

ECOLE INTER - ETAT DES SCIENCES
ET MDECINE VETERINAIRES DE
DAKAR (E.I.S.M.V)



ANNEE 2011

N° 15

**Détection des résidus d'antibiotiques dans les
viandes de bovins prélevées aux abattoirs de Dakar**

MEMOIRE DE MASTER QUALITE DES ALIMENTS DE L'HOMME

Spécialité : Produits d'origine animale

Présenté et soutenu publiquement le 07/12/2011 à 16 heures

à l'Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine vétérinaires (EISMV) de Dakar

Par :

KANTATI Yendubé Touguelighan

MEMBRES DU JURY :

PRESIDENT :

M. Louis Joseph PANGUI

Professeur à L'EISMV de Dakar

MEMBRES:

M. Bhen Sikina TOGUEBAYE

Professeur à la FST de l'UCAD

M. Germain SAWADOGO

Professeur à L'EISMV de Dakar

DIRECTRICE DE RECHERCHE :

Mme Rianatou BADA-ALAMBEDJI

Professeur à L'EISMV de Dakar

A l'Éternel mon Dieu,

Pour toutes les bénédictions et les grâces dont tu m'as comblé durant mon séjour à Dakar,

Pour ton amour inaltérable envers ma modeste personne,

Pour ce travail que tu nous as permis de réaliser,

Que ton nom soit sanctifié à jamais !

Mon avenir est loin d'être un grand souci pour moi car je sais que tu es là et que tu ne m'abandonneras jamais.

Que ce travail soit pour ta seule gloire. Amen !

DEDICACES

A mon Père et à ma mère,

Vous qui n'avez cessé de vous sacrifier pour mon bonheur, trouvez en ce travail toute mon affection. Que l'Eternel vous accorde une longue vie afin que vous puissiez jouir des fruits de vos efforts.

A mes frères et sœurs,

En reconnaissance de votre soutien moral et matériel durant mes années d'études, trouvez ici l'expression de mes sincères remerciements.

Au Colonel KONLANI Nagoure, Officier Supérieur des FAT

Veillez trouver en ce travail le témoignage de toute ma gratitude.

A Mr Kadialy COLY et aux familles SAGNA, DIEDHIOU

et GOUDIABY du quartier Fass

Trouvez en ce travail l'aboutissement de tous les efforts consentis pour moi et la preuve que je ne vous oublierai jamais.

A Mlle Christine BANGUENARE

Pour ta présence ô combien réconfortante à mes côtés.

A toutes les personnes qui me sont chères,

En particulier au **Commandant Michel BISSAKONOU** des Forces Armées Centrafricaines, à **Mlle Lucie FRANK**, à **Mr et Mme DIMBAN**, à **Mr Ismaël SOUGUITI**, qui n'ont cessé de m'apporter leur soutien durant mon séjour à Dakar.

REMERCIEMENTS

De nombreuses personnes que nous tenons à remercier ont participé à la réalisation de ce travail de Master.

Je souhaite remercier en premier le Professeur **Rianatou BADA-ALAMBEDJI** pour avoir bien voulu diriger ce travail. Être élève à vos côtés a été une expérience très enrichissante. Simplement merci.

Mes remerciements vont ensuite au Professeur **Malang SEYDI** pour vos exceptionnelles qualités d'enseignant et de pédagogue. Veuillez trouver ici cher Maître, le témoignage de notre sincère gratitude.

Mes remerciements aussi au **Dr Mamadou NDIAYE**, Vétérinaire et Directeur Technique de la SOGAS. Par vos conseils, notre stage au sein de votre structure s'est déroulé sans encoche.

Ma reconnaissance va également à tout le personnel de la SOGAS pour la diligence dont vous avez fait preuve à mon égard, me facilitant notamment l'apprentissage et surtout l'échantillonnage. Je remercie spécialement **Mr Ousseynou Samba Diouf** (Responsable Maintenance), **Mr Tambédou** (Responsable Production) et **Mr COLY** (Technicien du froid).

Je remercie aussi tout le personnel du service d'inspection des abattoirs de Dakar, notamment le **Dr DAT** et ses collaborateurs dont **Mr THIAM**, **Mr DIOP**, **Mr DIOUF** pour votre participation plus qu'active durant le prélèvement des échantillons sur les carcasses et pour avoir bien voulu compléter mes connaissances en inspection sanitaire des animaux de boucherie.

Ce travail n'aurait jamais pu aboutir sans les précieux concours de **Mr Moussa SENE** (Technicien de laboratoire) et du **Dr Philippe KONE** du Département de Microbiologie et Immuno-pathologies Infectieuses (MIPI) de l'EISMV. Nous vous en sommes infiniment reconnaissants et vous exprimons notre sincère gratitude.

Enfin, je souhaite également remercier mes collègues de Master, spécialement le **Lieutenant El Hadj Madiane SAWARE**, **Mlle Jael GBOSSA**, **Dr Prisca N'DOUR**, **Mlle Fatou THIAM**, **Dr Chantal BIAGUI**, **Mr Eric KALY** et **Mr Benoît NIYIBIZI**.

HOMMAGES A NOS MAITRES ET JUGES

A notre maître et président de jury, Louis Joseph PANGUI, Professeur à l'EISMV de Dakar

Vous avez accepté avec spontanéité de présider ce jury de mémoire malgré votre calendrier très chargé. Vos qualités scientifiques et intellectuelles ne sont plus à démontrer. Veuillez trouver ici l'expression de notre profonde gratitude.

A notre maître et juge, Monsieur Bhen Sikina TOGUEBAYE, Professeur à la Faculté des sciences et Techniques de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar

C'est un énorme privilège pour nous que vous soyez présent dans ce jury. Votre amour du travail bien fait et votre rigueur d'homme de science vous ont toujours distingué. Veuillez croire en notre très haute et profonde considération.

A notre maître et juge, Monsieur Germain Jérôme SAWADOGO, Professeur à l'EISMV de Dakar

Vous nous faites un très grand honneur en acceptant de juger ce modeste travail. Vos qualités scientifiques, pédagogiques, et votre capital d'expérience nous ont beaucoup servi durant nos études de Master. Veuillez trouver ici l'expression de notre respect et profonde gratitude.

A notre maître et Directrice de Mémoire, Madame Rianatou BADA-ALAMBEDJI, Professeur à l'EISMV de Dakar

Vous avez accepté de guider ce travail avec une main rationnelle. Pour nos premiers pas dans la recherche, vos conseils, votre simplicité, vos énormes qualités scientifiques et votre rigueur nous ont éclairées. Nous garderons de vous le souvenir d'un maître humble, dévoué et totalement engagé pour la recherche. Soyez assuré de notre reconnaissance

RESUME

La présente étude a été réalisée dans le but d'actualiser les données existantes sur la présence des résidus d'antibiotiques dans les viandes bovines provenant des abattoirs municipaux de Dakar. L'approche méthodologique adoptée a consisté dans un premier temps à un échantillonnage au niveau des abattoirs. Ces échantillons de viande bovine ont ensuite été analysés à l'aide d'un test biologique standardisé sous forme de kit, le Premi®Test.

A l'issue de cette étude, sur 186 échantillons analysés 95 se sont avérés positifs. 51% des échantillons contiendraient donc des résidus d'antibiotiques rentrant dans le spectre de sensibilité du Premi®Test (Macrolides, Tétracyclines, Sulfamides, β -lactamines) et à des concentrations supérieures ou égales aux LMR. Parmi ces échantillons positifs, 29 (soit 30,5%) provenaient d'animaux élevés en mode semi-intensif tandis que 66 (soit 69,5%) provenaient de bovins extensifs.

En somme, les viandes provenant des abattoirs municipaux de Dakar sont contaminées par des résidus d'antibiotiques, un danger chimique. Ce qui pose clairement un problème de santé publique vu l'importance des abattoirs municipaux dans le ravitaillement en viande des marchés de Dakar. Des mesures doivent donc être prises à plusieurs niveaux par les acteurs de la filière (pouvoirs publics, vétérinaires, techniciens et éleveurs) pour garantir la sécurité sanitaire des DAOA.

Mots clés : Résidus, Antibiotiques, Premi®Test, LMR, Semi-intensif, Extensif, Sécurité, DAOA

ABSTRACT

This study was conducted in order to update the existing data on the presence of antibiotic residues in beef from Municipal abattoirs of Dakar. The methodological approach adopted was initially to sampling at the slaughterhouses. These samples of beef were then analyzed using a standardized bioassay kit called “Premi®Test”.

Test results show that 95 of 186 samples tested were positive. 51% of samples contained residues of antibiotics, therefore falling within the range of sensitivity of the Premi ® Test (macrolides, tetracycline, sulfonamides, β -lactams) and at concentrations greater than or equal to the MRLs. Among these positive samples, 29 (30,5%) came from animals raised in semi-intensive, while 66 (69,5%) came from extensive cattle.

In short, the meat from the municipal abattoirs of Dakar is heavily contaminated with residues of antibiotics, a chemical hazard. This is clearly a public health problem, given the importance of municipal slaughterhouses in the supply of meat markets of Dakar. Measures must be taken at various levels (public authorities, veterinarians, breeders and technicians) to ensure the safety of beef.

Keywords: Residues, Antibiotics, Premi®Test, MRL, Semi-Intensive, Extensive, Security, Beef

LISTE DES ABREVIATIONS

AFNOR : Agence Française de Normalisation

AFSSA : Agence Française pour la Sécurité Sanitaire des Aliments

CAF : Calcium Activated Factor

CEE : Communauté Economique Européenne

DAOA : Denrée alimentaire d'origine animale

DIREL : Direction de l'Elevage

FAO : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

IPD : Institut Pasteur de Dakar

ISO : International Standards Organisation

LMR : Limite Maximale de Résidus

OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Economique

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

OIE (OMSA) : Organisation Mondiale de la Santé Animale

SOGAS : Société de Gestion des Abattoirs du Sénégal

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Gammes de colorations du « Premi®Test »	18
Figure 2 : Exemples de résultats négatifs au PremiTest	21
Figure 3 : Exemples de résultats négatifs au PremiTest	21
Figure 4 : Résumé des résultats d'analyse avec le PremiTest	22

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Composition de 100 grammes de viandes cuites de divers muscles de bovins	4
Tableau II : Production locale de viandes et d'abats.....	7
Tableau III : Exemples d'antibiotiques et leurs modes d'utilisation en production animale.....	9
Tableau IV : Seuils de détectabilité des principales familles d'antibiotiques par le Premi®Test par rapport aux LMRs dans le muscle	13
Tableau V : Statistiques d'abattage de la SOGAS de Janv-Oct 2011	19
Tableau VI : Composition de l'échantillon en fonction du mode d'élevage.....	20
Tableau VII : Répartition des échantillons positifs en fonction du mode d'élevage.....	22

ANNEXES

Annexe : Résultats bruts des analyses au Premi®Test.....	32
---	----

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
REVUE DE LA LITTERATURE	3
I. La viande	3
1. Définition et typologie.....	3
2. Composition et intérêt nutritionnel de la viande	4
2.1. Composition.....	4
2.2. Intérêt nutritionnel	5
3. Qualités que doit présenter une bonne viande	5
3.1. Caractéristiques implicites.....	5
3.2. Caractéristiques explicites.....	6
4. Production de viande au Sénégal.....	7
II. Résidus de médicaments vétérinaires	8
1. Définition.....	8
2. Objectifs poursuivis lors de l'utilisation des antibiotiques chez les animaux de production	8
3. Formation des résidus d'antibiotiques dans les 4. organismes des animaux de production	9
5. La limite maximale de résidus (LMR)	10
6. Toxicité des résidus d'antibiotiques	11
III. Méthodes de détection des résidus d'antibiotiques dans les DAOA	12
1. Les tests de dépistages.....	12
1.1. Les tests biologiques.....	13
• Cas du Premi®Test.....	13
1.2. Les tests physico-chimiques	14
2. Les tests de confirmation	14
ETUDE EXPERIMENTALE	16
I. Matériel et méthodes	16
1. Cadre d'échantillonnage.....	16
2. Matériel biologique	16
3. Matériel pour la détection des résidus	16
4. Protocole expérimental	16
4.1. Plan d'échantillonnage.....	16
. Choix des animaux.....	16
. Nombre d'échantillons	17

4.2. Prélèvement et stockage.....	17
5. Analyse des échantillons	17
5.1. Principe de la méthode	17
5.2. Traitements des échantillons.....	18
6. Analyses statistiques.....	18
RESULTATS	19
1. Statistiques des abattages aux abattoirs municipaux de Dakar	19
2. Composition de l'échantillon obtenu.....	20
3. Résultat des analyses avec le Premi®Test	20
3.1. Résultats globaux	20
3.2. Facteur mode d'élevage	22
DISCUSSION.....	23
1. Limites de l'échantillonnage	23
2. Composition de l'échantillonnage.....	23
3. Résultats du PremiTest.....	23
3.1. Résultats globaux	23
3.2. Facteur mode d'élevage	25
CONCLUSION.....	26
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	27
ANNEXES	32



INTRODUCTION

Les antibiotiques, utilisés en clinique depuis les années 1940, constituent une étape importante dans l'histoire de la médecine. Leur usage en médecine humaine et vétérinaire dans un but thérapeutique a constitué pendant longtemps une arme efficace contre de nombreux germes pathogènes. Cependant, l'usage généralisé, voire abusif de certains antibiotiques, en traitement curatif, préventif ou en complémentation dans l'alimentation animale a conduit au développement de populations de microbes antibiorésistants (Endtz et al., 1991 ; Allen et al., 1992 ; Zhang et al., 2003), à une augmentation du risque nosocomial et même à une possible augmentation significative du risque de contracter certains cancers (Dobson, 2008).

Il apparait donc clairement que l'utilisation des antibiotiques en santé et en alimentation animale doit être étroitement surveillée par l'instauration de véritables programmes dans tous les pays. Au Sénégal depuis près d'une dizaine d'années, l'Ecole Inter états des Sciences et Médecines Vétérinaires (EISMV), ainsi que l'Institut Pasteur de Dakar (IPD) ont entrepris une série d'études visant à sortir le sujet de l'ombre et à attirer l'attention de tous les acteurs de la filière animale sur la présence des résidus d'antibiotiques dans les denrées. La dernière étude en date de 2003, réalisée par l'IPD avait ainsi révélée la présence de résidus d'antibiotiques dans 42 % des échantillons de viande bovine. Les résultats de ces études ont été présentés lors d'une conférence de l'OIE tenue à Dakar du 25 au 27 mars 2008 sur les médicaments vétérinaires en Afrique (OIE, 2008). Au terme de cette conférence, 17 recommandations ont été formulées. La 10^{ème} recommande aux pays membres de l'OIE de favoriser le contrôle des résidus des produits médicaux à usage vétérinaire dans les denrées alimentaires d'origine animale en accord avec les normes établies par le Codex alimentarius et avec le soutien des bailleurs de fonds et des sociétés pharmaceutiques si nécessaire.

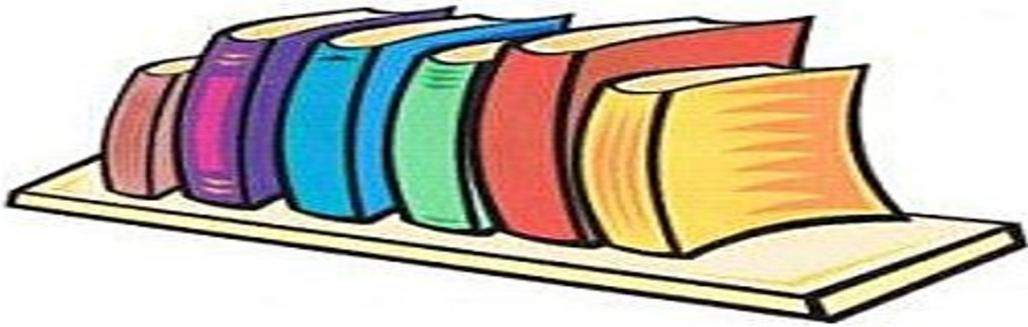
Mais malgré ces recommandations et dans le cas du Sénégal, aucun dispositif de contrôle des résidus n'est encore visible sur le terrain. En outre, la production de viande n'a cessé d'augmenter et les médicaments vétérinaires sont de plus en plus disponibles et facilement accessibles aux éleveurs. De plus, de nouvelles méthodes de détections des résidus d'antibiotiques dans les denrées, plus rapides et tout aussi fiables ont été mises au point, à l'instar du « Premi®Test » (AFNOR, 2006). Les données ont évolué sur le sujet et il nous a donc paru nécessaire de mener une nouvelle étude en vue d'actualiser celles existantes et sensibiliser davantage le pouvoir public sénégalais.

Ainsi, l'objectif général de cette étude est de rechercher les résidus d'antibiotiques dans des échantillons de viandes de bovins prélevés aux abattoirs de Dakar, à l'aide d'outils plus récents.

Pour atteindre cet objectif général, cette étude s'est fixée comme objectifs spécifiques :

- Estimer les statistiques d'abattage aux abattoirs de Dakar pour déterminer la taille d'un échantillon représentatif
- Détecter les résidus d'antibiotiques dans les échantillons de viandes prélevés

Le présent travail s'articule autour de deux grandes parties. La première expose une revue de la littérature sur les viandes, les résidus d'antibiotiques et les méthodes de détection de ces résidus dans les viandes. La deuxième partie présente d'une part le protocole expérimental, d'autre part les résultats, leur discussion et enfin les recommandations.



**REVUE DE LA
LITTERATURE**

I- La viande

1- Définition et typologie

La viande, selon l'Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE), désigne toutes les parties comestibles d'un animal. Le mot « animal », dans ce contexte, désigne « tout mammifère ou oiseau, ainsi que les abeilles » (OIE, 2010). La viande pourrait donc être définie comme l'ensemble des aliments d'animaux constitués par les tissus musculaires, associés à du gras, des nerfs et du sang, ainsi que de la triperie et des abats. Selon l'origine de l'animal, on peut classer les viandes en :

- Viandes d'élevage (provenant des bovins, des ovins, des caprins, des porcins, de la volaille, des lapins d'élevage...)
- Gibier (produit de la chasse en général, ou viandes d'animaux sauvages)

Il est à noter dans cette rubrique que d'autres animaux sont également consommés et constituent une source de protéines dans l'alimentation humaine (poissons, crustacés, mollusques, insectes, reptiles, etc.), mais, d'un point de vue culinaire et culturel, leur chair n'est pas considérée comme de la viande.

En fonction des particularités biochimiques des muscles, on peut aussi classer les viandes. En tenant compte de la teneur en myoglobine et du type de fibre musculaire le plus représenté, on distingue :

- Les viandes rouges, riches en myoglobine et en fibres de type I ou fibres à contraction lente (bœuf, cheval, mouton...)
- Les viandes blanches, pauvres en myoglobine, mais riches en fibres de type II (fibres de type IIb surtout) encore appelées fibres à contraction rapides ou glycolytiques (volaille, lapins) (Coibion, 2008).

Les viandes peuvent être également classées en fonction de certains critères organoleptiques (tendreté, jutosité, flaveur). Et dans ce cas, on distinguera :

- Les viandes fraîches non maturées (viandes n'ayant subi aucune modification après abattage), moins tendres et plus juteuses
- Les viandes maturées (viandes ayant subi des processus hydrolytiques des myofibrilles et du cytosquelette), plus tendres.

2- Composition et intérêt nutritionnel de la viande

2.1- Composition

Du point de vue composition, le muscle est le principal constituant des carcasses de boucherie. Il est constitué d'eau (75%), de protéines (19%), de lipides (3% environ), de minéraux (1%), des substances azotées non protéiques (créatine et acides aminés libres), de nombreux enzymes, de la myoglobine et du glycogène (Rosset et al, 1984).

Tableau I : Composition de 100 grammes de viandes cuites de divers muscles de bovin (Geay et al, 2002).

		Bœuf		
		Rumsteck grillé	Faux filet rôti	Entrecôte grillée
Energie (kJ)		485	625	849
Protéines (g)		21	23	24
Lipides (g)		3,6	6,4	11,8
Cholestérol (mg)		35	33	45
Acides gras: composition %(1)				
	saturés	44	49	50
	mono-insaturés	40	44	41
	poly-insaturés	9	3	5
Fer (mg)		2,9	1,9	2,6
Zinc (mg)		4,2	3,3	5,4
Vitamines:				
	B1 (mg)	0,10	0,04	0,09
	PP (mg)	7,3	5,9	6,2
	B5 (mg)	1,47	0,34	1,37
	B6 (mg)	0,56	0,29	0,42
	B12 (µg)	1,5	0,54	1,4
	E (mg)	0,44	0,2	0,58
(1) pour 100 g de viande crue				

2.2- Intérêt nutritionnel

Du point de vue nutritionnel, les protéines constituent, après l'eau, la charge pondérale la plus importante. Le muscle est constitué en effet d'une grande variété de protéines extracellulaires (collagène, réticuline, élastine) et intracellulaires (myoglobine, actine, myosine, troponine, tropomyosine, actinine). Ces protéines sont riches en acides aminés indispensables, particulièrement en acides aminés soufrés (méthionine) (Rosset et al, 1984). Ce qui fait de la viande une source très importante en protéines d'origine animale. Les lipides, bien qu'étant en faible proportion dans le muscle, ont également un apport nutritionnel non négligeable. Ainsi, dans la viande bovine, on note une certaine richesse en acides gras saturés à 16 atomes de carbone (acide palmitique) et 18 atomes de carbone (acide stéarique) et en acides gras mono insaturés (acide oléique). Et si on y ajoute les nombreux vitamines (B₁, B₅, B₆, B₁₂, PP, E) et sels minéraux (Fer, Zinc) dont elle regorge, la viande peut donc être considérée comme un aliment à fort pouvoir nutritionnel. Ce qui fait d'elle une denrée très appréciée de par le monde.

3- Qualité que doit présenter une bonne viande

La qualité se définit comme l'«Aptitude d'un ensemble de caractéristiques intrinsèques à satisfaire des exigences» (ISO 9000/2005). Dans le cas de la viande, ces exigences sont avant tout celles du consommateur et peuvent être implicites ou explicites.

3.1- Caractéristiques implicites

Outre les performances nutritionnelles décrites plus haut, une bonne viande doit conserver un caractère «d'innocuité» : saine, sans dangers aussi bien physiques (corps étrangers de natures diverses), chimiques (résidus de médicaments vétérinaires surtout) que biologiques (bactéries, parasites virus, prions, champignons et tous produits de leurs activités telles que les toxines). Cette dernière caractéristique, dans le cas de la viande, doit satisfaire également aux exigences sanitaires et réglementaires en vigueur. D'où la nécessité des inspections ante et post mortem des animaux producteurs de viandes.

3.2- Caractéristiques explicites

Elles correspondent ici à certaines caractéristiques pouvant être perçues par les sens du consommateur. Ce sont la couleur, la saveur, l'odeur, ainsi que la texture de la viande.

La couleur, première caractéristique perçue par le consommateur, joue un rôle décisif au moment de l'achat car elle est instinctivement rattachée à la fraîcheur du produit. Elle est due essentiellement aux variations de teinte et de saturation en myoglobine. En effet, au contact de l'air et du froid, la myoglobine se combine avec l'oxygène formant ainsi l'oxymyoglobine, de couleur rouge vif. Cette teinte de la viande est synonyme de fraîcheur et donc recherchée par le consommateur. Mais au-delà d'un certain délai influencé par les propriétés intrinsèques de la viande (pH, potentiel d'oxydoréduction) la couche d'oxymyoglobine disparaît au profit de la metmyoglobine (atome de fer sous forme ferrique Fe^{+++}) de couleur brune (Renner, 1997).

La texture de la viande est pour sa part caractérisée par la tendreté, la facilité avec laquelle la viande se laisse trancher ou mastiquer. En général on considère que plus une viande est maturée, plus elle est tendre. La maturation est un processus d'affaiblissement de la structure myofibrillaire du à la dégradation des protéines de structure et des liaisons intermoléculaires sous l'action d'enzymes endogènes (CAF ou Calcium Activated Factor et les cathepsines B et D) associée à une augmentation du pH (dégradation du glycogène en acide lactique, l'oxygénation étant impossible après la mort) (Boccard, 1984).

Impressions olfactives et gustatives, la flaveur et l'odeur sont moins déterminantes parmi les critères de choix d'une viande au moment de l'achat. Mais elles peuvent, surtout en ce qui concerne l'odeur, permettre d'apprécier l'état de conservation d'une viande.

Bref, la viande apparaît comme une denrée très nutritive, possédant des qualités qui peuvent orienter le choix du consommateur et surtout jouissant d'une bonne surveillance afin d'assurer son innocuité pour le consommateur. Ce qui fait d'elle l'une des denrées d'origine agro alimentaire les plus produites et les plus échangées dans le monde. Ainsi, selon certaines estimations, la production mondiale de viande devrait passer de 229 millions de tonnes en 1999 à 465 millions de tonnes en 2050 (Steinfeld, 2006).

4- Production de viande au Sénégal

En 2010, la production locale de viande contrôlée a été estimée à 176 840 tonnes dont 43% environ de viande bovine, 15% de viande ovine et 9% de viande caprine, comme le montre le tableau ci-dessous (DIREL, 2011). Soit une disponibilité per capita de 14,7 kg/hbt, loin des 20kg/hbts que le pays s'est fixé comme objectif à atteindre à l'orée 2015.

Pour combler ce déficit, le pays a recours aux importations de viandes et d'animaux sur pied. Ainsi, les importations contrôlées de viande s'élevaient en 2010 à 7685 tonnes (DIREL, 2011), tandis que les importations de bovins sur pieds atteignent souvent des pics de 35% en fin de saison des pluies (DIREL, 2008).

Tableau II : Production locale de viandes (chiffres en tonnes) (DIREL, 2011)

Année	Bovins	Ovins	Caprins	Porcins	Camelins	Volaille	Production locale	Importations	Disponible
2005	58 995	19 632	12 842	10 751	13	29 042	131 275	19 692	150 967
2006	62 505	21 476	12 993	11 348	10	31 647	139 980	12 163	152 143
2007	49 340	22 265	13 410	11 120	16	37 032	133 183	12 957	146 140
2008	65 457	21 285	14 059	10 569	19	41 068	152 457	9 484	161 941
2009	74 330	24 383	15 568	12 372	17	39 399	166 070	8 469	174 538
2010	76 348	25 590	16 134	13 300	18	45 451	176 840	7 685	184 525

Face à une démographie sans cesse en évolution et l'augmentation de la demande en viande qui s'en suit, les producteurs doivent donc accroître leurs rendements. Pour y parvenir, ils procèdent généralement à une intensification des méthodes de production et des soins apportés aux animaux, avec surtout l'utilisation des intrants au nombre desquels les substances médicamenteuses (antibiotiques, anticoccidiens, hormones de croissance). Ces substances, bien que permettant d'atteindre les objectifs de production fixés, présentent un inconvénient majeur. Ils laissent en effet des traces dans l'organisme des animaux : des résidus biotransformés ou non, qui se retrouvent dans le lait, les œufs, la viande.

II- Résidus de médicaments vétérinaires

1- Définition

Selon le Règlement (CEE) N° 2377/90, on entend par résidus de médicaments vétérinaires «toutes les substances pharmacologiquement actives, qu'il s'agisse de principes actifs, d'excipients ou de produits de dégradation, ainsi que leurs métabolites restants dans des denrées alimentaires obtenues à partir d'animaux auxquels le médicament vétérinaire en question a été administré ». Ce sont donc les traces des principes actifs ou leurs métabolites qui subsistent dans les viandes ou autres denrées alimentaires provenant de l'animal auquel le médicament en question a été administré.

Parmi les principes actifs les plus utilisés chez les animaux de production, on trouve les antibiotiques utilisés de diverses façons et avec des objectifs différents.

2- Objectifs poursuivis lors de l'utilisation des antibiotiques chez les animaux de production

Les antibiotiques sont utilisés de quatre façons différentes, avec des objectifs différents (Kehrenberg et al., 2001) :

- A titre thérapeutique curatif, avec comme objectifs d'obtenir la guérison des animaux cliniquement malades, d'empêcher l'excrétion bactérienne dans les produits (viandes, lait) et d'éviter la contamination humaine lors d'infections zoonotiques (Zanditenas, 1999)
- En métaphylaxie pour empêcher la contamination de tous les animaux d'un lot d'élevage, lorsqu'une infection se déclare chez quelques-uns seulement ou lorsque les manifestations cliniques sont très discrètes (Maillard, 2002)
- A titre préventif pour empêcher l'apparition des signes cliniques d'une infection bien connue et récurrente à des périodes de la vie des animaux, ou encore pour compenser des conditions d'hygiène défavorable.
- En tant qu'additifs alimentaires comme facteurs de croissance (tableau ci-dessous), utilisés à des doses très faibles, non curatives et en vue d'améliorer la croissance des animaux (AFSSA, 2006).

Tableau III : Exemples d'antibiotiques et leurs modes d'utilisation en production animale (Klopfenstein, 2004)

Antibiotique	Indication	Administration¹ (ppm)	Dosage² (mg/kg)
Tylosine	Facteur de croissance	Aliment (11 à 44)	0,44 à 1,76
Virginiamycine	Facteur de croissance	Aliment (11)	0,44 à 0,55
Lincomycine	Facteur de croissance	Aliment (22)	0,88 à 1,10
Chlortétracycline	Préventif et curatif	Aliment (1100)	44 à 55
Amoxicilline	Préventif et curatif	Eau	15 à 25
Tétracycline	Préventif et curatif	Injectable	6 à 12
Lincomycine	Préventif et curatif	Injectable	11 à 15

Cependant, il est à noter que toutes ces substances ne sont pas métabolisées de la même manière dans l'organisme des animaux. La genèse des résidus médicamenteux dépend donc des caractéristiques structurales, des propriétés pharmacocinétiques et de la voie d'administration de chaque antibiotique.

3- Formation des résidus d'antibiotiques dans les organismes des animaux de production

En pharmacocinétique, un médicament administré à un organisme va subir en général 4 étapes de transferts successifs que sont l'absorption, la distribution, les biotransformations et l'élimination.

L'absorption est le passage de la substance active à travers les membranes biologiques du site d'absorption vers le sang et la circulation systémique. Une fois dans le sang, les molécules du médicament soit se fixent à des protéines plasmatiques transporteuses (albumines, globulines, lipoprotéines) et distribuée dans tout l'organisme, soit restent libre dans le sang. La fraction libre est celle qui diffuse dans les organes et se fixe aux tissus. A cette étape, les principes actifs dont l'affinité aux tissus est la plus importante (possibilités de liaisons avec les protéines tissulaires) laisseront le plus de résidus dans l'organisme (Lüllmann et al., 1998).

Au sein des tissus de l'organisme, en particulier ceux du foie (organe très riche en enzymes de biotransformation), les molécules subissent des réactions d'oxydation, d'hydroxylation, d'hydrolyse et de réduction. A la suite de ces réactions, les molécules sont soit inactivées et conduites vers les sites d'élimination (reins et élimination urinaire), soit transformées en d'autres métabolites parfois plus actifs que la molécule mère (Lüllmann et al., 1998). Et dans ce dernier cas, on observera la persistance de la substance ou de son métabolite dans les tissus de l'animal et dans les produits issus de cet animal (viandes, lait, œufs...).

Ainsi, quelle que soit la nature de l'antibiotique administré, le risque de retrouver des résidus dans les tissus (viandes) et les produits d'excrétion (lait, œufs) est présent. La suppression totale de ces substances en production animale n'étant pas envisageable dans les conditions actuelles compte tenu des impératifs de rendements, il a été fixé pour chaque médicament un seuil au-delà duquel la quantité de résidus présents dans un aliment présente un danger direct pour le consommateur. C'est la «limite maximale de résidus», noté LMR.

4- La limite maximale de résidus (LMR)

On désigne par limite maximale de résidus « la teneur maximale en résidus, résultant de l'utilisation d'un médicament vétérinaire (exprimé en mg/kg ou en µg/kg sur la base du poids frais), que la Communauté peut accepter comme légalement autorisée ou qui est reconnue comme acceptable dans ou sur des denrées alimentaires» (Règlement CEE 2377 /90).

Cette limite se base sur des études scientifiques permettant de définir le type et la quantité de résidus considérés comme ne présentant pas de risques d'ordre toxicologique pour la santé humaine (Doses Sans Effets ou DSE), et les possibilités d'élimination par l'organisme humain (Doses éliminables ou Doses Journalièrement Admises notées DJA). C'est donc la concentration maximale en résidus ne présentant aucun risque sanitaire pour le consommateur et qui ne doit pas être dépassée dans ou sur les denrées alimentaires (Laurentie et Sanders, 2002).

Il existe une LMR pour la plupart des antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire, pour chaque denrée d'origine animale et pour chaque espèce (Annexes I et III du Règlement 2377 /90). En général, pour des espèces voisines, les LMR des espèces majeures peuvent être extrapolées aux espèces mineures (exemple des LMR lait de bovin et LMR lait de chèvre) (Laurentie et Sanders, 2002). Il est également à noter que les résidus présentent des taux de toxicité variables et le classement des médicaments dont ils dérivent va des substances ne nécessitant pas de LMR (Bacitracine, Alfalcidol, 2-Pyrolidone) aux

substances interdites en production animale (Chloramphénicol, Diméridazole, Métronidazole, Nitrofuranes, Daspone).

Cependant, bien que très importants, les LMR ne sont pas directement utilisables sur le terrain par les professionnels (vétérinaires et éleveurs). On a donc défini un temps au bout duquel la quantité de résidus présents dans les tissus d'un animal, par suite des processus d'élimination physiologiques, devient inférieure à la LMR après la dernière administration du médicament. Ce temps est appelé « temps d'attente » ou « délai avant abattage » et définit la « durée pendant laquelle l'animal traité ne doit pas être abattu ou les denrées alimentaires produites par l'animal traité (lait, œufs, miel) ne peuvent être commercialisées en vue de la consommation humaine » (Directive CEE 81/851). Au Sénégal, des investigations de terrains montrent que les tétracyclines et les sulfamides sont les plus utilisés en production animale, avec un pourcentage de 29,27% de non-respect des délais d'attente dans la filière avicole (Biagui et al, 2004).

5- Toxicité des résidus d'antibiotiques

Les résidus étant le plus souvent présents en quantités très faibles, de l'ordre du microgramme (μg) comme l'indiquent les LMR, leur toxicité semble corrélée à une exposition chronique (consommation de denrées contaminées sur de longues périodes) (Jeon et al, 2008). Et lorsque cette toxicité s'exprime, elle peut engendrer chez le consommateur des problèmes de santé d'ordre allergiques et cancérigènes d'une part, et la possibilité de sélection de bactéries résistantes aux antibiotiques d'autre part.

Les réactions allergiques de type III caractérisées par des réactions de type fièvre induite, un syndrome « maladie du sérum » ainsi que par la possibilité de rash érythémateux, sont les plus fréquentes dans les cas d'exposition aux résidus (Nisha, 2008). Et ce sont surtout les résidus de pénicilline qui sont indexés (les acides pénicilloïque, pénicillénique, pénalmodique, pénicillényles et les pénicillamines) (Demoly et al., 2000).

Le risque cancérigène quant à lui semble être associé aux résidus issus de deux familles d'antibiotiques principalement : les nitrofuranes et les nitroimidazoles. En effet, les résidus provenant des réactions de nitro-réduction de ces antibiotiques sont fortement électrophiles et donc capables de réagir avec l'ADN (Stoltz, 2008). D'où l'apparition des effets mutagènes et carcinogènes (tumeurs). Pour éviter ces risques, les nitrofuranes sont aujourd'hui interdits en production animale dans de nombreux pays, dont tous ceux de l'Union Européenne depuis 1993 (Règlement CEE 2901/93).

Un autre antibiotique, le chloramphénicol, également interdit en élevage dans de nombreux pays, est incriminé dans l'apparition d'une forme d'anémie aplasique non-dose dépendante et irréversible, dite idiosyncratique chez l'homme (Milhaud, 1985).

La sélection de germes résistants aux antibiotiques constitue pour sa part un véritable problème de santé publique, car ce phénomène réduit considérablement les possibilités thérapeutiques. Les résidus d'antibiotiques entraîneraient une sélection des souches bactériennes résistantes dans le tractus gastro-intestinal des consommateurs (Cerniglia et Kotarski, 2005). Des études menées à l'aide de systèmes de cultures bactériennes continues *in vitro* (Chemostats) imitant les conditions dans le tractus gastro-intestinal humain, avec des doses croissantes de tétracyclines ont ainsi montré qu'à la dose équivalente de 2.5mg/kg de poids corporel, la proportion d'*E.coli* résistants passait de 20 à plus de 50% dans les 24 heures suivant l'exposition et à plus de 60% dans les 48 heures (FAO/OMS, 1999). La transmission par la voie alimentaire de souches présélectionnées chez l'animal et dans les denrées contenant les résidus a aussi été évoquée par certaines études, de même que la possibilité d'échange des plasmides de résistance entre les bactéries d'origine alimentaires et les bactéries du tube digestif de l'homme (Klein, 1999 ; Van Den Bogaard, 2002).

La présence des résidus d'antibiotiques dans les denrées pose donc un véritable problème de santé. D'où la nécessité d'instaurer des plans de surveillance et de contrôle des denrées alimentaires d'origine animale (DAOA). Des méthodes de leur détection, en usage chez les professionnels (service d'inspections, industriels, chercheurs) existent à cet effet et sont sans cesse améliorées pour les rendre plus fiables.

III- Méthodes de détection des résidus d'antibiotiques dans les DAOA

Ces méthodes peuvent être regroupées en deux catégories que sont les tests de dépistage et les tests de confirmation.

1- Les tests de dépistages

Ils sont surtout qualitatifs, et les échantillons contrôlés positifs sont ceux contenant des résidus même à des teneurs inférieures aux LMR. Parmi les tests de dépistage, on distingue les tests biologiques et les tests physico-chimiques.

1.1- Les tests biologiques

Les tests biologiques sont basés sur la croissance ou l'inhibition d'une culture bactérienne. En présence de résidus dans la denrée, les germes sont inhibés tandis qu'en absence de résidus la croissance est effective.

Les germes les plus souvent utilisés dans ces tests sont ceux des genres *Bacillus* (*Bacillus subtilis* et *Bacillus stearothermophilus var calidolactis*) et *Micrococcus* (*Micrococcus luteus*). Ces bactéries présentent en effet l'avantage d'être sensible à une large gamme de familles d'antibiotiques telles que les Macrolides (Spiramycine, Erythromycine), les Aminosides (Streptomycine), les Pénicillines (Pénicilline G) et les Tétracyclines (Fabre et al, 2004). Comme inconvénients, ces tests ne permettent pas de connaître ni les teneurs, ni la nature exacte de la molécule présente dans les échantillons analysés. Elles sont de ce fait suivies généralement par des tests de confirmation. On peut citer dans cette catégorie de tests la méthode officielle des quatre (4) boîtes, la méthode des trois boîtes, et leurs variantes améliorées sous forme de kits plus rapides et mieux adaptés aux échantillons de masses (Delvotest®, Copan Test®, Charm FarmTest®, Premi®Test, ValioT101®).

• Cas du Premi®Test

Le Premi®Test est un test basé sur l'inhibition de la croissance du *Bacillus stearothermophilus* inclus dans de la gélose nutritive. Cette bactérie est sensible à de nombreuses familles d'antibiotiques et aux sulfamides.

Popelka et al (2005) ont montré, lors d'études de validation de la méthode sur de la volaille que les limites de détection du Premi®Test sont égales ou supérieures aux LMRs pour la plupart des antibiotiques (macrolides, tétracyclines, sulfamides), avec les limites de détection les plus basses pour les β -lactamines (Tableau 4). Depuis 2006, elle est reconnue comme une méthode officielle dans de nombreux pays comme la France (DGAL/SDRRC/N2006-8240) et est validée par l'Agence Française de Normalisation (AFNOR, 2006). C'est ce test que nous avons également choisi pour l'analyse de nos échantillons dans la partie expérimentale de notre étude.

Tableau IV : Seuils de détectabilité des principales familles d'antibiotiques par le Premi®Test par rapport aux LMRs dans le muscle (AFNOR, 2006).

Famille	Sulfamide	Tétracycline	Macrolide	β -lactamine	Aminosides
Antibiotique	Sulfadimérazine	Oxytétracycline	Tylosine	Amoxicilline	Gentamycine
LMR (muscle) ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	100	100	100	50	50
Limite de détection	2XLMR	2XLMR	LMR	0.5XLMR	>2XLMR

1.2- Les tests physico-chimiques

Ce sont des tests essentiellement de nature enzymatique, immuno-enzymatique, immunologique et parfois chromatographique.

Les méthodes enzymatiques ont pour principe l'inhibition d'une enzyme en présence d'un résidu d'antibiotique spécifique. En absence de résidus, l'enzyme est révélée par un indicateur coloré, tandis qu'en présence des résidus l'enzyme est inhibée et n'est plus alors révélée par l'indicateur coloré (Brouillet, 2002).

Les tests immuno-enzymatiques et immunologiques sont quant à eux basés sur des réactions de type antigènes-anticorps. La technique la plus répandue est le test ELISA (Enzyme-Linked-ImmunoSorbent-Assay) avec comme principes de détection le marquage des enzymes par des chromophores ou même la radioactivité. Les méthodes ELISA sont également disponibles sous forme de kits utilisables pour les échantillons de masse et dont certains sont spécifiques à des résidus d'antibiotiques donnés ou pour un groupe de composés apparentés comme par exemple le groupe des fluoroquinolones (Huet et al., 2006). On peut citer dans cette catégorie de tests le Delvo X Press TM BL®, le β etastar®, le MRL Test®, le Snap Betalactamines®, le Snap Tétracycline®.

La chromatographie liquide haute performance (CLHP ou HPLC en anglais) vient compléter la liste des tests physico-chimiques. Il est utilisé dans la détection de multiples résidus d'antibiotiques tels que les résidus de quinolone, de sulphonamide, de β -lactamine, de macrolide, de tétracycline, et ce, dans des types d'échantillons très variés tels que le lait ou les tissus (Kennedy et al., 1998). Mais il est le plus souvent utilisé pour quantifier les résidus détectés.

2- Les tests de confirmation

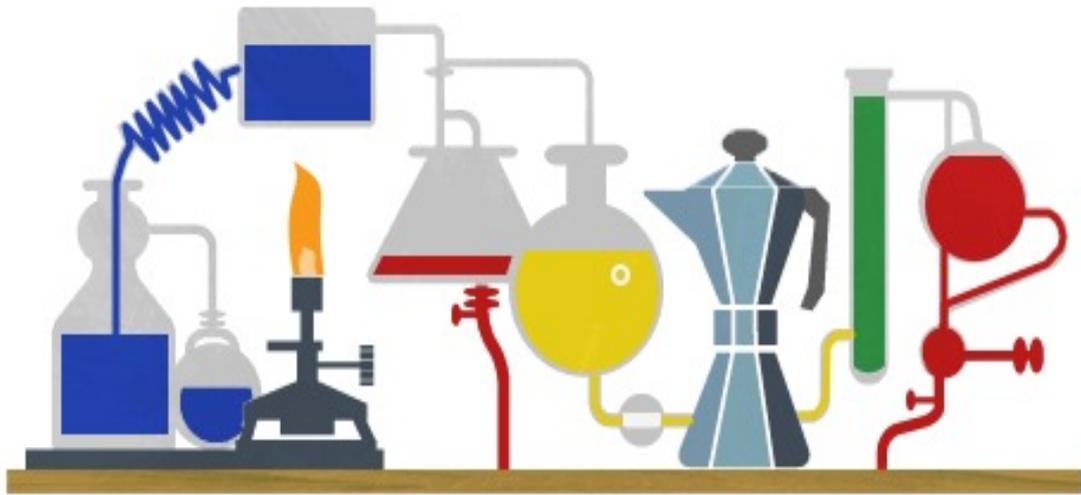
Comme l'indique leur nom, ce sont des tests qui viennent confirmer les résultats des tests de dépistage. Ils permettent d'identifier formellement la molécule de résidu présente dans la denrée et sa teneur exacte. Ils sont donc à la fois qualitatifs et quantitatifs, plus précis, et permettent de détecter les résidus même en concentration très faible, jusqu'à deux fois moins que les LMR. Ces tests sont essentiellement physico-chimiques. On peut citer :

- Le HPLC avec ionisation électro-spray à pression atmosphérique (ESI en anglais) et couplé avec la spectrophotométrie de masse (HPLC-ESI-SM), souvent utilisé pour identifier et doser les résidus de chloramphénicol dans les aliments (Délepine et al., 2002)

- Le HPLC avec ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI en anglais) encore appelé HPLC-APCI (Combs et al., 1999).

Ces tests de confirmation sont cependant très coûteux en temps, en matériels et en réactifs et nécessitent un personnel bien formé. Ils sont donc le plus souvent délaissés au profit des tests de dépistages qui permettent des prises de décision rapides quant au respect des législations en matière de résidus d'antibiotiques dans les DAOA.

Les tests de détection des résidus, associés aux textes régissant les LMR et aux délais d'attente avant abattage et commercialisation des DAOA, constituent les armes disponibles pour les organismes de contrôle et de surveillance des résidus d'antibiotiques dans les aliments. D'où la nécessité de vulgariser ces tests dans nos régions où la problématique des résidus d'antibiotiques dans les aliments est encore méconnue.



ETUDE EXPERIMENTALE

I- Matériel et méthodes

1- Cadre d'échantillonnage

Le cadre d'échantillonnage choisi est celui des abattoirs de Dakar, situés sur la route de Rufisque à 10 km du centre-ville. Nous y avons effectué notre stage de fin d'études pendant une durée de 4 mois, période que nous avons également mise à profit pour réaliser des investigations de terrain et une estimation des statistiques d'abattage (**Tableau 5, page 19**). Ces statistiques nous ont permis de déterminer les conditions d'un échantillonnage pouvant être représentatif (nombre d'échantillons, choix aléatoire). Enfin, cette zone d'abattage a été aussi choisie parce qu'elle draine la majorité des bovins destinés à la consommation dakaroise. Les prélèvements se sont déroulés sur une période de 1 mois allant du 26 septembre 2011 au 29 octobre 2011.

2- Matériel biologique

Les échantillons sont constitués de morceaux de viande de bovin, de quelques grammes (20 à 50 g), prélevés sur la face externe du triceps brachial (un muscle de l'épaule). Le protocole d'inspection post mortem des carcasses comporte un point d'incision dans ce muscle. Ce qui permet de s'assurer de la salubrité de la carcasse avant le prélèvement de l'échantillon.

3- Matériel pour la détection des résidus

Pour cette étude, nous avons utilisé comme matériel d'analyse des kits de détection appelés « Premi®Test » obtenus auprès de DSM PremiTest B.V (DSM Nutritional Products, Geleen-NETHERLANDS). C'est un test standardisé pour la détection de substances antimicrobiennes dans la viande, le poisson, les œufs, les reins, l'urine, le sang et l'alimentation animale. Notons que cet outil est validé par l'AFNOR.

4- Protocole expérimental

4.1- Plan d'échantillonnage

▪ Choix des animaux

Selon nos investigations de terrain, les animaux présents dans le parc de stabulation proviennent d'endroits différents et appartiennent à des propriétaires (chevillards) différents. La traçabilité est donc difficile, voire impossible dans ces conditions. Pour assurer leur propre traçabilité des animaux le long de la chaîne d'abattage, la Société de Gestion des Abattoirs du Sénégal (SOGAS) attribue à chaque animal un numéro d'identification qui se retrouve sur la carcasse en fin d'abattage.

Ainsi, notre choix des animaux à échantillonner était aléatoire et devait être réalisé tôt le matin avant l'entrée des animaux dans la chaîne d'abattage.

La conformation générale de la carcasse et la quantité des graisses nous permettaient ensuite de classer les animaux en mode semi-intensive ou extensive, les animaux les mieux soignés ou « d'embouche » étant généralement plus gras et plus dodus que les animaux de pâturage.

▪ Nombre d'échantillons

Selon les estimations de statistiques d'abattages de la SOGAS que nous avons réalisées (**Tableau 5, page 19**), en moyenne 5195 bovins sont abattus par mois. Pour avoir un échantillonnage représentatif, avec une prévalence de 42% (Châtaigner et al, 2003) et une marge d'erreur de 7% (intervalle de confiance à 93%), le nombre d'échantillons est de 184.

4.2- Prélèvement et conservation

Les numéros des animaux choisis dans le parc de stabulation sont communiqués aux vétérinaires chargés de l'inspection post mortem des carcasses. Les prélèvements se font en bout de chaîne à leur niveau. Les morceaux sont prélevés avec le souci de ne pas contaminer les échantillons et immédiatement introduits dans des sachets stériles. Leur stockage se faisait au fur et à mesure dans le congélateur du service d'inspection de la SOGAS, en attendant leur transfert au laboratoire de MIPI de l'EISMV pour analyse.

5- Analyse des échantillons

5.1- Principe de la méthode

« Premi®Test » est basé sur l'inhibition du développement de *Bacillus stearothermophilus*, une bactérie très sensible à de nombreux résidus d'antibiotiques et de sulfamides. Un nombre standardisé de spores est enrobé dans un excipient de gélose contenant des nutriments sélectionnés. Lorsque le jus de viande ajouté dans une ampoule de « Premi®Test » et incubé à 64°C contient des résidus en quantité suffisante, les spores sont inhibées et ne se développent pas. La coloration de l'ampoule demeure alors violette et le test est considéré comme positif. Mais en l'absence de résidus dans le jus de viande ajouté, les spores se multiplient à 64°C et acidifient le milieu, donnant une coloration jaune comme le montre la figure qui suit (**Figure1**). Et dans ce cas le test est considéré comme négatif.

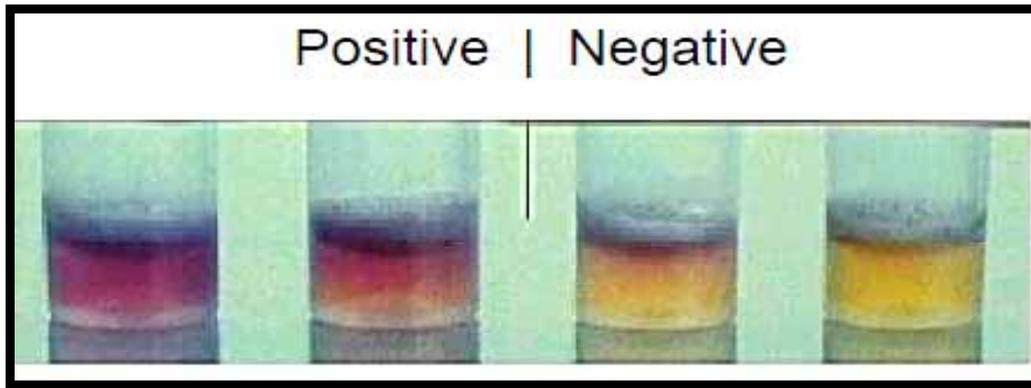


Figure 1 : Gammes de colorations du « Premi®Test » (source R-Biopharm AG)

5.2- Traitements des échantillons

Chaque échantillon de viande est pressé à l'aide d'une multi-presse fournie avec le kit, jusqu'à obtention de 250 μ l de jus. 100 μ l de ce jus sont ensuite prélevés et déposés dans les ampoules de test. Ces derniers sont laissés à température ambiante pour une pré-incubation de 20 min. Le jus de viande est ensuite soigneusement éliminé de l'ampoule par rinçage avec de l'eau déminéralisée. Les ampoules de tests sont alors recouvertes d'un film également fourni avec le kit et mises à incuber à 64,5°C pendant 3 heures environ. Un témoin négatif est réalisé en parallèle et permet d'arrêter l'incubation dès qu'il se colore complètement en jaune.

6- Analyses statistiques

Les résultats ont été analysés à l'aide du logiciel **GraphPad Prism 5**. Les comparaisons entre les valeurs des résultats obtenus ont été effectuées à l'aide du test de Khi 2.



RESULTATS

1- Statistiques des abattages aux abattoirs municipaux de Dakar

Sur une période de 10 mois allant de janvier 2011 à octobre 2011, le nombre de bovins abattus est en moyenne de 5195 bovins par mois, soit environ 200 bovins abattus par jour comme l'indique le tableau ci-dessous.

Tableau V : Statistiques des abattages aux abattoirs de Dakar de janvier à octobre 2011

Période (Mois)	Nombre de bovins abattus	Equivalent en poids des carcasses (kg)
Janvier 2011	5 374	807 324
Février 2011	5 391	836 099
Mars 2011	5 836	903 658
Avril 2011	5 496	871 585
Mai 2011	4 847	790 796
Juin 2011	4 524	735 872
Juillet 2011	4 855	773 050
Aout 2011	4 565	657 543
Septembre 2011	5 018	720 526
Octobre 2011	6 045	887 108
Total	51 951	7 983 561
Moyenne mensuelle	5 195 bovins / mois	798 356 kg / mois
Moyenne journalière	200 bovins / jour	30 706 kg / jour

2- Composition de l'échantillon obtenu

Cet échantillon représente la population de bovins abattus aux abattoirs de Dakar. Le tableau ci-dessous nous montre sa composition en fonction du mode d'élevage : extensif ou semi-intensif. Il indique clairement que les animaux provenant d'élevages extensifs avec 71% des effectifs prédominent.

Tableau VI : Composition de l'échantillon en fonction du mode d'élevage

	Nombre	Pourcentage
Bovins d'élevage semi-intensif	54	29%
Bovins d'élevage extensifs	132	71%
Total des échantillons	186	100%

3- Résultat des analyses avec le Premi®Test

3.1- Résultats globaux

Au total, sur 186 échantillons analysés 95 se sont révélés positifs (contenant des résidus comme l'indique les colorations sur la figures 3 qui suit), soit 51% (**Annexe**).

Parmi eux :

- 29 proviennent d'animaux d'élevages semi-intensifs, soit 30,5%
- 66 proviennent d'animaux d'élevages extensifs, soit 69,5%

Ces résultats montrent que les chairs des animaux abattus aux abattoirs de Dakar sont contaminées par des résidus d'antibiotiques. De plus, pris de façon brute ils semblent montrer que les animaux d'élevages extensifs reçoivent plus de soins médicamenteux que leurs congénères élevés en mode semi-intensif. Mais il faudrait rapporter les résultats à l'effectif de chacune des deux classes pour comparer les proportions avant de tirer une conclusion plus exacte.

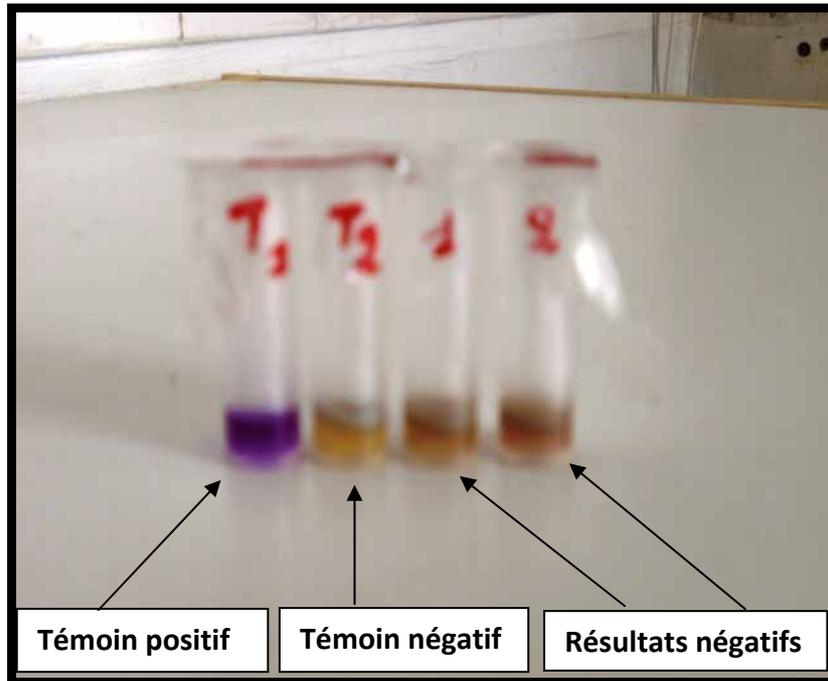


Figure 2 : Exemples de résultats négatifs au PremiTest (Photographie personnelle)

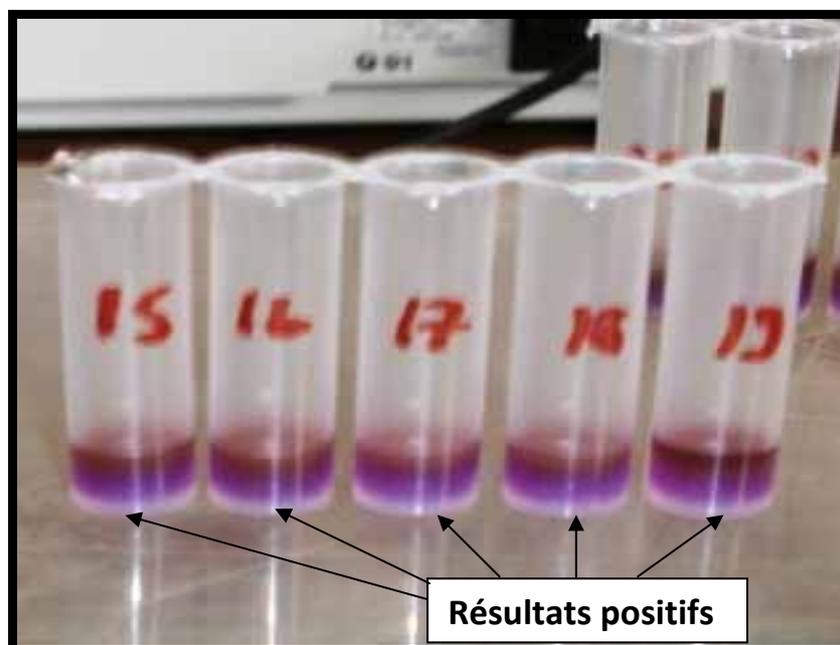


Figure 3 : Exemples de résultats positifs au PremiTest (Photographie personnelle).

3.2- Facteur mode d'élevage

Le tableau ci-dessous nous montre les proportions d'échantillons positifs au sein de chacune des deux classes de notre échantillonnage.

Tableau 7 : Répartition des échantillons positifs en fonction du mode d'élevage

	Nombre d'échantillons	Nombre de positifs	%
Semi-intensif	54	29	53,7%
Extensif	132	66	50%

Il apparaît clairement ici que la proportion des échantillons positifs en provenance des élevages semi-intensifs est plus importante que ceux d'élevage extensif. Mais notons que l'écart entre les deux valeurs (53,7 et 50%) n'est pas significatif ($\text{Khi } 2 = 0,20$ ddl=1 et $\alpha = 0.05$). L'ensemble des données récoltées peut être résumé dans la figure ci-dessous

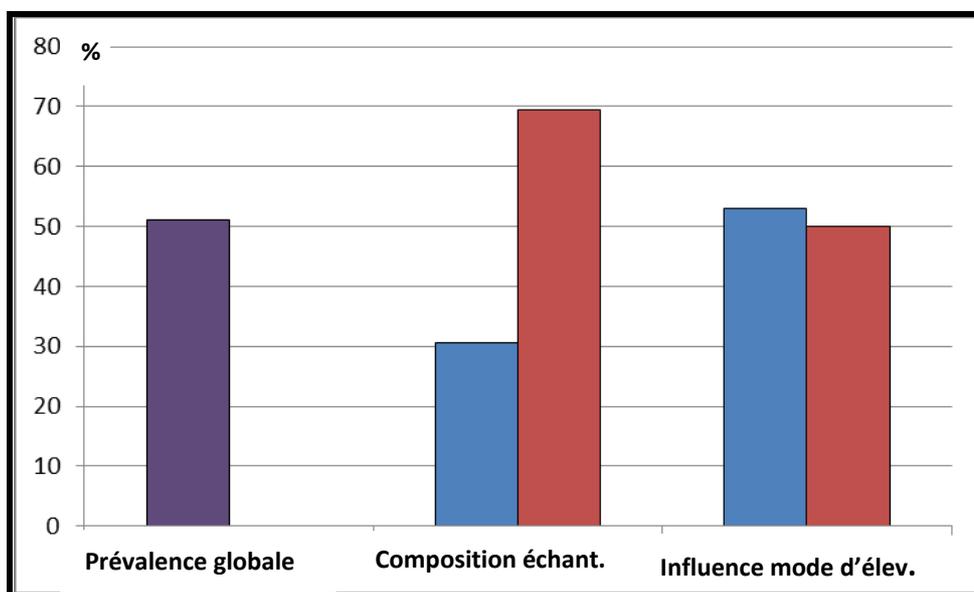
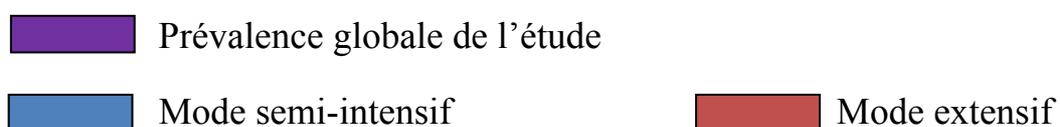
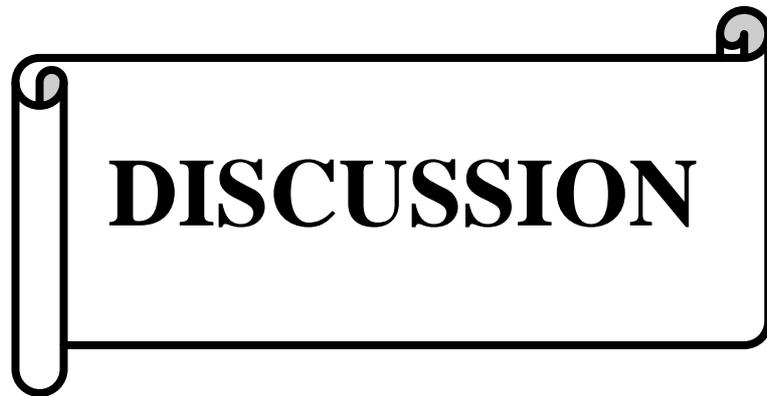


Figure 4 : Résumé des résultats d'analyse avec le PremiTest





DISCUSSION

1. Limites de l'échantillonnage

La zone de prélèvement, les abattoirs de Dakar, ne nous renseigne pas sur l'exposition globale des consommateurs sénégalais aux résidus d'antibiotiques. Les informations recueillies ne concernent qu'une faible partie de la quantité de viandes consommées et ne prennent pas en compte tous les autres abattoirs du pays et les filières de commercialisations.

En outre, compte tenu de certaines contraintes (coût du kit surtout), le nombre d'échantillons analysés (186) bien que représentatif de la population des bovins abattus quotidiennement aux abattoirs de Dakar (200 bovins/j), laisse une marge d'erreur pour des critiques.

Enfin, on peut relever un biais lié à la saisonnalité. En effet, notre étude s'étant déroulée pendant l'hivernage (3 mois sur 12 au Sénégal), il aurait été intéressant de réaliser une étude avec un échantillonnage plus étalé sur toute l'année, les pratiques d'élevage n'étant pas identiques d'une saison à une autre.

2. Composition de l'échantillonnage

Sur 186 échantillons analysés, 54 (soit 29%) proviennent d'élevages semi-intensifs tandis que 132 (71%), soit la majorité proviennent d'élevages extensifs.

Ce résultat peut s'expliquer par le fait que dans le mode d'élevage semi-intensif encore appelé système agropastoral, les animaux jouent un rôle très important dans le dispositif agricole pendant la saison des pluies (période de notre échantillonnage) et leur première destination n'est donc pas les abattoirs (NISDEL, 2004). Dans ce système d'élevage prépondérant dans les zones de cultures (bassin arachidier, long du fleuve Sénégal, Casamance), on note une association étroite entre les composantes animale et végétale, laquelle se traduit par l'utilisation des productions animales (fumure, énergie) à des fins agricoles et la valorisation des sous-produits agricoles par le bétail (Fall, 1987). Autant de raisons donc qui poussent les agriculteurs à ne pas se séparer de leurs bêtes. Seuls les vaches reformées et les animaux de traite de 3 à 4 ans arrivent donc aux abattoirs pendant l'hivernage (Ndiaye, 1990).

3. Résultats du PremiTest

3.1- Résultats globaux

A l'issue de notre étude, 51% de nos échantillons contenaient des résidus d'antibiotiques. En considérant les seuils de sensibilité du Premi®Test et les limites fixées par la réglementation (**Tableau 4**), les échantillons positifs contiendraient :

- des résidus de sulfamides, de tétracyclines et d'aminosides à des teneurs deux fois supérieures aux LMRs (100 à 200 µg/kg)

- des résidus de macrolides à des teneurs égales à la LMR (100 µg/kg)
- des résidus de β-lactamines à des teneurs inférieures à la LMR (25 µg/kg)

Pour les résidus de sulfamides, de tétracyclines, d'aminosides et de macrolides, les échantillons positifs pourraient donc être déclarés «non consommables et potentiellement dangereux pour la santé humaine».

Comparé au chiffre de 42 % obtenu sur la même population de bovins abattus aux abattoirs de Dakar en 2003 par Châtaigner et al utilisant la méthode officielle des 4 boîtes, le taux d'échantillons non conformes semble avoir augmenté. Des études similaires dans d'autres pays sur le continent ont également révélé la présence de résidus d'antibiotiques à des teneurs aussi élevées dans les viandes bovines. En effet, les investigations d'Olatoye et al en 2007 menées aux abattoirs municipaux d'Akure dans l'état de l'Ondo au Nigéria, par la méthode HPLC, ont montré que sur 180 échantillons de viandes bovines analysées, 98 (soit 54,44%) contenaient des résidus d'oxytétracycline. Et 62% de ces échantillons positifs présentaient des teneurs supérieures à la LMR (100 µg/kg). Muriuki et al en 2001, lors de leurs études ciblant également l'oxytétracycline par HPLC dans plusieurs abattoirs de Nairobi au Kenya, avaient trouvé 114 échantillons positifs sur un total de 250 (soit 45,6%). Ces chiffres indiquent clairement que les DAOA sont contaminés par les résidus d'antibiotiques, aussi bien au Sénégal que dans d'autres pays sur le continent. Dans le cas de notre étude, un certain nombre de raisons peuvent nous permettre d'expliquer cette augmentation de la prévalence des résidus d'antibiotiques.

La première et sans doute la plus importante de ces raisons est la manière dont les antibiotiques sont utilisés par les acteurs de l'élevage. En effet, alors que les interventions des vétérinaires et techniciens sont contrôlées, l'accessibilité aux antibiotiques et leur usage par les paysans et les éleveurs échappent complètement à tout contrôle. L'abondance de ces médicaments sur le marché et la facilité d'accès, l'ordonnance n'étant plus une exigence nous conduit à poser l'hypothèse d'une utilisation abusive et très fréquente des antibiotiques. Les éleveurs préféreraient ainsi faire des traitements préventifs avant d'amener les animaux au foirail pour valoriser et protéger leur capital qu'est le bétail. Et cela, sans aucun respect des délais d'attente avant abattage. Cette pratique nous a été rapportée en particulier en ce qui concerne l'oxytétracycline. De plus, le non-respect des délais avant abattage ne semble pas spécifique à la filière bovine car même dans les filières mieux encadrées sanitaires telles que l'aviculture périurbaine, des études de Biagui et al en 2004 dans la zone de Dakar ont montré un pourcentage de non-respect des délais d'attentes de l'ordre de 29,27%.

En outre, la période de notre échantillonnage (l'hivernage) correspond à la saison où on note en général une recrudescence des maladies infectieuses, et donc l'intensification des traitements médicamenteux (Diallo, 1979).

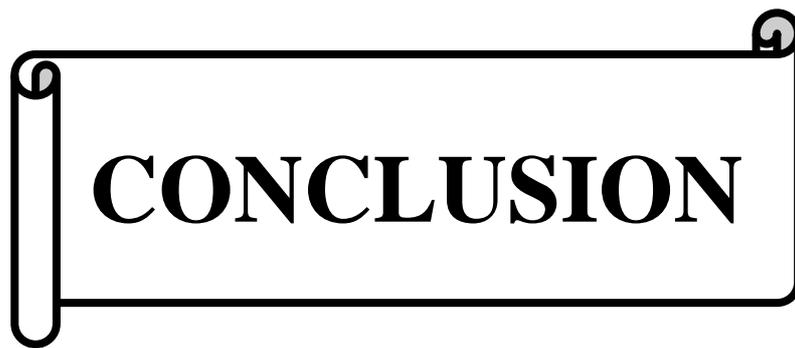
Le nombre d'échantillons analysés pourrait aussi avoir influencé ces résultats. En effet, dans notre étude et compte tenu de nos moyens limités, seulement 185 échantillons ont été analysés, tandis que dans l'étude de Châtaigner et al commanditée par la direction de l'élevage et disposant donc de plus de ressources, 231 échantillons avaient été analysés.

Enfin, la méthode d'analyse utilisée dans notre étude permettrait aussi d'expliquer cet écart entre les résultats des deux études. Le PremiTest utilisé durant notre étude, en plus de posséder une très bonne corrélation avec la méthode officielle des 4 boîtes utilisée dans l'étude antérieure, présente une sensibilité plus importante aux résidus (Fabre, 2003 ; AFNOR, 2006). D'où probablement le nombre de résultats positifs plus important obtenu avec le PremiTest dans notre étude. Le PremiTest présente également l'avantage d'être simple à réaliser, très rapide (3 heures contre 24 heures ou plus pour la méthode des 4 boîtes) et adapté pour des échantillons de masse. Par contre, il présente l'inconvénient de ne pas déterminer la nature exacte de la molécule présente, ni les teneurs, et doit donc souvent être suivi de tests de confirmations.

3.2- Facteur mode d'élevage

Les résultats de notre étude indiquent que 53% des échantillons positifs provenaient d'élevages semi-intensifs contre 50% en provenance des bovins extensifs. Et même si l'écart entre ces deux valeurs n'est pas significatif, les bovins d'élevages semi-intensifs abattus aux abattoirs de Dakar semblent recevoir plus de traitements aux antibiotiques que leurs congénères élevés en mode extensif. Châtaigner et al en 2003 ont abouti à la même conclusion avec 46,15% d'échantillons positifs provenant de bovins élevés dans le système semi-intensif et 37,72% de bovins extensifs. Il semble donc probable que, la présence de résidus d'antibiotique dans les chairs des animaux provenant des abattoirs de Dakar soit tributaire du mode d'élevage.

Les viandes provenant des abattoirs municipaux de Dakar contiendraient donc des résidus d'antibiotiques. Et la proportion d'échantillons positifs trouvée dans cette étude pose une fois encore le problème de la sécurité sanitaire des aliments au Sénégal. Cependant, une autre étude prenant en compte la saisonnalité, un nombre plus important d'échantillons et surtout associant au Premi®Test une méthode de confirmation (HPLC) s'avèrerait utile. Elle permettrait d'identifier et de quantifier la(les) molécule(s) présente(s) sous forme de résidus dans les viandes.



CONCLUSION

La présence des résidus d'antibiotiques dans les DAOA au Sénégal est une réalité que notre étude vient de révéler une nouvelle fois encore. Après les études de 2002 réalisées par le service de microbiologie de l'EISMV portant sur des cuisses de poulet de 61 élevages avicoles, les études de 2003 du service de Pharmacie et Toxicologie de l'EISMV portant sur 21 échantillons de gésiers et 28 échantillons de foie et la même année celle de l'IPD portant sur 231 bovins, 228 ovins et 100 poulets, de nombreuses mesures ont probablement été prises par les acteurs des filières concernées. Mais huit (08) ans après, ces mesures semblent avoir été soit insuffisantes, soit n'ont pas encore été suivies d'effets. Et la présence de ces contaminants chimiques dans les DAOA comme vient de le montrer encore cette étude, constitue un danger potentiel pour les consommateurs. Ainsi, avec cette prévalence de 51%, on peut parler de problème de santé publique surtout que la plupart des marchés de Dakar sont ravitaillés en viandes par les abattoirs municipaux. Des études ultérieures avec les méthodes quantitatives (HPLC) devraient cependant être menées pour identifier clairement la nature du ou des antibiotiques présent(s) dans cette denrée, ainsi que les teneurs exactes.

La finalité d'une étude telle que celle que nous avons réalisée reste donc la constitution de bases de données scientifiquement exploitables par les pouvoirs publics, pour l'élaboration de réglementations et des prises de décisions visant à protéger la santé des consommateurs. En effet, le Sénégal à l'instar de nombreux pays du continent accuse un retard par rapport au reste du monde en matière de réglementation des résidus d'antibiotiques dans les denrées et ne possède pas de véritables plans de surveillance de la commercialisation, de l'utilisation et de la présence des résidus d'antibiotiques dans les DAOA. Ce qui nous amène à formuler un certain nombre de recommandations :

- Aux pouvoirs publics pour l'adoption rapide des textes réglementant la présence des résidus d'antibiotique dans les denrées alimentaires et le renforcement des capacités des laboratoires de contrôle
- Aux éleveurs pour l'abandon des mauvaises pratiques, la santé animale devant incomber uniquement aux professionnels (vétérinaire et auxiliaires bien formés)
- Aux vétérinaires et pharmaciens vétérinaires pour une plus grande rigueur dans la délivrance des ordonnances et la vente des antibiotiques
- Aux associations de consommateurs pour plus de sensibilisation sur le sujet et une réelle implication dans les organismes de normalisation nationaux.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Abiola.A, Diop.M, Teko-Agbo.A, Delepine.B, Biaouf.C, Roudaut.B, Gaudin.V**, (2005). Résidus d'antibactériens dans le foie et le gésier de poulets de chair dans les régions de Dakar et de Thiès. *Revue Méd.Vét.* 156 (5) : 264-268
2. **AFNOR**, (2006). Rapport d'étude préliminaire pour la validation AFNOR du Premi®Test. Code d'étude : VV
3. **AFSSA**, (2006). Rapport-Usages vétérinaire des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine. 214p
4. **Allen.J, Viel.L**, (1992). « Changes in the bacterial flora of the upper and lower respiratory tracts and bronchoalveolar lavage differential cell counts in feedlot calves treated for respiratory diseases. » *Can J Vet Res* 56(3): 177-83
5. **Bada-Alamedji.R, Cardinale.E, Biagui.C, Akakpo.J**, (2004) : Recherche de résidus de substance à activité antibactérienne dans la chair de poulet consommée dans la région de Dakar (Sénégal). *Bull. Acad.Vét. France.* 157 (2) ; 67-70
6. **Boccard.R, Valin.C**, (1984). La rigidité cadavérique (ou rigor mortis). *Les viandes-Informations Techniques des Services Vétérinaires.* 107-115
7. **Brouillet.P**, (2002). Résidus de médicaments dans le lait et tests de détection. *Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires.* 15 : p171
8. **Cerniglia.E, Kotarski.S**, (2005). Approaches in the safety evaluations of veterinary antimicrobial agents in food to determine the effects on the human intestinal microflora. *Journal of veterinary Pharmacology and Therapeutics.* 28, (1), p3-20
9. **Chataigner.B, Stevens.A**, (2003). Investigation sur la présence des résidus d'antibiotiques dans les viandes commercialisées à Dakar. Rapport projet PACEPA. Ministère de l'Elevage-Service de coopération et d'action culturelle-Institut Pasteur. 66p
10. **Coibon.L**, (2008). Acquisition des qualités organoleptiques de la viande bovine : adaptation à la demande du consommateur. Thèse de doctorat vétérinaire, Université de Toulouse. Thèse : 03 – Tou 3 – 4018

- 11.Combs.T, Ashraf-Khorassani.M, Taylor.L, (1999).** HPLC/atmospheric pressure chemical ionization - mass spectroscopy of eight regulated sulfonamides. *J. Pharm. Biomed. Anal.*19 (3-4): p301-308
- 12.Comité mixte FAO/OMS, (1999).** Evaluation des résidus de certains médicaments vétérinaires dans les aliments. Cinquantième rapport du comité. N°888.p110
- 13.Delepine.B, Hurtaud-Pessel.D, Sanders.P, (2002).** Les méthodes récentes d'analyse physico-chimique des résidus d'antibiotiques dans le lait. *Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires.* 15 : p191-196
- 14.Demoly.P, Bousquet.J, Godard.P, Michel.B, (2000).** Actualité des allergies médicamenteuses issues des antibiotiques et médicaments antirétroviraux. *Bull. Acad. Nationale Méd.* 184 (4) : p761-774
- 15.Diallo.I, (1979).** Contribution à la lutte contre les maladies contagieuses animales au Sénégal : le cas des Bovins, bilans et perspectives. Thèse de Médecine vétérinaire. EISMV-Dakar
- 16.Directive 81/851/CEE, (1981).** Rapprochement des législations des États membres relatives aux médicaments vétérinaires. *Journal officiel* n° L 317 du 06/11/1981 p. 0001 – 0015
- 17.Dobson.R, (2008).** Antibiotics may be linked to risk of cancer. *BMJ.* 337 (10) ; 1136 – 1381
- 18.Endtz.P, Ruijs.J, (1991).** «Quinolone resistance in *Campylobacter* isolated from man and poultry following the introduction of fluoroquinolones in veterinary medicine». *J Antimicrob Chemother.* 27(2): 199-208.
- 19.Fabre.M, (2003).** Recherche des résidus d'antibiotiques dans la viande: De nouvelles méthodes pour de nouveaux besoins. *La Semaine Vétérinaire.*
- 20.Fabre.M, Mircovich.C, Geijp.E, Moretain.P, Beneteau.E, Martineau.G, (2004).** Résidus d'antibiotiques dans la viande de porc et de volaille en France : situation actuelle et évaluation d'un nouveau test de détection. *Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires.* 23 : p21-25
- 21.Fall.A, (1987).** Les systèmes d'élevage en haute Casamance : caractérisation, performances et contraintes. Mémoire de titularisation. ISRA

- 22.Geay.Y, Bauchart.D, Hocquette.J, Culioli.J,** (2002). Valeur diététique et qualités sensorielles des viandes des ruminants. Incidence de l'alimentation des animaux. INRA Prod. Anim. 15, 37-52
- 23.Huet.C, Charlier.C, Tittlemier.A, Singh.G, Benrejeb.S, Delahaut.P,** (2006). Simultaneous determination of (fluoro)quinolone antibiotics in kidney, marine products, eggs, and muscle by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 54 (8) : p2822-2827
- 24.ISO 9000,** (2005). Systèmes de management de la qualité -Principes essentiels et vocabulaire. © AFNOR 2005
- 25.Jeon.M, Kim.J, Paeng.J, Park.S, Paeng.R,** (2008). Biotin-avidin mediated competitive enzyme-linked immunosorbent assay to detect residues of tetracyclines in milk. Microchemical Journal. 88 (1) : p26-31
- 26.Kehrenberg.C, Schulze-Tanzil.G, Martel.J-L, Chaslus-Dancla.E, Schwarz.S,** (2001). Antimicrobial resistance in Pasteurella and Mannheimia: epidemiology and genetic basis. Vet. Res. 32 (2001) 323–339 323 © INRA, EDP
- 27.Kennedy.D, Mac Cracken.R, Cannavan.A, Hewitt.A,** (1998). Use of LC/MS in the analysis of residues of antibiotics in meat and milk. Journal of Chromatography A. 812 : p77-98
- 28.Klein.G,** (1999). Food as a potential vector for antibiotic resistances. 1. Relevance of residues and selected foodborne pathogens. Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift. 112 (10-11) : p365-369
- 29.Klopfenstein.C,** (2004). Les antibiotiques comme facteurs de croissance : un risque pour la santé humaine ? Porc Québec. 12 p.
- 30.Laurentie.M, Sanders.P,** (2002). Résidus de médicaments vétérinaires et temps d'attente dans le lait. Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires. 15 : p197-201
- 31.Lüllmann.H, Mohr.K, Ziegler.A,** (1998). Atlas de poche de pharmacologie, 2^{ème} édition. Flammarion-Médecine et sciences. 387p
- 32.Maillard.R,** (2002). «Antibiothérapie respiratoire». La Dépêche Vétérinaire. 80 : p 15-17
- 33.Milhaud.G,** (1985). Les résidus de chloramphénicol et leur toxicité. Ann. Rech. Vet. 16 (2) : 133-148

- 34.Muriuki.K, Ogara.W, Njeruh.F, Mitema.S,** (2001): Tetracycline residue levels in cattle meat from Nairobi slaughterhouse in Kenya. *Journal of vet sciences.* **2(2)** : 97–101
- 35.Ndiaye.M,** (1990). Progestéronémie et cycles sexuels chez les vaches Ndama et Gobra au Sénégal. Thèse de Médecine vétérinaire. EISMV-Dakar
- 36.Nisha.R,** (2008). Antibiotic residues – A global health hazard. *Vet World.* **1(12)**:375-7.
- 37.OIE,** (2008). Conférence de l’OIE sur les médicaments vétérinaires en Afrique : «Harmonisation et amélioration de l’enregistrement, de la distribution et du contrôle qualité». Dakar (Sénégal), 25–27 mars 2008
- 38.OIE,** (2010). Code sanitaire pour les animaux terrestres. Volume 1- Dix-neuvième édition. ISBN 978-92-9044-772-6 .© Copyright OMSA
- 39.Olatoye.I, Ehinmowo.A,** (2010). Oxytetracycline residues in edible tissues of cattle slaughtered in Akure, Nigeria. *Nigerian Veterinary Journal.* **31 (2)**: 93-102
- 40.Popelka.P, Nagy.J, R. Germuska.R, Marcincak.S, Jevinova.P, De Rijk.A,** (2005). Comparison of various assays used for detection of beta-lactam antibiotics in poultry meat. *Food Additives and Contaminants*
- 41.Règlement (CEE) No 2377/90,** (1990). Procédure communautaire pour la fixation des limites maximales de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale, modifié par le règlement (CE) n°205/2006.JO L34.7.2.2006 p. 21
- 42.Règlement (CEE) No 2901/93,** (1993). Modification des annexes I, II, III et IV du règlement (CEE) no 2377/90 établissant une procédure communautaire pour la fixation des limites maximales de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale
- 43.Renerre.R,** (1997). La couleur, facteur de qualité. Mesure de la couleur de la viande. *Renc. Rech. Ruminants.* 89-102
- 44.Rosset.R, Roussel.N, Ciquard,** (1984). Composition chimique du muscle. Les viandes- Informations Techniques des Services Vétérinaires. 97-102
- 45.Schwarz.S, Kehrenberg.C,** (2001). Use of antimicrobial agents in veterinary medicine and food animal production. *International Journal of Antimicrobial Agents.* **17 (6)** : p431-437

- 46.Steinfeld.H,** (2006). Livestock's Long Shadow: Environmental issues and options. Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome. Chapter 4
- 47.Stoltz.B, Behenna.D, Stockdill.J,** (2008). The Biology and Chemistry of the Zoanthamine Alkaloids. *Angew. Chem. Int. Ed.* 47 : 2365
- 48.Van den Bogaard.A, Willems.R,** (2002). «Antibiotic resistance of faecal enterococci in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers.» *J Antimicrob Chemother* 49(3): 497-505
- 49.Zanditenas.M,** (1999). L'usage des antibiotiques par les vétérinaires praticiens : enjeu sanitaire et socioéconomique, conséquences pour la santé publique et évolution prévisible de la profession vétérinaire. Thèse de Doctorat vétérinaire. Créteil, n°88, 124p
- 50.Zhang.Q, Lin.J,** (2003). « Fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* in animal reservoirs: dynamics of development, resistance mechanisms and ecological fitness. » *Anim Health Res Rev* 4(2): 63-71

ANNEXE

- Résultats brut des analyses au PremiTest

Numéro du lot	Numéro échantillon	Résultats	Int/Ext
lot 1	1	N	ext
	2	N	ext
	3	N	ext
	4	N	ext
	5	N	ext
	6	P	ext
	7	P	ext
	8	N	ext
	9	N	ext
	10	N	ext
lot 2	1	P	ext
	2	N	ext
	3	P	ext
	4	N	ext
	5	N	ext
	6	P	ext
	7	N	ext
	8	N	ext
	9	N	ext
	10	N	ext
lot 3	1	P	ext
	2	N	ext
	3	P	ext
	4	N	ext
	5	P	ext
	6	N	ext
	7	N	ext
	8	N	ext
	9	N	ext
	10	N	ext
lot 4	1	N	Int
	2	N	Int
	3	N	ext
	4	N	Int
	5	N	Ext
	6	P	Ext
	7	N	Ext
	8	N	Int
	9	N	Ext
	10	P	Int
lot 5	1	N	Ext
	2	N	Ext
	3	P	Ext
	4	N	Ext
	5	N	Ext
	6	P	Ext
	7	N	Ext
	8	N	Int
	9	N	int
	10	N	ext
lot 6	1	N	int
	2	P	int
	3	N	int
	4	N	ext
	5	N	ext
	6	N	ext
	7	P	ext
	8	N	int
	9	P	ext
	10	N	ext
lot 7	1	N	int
	2	P	int
	3	N	ext

lot 8	4	P	ext	
	5	P	ext	
	6	P	ext	
	7	N	ext	
	8	P	ext	
	9	N	ext	
	10	P	ext	
	lot 9	1	P	ext
		2	P	ext
		3	P	ext
4		N	ext	
5		N	int	
6		P	ext	
7		P	ext	
8		N	ext	
9		N	ext	
10		N	ext	
lot 10	1	N	ext	
	2	N	ext	
	3	N	int	
	4	N	ext	
	5	N	ext	
	6	P	int	
	7	N	int	
	8	P	int	
	9	P	ext	
	10	N	ext	
lot 11	1	N	int	
	2	N	int	
	3	P	ext	
	4	N	ext	
	5	N	ext	
	6	N	int	
	7	P	ext	
	8	P	Ext	
	9	P	ext	
	10	P	int	
lot 12	1	P	ext	
	2	P	int	
	3	P	ext	
	4	P	int	
	5	P	int	
	6	P	int	
	7	P	ext	
	8	P	int	
	9	N	ext	
	10	P	ext	
lot 13	1	P	int	
	2	P	ext	
	3	P	int	
	4	P	int	
	5	N	ext	
	6	N	ext	
	7	N	ext	
	8	P	int	
	9	P	int	
	10	N	int	
lot 14	1	P	int	
	2	P	ext	

lot 15	3	N	ext	
	4	P	int	
	5	P	ext	
	6	N	int	
	7	P	int	
	8	P	ext	
	9	N	int	
	10	P	ext	
	lot 16	1	N	int
		2	N	int
3		P	ext	
4		N	ext	
5		P	ext	
6		P	ext	
7		P	ext	
8		P	ext	
9		N	ext	
10		N	ext	
lot 17	1	P	ext	
	2	P	ext	
	3	N	int	
	4	P	ext	
	5	P	int	
	6	N	ext	
	7	P	int	
	8	N	ext	
	9	P	ext	
	10	P	ext	
lot 18	1	P	int	
	2	N	ext	
	3	P	ext	
	4	P	ext	
	5	P	int	
	6	P	ext	
	7	P	ext	
	8	P	ext	
	9	N	ext	
	10	N	ext	
lot 19	1	P	ext	
	2	N	int	
	3	N	ext	
	4	N	ext	
	5	P	int	
	6	P	int	

P : Résultat positif au PremiTest
N : Résultat négatif au PremiTest
int : Mode semi-intensif
ext : Mode extensif