol d'où son interdiction au plan international ;
- le cancer notamment avec les nitrofuranes ;
- l'allergie développée surtout par les pénicillines, la streptomycine et les tétracyclines ;
- l'apparition d'antibiorésistance qui est de nos jours le problème majeur en médecine humaine.

Outre ces risques sanitaires, la présence de résidus de médicaments vétérinaires dans les denrées d'origine animale présente un impact économique important dans le cadre des échanges internationaux avec les nouvelles règles sanitaires et phytosanitaires de l'O.M.C. Ceci fait des résidus un problème majeur de santé publique et économique. Il est donc urgent de mener des actions concrètes allant dans le sens de la qualité et de la sécurité sanitaire des denrées d'origine animale. Ces actions interpellent: les pouvoirs publics, les vétérinaires, les producteurs et les consommateurs.

✓ Les pouvoirs publics doivent :

- former leurs agents techniques sur le contrôle de la qualité des médicaments vétérinaires et des résidus dans les denrées ;
- organiser des sessions de recyclage par rapport aux normes et dangers que représentent les résidus ;
- mener des campagnes de sensibilisation auprès des producteurs pour une bonne utilisation des médicaments vétérinaires ;

- mettre sur place un cadre réglementaire et un programme de surveillance des résidus dans les denrées d'origine animale ;
- aider à l'équipement des laboratoires qui ont une expérience dans ce domaine et qui ambitionnent de faire de grandes réalisations allant dans ce sens.
- ✓ Les vétérinaires doivent respecter les règles de bonne pratiques vétérinaires en ne vendant pas les médicaments aux producteurs sans examen préalable des animaux et en respectant les doses de prescription.
- ✓ Les producteurs doivent intégrer les groupements d'aviculteurs pour être formés. En outre ils doivent s'efforcer de respecter les délais d'attente des médicaments vétérinaires avant la mise sur le marché de leurs produits.
- ✓ Les consommateurs doivent s'organiser en association de consommateurs pour réclamer une alimentation saine en exigeant de l'Etat le contrôle régulier des denrées d'origine animale.

Nous avons eu la chance de mener nos activités analytiques dans un laboratoire spécialisé en France.

Selon la stratégie du Directeur de l'E.I.S.M.V, il s'agira de monter progressivement dans notre institution ou ailleurs chez nous, un laboratoire similaire selon nos capacités et en respectant ce que nous avons vu pendant notre stage.

C'est la "*Stratégie en escaliers*" si chère à notre Maître, l'actuel directeur de l'E.I.S.M.V.

BIBLIOGRAPHIE

1) ABIOLA F. A, 2001

Le marché mondial du médicament vétérinaire (synthèse d'une communication de Ceva Santé animale. Utilisation des trypanocides en Afrique subsaharienne, Dakar, Sénégal, du 6 au 9 février 2001. 174p.

2) ABIOLA F. A., 1997

Adéquation formation / emploi: une exigence pour l'amélioration des productions agricoles en Afrique subsaharienne. (203-208) In : actes du séminaire sur l'étude des contraintes au développement des productions animales en Afrique subsaharienne, Abidjan, 18 au 21 Février 1997.- Dakar: E.I.S.M.V.- 382p

3) AERTS M.M.L., 1990.

Residues of veterinary drugs in edible products, an analytical approach, Thesis performed in the department of veterinary drugs of the State Institute for Quality Control of Agricultural Products (RIKILT), Wageningen, The Netherlands. P (20-21)

4) AFSSA, 2000 a

Méthode de recherche et de confirmation des résidus de chloramphénicol dans les matrices d'origine biologique par chromatographie en phase gazeuse avec détection par spectrométrie de masse et ionisation chimique négative. Ref: LMV/01/01

5) AFSSA, 2000 b

Méthode de détermination des résidus de nitrofuranes (métabolites) dans les tissus par CL/SM-SM. Ref: P02/27-FR version 04

6) AFSSa, 2000 c

Méthode de détection et d'identification des résidus d'antibiotiques dans les denrées par CL/SM-SM. Ref: SM/03 107

7) AFSSA, 2000 d

Méthode STAR de détection des résidus d'antibiotiques. Ref: LMV/UCM/P05/11 version 2

8) AFSSA, 1992 a

Méthode de détection des résidus de sulfamides dans le muscle des animaux de boucherie par CCM

9) AFSSA, 1992 b

Méthode de dosage des sulfamide dans le muscle par chromatographie liquide haute performance. Ref: LMV/92/02

10) ANONYMOUS, 1997

"the medical impact of the use of antimicrobials in food animals". Report of WHO Meeting, Berlin, Germany, October 1997, 13-17 WHO/OMC/ZOO/97.4

11) BA M, 2001

La commercialisation des intrants vétérinaires au Sénégal : la situation post-dévaluation et les perspectives.

Thèse: méd. Vét. : Dakar; 3

12) BIAGUI, 2002

Utilisation des médicaments vétérinaires dans la région de Dakar à travers la recherche de résidus de substances à action antimicrobienne (antibiotiques).

Thèse: Méd. Vét.: Dakar;8

13) Billon J., 1981

Recherche, identification et dosage des résidus d'antibiotiques dans le lait. Rec. Med. Vet., 157 (2) : 169-174.

14) BOYE C, 1990

Aviculture au Sénégal: caractéristiques, contraintes et perspectives de développement (199-204). In : CTA-seminar proceedings on smallholder rural poultry production. 9-13 october, Thessaloniki Greece

15) Burgat S.V., 1984.

Allergy and residus. In safety and quality in food, édite par DSA. Elsevier science publicus, Amsterdam : 143-157.

16) Burgat S.V., Rico A.G., 1981.

Bound residues of veterinary drugs : bioavailability and toxicological implications. Ann. Rech. Vet., 133, 277-289.

17) Charm S.E. et Chir R., 1988.

Microbial receptor assay for rapid detection and identification of seven family of antimicrobial drug in milk. J. Assoc. off anal. Chem, 71, n°2, 304-316

18) CODEX ALIMENTARUS, 1995

Résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments. 3 (2); 89p

19) Cohen M., Erturk E., Vonesch A.M., Croveti A.J., George T.B., 1973

Carcinogenicity of 5- nitrofurans, 5- nitroimidazols, 4- nitrobenzens and related compounds. J. N. Cancer. Inst., 51 (12) : 403-417.

20) Delatour p., Garnier F., Benote, Longin C.H., 1984

A correlation of toxicity of albendazole and oxfendazol with their free metabolites and bound residus. J.Vet. pharmacola. Therap., 7 : 139-145.

21) DENIER T, 1991

Etude des résidus d'antibactériens dans les poissons.

Thèse: Méd. Vét. : Alfort; 35

22) DETHIER P., 1987

Etude de la valeur alimentaire et des produits et sous produits disponibles dans l'alimentation des volailles.

Fac. Des Sc. Agrom. De l'Etat. Gembloux (Belgique)

23) Dewdney J.M., Edwards R.G., 1984.

Penicilline hypersensitivity is milk signifiant hasard : a review J. Roy. Soc. Med., 77 : 866-877.

24) BAAJ AJ. LAHLOU-AMINE I, 2002

Antibiorésistance in Animalus 3: 8-15

25) DIOP, 1982

Le poulet de chair au Sénégal: production, commercialisation et perspective de développement.

Thèse: Méd. Vét. : Dakar;8

26) Dixon H. et Katz S.E., 1988.

Drug residue in animal tissue, competitive detect enzyme linked immunosorbent assay for detection of sulfamethazine. Residues in swire urine and muscle tissue. J. Assoc. Off chem., vol.71, n°6,1137-1140.

27) Dobbins N.C., J.R., DVM., 1985.

Pratical antibiotic/Sulfonamide residue detection.

Ann. Assoc. Bovins practitioners, 38-40.

28) EECKHOUTTE M, 1978

Antibiotiques et alimentation humaine.
Rev. Méd. Vét, 129 (5): 717-740

29) Enriquez B, Clauw M.K., 1990.

Toxicité des anti-infectieux chez les animaux de compagnie. Rec. Med. Vét.,
166 (3) : 225-237.

30) F.A.O./O.M.S., 1993

Evaluation des résidus de certains médicaments vétérinaires dans les aliments,
40^{ème} rapport du comité mixte F.A.O./O.M.S d'experts des additifs alimentaires.

31) F.A.O./O.M.S., 1989

Evaluation des résidus de certains médicaments vétérinaires dans les aliments,
34^{ème} rapport, N° 788; Genève.

32) F.A.O./O.M.S., 1984.

Résidus des médicaments vétérinaires dans les aliments, n°32; Rome.

33) FEDERATION DES ACTEURS DE LA FILIERE AVICOLE, 2003

Résumé étude industrie transformation de la volaille
Dakar: FAFA.-9p

34) FEDERATION DES ACTEURS DE LA FILIERE AVICOLE. 2002

Déclaration sur l'aviculture sénégalaise "sauver la filière avicole sénégalaise"
Dakar: FAFA.-4p

35) F.O.R.M.A./S.E.A., 1983.

Etude des résidus à activité antibiotique dans les abats et muscle de porc.
Compte rendu des travaux réalisés dans le cadre d'une convention annuelle entre
F.O.R.M.A et S.E.A., France.

36) HABAMENSHI, 1994

Contribution à l'étude des circuits de commercialisation du poulet de chair au
Sénégal: cas de la région de Dakar
Thèse: Méd. Vet. : Dakar;12

37) HABYARIMANA W, 1998

Contribution à l'étude des contraintes au développement de l'aviculture moderne
dans la région de Dakar: Aspects techniques et institutionnels.
Thèse: Méd. Vet.: Dakar; 18

38) HABYARIMANA F. 1994

Elevage de poulets de chair dans la région de Dakar: structure et productivité.
Thèse: Méd. Vét.: Dakar;38

39) IMAD, 1998

Résidus de nitrofuranes dans la viande de poulet et les œufs.
Thèse: Méd. Vét. : IAV Rabat,98p

40) INFO 7, 2002

Importation de cuisses de poulet. Lundi 21 Octobre 2002 numéro 1207 p6

41) ISO/CEI, 2000

Norme européenne pour les analyses de laboratoire ref: ISO/CEI 17025

42) KABAMB J.T, 1984

Etude de la résistance aux antibiotiques des germes isolés au laboratoire de bactériologie du C.H.U. de Dakar de 1980 à 1982
Mémoire de C.E.S. de maladie infectieuse et spéciale: Université Cheikh Anta Diop. Dakar.

43) KONE PS, 1992

Recherche des résidus de chloramphénicol dans les viandes de ruminants en Côte d'Ivoire: Mise en place d'une méthode analytique.
Thèse: Méd. Vét. : Dakar; 19

44) LABIE, 1981

Positions législatives destinées à éviter la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait. Rec. Méd. Vét., 157 (2), 161-167

45) Lebrgui K., 1992.

Contribution à l'étude des antibiotiques en médecine vétérinaire au Maroc.
Thèse. Med. Vét., I.A.V Hassan II, Rabat.

46) LY C, 2001

Les enjeux d'une politique avicole pour le Sénégal. Communication pour le séminaire de lancement du projet "développement intégré de l'aviculture périurbaine". Dakar le 31 octobre 2001, 13p.

47) MC CALLER, 1974

The mutagenicity of nitrofurans. Mutation research., 26 : 3-16.

48) MILHAUD G, 1985

Les résidus de chloramphénicol et leur toxicité.
Ann. Rech. Vét. 16: 133-148

49) MILHAUD G, 1974

Evaluation de la toxicité des médicaments vétérinaires.
Rec. Méd. Vét., 150(9): 77-781

50) NOUVEL HORIZON, 2002

La filière avicole en danger. Le 11 Octobre 2002, n°354, p27

51) PUYT, 1994

Antibiotiques-Antibiomimétiques.
Notions de base: document de cours.-Nantes: Ecole Nationale Vétérinaire.-196p

52) RERAT A, 1994

Production Alimentaire Mondiale et Environnement Notre avenir en jeu.
Pris: Ed. Lavoisier. Tec. Doc.-101p

53) RICO A.G., 1986.

Médicaments vétérinaires et hygiène publique (ou problème général de sécurité).
Bulletin des G.T.V., 1 : 53-60.

54) RICO A.G., 1984.

Médicaments vétérinaires et sécurité alimentaire, Approche toxicologique. Rev.
Sci. TK, 3 (4); 855-867.

55) Rico A.G., 1983.

Actualités sur l'utilisation des anabolisants en élevage et leurs éventuels dangers
sur l'homme. Nutrition 1ère édit., 9-19.

56) ROZIER J., JOUVE J., CARTIER U., 1982.

Des résidus dans l'alimentation de l'homme, RTVA, 175; 5-21.

57) RUCKEBURSCH Y., TOUTAIN P.L., 1982.

Le médicament vétérinaire. INRA. Actualité scientifiques et organiques, 10 p.

58) SANDERS P, 1998

Résistance aux antibiotiques et traitements thérapeutiques
Bull. Soc. Vét. Prat. De France T82 n°6-7; 327-346

59) SANDERS P. , HURTAUD D, 1995

Guide de validation analytique . AFSSA 19p

60) SAVANE M, 1996

L'aviculture rurale au Sénégal . contrainte et perspectives zoo-économiques.

Cas de la haute Casamance.

Thèse: Méd. Vét.: Dakar;9

61) SENEGAL, 2002

Ministère de l'agriculture et de l'élevage;

Statistique 2001 sur la filière avicole moderne

Dakar: DIREL/CAN.-10p

62) SENEGAL, 2001 a

Direction des douanes

Statistiques 2000 sur l'importation des produits

Dakar: Douanes.-2p

63) SENEGAL, 2001 b

Ministère de l'agriculture et de l'élevage,

Statistiques 2000 sur la filière avicole moderne

Dakar: DIREL/CNA.-10p

64) SENEGAL, 2000

Ministère de l'agriculture et de l'élevage,

Statistiques 1999 sur la filière avicole moderne

Dakar: DIREL/CNA.-10p

65) SENEGAL, 1999

Direction de la prévision et de la statistique, données 1998 sur la répartition de la population sénégalaise.

66) SUISSE, 2001

Résidus de médicaments vétérinaires dans l'alimentation d'origine animale.

Service de Protection de la Consommation. Genève;8p

67) SY K.R, 1996

Souches bactériennes et résistance aux antibiotiques.

Données actuelles au C.H.U. A. Le Dantec de Dakar

Thèse: pharm.: Dakar; 55

68) TCHAO, 2001

Les médicaments vétérinaires dans les pays de l'Union Economique et Monétaire de l'Ouest Africain: aspect législatif.

Thèse: méd. Vét. :Tunis;5

69) TOURE A, 1989

Contribution à l'étude de l'approvisionnement, de la distribution et de l'utilisation des médicaments vétérinaires a u Sénégal.

Thèse: Méd. Vét.: Dakar; 17

70) VINCENT. PAUL C, 1986

Drug induced aplastic anaemia and agranulocytosis incidence and machanisme.

Drug, 31 : 52-63; 85-100.

71) Zeil J.M., 1988.

Contribution à l'étude de l'incidence des résidus du thiabendazole sur les technologies fromagères. Thèse Doc. Vét., Lyon.

PLAN

INTRODUCTION.....	1
-------------------	---

PREMIERE PARTIE: L'AVICULTURE AU SENEGAL ET GENERALITES SUR LES RESIDUS

CHAPITRE I : L'AVICULTURE AU SENEGAL	23
--	----

I-1) AVICULTURE TRADITIONNELLE.....	23
I-2) L'AVICULTURE MODERNE	23
I-2-1) LA PRODUCTION DE POULETS	24
I-2-2) LA PRODUCTION D'ŒUFS DE CONSOMMATION.....	24
I-2-3) CIRCUIT DE COMMERCIALISATION DES PRODUITS AVIAIRES	25
I-2-4-1) Approvisionnement en poussins de 1 jour	27
I-2-4-2) L'alimentation.....	27
I-2-4-3) Matériels avicoles	28
I-2-5) PRIX DES PRODUITS AVIAIRES	28
I-4) CONTRAINTES DE L'AVICULTURE AU SENEGAL	29
I-4-1) PERSONNEL NON QUALIFIE	29
I-4-2) IMPORTATIONS GALOPANTES DE PRODUITS AVICOLES	29
I-4-3) ENVIRONNEMENT FISCAL	31
I-4-4) PATHOLOGIES AVIAIRES.....	31
I-5) LE MARCHÉ DES MÉDICAMENTS VÉTÉRINAIRES.....	32
I-5-1) IMPORTANCE DU MARCHÉ DU MÉDICAMENT VÉTÉRINAIRE EN AFRIQUE.....	32
I-4-2) MARCHÉ DU MÉDICAMENT VÉTÉRINAIRE AU SENEGAL.....	33

CHAPITRE II: GENRALITES SUR LES RESIDUS	38
---	----

II-1) DEFINITION	38
II-2) ORIGINES DES RESIDUS	38
II-2-1) ENVIRONNEMENT.....	39
II-2-2)TRAITEMENT SANITAIRE ET ZOOTECHNIQUE	39
II-2-3) INDUSTRIE ALIMENTAIRE	40
II-2-4)TRAITEMENTS AGRICOLES ET PHYTOSANITAIRES.....	40
II-3) LA FORMATION DES RESIDUS.....	41
II-3-1) LES RESIDUS TOTAUX.....	41
II-3-2) LES RESIDUS BIODISPONIBLES	42
II-3-3) LES RESIDUS LIES	43
II-4) RESIDUS DE MÉDICAMENTS VÉTÉRINAIRES.....	43
II-4-1) DEFINITIONS.....	43
II-4-2) LA DOSE SANS EFFET (D.S.E).....	44
II-4-3) LA DOSE JOURNALIERE ADMISSIBLE (D.J.A)	44
II-4-4)BONNES PRATIQUES D'UTILISATION DES MÉDICAMENTS VÉTÉRINAIRES (BPMV).....	44
II-4-5) LE DELAI D'ATTENTE	45
II-4-6) LA LIMITE MAXIMALE DE RESIDUS (L.M.R)	45
II-4-7) LIMITE MAXIMALE DE RESIDUS POUR LES MÉDICAMENTS VÉTÉRINAIRES (LMRMV)	45

II-5) RISQUES LIES A LA PRESENCE DE RESIDUS DE MEDICAMENTS VETERINAIRES DANS LES DENREES	46
II-5-1) RISQUE CANCERIGENE OU MUTAGENE.....	47
II-5-2) RISQUE ALLERGIQUE.....	48
II-5-3) ANTIBIORESISTANCE.....	49
II-5-4) RISQUE TERATOGENE.....	50
II-5-5) AUTRES RISQUES.....	50
I-5-6) IMPORTANCE D'ORDRE ECONOMIQUE OU COMMERCIALE.....	51
I-6) LEGISLATION DES RESIDUS	52

CHAPITRE III: METHODES DE RECHERCHE ET DE DOSAGE DES RESIDUS D'ANTI INFECTIEUX DANS LES PRODUITS ALIMENTAIRES..... 54

III-1)QUALITES D'UNE BONNE METHODE.....	54
III-1-1) LA PRECISION.....	54
III-1-2) LA SENSIBILITE	55
III-1-3) LA SPECIFICITE	55
III-1-4) LA DETECTABILITE OU LIMITE DE DETECTION.....	55
III-1-5) LE TAUX DE RECUPERATION	56
III-2) CHOIX DE LA METHODE ET OBJECTIFS	56
III-2-1) LES METHODES DE TYPE I	57
III-2-2) LES METHODES DE TYPE II.....	57
III-2-3) LES METHODES DE TYPE III	57
III-3) METHODES DE RECHERCHE ET DE DOSAGE DES RESIDUS D'ANTIBACTERIENS DANS LES VIANDES ET ABATS	58
III-3-1) METHODES MICROBIOLOGIQUES	58
III-3-1-1) Le test sur <i>Sarcina lutea</i> appliqué au cortex rénal.....	58
Principe.....	58
III-3-1-2) Le test sur <i>Bacillus subtilis</i> B.G.A	59
III-3-1-3) La méthode des quatre boites	59
III-3-1-4) la méthode STAR.....	60
III-3-2) METHODE ENZYMATIQUE : METHODE DE «PENZYM».....	61
III-3-3) METHODE RADIO-MICROBIOLOGIQUE (MICROBIAL RECEPTOR ASSAY)«CHARM TEST 11»....	61
III-3-4) METHODE IMMUNO-ENZYMATIQUE TYPE ELISA (DIRECT COMPETITIVE ENZYME, LINKED IMMUNO SOEBENT ASSAY)	62
III-3-5) METHODES PHYSICO-CHIMIQUES	63

DEUXIEME PARTIE: ETUDE DES RESIDUS D'ANTIBACTERIENS VETERINAIRES DANS LES PRODUITS AVIAIRES 64

CHAPITRE I: MATÉRIEL ET MÉTHODES..... 65

I-1) ECHANTILLONNAGE	65
I-1-1) MATERIEL DE PRELEVEMENT	65
I-1-2) ORGANISATION	65
I-1-2-1) choix des sites	66
I-1-2-2) Fréquence des prélèvements	66
I-1-2-3) Conditions des prélèvements	66
I-1-2-4) Technique de conservation	67
I-2) ANALYSE DE LABORATOIRE	67
I-2-1) MATERIEL DE LABORATOIRE.....	67

I-2-1-1 Verrerie	67
I-2-1-2) Réactifs	67
I-2-1-3) Appareils.....	68
I-2-2) METHODES D'ANALYSE DES RESIDUS	70
I-2-2-1) Méthode STAR de détection des résidus d'antibiotiques	73
I-2-2-1-1) Principe.....	73
I-2-2-1-2) Mode opératoire	74
I-2-2-2) Méthode de détection des résidus de sulfamide dans les denrées par CCM.....	79
I-2-2-2-1) Principe.....	79
I-2-2-3-2) Mode opératoire	81
I-2-2-3) Méthode de dosage des sulfamides dans le muscle par HPLC	83
I-2-2-3-1) Principe.....	83
I-2-2-3-2) Mode Opératoire.....	84
I-2-2-4) Méthode de détermination des résidus de Nitrofuranes (métabolites) dans les denrées par LC/SM-SM.....	86
I-2-2-4-1)Principe.....	86
I-2-2-4-2) Mode opératoire	88
I-2-2-5) Méthode de recherche et de confirmation de résidus de chloramphénicol dans les denrées par CG/SM-SM	92
I-2-2-5-1) Principe.....	92
I-2-2-5-1) Mode opératoire	93
I-2-2-6) Méthode de détection et d'identification des résidus d'antibiotiques dans les denrées par LC/SM-SM.....	96
I-2-2-6-1) principe.....	96
I-2-2-6-2) Mode opératoire	96

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSIONS..... 98

II-1 RESULTATS.....	98
II-1-1) RESULTATS DES METHODES QUALITATIVES	98
II-1-1-1) Résultat des analyses par la méthode microbiologique (STAR)	98
II-1-1-2) Résultats des analyses par la méthode CCM sulfamides.....	100
II-1-2)RESULTATS DES METHODES QUANTITATIVES.....	101
II-1-2-1) Résultats des analyses par la méthode HPLC/UV sulfamide	101
II-1-2-24) Résultats des analyses par la méthode CG/SM-SM chloramphénicol.....	101
II-1-2-3) Résultats des analyses par la méthode LC/SM-SM nitrofurane	102
II-1-2-4) Résultats des analyses par la méthode LC/SM-SM multi résidus	104
II-1-3) RESULTATS GLOBAUX.....	106
II-2) DISCUSSION.....	109
II-2-1) CHOIX DES MOLECULES	109
II-2-2) METHODE D'ETUDE	109
II-2-2-1) Choix du site.....	109
II-2-2-2) Echantillonnage.....	110
II-2-2-3) analyse de laboratoire	110
II-2-2-4) Résultats	112
II-3) RECOMMANDATIONS.....	117
II-3-1) RECOMMANDATIONS VIS A VIS DES POUVOIRS PUBLICS	117
II-3-2) RECOMMANDATIONS VIS A VIS DES VETERINAIRES	118
II-3-3) RECOMMANDATIONS VIS A VIS DES AVICULTEURS	119
II-3-4) RECOMMANDATIONS VIS A VIS DES CONSOMMATEURS.....	119

CONCLUSION GENERALE..... 104

ANNEXES

- 1- FICHE DE PRELEVEMENT**
- 2- LISTE DES MOLECULES RECHERCHEES PAR LA METHODE LC/MS-MS MULTI-RESIDUS**
- 3- EXEMPLE DE CHROMATOGRAMME DES RESULTATS PAR HPLC SULFAMIDES**

FICHE DE PRELEVEMENT

➤ **Identification du prélèvement**

Prélèvement effectué par :.....
Date de prélèvement :
Lieu de prélèvement :
Référence du prélèvement:

➤ **Identification du produit**

type: Poulet de chair Poule de réforme

Age :

Origine de l'animal :

➤ **Pièces prélevées :**

intestin Foie Rein Autre Matrice

Préciser.....

Observations particulières :
.....

ETUDE DES RESIDUS DE MEDICAMENTS VETERINAIRES DANS LES PRODUITS AVIAIRES DE LA ZONE DES NIAYES (SENEGAL)

RESUME

La demande de plus en plus croissante en protéines animales des populations urbaines en Afrique de l'Ouest, et plus particulièrement au Sénégal, fait que l'élevage intensif des volailles s'est développé ces dernières années.

Ce choix de l'aviculture pour répondre à la forte demande en protéines peut se justifier par son court cycle de production, la richesse en protéine de ses produits (20%) et son coût relativement faible qui s'adapte assez bien au pouvoir d'achat du consommateur moyen. Cette production comme toutes les autres productions de denrées alimentaires d'origine animale, est soumise à des contraintes. Ces contraintes sont d'ordre :

- économique par la présence sur le marché de sous produits aviaires de qualité douteuse, mais qui sur le plan financier défient toute concurrence ;
- technique avec un manque de professionnalisme des ouvriers avicoles et une mauvaise organisation de la filière ;
- sanitaire ou hygiénique avec la forte prévalence de pathologies diverses.

Dans le but de contribuer à la sécurité chimique des denrées animales et de protéger le consommateur, nous avons entrepris une étude qualitative et quantitative des résidus d'antibactériens dans les produits aviaires. Les résultats d'analyses montrent que **43%** des échantillons contiennent des résidus d'anti-infectieux à des taux dépassant parfois les L.M.R.

Ces résultats sont alarmants, d'autant plus que les risques sanitaires liés à ces résidus ont été démontrés. . Ces risques concernent :

- l'aplasie médullaire avec le chloramphénicol d'où son interdiction au plan international ;
- le cancer notamment avec les nitrofuranes ;
- l'allergie développée surtout par les pénicillines, la streptomycine et les tétracyclines ;
- l'apparition d'antibiorésistance qui est de nos jours le problème majeur en médecine humaine.

Il est donc urgent de mener des actions concrètes allant dans le sens de la qualité et de la sécurité sanitaire des denrées d'origine animale. Ces actions interpellent les pouvoirs publics, les vétérinaires, les producteurs et les consommateurs.

Mots clés : Aviculture - Médicaments vétérinaires - Résidus - Sénégal

Adresse de l'auteur : 50 Avenue du Président Lamine Gueye Dakar Sénégal

E.mail : diopmaodomalick@yahoo.fr