

Les résidus d'antibiotiques dans la chair des poulets au Liban / C. Hilan, R. Kibeissy, Y. Roupael. — Extrait de : Annales de recherche scientifique. — n° 1 (1998), pp. 243-251.

Bibliographie. Tableaux.

I. Echantillonnage — Liban. II. Antibiotiques — Résidus. III. Médicaments vétérinaires — Résidus dans les aliments. IV. Antibiotiques en médecine vétérinaire. V. Poulets — Liban.

Kibeissy, R.. — Roupael, Y.

PER L1049 / FA56156P

## **LES RÉSIDUS D'ANTIBIOTIQUES DANS LA CHAIR DES POULETS AU LIBAN**

C. HILAN  
R. KOBEISSY  
Y. ROUPHAEL

### **RÉSUMÉ**

L'usage des antibiotiques dans le domaine avicole est très répandu dans le monde et surtout au Liban.

L'objectif de cette étude est de détecter la présence des résidus d'antibiotiques chez les poulets de chair et d'identifier ces antibiotiques qui se retrouvent dans la chair et les abats des poulets.

L'utilisation aléatoire de ces antibiotiques, en l'absence d'une vigoureuse application de la législation au Liban, ne peut qu'être néfaste pour la santé du consommateur.

Le travail s'est focalisé sur la détection des antibiotiques au niveau de la chair et des abats des poulets durant la période s'étalant du mois de Mai jusqu'à Juin 1996. La méthode microbiologique a été appliquée. Elle consiste à faire diffuser l'antibiotique éventuel de l'aliment dans une gélose nutritive (MUELLER-HINTON), préalablementensemencée avec un germe déterminé, et à rechercher l'effet sur la croissance de cette souche pour sa sensibilité aux antibiotiques. La souche-test utilisée dans ce mémoire est: le *Bacillus Mégatérium*. Les résultats positifs ont été confirmés par une détection sur le chromatographe liquide de haute performance (HPLC).

Des 101 échantillons examinés, collectés des différentes Mohafazats, une moyenne de 25 de chaque région, 11 se sont avérés contenir des antibiotiques; 11 % environ des poulets consommés au Liban sont donc contaminés d'antibiotiques.

## INTRODUCTION

L'usage des antibiotiques dans le domaine avicole se révèle aujourd'hui indispensable, non seulement pour des besoins préventifs et curatifs, mais aussi pour des besoins économiques, afin d'accroître la productivité des poulets de chair. Cependant, l'usage abusif et non contrôlé de ces antibiotiques dans les rations alimentaires est dangereux, car il se répercute sur la santé du consommateur.

L'un des problèmes majeurs qui occupe les services spécialisés agricoles dans les pays du monde entier est le contrôle sérieux et continu des résidus des antibiotiques dans la chair des poulets. Au Liban, le problème est grave parce qu'aucune réglementation qui concerne l'usage des antibiotiques et le respect de la durée de rémanence n'est appliquée; ce qui aboutit à un risque de contamination par les antibiotiques très élevé.

Les fermes des poulets de chair sont actuellement de véritables usines où le poulet est traité comme une matière première élaborée grâce à une alimentation scientifiquement calculée, additionnée d'antibiotiques spécifiques, pour les transformer en produits finis (viande). Mais ces techniques et ces méthodes non contrôlées risquent d'avoir des répercussions sur la santé du consommateur.

Généralement les antibiotiques peuvent être ajoutés aux aliments des poulets de chair dans différents buts:

- Soit comme produits thérapeutiques (PATTISSON, 1988), à titre curatif ou prophylactique, pour combattre les infections spécifiques; dans ce cas les antibiotiques sont utilisés à fortes doses.

- Soit comme suppléments médicamenteux dans les aliments (HULTON, 1984) c'est-à-dire ayant un rôle de stimulant de croissance et permettant une bonne utilisation des aliments. Les antibiotiques sont utilisés à faible dose. Ce supplément alimentaire est largement répandu dans les élevages avicoles libanais, où il est utilisé à partir de prémélanges à 10% d'antibiotiques (PREMIX) (BILLOND et TAO, 1980).

- Soit comme additifs pour la conservation alimentaire. Cette pratique est interdite en Europe, mais autorisée aux USA et Canada pour la chlortetracycline, l'oxytetracycline et la chloramphénicol (HULTON, 1984).

L'action combinée de plusieurs antibiotiques, l'addition d'agents chimiques de conservation (Sorbates) ou même l'adjonction des radiations

ionisantes ont été même proposées. Cette pratique est fort peu répandue au Liban.

Dans l'administration des antibiotiques, il faut prendre en considération leur durée de rémanence, c'est-à-dire la période qui va du moment du dernier traitement au moment de l'abattage. Si cette condition n'est pas respectée, un grand problème sanitaire se posera aux consommateurs, à cause du taux résiduel des antibiotiques qui dépasse la concentration admise et qui peut avoir des effets néfastes pour l'homme (MOORMAN et KOEIN, 1992). Les résidus d'antibiotiques dans la chair des poulets et leurs abats risquent d'entraîner chez l'homme plusieurs nuisances possibles: allergies, interactions microbiologiques, dangers de toxicité et possibilité de sélection de souches résistantes aux antibiotiques (BURGAT, 1984).

Les effets directs sont des accidents liés à la destruction des flores commensales et à une substitution de flores résistantes ou des levures qui aboutit à des troubles de transit et à des lésions cutanéomuqueuses. D'autres accidents sont aussi observés: diarrhée, troubles hépatiques, rénaux, sensoriels, hématologiques. Ces accidents peuvent survenir directement avec les doses éventuellement présentes dans les aliments (FRANÇOIS, 1969).

Les effets indirects, surtout des accidents d'ordre allergique, sont dus à des phénomènes de sensibilisation survenant chez l'homme à la suite d'une première administration de l'antibiotique. Cette action allergogène est surtout marquée pour les bêta-lactamines (groupe de pénicillines), sulfamides, chloramphénicol et les tétracyclines. Elle se manifeste par l'urticaire, l'œdème de Quincke, les éruptions cutanées et les accidents sanguins; ces derniers sont plutôt dus au chloramphénicol. (BURGAT, 1984).

Par ailleurs, les micro-organismes résistants à un certain antibiotique peuvent quelquefois être résistants à d'autres qui ont un même mécanisme d'action, ou qui ont des structures chimiques semblables. Dans certaines classes d'antibiotiques, le noyau actif de la substance est si proche de ses autres congénères qu'il faut s'attendre à une résistance croisée extensive (ex.: Tétracycline).

Les effets défavorables des antibiotiques sur la santé publique sont accentués au Liban, par la vente de toutes sortes d'antibiotiques délivrés à l'agriculteur d'une façon entièrement libre et utilisés sans contrôle, ce qui aboutit à une utilisation arbitraire et à des conséquences néfastes sur le poulet, et par conséquent sur la santé du consommateur.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les échantillons prélevés sont surtout: la chair de poulet qui comprend la poitrine ou la cuisse, et les abats, plus précisément le foie, où la plupart des antibiotiques sont métabolisés. Ils sont envoyés aseptiquement et sous réfrigération au laboratoire.

La prise des échantillons a été faite dans plusieurs fermes et abattoirs répartis dans les différentes Muhafazats libanaises. 25 échantillons de chair de poulets et 25 échantillons de foie de poulets ont été prélevés de chaque région, faisant un total de 200 échantillons. Les noms des fermes ont été relevés dans l'inventaire des abattoirs des différentes régions. La méthode de diffusion sur gélose a été utilisée:

5g de l'échantillon de chair ou du foie de poulet, sont broyés dans un homogénéisateur et 100µl sont placés dans une cavité creusée dans la gélose de MUELLER HINTON (ph. 6,6)ensemencée d'une souche de bactérie de référence. Un disque de papier filtre est imprégné avec le produit à examiner puis déposé sur la gélose ensemencée. La lecture se fait après 24 heures d'incubation à 37°C par la mesure de la zone claire autour du disque ou de la cavité démontrant la présence d'un antibiotique dans l'échantillon. Un disque imprégné d'antibiotique est toujours utilisé comme témoin pour s'assurer que la gélose est convenablement ensemencée.

Les souches bactériennes de référence utilisées sont des souches isolées, identifiées et lyophilisées au laboratoire de Fanar: *Staphylococcus aureus* ATCC 9592 (isolé d'un patient), *Staphylococcus aureus* ATCC 8532 (isolé d'un poulet), *Lactobacillus acidophilus* (isolée du lait) et *Bacillus megaterium* (isolée du sol). La concentration bactérienne propice utilisée est entre  $10^4$  et  $10^5$  bactéries/ml. Elle donne des cultures homogènes minces et une inhibition maximale avec un contour net en présence de l'antibiotique adéquat. Les solutions d'antibiotiques utilisées pour la comparaison sont les suivantes: Pénicilline, Tylosine, Chloramphénicol, Erythromycine, Neomycine, Oxytetracycline, à la dilution optimale de 0,1µg/µl d'eau distillée.

L'extraction de l'antibiotique de la chair ou du foie de poulet se fait comme suit: 5g de l'échantillon sont broyés dans 19 ml de Methanol et 2ml de «Tris» (Trihydroxymethyl aminomethane). Après centrifugation du mélange (300 t /mn pendant 10 minutes), le surnageant est soumis à une évaporation à 65°C, car le methanol a un effet inhibiteur sur l'organisme test (surtout le

*Bacillus megatherium*). 100µl du liquide restant après évaporation complète seront déposés dans une cupule de la gélose préparée dans la boîte de pétri. L'incubation se fait pendant 24 heures à 37°C. Une zone d'inhibition de 10mm et plus indique la présence d'antibiotique dans l'échantillon.

Un résultat considéré positif par l'inhibition de la culture à la surface de la gélose tout autour du disque ou de la cavité où l'échantillon est mis, sera confirmé par la méthode physico-chimique, par la chromatographie en phase liquide de haute performance HPLC, qui permet de déterminer et de quantifier l'antibiotique présent dans l'échantillon (HPLC, type Perkin Elmer, avec des colonnes pecospher C18 (3×3 cm) ou C18 (15×4 cm).

Voici les antibiotiques qui ont été déterminés par HPLC: Oxytétracycline, Tétracycline, Chlortétracycline, Penicilline G, Ampicilline et Chloramphénicol. Les standards utilisés sont de Sigma chemical Co, St Louis, USA. Ils sont dilués au 100µg/ml dans du méthanol. Cette solution de stockage est diluée à 10µg/ml pour former la solution de travail dans le tampon Mac Ilvain (acide citrique 21g/litre d'eau distillée + 624ml phosphate de sodium (28,4g/litre). ph 4.

Pour les tétracyclines, la phase mobile est constituée de: A) Méthanol: Acetonitrile (2:3) et B) 0,01M d'ac.oxalique. Chaque 1g d'échantillon est broyé et mélangé avec 2ml de la solution Mc Ilvain puis centrifugé. Le surnageant est recueilli. Le même processus est répété une seconde fois avec le sédiment. Les cartouches d'extraction C18,1 ml sont conditionnées au (2×1ml) Méthanol et eau distillée (2×1ml). La phase mobile utilisée est A/B: 37/63. Le débit est 1ml/nm. Le détecteur UV est réglé à 360 nm. la colonne C8 3×3cm. L'élution est faite par de l'acide oxalique méthanolique. 100µl de l'éluant sont injectés.

Pour les Pénicillines et chloramphénicol, la phase mobile est A: Méthanol et B: 0,02µ acétate d'ammonium. On ajoute 0,5% d'acétonitrile au mélange le Ph est fixé à 4. 15g de l'échantillon sont broyés et bien mélangés à 15ml de la solution Mc Ilvain puis centrifugés. Le surnageant est recueilli et le même processus est répété une seconde fois avec le sédiment additionné de 5ml de la solution Mc Ilvain. Les cartouches d'extraction C18,3ml sont conditionnées au Méthanol (3×3ml), à l'eau distillée (3×3ml) avec 1ml Nacl 2%. L'élution utilisée est 3ml méthanol 20% et 3ml méthanol 40%. 50µl de l'éluant sont injectés utilisant la phase mobile A/B:30/70, débit 1ml/mn, détecteur UV:210mn. colonne C18 (15×4cm).

## RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les résultats des 200 échantillons soumis à l'analyse microbiologique sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau n°1. Diamètre d'inhibition et résultats des échantillons recueillis des fermes des 4 Mohafazats (Békaa, Liban-Nord, Mont-Liban, Liban-Sud)

Mohafazat	N° de la ferme	Diamètre d'inhibition en cm muscle abat	Résultats muscle abat	Total
Békaa				3
	2	0		1
	5	1cm	+	2
			+	
Liban-Nord				2
	1	1,3	+	1
	16	0	+	1
		1,4		
		0		
Mont-Liban				3
	2	1	+	1
	3	0	+	1
	13	2		1
		0		
		0		
		1		
Liban-Sud				3
	10	2,1	+	1
	12	0	+	1
	19	2,6	+	1
		0		
		1,5		
		0		
Total		8	3	11

Sur les 200 échantillons analysés, 11 (5,5%) se sont avérés contenir des antibiotiques par la méthode microbiologique reconnue par le Codex Alimentarius soit: 3 dans la Békaa, 2 au Liban-Nord, 3 au Mont-Liban et 3 au Sud-Liban.

Les 11 échantillons qui se sont avérés contenir des antibiotiques ont été soumis à l'analyse chromatographique liquide, 3 d'entre eux ont donné des résultats positifs signifiant la présence de tétracycline, de pénicilline et de chloramphénicol (Voir tableau n°2).

En ce qui concerne la détection des autres antibiotiques, elle s'est avérée impossible et cela à cause de la programmation d'une gamme d'antibiotique très restreinte dans le HPLC.

Tableau n°2. Les résultats positifs obtenus par le HPLC

N° de l'échantillon	Type de l'échantillon	Présence de tétracycline	Présence de pénicilline + chloramphénicol
1	chair	+	-
2	chair	-	+
3	abat	-	+

La méthode utilisée est une combinaison de la méthode de diffusion en gélose avec utilisation de *Bacillus megaterium* et de la méthode chromatographique liquide de haute performance. Bien que cette méthode soit la plus efficace, la détection des antibiotiques semble être jusqu'à présent une analyse très compliquée:

\* En effet, la méthode microbiologique rapide et simple, reste une méthode qui ne permet pas d'identifier, ni de doser l'antibiotique, bien que la souche-test *Bacillus Mégatérium* puisse détecter une large gamme de ces substances.

\* Quant au HPLC, son efficacité est incontestable. Pourtant il reste un matériel très complexe à gérer. Pour détecter les antibiotiques par exemple, une gamme très restreinte est programmée, vue l'impossibilité de détecter toute la gamme d'antibiotiques existante.

Il reste à mentionner que parmi les 11 échantillons ayant donné des résultats positifs, 8 proviennent de la chair de poulet et 3 des abats et plus précisément du foie ce qui montre que la dégradation des antibiotiques au niveau du foie est plus rapide que celle au niveau de la chair.

Dans tous les cas, 8% des chairs de poulets et 3% des abats contiennent en principe des antibiotiques. Ces taux sont considérés élevés, et d'une répartition presque analogue dans toutes les régions libanaises.

## CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

L'usage des antibiotiques est très répandu au Liban, comme partout dans le monde. Cependant l'absence de surveillance et l'utilisation arbitraire et non rationnelle de ces additifs peuvent avoir des conséquences néfastes sur le consommateur. C'est pourquoi certaines recommandations peuvent être données:

- Utiliser des antibiotiques en cas de maladie et non pas d'une façon chaotique.
- Employer les antibiotiques certifiés dont l'efficacité a été contrôlée.
- S'assurer du respect de la durée de rémanence c'est-à-dire arrêter l'administration des antibiotiques quelques jours avant l'abattage, selon la dose de l'antibiotique, pour ne pas avoir des résidus d'antibiotiques dans la chair et les abats des poulets.
- Interdire la vente libre des antibiotiques, pour cela la présence du vétérinaire devrait être obligatoire.

Le rôle de l'État dans la prévention de ces problèmes semble être primordial, car sans une politique sérieuse et planifiée de l'État Libanais, aucune solution ne peut être envisagée. Le Ministère de l'Agriculture devrait appliquer une législation stricte dans le domaine avicole où certaines lois émises régiraient l'administration des antibiotiques pour les poulets de chair. Cette législation serait appliquée d'une manière sérieuse et rigoureuse; des inspecteurs du ministère de l'Agriculture devraient effectuer des prélèvements périodiques des différentes régions du territoire libanais, afin que le contrôle soit efficace et continu.

Dans l'espoir que dans les années qui viennent, le producteur libanais parviendra à assurer lui-même un auto-contrôle qui consiste à veiller à la salubrité des aliments et à promouvoir, par conséquent, la production avicole libanaise sur le marché mondial.

## BLBLIOGRAPHIE

- BILLON, J. et TAO, S.H., Décembre 1980, Recherche des antibiotiques et des résidus de substances à activité antimicrobienne dans les aliments, dans *revue TRVA*, N°164, 200pages.
- BURGAT, V., 1984, Allergy and residues, dans *Safety and Quality in food*, DSA-Elsevier Science publishers, Amsterdam, 121pages.
- FRANÇOIS, A.C., 1969, *Antibiotiques en agriculture* (comptes rendus du 5<sup>e</sup> symposium du groupe Européen de nutritionnistes à Jauby-en-Josas, 25-27 Avril 1966), Basel, (Suisse), New York, 414 pages.
- HULTON, J.L. (Coord.), 1984, *Additifs en auxiliaires de fabrication dans les industries agro-alimentaires*, Paris, 329 pages.
- MOORMAN, M., KOEING., 1992, Antibiotics residues and their implications in foods, dans *revue SCOPE*, Volume 7, Issue 1, USA, January, 293 pages.
- PATISSON, M., 1988, *The health of poultry*, Longman Scientific & Technical, (s.1), 253 pages.
- Journal officiel des communautés Européennes, Directive du conseil du 14 Juin 1989 (89/397/CEE), N° 186, Juin 1989, 210 pages.