



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل

Université Mohammed Seddik Benyahia-Jijel



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie appliquée
et Sciences alimentaires

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم : ميكروبيولوجيا تطبيقية وعلوم التغذية

Qualité et Salubrité des Matières Premières Alimentaires

Polycopié de cours

Master 1 Agroalimentaire et Contrôle de qualité

Code du cours selon le canevas de formation

Préparé par Dr. Bouchefra Amina

Maitre de conférences -A-

2025/2026

Ref.....

Table des matières

Chapitre I : Introduction à l'hygiène et la qualité des matières premières et des ingrédients	1
I.1.Introduction	1
I.2. Définitions	1
I.2.1. Hygiène alimentaire	1
I.2.2. Qualité alimentaire	1
I.3. Approvisionnement en matières premières et ingrédients	1
I.3.1. Circuits d'approvisionnement	1
I.3.2. Hygiène des lieux d'achat	1
I.3.3. Principes du choix des matières premières et des ingrédients	3
I.3.4. Gestion des matières premières	4
I.3.4.1. Étiquetage des matières premières et ingrédients	4
I.3.4.2. Contrôle à la réception	5
I.4.Conditions requises de transport, de stockage et de conservation des matières premières et des ingrédients	5
I.4.1. Transport des matières premières et ingrédients	5
I.4.2. Stockage et conservation des matières premières et ingrédients	5
Chapitre II : Les résidus de pesticides	7
II.1. Introduction	7
II.2. Définitions	7
II.2.1. Pesticide	7
II.2.2. Résidu	7
II.2.3.LMR	7
II.2.4.DJA	8
II.3. Pourquoi utilise t'on les pesticides ?	8
II.4. Classification	8
II.5. Principales familles de pesticides utilisées dans les cultures fruitières et légumières	8
II.5.1. Fongicides	8
II.5.1.1. Fongicides minéraux	9
II.5.1.2. Fongicides organiques	9
II.5.2. Insecticides	11
II.5.2.1. Organochlorés	11
II.5.2.2. Organophosphorés	12
II.5.2.3. Carbamates	12
II.5.3. Herbicides	12
II.5.3.1. Herbicides appliqués au niveau foliaire	13
II.5.3.2. Herbicides appliqués au niveau du sol	13
II.6. Méthode de recherche et de dosage des résidus de pesticides	13
II.6.1. Méthodes analytiques	13
II.6.2. Échantillonnage	13
II.6.3. Extraction	14
II.6.4. Purification	14
II.6.5.Dosage	15
II.6.5.1. Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)	15
II.6.5.2. Chromatographie en Phase Liquide (HPLC)	15
II.6.5.3. Couplage Chromatographie-Spectrométrie de Masse	16

II.6.5.4. Autres méthodes.....	16
--------------------------------	----

Chapitre III : Les résidus d'antibiotiques.....17

III.1. Introduction.....	17
III.2. Définitions.....	17
III.2.1. Définition d'antibiotique.....	17
III.2.2. Définition du résidu d'antibiotique.....	17
III.2.3. Définition de LMR	17
III.3. Évaluation de la toxicité des résidus d'antibiotiques.....	18
III.3.1. Concentration.....	18
III.3.2. Nature et biodisponibilité.....	18
III.4. Classification.....	18
III.4.1. Classification des antibiotiques selon leurs origines.....	18
III.4.1.1. Fermentation ou extraction.....	18
III.4.1.2. Semi-synthèse.....	19
III.4.1.3. Synthèse chimique totale.....	19
III. 4.2. Classification des antibiotiques selon la structure chimique.....	19
III.4.3. Classification des antibiotiques selon la cible bactérienne.....	19
III.4.3.1. Antibiotiques agissant au niveau de la paroi bactérienne.....	19
III.4.3.2. Antibiotiques agissant au niveau de la membrane cytoplasmique.....	20
III.4.3.3. Antibiotiques agissant au niveau des ribosomes.....	20
III.4.3.4. Antibiotiques agissant au niveau de la biosynthèse des acides nucléiques.....	20
III.4.3.5. Antibiotiques agissant par autres mécanismes.....	20
III.4.4. Classification des antibiotiques selon le spectre d'activité.....	20
III.5. Méthode de détection des antibiotiques dans les aliments.....	20
III.5.1. Méthode microbiologique de référence (méthode des 4 boîtes).....	20
III.5.2. Méthode biochimique.....	21
III.5.2.1. Méthode enzymatique (PENZYME TEST).....	21
III.5.2.2. Méthode du BETA STAR TEST.....	22
III.5.2.3. Méthode immunologique.....	22
III.6. Perturbation des industries laitières et fromagère.....	22

Chapitre IV : Les résidus d'antiseptiques.....23

IV.1. Introduction.....	23
IV.1. Définition d'antiseptique.....	23
IV.2. Mode d'action des antiseptiques.....	23
IV.3. Classification des antiseptiques.....	23
IV.3.1. Antiseptiques majeurs : bactéricides et à large spectre.....	24
VI.3.2. Antiseptiques intermédiaires : bactéricides et à spectre étroit.....	24
VI. 3.3. Antiseptiques mineurs : bactériostatiques et à spectre étroit.....	24
IV.3.4. Antiseptiques à déconseiller	24
IV. 3.5. Produits considérés à tort comme antiseptiques.....	24
IV. 4. Antiseptiques naturels.....	24
IV.5. Méthode de recherche et de dosage des résidus d'antiseptiques : dérivés de l'acide benzoïque dans les semi-conserves de poissons.....	25
IV.5.1. Extraction.....	25
IV.5.2. Recherche qualitative par chromatographie en couche mince.....	26

Chapitre V : Les mycotoxines dans les aliments.....	27
V.1.Introduction.....	27
V.2.Définition.....	27
V.3.Facteurs de la biosynthèse.....	27
V.3.1. Facteurs extrinsèques.....	27
V.3.1.1. Facteurs physiques.....	27
V.3.1.2. Facteurs chimiques.....	27
V.3.2. Facteurs intrinsèques.....	28
V.4. Classification.....	28
V.4.1. Aflatoxines.....	28
V.4.2. Zéaralénone.....	29
V.4.3. Patuline.....	29
V.4.4. Trichothécènes.....	29
V.4.5. Fumonisines.....	29
V.4.5. Ochratoxines.....	30
V.6. Evaluation des risques de contamination.....	30
V.7.Méthodes de recherche et de dosage des mycotoxines dans les aliments.....	30
V.8. Exemples d'analyse des mycotoxines.....	31
V.8.1. Analyse des aflatoxines dans le blé.....	32
V.8.2. Analyse de l'OTA dans les olives noires de table.....	32
 Chapitre VI : Facteurs antinutritionnels endogènes dans les aliments.....	 33
VI.1. Introduction.....	33
VI.2. Définition.....	33
VI.3. Exemples de facteurs antinutritionnels endogènes.....	33
VI.3.1. Inhibiteurs de protéases.....	33
VI.3.2. Polyphénols.....	34
VI.3.3. Alpha- galactosides.....	34
VI.3.4. Saponines.....	34
VI.3.5. Phytates.....	35
VI.3.6. Lectines	35
VI.4. Digestibilité d'un aliment.....	35
VI.5. Biodisponibilité.....	35
VI.6. Différents procédés d'élimination des facteurs antinutritionnels endogènes.....	36
VI.6.1. Procédés thermiques.....	36
VI.6.2. Trempage.....	36
VI.6.3. Germination.....	36
VI.6.4. Fermentation.....	36
VI.7. Méthodes de recherche des facteur antinutritionnels endogène dans les aliments.....	37
VI.8. Recherche des phytates dans les aliments.....	37
V.8.1. Extraction des phytates.....	37
VI.8.2. Purification sur résine échangeuse d'ions.....	38
VI.8.3. Chromatographie en phase liquide à haute performance.....	38
 Références.....	 39

Chapitre I : Introduction à l'hygiène et la qualité des matières premières et des ingrédients

I.1.Introduction

La sécurité et la qualité alimentaire sont des enjeux majeurs pour notre société. Afin de garantir cette sécurité auprès des consommateurs, des normes d'hygiènes ont été mises en place et une obligation de formation à l'hygiène s'impose aujourd'hui à toute personne travaillant au sein d'un établissement manipulant des denrées alimentaires. Donc, comment peut-on réaliser une bonne hygiène alimentaire ?

I.2. Définitions

I.2.1. Hygiène alimentaire

L'hygiène alimentaire est présente tout au long de la chaîne alimentaire. Elle se caractérise sous forme de « mesures et conditions nécessaires pour maîtriser les dangers et garantir le caractère propre à la consommation humaine d'une denrée alimentaire ».

I.2.2. Qualité alimentaire

Ensemble des propriétés et caractéristiques d'un service ou d'un produit qui lui confère l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés ou implicites de tous les utilisateurs.

I.3. Approvisionnement en matières premières et ingrédients

I.3.1. Circuits d'approvisionnement

Le choix initial et le suivi du fournisseur sont des éléments importants pour la qualité de la production alimentaire. Dans la mesure du possible, quand un fournisseur sérieux est identifié, il est important de faire évoluer la relation d'un achat épisodique vers la passation d'une sorte de contrat de confiance, pour sensibiliser le fournisseur sur l'importance de son rôle, et pouvoir définir avec lui la qualité de la matière première désirée. Bien qu'à priori, pour la majorité des préparateurs d'aliments de rue, le critère de prix soit souvent le plus important, pour ceux qui ont réussi à faire évoluer leur activité, les notions de qualité sont progressivement devenues partie des négociations. On peut dans certains cas arriver à la notion de « paiement à la qualité », stratégie mise en œuvre en général par les entreprises agro-alimentaires, mais dont les principes ne sont pas exclus dans le secteur des aliments de rue.

Dans tous les cas, et quel que soit le mode d'approvisionnement en matières premières et ingrédients, il importe de choisir judicieusement ses matières premières et ingrédients auprès de commerçants connus du marché et offrant des garanties de salubrité.

I.3.2. Hygiène des lieux d'achat

Les lieux d'achat des matières premières et ingrédients sont nombreux et variés: fermes, jardins familiaux, marchés ruraux, marchés urbains, boucheries, boutiques, magasins, etc. L'état et la bonne tenue des lieux

d'achat sont souvent un indicateur (sans être une garantie absolue) du sérieux du commerçant. Par ailleurs, s'ils sont mal tenus, ces lieux sont susceptibles de contaminer une matière première qui était de bonne qualité à l'origine, avant même son achat par le préparateur d'aliments.

L'origine des matières premières est déterminante pour la salubrité des aliments. Par conséquent, avant la sélection et l'achat des matières premières, il faut:

- Connaître l'origine des produits en visitant les étals, les magasins ou les lieux de stockage ;
- Se renseigner, si possible, sur les conditions de transport et de livraison des produits ;
- S'assurer que les produits ont fait l'objet d'une protection rigoureuse contre les polluants de toutes sortes et qu'ils ont été maintenus à l'abri du soleil et des intempéries.

I.3.3. Principes du choix des matières premières et des ingrédients

Lors de l'achat des denrées alimentaires, il est indispensable de respecter les règles suivantes:

- Contrôler visuellement les denrées alimentaires susceptibles d'entrer dans une préparation culinaire ;
 - Ne pas hésiter à refuser toutes les denrées alimentaires qui présentent une avarie ;
 - Vérifier la qualité des aliments (aspect, odeur, présence de corps étrangers, insectes, etc.) et le lieu où ils sont exposés ;
 - S'abstenir de s'approvisionner en matières premières auprès des vendeurs qui ne respectent pas les règles élémentaires d'hygiène corporelle, vestimentaire et comportementale.
- Étudions les cas particuliers de certains produits :

Ω Cas du poisson : Les produits de pêche nécessitent des précautions strictes depuis la pêche jusqu'à la consommation, car ils sont extrêmement altérables. Les poissons de bonne qualité doivent avoir:

- Un aspect de fraîcheur et une chair ferme ;
- Des nageoires intactes et humides ;
- Des branchies roses ou rouges, humides et brillantes ;
- L'œil clair, vif et remplissant la cavité orbitale ;
- L'anus bien ferme et non verdâtre.

Ω Cas de la viande : Les règles et critères à respecter pour le choix d'une viande de bonne qualité se présentent comme suit :

- Une bonne viande doit avoir une couleur rouge vif ; elle ne doit pas être verdâtre, noirâtre ou rouge foncé ;

- Une bonne viande ne doit pas sentir mauvais ;
- La présence de colonies de mouches dans le réfrigérateur est le signe d'une perte de saveur et expose le produit à d'importants risques de contamination microbienne ;
- La viande manipulée à main nue et exposée à l'air libre est susceptible d'être fortement contaminée ;
- La viande reconnue propre à la consommation humaine est cachetée par le vétérinaire pour attester du bon état de santé de l'animal dont elle provient.

Ω Cas des fruits, légumes et condiments : Au marché, les fruits, légumes et certains condiments (piment, tomate, oignon, ail, etc.) doivent toujours être achetés frais. L'un des critères de choix des légumes frais est de s'assurer que leur port est bien dressé. Leur peau ne doit être ni entaillée, ni abîmée par les nuisibles. Ils ne doivent pas non plus porter sur leur surface des pourritures et des souillures. Car, les légumes cultivés dans de mauvaises conditions peuvent constituer un danger réel pour la santé du consommateur. En effet, les légumes cultivés avec de la fumure organique mal gérée, et présentant une charge excessive en microorganismes, ou arrosés avec de l'eau provenant de sources contaminées, transmettent des maladies. Par ailleurs, l'utilisation inadéquate de pesticides laisse des résidus dans les légumes cultivés.

Ω Cas des grains et des graines : Les graines et les grains à sélectionner lors de l'achat doivent être:

- Entiers ;
- Sains et exempts de signes de pourriture ou d'altération de nature à les rendre impropres à la consommation ;
- Propres et pratiquement exempts de matières étrangères visibles (cailloux, morceaux de ferraille, excréments de rongeurs, etc.) ;
- Exempts de toutes odeurs et/ou saveurs étrangères ;
- Exempts d'attaques de ravageurs, notamment de charançons et autres parasites pouvant présenter un risque pour la santé du consommateur.

Ω Cas des huiles : Le choix doit tenir compte de:

- La couleur: une huile de palme est de couleur rouge;
- La date de péremption pour les huiles raffinées. Il est indispensable de vérifier les dates de péremption sur l'emballage.

Ω Cas des farines : Dans ce cas, il faut:

- Eviter d'acheter de la farine moisie ou ayant été en contact avec l'humidité ;

- Vérifier la présence de corps étrangers visibles (insectes, cailloux, morceaux de ferraille, excréments de rongeurs, etc.) ;
- Vérifier que les produits sont exempts de toute odeur et/ou saveur étrangère.

Ω Cas des œufs

- Au marché, il faudra éviter d'acheter des œufs exposés au soleil ;
- Un bon œuf, regardé à travers les rayons solaires, est sans tache noire.

Ω Cas des boîtes de conserve : Il faut éviter d'acheter:

- Une boîte de conserve bombée, car ce produit est contaminé par les microorganismes, dont certains peuvent entraîner une maladie grave et mortelle appelée « botulisme » ;
- Une boîte de conserve bosselée, rouillée ou qui suinte ;
- Une boîte de conserve sans date de péremption ou dont la date de péremption est dépassée. Il est donc vivement conseillé de vérifier, lors des achats, la date de péremption marquée sur les boîtes de conserve.

I.3.4. Gestion des matières premières

Lors de la livraison des aliments en provenance d'un fournisseur ou d'un marché, il faut s'assurer de la bonne conformité des produits aux exigences de qualité. L'un des moyens pour garantir la qualité est d'avoir un réseau fixe de fournisseurs qui connaissent bien les critères de qualité des matières premières et des ingrédients exigés pour assurer leur salubrité.

I.3.4.1. Étiquetage des matières premières et ingrédients

Les denrées conditionnées doivent porter les indications suivantes :

- La dénomination du produit ;
 - La liste des ingrédients ;
 - La quantité ;
 - Le nom du producteur, distributeur ou vendeur et son adresse ;
 - La date jusqu'à laquelle la denrée conserve ses propriétés sanitaires et gustatives, cette date pouvant être une DLC ou une DLUO, et les instructions pour le stockage ;
 - Le numéro d'identification du lot.
- **DLC (Date Limite de Conservation) :** Elle est utilisée pour les denrées fragiles et est matérialisée par l'indication « **à consommer jusqu'au jour/mois/année** ». Exemple : à consommer jusqu'au 28/09/2025 signifie que le produit peut être consommé dans de bonnes conditions jusqu'au 28 septembre 2025 compris.

- **DLUO (Date Limite d'Utilisation Optimale) :** Elle est utilisée pour les produits stables ou stabilisés (légumes secs, conserves...) et est matérialisée par l'indication « **à consommer de préférence avant le jour/mois/année** ». Passée cette échéance, le produit ne présente pas de risques sanitaires puisque sa stabilité biologique est maintenue, mais ses qualités organoleptiques commencent à s'altérer.

I.3.3.2. Contrôle à la réception

Les contaminations sont possibles quand le conditionnement est altéré, quand la DLC est dépassée et quand la chaîne du froid, pour les produits frais, n'a pas été respectée. Par exemple, il arrive fréquemment que les revendeurs, pour réaliser des économies d'énergie électrique, arrêtent les réfrigérateurs la nuit. Ils les rebranchent au matin avant que n'arrive le premier client.

Cette pratique est à combattre car les denrées devant être conservées au frais ne le sont plus et vont ainsi rapidement se dégrader. Des mesures préventives et la surveillance s'imposent donc: la vérification des emballages et des conditionnements, la vérification des DLC, la vérification des températures à la réception des marchandises et le contrôle visuel.

I.4. Conditions requises de transport, de stockage et de conservation des matières premières et des ingrédients

I.4.1. Transport des matières premières et ingrédients

Les bonnes conditions de transport contribuent à préserver la qualité des aliments et permettent d'éviter tout développement de microorganismes. C'est pourquoi, lors du transport des denrées alimentaires:

-Il ne faut pas mélanger les produits d'origine animale et/ou les produits d'origine végétale, afin d'éviter la contamination croisée entre ces produits. Il ne faut donc pas mettre ensemble sans les séparer avec un emballage étanche, viandes et poissons, viandes/poissons et légumes. Lors du transport, la réglementation pour ce qui concerne les températures doit être respectée et la chaîne du froid maintenue.

I.4.2. Stockage et conservation des matières premières et ingrédients

Pour bien stocker et bien conserver les produits alimentaires en luttant contre les polluants, les microbes et autres agents d'altération, il est indispensable de respecter les bonnes conditions d'hygiène ci-après:

- Bien emballer les produits ;
- Les garder dans des récipients propres disposés sur des tables ou étagères propres ;
- Maintenir la propreté des enceintes de rangement et des rayonnages ;
- Détruire systématiquement tous les produits altérés ;

- Lutter contre les insectes et les rongeurs ;
- Veiller à la propreté du personnel ayant accès aux structures de stockage/conservation.

En outre, la conception des structures de stockage/conservation doit répondre aux exigences ci-après:

- Leur nettoyage doit pouvoir se faire facilement et profondément ;
- La circulation de l'air doit pouvoir y être assurée facilement ;
- Elles doivent être protégées contre les ravageurs ;
- Aucun animal domestique ne doit être toléré dans les lieux de stockage.

Chapitre II : Les résidus de pesticides

II.1. Introduction

Au cours des siècles, les connaissances et les pratiques destinées à protéger les cultures contre les ravageurs et les maladies ont connu une évolution considérable. Depuis les premières civilisations, l'être humain a cherché à préserver ses productions agricoles en utilisant divers moyens, notamment des substances d'origine botanique et des composés inorganiques. Ces produits ont été employés afin de limiter les pertes causées par les ravageurs et les agents pathogènes, aussi bien au niveau des cultures que des animaux d'élevage, tout en visant l'amélioration du rendement agricole. Avec le développement scientifique et technologique, ces méthodes se sont progressivement perfectionnées, conduisant à une utilisation plus large et plus ciblée des produits de protection, tout en soulevant de nouvelles préoccupations liées à la sécurité sanitaire et environnementale.

II.2. Définitions

II.2.1. Pesticide

Selon la définition de la FAO, un pesticide est "une substance utilisée pour neutraliser ou détruire un ravageur, un vecteur de maladie humaine ou animale, une espèce végétale ou animale nocive ou gênante au cours de la production ou de l'entreposage de produits agricoles.

Les pesticides, encore appelés produits phytopharmaceutiques sont donc toutes les substances chimiques naturelles ou de synthèse utilisée en agriculture pour contrôler les différentes sortes de nuisibles (pests) (maladies, ravageurs et mauvaises herbes) à l'exception des produits à usage médical et vétérinaire. Mais un certain nombre de produits peuvent être à usage mixte.

Les pesticides sont le plus souvent classés en fonction du ravageur visé (insecticides (insectes), acaricides (acariens), aphicides (pucerons), ovicides (œufs), larvicides (larves), herbicides (plantes indésirables), fongicides (champignons), molluscicides (mollusques), hélicides (escargots), rodenticides (rongeurs), taupicides (taupes), corvicides (oiseaux).

II.2.2. Résidu

Ce terme s'applique non seulement aux reliquats de la substance active, mais aussi, le cas échéant, aux produits de métabolisation, de dégradation ou de réaction.

II.2.3.LMR

C'est un paramètre réglementaire que l'on pourrait assimiler à la quantité maximale de résidu d'un produit donné qui ne doit pas être dépassée dans une denrée alimentaire donnée.

II.2.4.DJA

C'est la dose qu'un individu peut ingérer chaque jour pendant toute sa vie sans qu'il en résulte d'inconvénient pour sa santé. Elle s'exprime en poids de substance par unité de poids corporel (ex : mg/kg).

II.3. Pourquoi utilise t'on les pesticides ?

Des pesticides sont utilisés :

-En agriculture, pour détruire ou combattre les ennemis des cultures. En effet, afin de conserver des cultures saines, les agriculteurs mènent une lutte incessante contre les insectes, champignons et maladies des plantes, ainsi que contre les mauvaises herbes qui les privent d'une partie de l'eau, des matières nutritives et de la lumière dont ont besoin les végétaux. Ceci permet donc une production agricole de qualité constante et la maîtrise des ressources alimentaires.

- Des pesticides sont également utilisés pour les traitements des produits stockés tels que :

- Les semences ou les céréales conservées dans les silos qui peuvent être altérés par des moisissures, des champignons ou encore détruits par certains insectes ;
- Les fruits dont la conservation doit garantir les qualités sanitaires, gustatives et organoleptiques.

- Le désherbage des zones non cultivées. ...

-Le traitement de bâtiments d'élevage, de matériel de stockage et de transport d'animaux, de matériel de laiterie ou encore de matériel vétérinaire.

- Le contrôle de la santé humaine mondiale et la lutte contre les vecteurs de maladies telles que la malaria ou le typhus, avec l'utilisation d'insecticides efficaces permettant d'enrayer les épidémies.

-En horticulture, pour empêcher l'action des ravageurs des plantes ornementales.

II.4. Classification : Il existe deux façons pour classer les pesticides :

- **Selon la cible visée :** les insecticides, les fongicides, les herbicides.

- **Selon les caractéristiques chimiques :** les organochlorées, les organophosphorées, les carbamates, les pyrèthrinoides, les pyrimidines, les azoles et les triazoles.

II.5. Principales familles de pesticides utilisées dans les cultures fruitières et légumières

Les principales familles de pesticides utilisées en agriculture fruitière et légumière sont les fongicides, les herbicides et les insecticides (Selon la cible visée).

II.5.1. Fongicides

Très fréquemment employés contre les maladies cryptogamiques, les fongicides assurent une excellente protection contre le développement des champignons parasites et permettent l'obtention de plantes saines. On

distingue deux grands groupes de fongicides : les fongicides minéraux et les fongicides organiques qui sont majoritairement des produits de synthèse.

II.5.1.1. Fongicides minéraux

Parmi les fongicides minéraux on trouve :

A. Fongicides à base de cuivre

Ce sont les plus nombreux et les plus fréquents. Le plus connu est la bouillie bordelaise, mélange de sulfate de cuivre, de chaux et d'eau. Il existe également des préparations à base d'oxychlorure de cuivre. Les sels de cuivre agissent sur un très grand nombre de champignons qui sont responsables des tavelures, des mildious, chancres, et/ou pourriture grise.

B. Fongicides à base de soufre

Les vapeurs de soufre pénètrent dans les cellules et entrent en compétition avec l'oxygène dans les chaînes respiratoires.

La qualité des soufres employés a une importance dans l'efficacité du traitement. On fait intervenir la finesse qui augmente la surface couverte et l'adhérence, la persistance, la densité qui doit être faible et enfin la fluence grâce à l'ajout d'un produit qui facilite l'épandage, améliore la répartition et accroît le pouvoir couvrant et pénétrant. La toxicité de ce type de fongicide est presque nulle vis à vis de l'homme et des animaux.

Il existe 3 types de fongicides soufrés : les soufres triturés utilisés sous forme de poudre, les soufres sublimés obtenus par condensation des vapeurs et employés en poudrage et les soufres mouillables utilisés en pulvérisations qui contiennent 80% de soufre à l'état pur et qui sont rendus miscibles à l'eau par l'adjonction de d'agents mouillants.

C. Fongicides à base de permanganate de potassium

Ils agissent uniquement à titre curatif sur les oïdiums qu'ils détruisent par contact.

II.5.1.2. Fongicides organiques

Les fongicides organiques sont arrivés sur le marché vers 1950, et se sont rapidement développés. Très efficaces, ils possèdent un large spectre d'action. Les fongicides organiques représentent un groupe important de molécules dont la structure chimique est variée. Parmi les principaux il y a :

A. Carbamates

- *Dérivés de l'acide carbamique et benzimidazolés*

A partir des années 1970, l'introduction du groupe des benzimidazolés a révolutionné le traitement de nombreuses maladies des plantes. Ce groupe comprend le benomyl, le thiophanate-méthyl et le carbendazime (qui est aussi le principe actif des deux précédents). Les benzimidazolés ont une action inhibitrice sur la

biosynthèse des microtubules et plus précisément sur la polymérisation de la tubuline H. De ce fait, ils inhibent la mitose du champignon.

- *Dérivés de l'acide thiocarbamique et dithiocarbamique*

Les dérivés de l'acide thiocarbamique constituent une famille chimique très importante du point de vue phytosanitaire. Ces fongicides ont en commun leur absence totale de phytotoxicité, une polyvalence assez grande et une faible écotoxicité. On trouve dans cette famille : le mancozèbe, le manèbe, le propinèbe, le zinèbe et le zirame.

Les dithiocarbamates ont une action inhibitrice sur la respiration des champignons. Ils agiraient également par le biais d'espèces réactives de l'oxygène à l'origine d'un stress oxydant. Ce groupe est surtout représenté par le thirame.

B. Dérivés du phénol

Ce groupe chimique, proche des dérivés du benzène est assez restreint. Son principal représentant est le dinocap qui agit sur la respiration. Le dinocap est phytotoxique si la température est supérieure à 35°C.

C. Dicarboximides

- *Les phtalimides*

Ces molécules ont une action sur la respiration du champignon. Les principaux représentants sont le captane et le folpel. Le folpel est un fongicide de contact multi-site homologué sur la vigne contre le mildiou, l'excoriose et le rougeot parasitaire.

- *Les imides cycliques*

Ces molécules causent des désordres dans les cellules du champignon spécialement quand celui-ci croît et se multiplie. L'iprodione, le procymidone et la vinchlozoline sont les plus utilisés.

D. Amides et amines

- *Anilides*

Les fongicides de cette classe ont une action sur les Basidiomycètes. Ils inhibent la respiration du champignon par inhibition de la succinate déhydrogénase. Le carboxine et le flutolanil sont utilisés pour le traitement des plants et des semences, le mépronil sert au traitement du sol et des parties aériennes de la laitue ou de la scarole.

- *Phénylamides*

Cette classe, qui comprend le bénomyl utilisé dans le traitement des parties aériennes de la tomate et de l'oignon contre le mildiou, et le métalaxyl pour traiter par exemple les parties aériennes des carottes contre la maladie de la bague ou de la tache ou sur les parties aériennes du cornichon ou du concombre contre le mildiou, tient une position importante dans le contrôle des attaques dues aux Oomycètes, pour lesquels de nombreux autres groupes sont peu efficaces.

E. Inhibiteurs de la biosynthèse des stérols

Cette classe de fongicides agit sur les cellules du champignon en inhibant la synthèse des stérols. Ils ont un effet sur les attaques dues aux ascomycètes, aux basidiomycètes et aux champignons imparfaits mais ils n'ont pas d'activité sur les Oomycètes. Ils peuvent être utilisés lors de phénomènes de résistances aux benzimidazolés.

F. Anilinopyrimidines

Ce groupe comprend le cyprodinil et le pyriméthanil utilisé contre le développement de la pourriture grise au niveau des parties aériennes du fraisier. Leur mécanisme d'action est encore mal connu.

G. Méthoxyacrylate et fongicides apparentés

Ces produits ont été développés à partir de substances naturelles secrétées par des champignons de forêts. Le mode d'action de ces anti-fongiques est l'inhibition de la chaîne respiratoire du cytochrome b/c1. Ce groupe est composé de l'azoxystrobine, du krésoxim-méthyl, de la picoxystrobine et de la trifloxystrobine.

II.5.2. Insecticides

Les trois plus grandes familles auxquelles appartiennent les insecticides organiques de synthèse sont

II.5.2.1. Organochlorés

Les organochlorés sont des insecticides qui contiennent du carbone, de l'hydrogène et des atomes de chlore. Ces sont les insecticides les plus anciens même s'il persiste actuellement peu de substances actives encore autorisées.

A. Diphényles aromatiques

Ce groupe d'organophosphorés les plus anciens comprennent le DDT, le DDD, le dicofol et le méthoxychlore. Le DDT est probablement le plus connu des organochlorés, tant par rapport à son efficacité en tant qu'insecticide dans le contrôle des vecteurs de la malaria ou de la fièvre jaune.

B. Cyclodiènes

Parmi les formulations les plus connues et répandues on retrouve le chlordane, l'aldrine, la dieldrine, l'heptachlore ou l'endosulfan par exemple.

Ces insecticides agissent en bloquant les récepteurs GABA (acide gamma-aminobutyrique) et empêchent alors l'entrée des ions chlorures au niveau neuronal. La plupart des cyclodiènes sont des insecticides persistants, stables dans les sols et peu photodégradables.

C. Polychloroterpènes

Le toxaphène est le plus connu des insecticides dont le mode d'action est proche de celui des cyclodiènes. Le toxaphène est relativement persistant dans les sols, mais sa volatilité est un atout. De plus, il est peu toxique pour les mammifères et les oiseaux chez qui il est rapidement métabolisé ; par contre il présente une toxicité importante chez les poissons.

II.5.2.2. Organophosphorés

Les organophosphorés sont des pesticides utilisés en milieu agricole comme insecticides. Ils appartiennent à la famille chimique des anticholinestérasiques. Ce sont des esters de l'acide phosphorique dont les noms de substances actives sont le plus souvent identifiables par leur terminaison en "phos" ou en "thion". Les organophosphorés pénètrent dans la plante et ont soit une action de surface et ne sont pas véhiculés dans la plante, soit un effet systémique et diffusent dans la plante. Au niveau de l'insecte, la pénétration des organophosphorés peut se faire par contact, digestion ou inhalation. Ce sont des molécules neurotoxiques qui bloquent l'activité enzymatique des acétylcholinestérases et empêchent ainsi la transmission de l'influx nerveux. Les organophosphorés sont très toxiques pour les vertébrés et la plupart des substances actives sont chimiquement instables. On retrouve trois grands groupes d'organophosphorés :

- *Les organophosphorés aliphatiques* tels que le malathion, le diméthoate ou le dichlorvos,
- *Les dérivés phényles* tels que le parathion, le méthylparathion ou le profenofos et qui sont généralement plus stables que leurs congénères aliphatiques,
- *Les hétérocycles* dont le chlorpyrifos, le méthidathion et le phosmet font partie.

II.5.2.3. Carbamates

Ce sont des insecticides dérivés de l'acide carbamique, qui agissent en inhibant l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase, inhibition qui peut être réversible dans certains cas. Le carbaryl est le carbamate le plus utilisé en raison de son spectre d'action très étendu pour les contrôles des insectes et en raison de sa faible toxicité chez les mammifères. Le carbofuran, l'aldicarbe, le carbosulfan ou encore le fénoxy-carbe sont également des carbamates largement utilisés.

II.5.3. Herbicides

Par souci de simplicité, les herbicides seront traités en fonction de leur mode d'application et de leur mode d'action.

II.5.3.1. Herbicides appliqués au niveau foliaire

A. Régulateurs de croissance

Les substances actives de ces composés affectent la croissance des plantes en agissant sur la synthèse des protéines et la division cellulaire. En fait ces herbicides vont entraîner une croissance anormalement rapide des plantes pour arriver à leur sénescence. Les substances actives les plus connues et utilisées sont le 2,4-D, le dichloprope et le 2,4,5-T.

B. Inhibiteurs de la synthèse d'acides aminés

Parmi les herbicides qui altèrent la synthèse d'acides aminés aromatiques on retrouve le glyphosate qui est un herbicide de contact employé en post-levée sur les plantes annuelles, bisannuelles ou vivaces, les graminées...

C. Destructeurs de la membrane cellulaire

Les bypyridilium et les diphenyl esters sont les deux principales familles d'herbicides qui altèrent la membrane cellulaire, pénètrent dans le cytoplasme, sont métabolisés en peroxydes et en espèces radicalaires réactives responsables de stress oxydant. Parmi les substances actives qui agissent ainsi on retrouve le paraquat, le diquat ou le fomesafen.

D. Inhibiteurs de la photosynthèse

Les herbicides de la famille des triazines et des phénylurées agissent en interférant avec la photosynthèse ; les triazines bloquent la réaction de Hill et empêchent le transport des électrons, tandis que les phénylurées bloquent les réactions de photophosphorylation. L'atrazine, la simazine, la cyanazine ou encore le diuron entrent dans cette catégorie d'herbicides.

II.5.3.2. Herbicides appliqués au niveau du sol

A. Inhibiteurs de la division cellulaire

Certains herbicides de la famille des dinitroanilines (dinitrobenzenamines) comme la trifluraline, la prodiamine ou la pendiméthaline agissent en inhibant les étapes de division cellulaire responsables de la séparation des chromosomes et de la formation de la paroi cellulaire au niveau des racines de la plante. Les conséquences étant un nombre de racines trop faible pour pouvoir correctement assurer la nutrition de la plante.

Destructeurs de pigments

Le clomazone ou la norflurazon agissent sur les plantes en détruisant la chlorophylle, ce qui empêche ensuite la plante de pouvoir réaliser correctement la photosynthèse.

II.6. Méthode de recherche et de dosage des résidus de pesticides

Afin de pouvoir évaluer le risque phytosanitaire encouru par le consommateur du fait de son alimentation, il apparaît indispensable d'établir des bilans de contamination des denrées alimentaires. Pour ce faire, des analyses de résidus vont être effectuées, à la fois sur matières premières (fruits, légumes, céréales, produits animaux) et sur produits transformés (pain, biscuits, conserves, plats cuisinés, boissons...).

II.6.1. Méthodes analytiques

Parmi les méthodes analytiques, il faut distinguer les méthodes monorésiduelles et les méthodes multirésiduelles.

Les premières, très spécifiques, serviront surtout à étudier le comportement d'un pesticide et de ses éventuels métabolites dans un milieu donné, tandis que les secondes permettront d'établir les bilans de contamination. Le tableau 1 résume les principales caractéristiques de ces méthodes.

Tableau 1: Méthodes monorésiduelles et multirésiduelles (Krieger, 2010).

	Méthode monorésiduelle	Méthode multirésiduelle
Nombre de substance active	+	+++
Limite de détection	+	++
Interférences	+	++
Taux de récupération	+++	++

+ **Faible**

++**Moyen**

+++**Important**

II.6.2. Échantillonnage

L'échantillonnage n'est pas en général réalisé par le laboratoire. C'est cependant une étape essentielle dans le processus analytique car il conditionne les résultats de l'analyse. Il doit être représentatif de la parcelle ou du lot étudié. Les conditions de transports doivent également garantir l'intégrité de l'échantillon : emballage adapté, chaîne du froid, ...

A partir de l'échantillon reçu, il faut tout d'abord éliminer les parties non comestibles ou non utilisées lors des processus de transformation. Ceci est codifié par la réglementation en vigueur. Ensuite la totalité de l'échantillon ou une partie seulement, (méthode des quarts opposés par exemple) est broyée et homogénéisée de sorte que le prélèvement d'une partie adéquate pour l'extraction soit représentatif de l'échantillon de départ.

II.6.3. Extraction

Le but de cette opération est de séparer la ou les substances actives et leurs éventuels métabolites de la matrice à étudier. L'extraction doit être aussi complète que possible (rendement supérieur à 80%), ne pas induire de modification de la molécule de départ et être sélective, c'est à dire extraire au mieux la molécule avec un minimum de composants de la matrice.

Le choix du solvant (pureté, polarité, viscosité, miscibilité à l'eau, réactivité, toxicité) et de la méthode d'extraction sont donc très importants. On distingue les techniques d'extraction suivantes:

- Avec solvant : Soxhlet, Kumagawa, Agitation, ASE, MASE (Microwave Assisted Solvent Extraction).
- Sans solvant : SFE, SPME.

II.6.4. Purification

La troisième phase de l'analyse consiste à débarrasser l'extrait des composés pouvant interférer lors du dosage des pesticides. On peut distinguer trois techniques de purification : (liquide-liquide), (liquide-solide), chromatographie par perméation de gel.

II.6.5. Dosage

Après extraction et purification, les pesticides sont déterminés et dosés le plus souvent avec des méthodes chromatographiques qui consistent en la séparation des composés sur une colonne suivie de l'identification et de la quantification de ceux-ci à l'aide d'un détecteur.

II.6.5.1. Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)

Elle est utilisée pour le dosage de composés ayant une certaine volatilité. La séparation des divers composés est réalisée au moyen de colonnes capillaires de longueurs variables (25 m à 50 m), diamètre interne (0,25 μm à 1,5 μm) avec des phases très peu polaires (type DB1, DB5) à moyennement polaire (type DB17, DB608) ou même très polaire (type DBwax).

La détection se fait généralement au moyen de détecteurs spécifiques :

- Capture d'électron (ECD) pour les produits organohalogénés tels que les organochlorés et les pyréthriinoïdes
- Photomètre de flamme (FPD) pour les organophosphorés et les organosoufrés ;
- Thermo-ionique (TID) pour les organoazotés et éventuellement les organophosphorés ;
- Oculométrie (Hall) pour les organochlorés (en mode chlore) ;
- ou bien par couplage avec un détecteur de masse (SM).

Cette technique permet la détection simultanée de tous les produits analysables par CPG, avec cependant parfois des limites de détection plus importantes qu'avec les détecteurs spécifiques. Le développement récent de la technique SM/SM permet, grâce à l'extraction et à l'ionisation d'un ion parent, d'obtenir des spectres de masse très simplifiés, de s'affranchir des interférences et d'atteindre de très faibles limites de détection.

II.6.5.2. Chromatographie en Phase Liquide (HPLC)

Cette technique connaît un très fort développement. Elle est utilisée, entre autres, pour le dosage des composés non volatils, thermosensibles, et polaires. Les colonnes sont généralement en silice greffée avec des phases stationnaires C18 (phase inverse) et les solvants des gradients eau/méthanol ou eau/acétonitrile sont dans des gammes de pH de 3 à 9.

Les molécules sont détectées :

- Par détecteur UV à longueur d'onde variable ;
- Par détecteur à barrette de diodes permettant une certaine identification de la molécule par obtention de son spectre d'absorption et comparaison avec ceux contenus dans une bibliothèque de spectres et la vérification de la pureté du pic (exemple des herbicides urées substituées) ;
- Par fluorescence, très spécifique mais d'usage limité aux molécules fluoresçant naturellement ou après dérivation (exemple des insecticides de la famille des carbamates après dérivation au mercaptoéthanol).

II.6.5.3. Couplage Chromatographie-Spectrométrie de Masse

La diversité des produits employés lors des traitements phytosanitaires, la diminution des doses et des réglementations de plus en plus strictes comme celle datant de mai 1999 et concernant les aliments pour bébé (fixation d'une LMR à 0,01 mg/kg quelle que soit la molécule) nécessitent l'utilisation de détecteurs permettant à la fois l'identification des molécules et leur dosage à l'état de traces.

A. Chromatographie Gazeuse-Spectrométrie de Masse (CPG/SM)

L'utilisation d'un détecteur de masse couplé à un chromatographe en phase gazeuse (CPG/SM) répond à ces exigences pour les produits volatils et non thermodégradables.

En effet, l'identification se fait en comparant le spectre de masse de chacun des produits présents dans l'extrait avec ceux contenus dans une bibliothèque. Des limites de détection et de quantification très basses ont pu être obtenues par l'emploi de la CPG/SM/SM qui permet, grâce à l'extraction et à l'ionisation d'un ion parent, d'obtenir des spectres simplifiés et de s'affranchir des interférences et du bruit de fond.

B. Chromatographie Liquide-Spectrométrie de Masse (HPLC/SM)

Il est également possible de réaliser des couplages HPLC/SM grâce à l'apparition de nouvelles sources et même des couplages HPLC/SM/SM avec la trappe d'ion. Il est donc maintenant envisageable d'avoir, comme en CPG, des méthodes multirésiduelles avec une purification simplifiée de l'extrait et un seul moyen de détection.

II.6.5.4. Autres méthodes

Parmi les autres techniques utilisées pour le dosage des pesticides, on peut citer :

- L'électrophorèse capillaire, qui s'apparente à la chromatographie en phase liquide et qui permet des développements intéressants pour les molécules polaires (phénoxyacides, diquat, paraquat) ;
- Les méthodes immunoenzymatiques, basées sur le principe antigène-anticorps. Elles peuvent servir soit à la purification des extraits (spécifique d'une molécule ou d'une famille de molécules) soit à des criblages car dans ce cas, les résultats doivent toujours être vérifiés par des méthodes de référence.

Chapitre III : Les résidus d'antibiotiques

III.1. Introduction

Au cours des dernières décennies, la production animale a connu une intensification sans précédent, notamment avec le développement de l'élevage de masse des poulets de chair, des poissons d'élevage et d'autres espèces destinées à la consommation humaine. Cette évolution s'accompagne d'une utilisation très importante de médicaments vétérinaires tels que les antibiotiques, les antibactériens de synthèse et les antiparasitaires internes et externes, afin de prévenir et de traiter les maladies animales. Parallèlement, la commercialisation des denrées d'origine animale s'est profondément transformée, avec une prédominance de la grande distribution, souvent au détriment du commerce de proximité, rendant l'origine des produits plus anonyme pour le consommateur.

L'internationalisation croissante des échanges alimentaires accentue également ces enjeux, avec l'importation de viandes en provenance du Brésil, de crevettes d'Asie du Sud-Est ou encore de miel d'Europe de l'Est. Dans ce contexte mondialisé, les consommateurs expriment des exigences de plus en plus élevées en matière de qualité, de sécurité et de traçabilité des aliments. Ces attentes ont conduit au développement de méthodes d'analyse toujours plus sensibles ainsi qu'à la mise en place de systèmes d'alerte rapide performants. La médiatisation répétée de scandales sanitaires liés à la présence de résidus médicamenteux, tels que les poulets aux antibiotiques ou les crevettes contaminées au chloramphénicol, a renforcé les inquiétudes du public. Ainsi, les résidus de médicaments vétérinaires dans les denrées alimentaires constituent aujourd'hui un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale.

III.2. Définitions

III.2.1. Définition d'antibiotique

Toute substance naturelle, de semi-synthèse ou de synthèse administrée par voie générale, douée d'une activité antibactérienne et antiparasitaire.

III.2.2. Définition du résidu d'antibiotique

Toutes les substances pharmacologiquement actives, qu'il s'agisse de principes actifs, d'excipients ou de produits de dégradation, ainsi que leurs métabolites restant dans des denrées alimentaires obtenues à partir d'animaux auxquels le médicament vétérinaire en question a été administré.

III.2.3. Définition de LMR

La teneur maximale en résidus, résultant de l'utilisation d'un médicament vétérinaire, exprimée en p.p.b sur la base du poids frais, que la communauté peut accepter comme légalement autorisé ou qui est reconnue comme acceptable dans des denrées alimentaires.

- [C] résidus faibles: p.p.b. (partie par milliard) ou mg résidu /tonne denrée alimentaire.

III.3. Évaluation de la toxicité des résidus d'antibiotiques

III.3.1. Concentration

La concentration des résidus de médicaments vétérinaires dans les denrées d'origine animale constitue un critère déterminant pour l'évaluation du risque sanitaire. Lorsque la concentration des résidus est inférieure aux Limites Maximales de Résidus (LMR), les substances sont considérées comme réglementées et sans danger pour le consommateur, à condition que les éleveurs respectent strictement les temps d'attente avant la commercialisation des produits animaux. En revanche, lorsque la concentration des résidus dépasse les LMR, un risque potentiel pour la santé publique apparaît. Des dépassements ont notamment été observés pour certaines classes d'antibiotiques telles que les β -lactamines, les doxycyclines, les fluoroquinolones et les sulfamides dans les œufs, ainsi que pour le florfénicol, la tulathromycine et l'ivermectine dans le lait. Enfin, pour certaines substances, aucune LMR ne peut être fixée en raison de leurs propriétés toxiques ou du manque de données scientifiques suffisantes : Chloramphénicol, Nitrofurannes, Nitro-imidazoles. La présence de résidus de ces substances non autorisées représente un risque avéré pour la santé du consommateur et justifie des mesures de contrôle strictes et des interdictions d'usage.

III.3.2. Nature et biodisponibilité

La nature du résidu constitue un facteur essentiel dans l'évaluation du risque pour le consommateur. Les résidus peuvent correspondre à la molécule mère elle-même ou à ses métabolites, dont la toxicité peut parfois être supérieure à celle du principe actif initial. À titre d'exemple, l'acide pénicilloïque, issu du métabolisme des pénicillines, est reconnu pour son pouvoir allergène. Par ailleurs, certains excipients utilisés dans les formulations vétérinaires peuvent également présenter une activité pharmacologique à la dose administrée, comme le diméthylsulfoxyde (DMSO). La persistance des résidus dans les tissus animaux représente un autre élément préoccupant : les résidus pénicilloyl peuvent ainsi persister plus de dix jours dans la viande après l'administration du médicament. Enfin, la biodisponibilité des résidus varie selon leur forme chimique, influençant leur absorption par l'organisme humain et, par conséquent, le niveau de risque sanitaire associé.

III.4. Classification

III.4.1. Classification des antibiotiques selon leurs origines

Les peuvent être produits de trois façons, par fermentation (naturelle), par semi-synthèse ou par synthèse chimique.

III.4.1.1. Fermentation ou extraction

Les antibiotiques sont fondamentalement des substances naturelles issues du métabolisme azoté de divers microorganismes.

- Soit des champignons inférieurs (mycètes) : du genre *Penicillium* pour les Pénicillines, Griséofulvine et genre *Cephalosporium* pour les Céphalosporines.
- Soit des bactéries : du genre *Streptomyces* (90 % des antibiotiques sont produits par des bactéries du genre *Streptomyces*) et genre *Bacillus*. Comme antibiotiques dont l'origine est bactérienne on trouve, la Bacitracine, Polymyxine-Colistine, Mupirocine, Céphamycines, Monobactames (les Monobactames obtenues initialement par extraction, sont obtenues actuellement par synthèse).

III.4.1.2. Semi-synthèse

Les antibiotiques ainsi produits par voie fermentaire sont parfois utilisés pour la préparation de dérivés artificiels voisins, mais qu'il est impossible de faire sécréter par la souche microbienne, même en recourant à des précurseurs.

Dans ce but, on fait subir certains traitements chimiques simples à des antibiotiques produits par voie fermentaire, notamment des hydrolyses pour séparer la partie fondamentale de la molécule, trop complexe pour être préparée par synthèse à un coût raisonnable ; on greffe ensuite sur ce squelette de base différents groupements particuliers grâce à des estérifications ou des amidifications.

III.4.1.3. Synthèse chimique totale

Certains antibiotiques dont la structure est assez simple sont produits plus économiquement par synthèse que par fermentation. C'est le cas du Florphénicol, Chloramphénicol, Monobactames, et tous les agents antibactériens de synthèse : Sulfamides, Triméthoprim, Quinolones, Nitrofuranes, etc.

III. 4.2. Classification des antibiotiques selon la structure chimique

Très variable, souvent une structure de base comme le cycle β -lactame (famille des Bêtalactamines) .Elle donne souvent, le nom à la famille.

III.4.3. Classification des antibiotiques selon la cible bactérienne

Selon la cible bactérienne au niveau de laquelle ils agissent, les antibiotiques peuvent être classés en quatre groupes :

III.4.3.1. Antibiotiques agissant au niveau de la paroi bactérienne

Les antibiotiques agissant de cette façon sont des inhibiteurs sélectifs de synthèse de la paroi bactérienne grâce à leur ressemblance structurale avec les acides aminés sur lesquels agit la transpeptidase. Ils se fixent sur cet enzyme et inhibent son action, empêchant ainsi la formation des ponts poly-glycines du mucopeptide pariétal rigides, soit des inhibiteurs du transfert et de la polymérisation du mucopeptide pariétal, soit enfin des inhibiteurs de la première phase de l'utilisation de l'alanine au niveau de la paroi. Parmi ces antibiotiques on trouve les Bêta-lactamines, Vancomycine, Fosfomycine, et la Cyclosérine.

III.4.3.2. Antibiotiques agissant au niveau de la membrane cytoplasmique

Ces antibiotiques agissent même sur les bactéries en phase de repos. Ils exercent une action directe et immédiate sur la membrane cytoplasmique. Cette action est comparable à celle des antiseptiques actifs. Parmi ces antibiotiques, on trouve la tyrothricine, les polypeptides cycliques, poly myxines, colistine...etc.,

III.4.3.3. Antibiotiques agissant au niveau des ribosomes

Ces antibiotiques inhibent la synthèse des protéines bactériennes par action sur les Ribosomes.

- Inhibition au niveau des sous unités 30 S des ribosomes : Aminoglycosides (lecture de l'ARNm est perturbée),
- Inhibition au niveau des sous unités 50 S des ribosomes.

III.4.3.4. Antibiotiques agissant au niveau de la biosynthèse des acides Nucléiques

- La réplication de l'ADN : inhibition de l'ADN-gyrase ou topoisomérase II (sous unité A), c'est le cas des quinolones
- La transcription de l'ARN : inhibition de l'ARN polymérase-ADN dépendante (sous unité B), c'est le cas des rifamycines.

III.4.3.5. Antibiotiques agissant par autres mécanismes

Ces antibiotiques agissent en tant qu'antimétabolites bactériens en inhibant une des étapes du métabolisme intermédiaire des bactéries. C'est le cas des sulfamides, triméthoprim (qui inhibent la dihydroptéroate synthétase : DHPS), et l'isoniazide (analogues structuraux du NAD).

III.4.4. Classification des antibiotiques selon le spectre d'activité

Chaque antibiotique est caractérisé par un spectre qui correspond à l'éventail des germes qu'il peut toucher, à dose plus ou moins élevée. Il est différent pour chaque famille d'antibiotiques, bien qu'il puisse se recouper, en partie ou en totalité, avec celui d'autres antibiotiques, c'est à dire que les mêmes germes peuvent être sensibles à plusieurs antibiotiques à la fois. On a ainsi des antibiotiques à spectre très large, large, moyen, ou étroit.

III.5. Méthode de détection des antibiotiques dans les aliments

III.5.1. Méthode microbiologique de référence (méthode des 4 boîtes)

C'est la méthode officielle française de détection des résidus d'antibiotiques dans la viande. Elle a pour objet, à l'aide de microorganismes sensibles, la mise en évidence de résidus de substances à activité antibiotique sans en déterminer leur identité. Elle est applicable aux muscles d'animaux de boucherie et volailles, aux muscles et foies gras.

A. Principe

Elle est basée sur l'inhibition de la croissance de bactéries du genre *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*. Elle est réalisée au moyen de boîtes de Pétri contenant une géloseensemencée avec la souche *Micrococcus luteus* ou la souche *Bacillus subtilis*. Les zones d'inhibition dépourvues de colonies bactériennes autour des points de

dépôts des échantillons (morceau de rein ou papier filtre imbibé d'exsudat de cortex rénal) sont révélatrices de la présence potentielle d'antibiotiques.

B. Mode opératoire

Cette méthode requiert l'utilisation des deux espèces suivantes : *Bacillus subtilis* cultivé à trois pH différents (6, 7,4 et 8) et *Micrococcus luteus* cultivé à pH 8. Pour la méthode de diffusion réalisée avec *Bacillus subtilis* à pH 7,4, l'addition de triméthoprine permet la détection des sulfamides dans le muscle grâce à la synergie triméthoprine sulfamides. Les principales étapes de cette méthode sont les suivantes :

- Sortir les échantillons du congélateur, quelques minutes avant d'opérer, et les déposer sur un plateau en acier inoxydable;
- Prélever sur chaque échantillon une carotte cylindrique de 8 mm de diamètre et de 2 cm de long environ, à l'aide d'un emporte-pièce;
- Tout en poussant le cylindre de muscle hors de l'emporte-pièce, découpé à l'aide d'un bistouri huit rondelles de viande de 2 mm d'épaisseur;
- Placer deux rondelles en positions diamétralement opposées sur chacune des quatre boîtes d'essai, en utilisant des pinces. Il est ainsi possible de déposer dans chacune de ces boîtes jusqu'à six rondelles, correspondant à trois échantillons à examiner, toutes ces rondelles devant se situer sur un cercle à environ 1 cm de la périphérie de la boîte.
- Pour chacune des quatre boîtes, sont considérés comme positifs, les échantillons de viande donnant des zones d'inhibition dont la taille de la zone annulaire est au moins égale à 2 mm. Il faut recommencer l'essai chaque fois que le résultat semble douteux (pour un même échantillon une rondelle étant positive et l'autre négative, colonies éparses dans la zone d'inhibition, contaminations. Si le second résultat n'est pas considéré comme positif, le résultat douteux doit être considéré.
- Sont considérés comme contenant des résidus de substances à activité antibiotique, les échantillons trouvés positifs par l'une au moins des quatre techniques de diffusion en gélose. De plus chaque boîte présente une sensibilité particulière pour certaines familles d'antibiotiques.

III.5.2. Méthode biochimique

III.5.2.1. Méthode enzymatique (PENZYME TEST)

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

ce test à la détermination des antibiotiques dans la viande est entravée par la présence des pigments rouges liés à des protéines (hémoglobine, myoglobine).

III.5.2.2. Méthode du BETA STAR TEST

C'est un test du type Récepteur Assay. Il est basé sur l'emploi d'un récepteur spécifique lié à des particules d'or. Il est très spécifique des Béta-lactamines (pénicillines et céphalosporines). Par contre, les concentrations élevées en résidus d'antibiotiques autres que les Béta-lactamines ont donné dans tous les cas des résultats positifs.

III.5.2.3. Méthode immunologique

Il existe plusieurs sortes de tests rapides immunologiques qui détectent les résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires. Sur le marché, les immuno-essais décrits pour l'analyse des antibiotiques sont répartis principalement en 2 groupes. Il y a les tests RIA (Radio Immuno Assay) et les tests ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay).

Le principe de base de l'ELISA est de combiner une réaction immunologique antigène-anticorps spécifique avec une réaction catalytique enzymatique et d'afficher la réponse immunitaire primaire avec l'amplification de la réaction enzymatique. Cette méthode peut détecter l'antigène et les anticorps. ELISA présente les avantages de la facilité d'utilisation, de la commodité, d'une grande efficacité, d'une grande spécificité et d'un faible coût de détection et est largement utilisée pour la détection des résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale.

III.6. Perturbation des industries laitières et fromagère

La présence de résidus d'antibiotiques dans le lait constitue une source majeure de perturbation pour les industries laitières et fromagères. Elle entraîne d'importantes pertes économiques, puisqu'un volume aussi faible que 10 litres de lait provenant d'un animal traité peuvent compromettre jusqu'à 86 000 litres de lait lors de la transformation industrielle, générant ainsi des pertes chiffrées à plusieurs centaines de millions de dollars chaque année. Sur le plan technologique, les résidus d'antibiotiques inhibent l'activité des bactéries lactiques essentielles à la fermentation, notamment *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. Des concentrations très faibles, de l'ordre de 0,02 µg de pénicilline par millilitre de lait, suffisent à provoquer un défaut d'acidification, une altération des arômes et le développement de flores microbiennes indésirables.

Ces inhibitions affectent directement la fabrication des produits laitiers fermentés. Dans le cas du yaourt, elles se traduisent par l'apparition d'un goût de peptone et par une quantité anormalement élevée de lactosérum en surface. En fromagerie, la présence de résidus d'antibiotiques provoque un mauvais rendement à la coagulation, un égouttage insuffisant, des phénomènes de gonflement précoce et une perturbation de la flore d'affinage, compromettant ainsi la qualité et la sécurité des produits finis.

Chapitre IV : Les résidus d'antiseptiques

IV.1. Introduction

Les antiseptiques qui ont une autorisation de mise sur le marché sont de véritables médicaments. Moins utilisés après l'apparition des antibiotiques, les antiseptiques et les désinfectants ont repris une place prépondérante dans la prévention et la lutte contre les infections nosocomiales. Face aux problèmes de thérapeutique et de prévention des infections nous ne pouvons que recommander la rigueur et insister sur l'importance de la formation des personnels utilisateurs d'antiseptiques et désinfectants. L'utilisation appropriée de ces produits est d'autant plus nécessaire que les techniques médicales de plus en plus invasives induisent des risques infectieux importants.

IV.1. Définition d'antiseptique

Les antiseptiques sont des agents antibactériens d'utilisation locale. Ils font partie de notre arsenal thérapeutique avec leurs avantages et leurs inconvénients. Par définition, ils préviennent et arrêtent la croissance bactérienne soit en inhibant l'action des micro-organismes, soit en les détruisant. Un large choix de molécules antiseptiques est disponible (chlorhexidine, hémétidine, sanguinarine, dérivé iodé, ...), sous différentes formes d'utilisation (bains de bouche, sprays, gels, dentifrices, ...).

IV.2. Mode d'action des antiseptiques

Les antiseptiques sont capables d'inhiber la croissance des micro-organismes (bactériostase, fongistase, virustase) ou d'avoir une action létale (bactéricidie, fongicidie, virucidie, sporicidie). Certains antiseptiques présentent ces deux actions en fonction des concentrations. L'idéal pour répondre aux objectifs de l'antisepsie est un effet létal en un temps très bref. Selon leur nature et la concentration, les antiseptiques ont un ou plusieurs sites d'action dans les microorganismes. Le mécanisme d'action varie selon la famille d'antiseptiques et le type de microorganisme.

IV.3. Classification des antiseptiques : On peut classer les antiseptiques par

- La famille chimique (halogénés : dérivés iodés, chlorés...),
- les indications de l'A.M.M (antisepsie de la peau saine, peau lésée ou plaie, muqueuses...),
- Le spectre d'activité.

Les antiseptiques se répartissent en quatre catégories selon le spectre d'activité comprenant les antiseptiques majeurs, mineurs, déconseillés et les produits considérés à tort comme antiseptiques.

IV.3.1. Antiseptiques majeurs : bactéricides et à large spectre

A. Biguanides : chlorhexidine (Hibitane), association d'antiseptiques (Biseptine).

Les biguanides sont utilisés principalement sous forme de digluconate ou de gluconate de chlorhexidine.

B. Halogénés

- *Dérivées iodés* (Bétadine...).
- *Dérivés chlorés* (Dakin).

C. Alcools : Alcool éthylique 70°, Alcool isopropylique.

VI.3.2. Antiseptiques intermédiaires : bactéricides et à spectre étroit

-Ammoniums quaternaires : (Chlorure de benzalkonium, Sterlane, Cétavlon...).

VI. 3.3. Antiseptiques mineurs : bactériostatiques et à spectre étroit

-Carbanilides : Triclocarban (Solubacter, Septivon...).

-Diamidines : Hexamidine (Hexomédine).

-Acides : acide borique (préparations), acide salicylique (Dermacide).

-Dérivés métalliques : Nitrate d'argent, Sulfates de cuivre et zinc (Ramet Dalibour Acide).

IV.3.4. Antiseptiques à déconseiller (toxicité et effets indésirables importants)

- Dérivés mercuriels : Chromaplaie, Mercuresceine.

IV. 3.5. Produits considérés à tort comme antiseptiques

-Péroxyde d'hydrogène : Eau oxygénée à 10 volumes.

-Colorants : Eosine aqueuse, Solution de Millian, Violet de Gentiane.

IV. 4. Antiseptiques naturels

A. Jus de Citron : Grâce aux nutriments qu'il contient, le citron est un bon anti-infectieux et antiseptique.

B. Thym : Les deux phénols de l'huile essentielle de thym, le thymol et le carvacrol, lui confèrent ses propriétés antiseptiques et bactéricides.

C. Vinaigre : Il prévient ou arrête le développement des bactéries.

D. Huile essentielle d'arbre à thé (Tea tree) : Est un antiseptique naturel incontournable. Elle est antibactérienne, antivirale, antifongique et booste l'immunité.

E. Miel : En application externe, le miel est un bon cicatrisant car il aide les cellules à se reconstruire (surtout le miel de manuka). Le miel va aussi empêcher la plaie de s'infecter.

F. Eucalyptus : L'eucalyptus est surtout un grand antiseptique respiratoire mais aussi urinaire. Le composé majoritaire de son essence, le 1.8 cinéol lui permet d'agir directement sur les voies aériennes supérieures, la gorge et les bronches.

G. Lavande : Son activité antiseptique et anti-inflammatoire justifie d'autant mieux son emploi dans les infections des voies respiratoires qu'elle décongestionne et favorise la dilatation des bronches".

IV.5. Méthode de recherche et de dosage des résidus d'antiseptiques : dérivés de l'acide benzoïque dans les semi-conserves de poissons

En vue de mettre au point une méthode pratique de détection et de dosage des antiseptiques dérivés de l'acide benzoïque qui sont employés assez fréquemment dans les semi-conserves de poissons de certains pays étrangers. La technique comprend :

- Une extraction des antiseptiques à partir de la semi-conserve homogénéisée ;
- Une purification de l'extrait ;
- Une recherche qualitative des antiseptiques par chromatographie sur couche mince ;
- Un dosage par spectrophotographie dans l'UV ou par chromatographie en phase gazeuse suivant le cas.

IV.5.1. Extraction

Les antiseptiques en cause peuvent être extraits de la semi-conserve soit par solvant, soit par entraînement à la vapeur d'eau.

A. Extraction par solvant

Bien que s'appliquant assez mal aux produits solides qui sont les plus nombreux parmi les semi-conserves de poissons, elle a été essayée avec l'éther sulfurique, le chloroforme et le cyclohexane, en utilisant les extracteurs BBS. Suivant que le solvant est plus léger ou plus lourd que la phase aqueuse à extraire, l'appareil employé est du modèle LE ou LO.

Les extractions ont été conduites sur 0,5 mg ou 10 mg d'antiseptiques en solution dans 5 ml acidifiée par 2 ml d'acide sulfurique 10 N ou 1 ml d'acide chlorhydrique concentré; elles ont été poursuivies pendant 2 h à l'ébullition.

B. Entraînement à la vapeur

L'entraînement à la vapeur d'eau a l'avantage de s'appliquer indifféremment quel que soit l'état physique de la semi-conserve, et d'être plus sélectif que l'extraction par solvant mais son rendement est parfois si faible qu'il faut recueillir un volume considérable de distillât pour obtenir un taux d'extraction convenable. Ceci prolonge exagérément l'opération et gêne la récupération du produit recherché.

IV.5.2. Recherche qualitative par chromatographie en couche mince

-La détermination qualitative des acides recherchés peut être faite commodément par chromatographie sur couche mince de silice de l'extrait alcoolique obtenu après entraînement à la vapeur d'eau.

-Les plaques (20 X 20 mm) sont préparées par étalement d'une bouillie contenant 60 g de silice Kieselgel G dans 120 ml d'eau distillée. Elles sont activées par un séchage de 30 mn à 105°C.

-Après dépôt de la substance à déterminer et des substances de référence sur la ligne de départ, les plaques sont placées dans une cuve verticale garnie à la base d'un solvant approprié. Deux types de solvant ont été utilisés concurremment, l'un acide mis au point par GOSSELE : éther de pétrole 10 ml, chloroforme 4 ml, acide formique 1 ml ; l'autre basique proposé par MITCHELL : acétone 90 ml, eau 7 ml, ammoniacque 22°B 3 ml. L'éluant acide permet une meilleure identification de l'acide benzoïque, tandis que l'éluant basique sépare mieux l'acide p-hydroxybenzoïque et son ester méthylique.

-Après 45 mn environ, le front solvant avoisine le haut des plaques. La « plaque basique » est exposée pendant une vingtaine de minutes aux vapeurs de l'éluant acide, afin de la neutraliser et d'éviter un jaunissement du fond pendant le séchage. Puis, les deux plaques sont séchées à l'air pendant une nuit.

-L'examen en lumière UV fait apparaître les acides salicylique et o-aminobenzoïque qui sont doués de fluorescence. Les deux plaques sont alors traitées par une solution diluée d'eau oxygénée et une solution ferroso-ferrique qui sont vaporisées successivement sans séchage intermédiaire.

-Les différents acides, à l'exception de l'acide sorbique, apparaissent sous forme de taches caractéristiques à la fois par leur emplacement et leur couleur. L'acide sorbique est révélé sur les mêmes plaques par traitement à l'acide thiobarbiturique en milieu oxydant (bichromate de potassium). Les spots ressortent plus nettement du fond sur la plaque avec l'éluant acide ; l'acide benzoïque en particulier, apparaît plus rapidement. La coloration jaune de l'acide déhydroacétique est assez fugace. La tâche de l'acide p-chlorobenzoylique n'apparaît qu'après 48 h ; son RF est le même que celui de l'acide benzoïque.

Chapitre V : Les mycotoxines dans les aliments

V.1.Introduction

Les mycotoxines constituent un enjeu majeur de sécurité sanitaire des aliments à l'échelle mondiale. Issues du grec *mycos* signifiant champignon et du latin *toxinum* signifiant poison, les mycotoxines sont des métabolites secondaires produits par certaines moisissures, principalement des genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*. Bien que plus de 2 500 mycotoxines aient été identifiées à ce jour, seule une trentaine présente une toxicité avérée susceptible d'affecter la santé humaine et animale. Les moisissures responsables de leur production sont des contaminants fréquents des substrats végétaux et de certains produits d'origine animale. Ces contaminants, de nature microbiologique ou chimique, peuvent intervenir à différents stades de la chaîne alimentaire, depuis la production jusqu'à la préparation des aliments, en passant par le stockage, le transport et l'emballage. La présence de mycotoxines dans les denrées alimentaires représente ainsi un risque sanitaire important, justifiant la mise en place de mesures de prévention, de contrôle et de réglementation strictes.

V.2.Définition

Les mycotoxines sont des composés toxiques naturels synthétisés par des champignons de type moisissures se développant sur certaines denrées alimentaires, et peut se produire avant, pendant ou après la récolte, durant l'entreposage, le transport ou la transformation du produit. Plus précisément les mycotoxines sont des métabolites secondaires bioactifs résultant de la dégradation du métabolite primaire.

V.3.Facteurs de la biosynthèse : Il existe deux types des facteurs:

V.3.1. Facteurs extrinsèques

V.3.1.1. Facteurs physiques

- **Activité de l'eau (Aw) :** Est un paramètre qui mesure la disponibilité globale moyenne de l'eau pour les réactions biologiques qui sont souvent à l'origine de la détérioration des aliments.
- **Température :** Est un facteur prépondérant de la croissance des micromycètes et donc de la production de toxines. Elle est intimement liée à l'activité de l'eau. De même que pour l'Aw, la température idéale de croissance d'un champignon ne correspond pas à celle de la toxine.

V.3.1.2. Facteurs chimiques

- **pH :** Peut jouer un rôle critique sur la production des mycotoxines et influe directement sur la production de toxine par les moisissures.

- **Présence d'oxygène et de dioxyde de carbone :** La production des mycotoxines est plus sensible à la variation de composition de l'air que la croissance fongique. Une concentration en oxygène inférieure à 1% et des concentrations élevées de CO₂ empêchent l'élaboration de mycotoxines.
- **Nature du substrat :** Les moisissures sont des organismes hétérotrophes, se développant exclusivement sur des substrats organiques contenus dans les produits alimentaires de base.

V.3.2. Facteurs intrinsèques

- **Interactions microbiennes :** La présence simultanée de plusieurs espèces de micro-organismes dans le même milieu entraîne une diminution de la production de mycotoxines par chacun des micro-organismes producteurs.
- **Présence d'insectes :** Les insectes représentent les principaux vecteurs de spores de moisissures au champ et dans les lieux de stockage. Les insectes, en dégradant la paroi des grains, favorisent la contamination par les moisissures et la production des mycotoxines.
- **Pratiques agricoles :** Les pratiques telles que le labourage, la rotation des cultures et l'alternance de fongicides participent à rompre le cycle de vie des organismes nuisibles, souvent très spécifiques

V.4. Classification

V.4.1. Aflatoxines

Les aflatoxines (AF) sont des mycotoxines produites principalement par trois espèces du genre *Aspergillus* : *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* et *Aspergillus nomius*. *A. parasiticus* est majoritairement associé à la contamination de l'arachide, tandis que *A. nomius* est principalement retrouvé sur le blé et le coton. La biosynthèse des aflatoxines est favorisée par des conditions climatiques chaudes et humides, ce qui explique leur prévalence élevée dans les régions tropicales et subtropicales.

À ce jour, une vingtaine d'aflatoxines ont été identifiées, parmi lesquelles les aflatoxines B1, B2, G1 et G2 sont les plus importantes d'un point de vue toxicologique. L'aflatoxine B1 (AFB1), la plus toxique, peut être métabolisée chez les ruminants en aflatoxine M1 (AFM1), un dérivé hydroxylé excrété dans le lait lorsque les animaux consomment des aliments contaminés. La toxicité des aflatoxines décroît selon l'ordre suivant : AFB1 > AFM1 > AFG1 > AFB2 > AFG2. Les denrées présentant un risque élevé de contamination sont notamment le maïs, les arachides, les noix du Brésil, les pistaches, le coprah et les graines de coton.

V.4.2. Zéaralénone

La zéaralénone (ZEA), également appelée toxine F-2, est produite par certaines espèces du genre *Fusarium*, principalement *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*. Sa production est favorisée par des températures basses et une forte disponibilité en oxygène ; ainsi, *F. graminearum* ne synthétise pas de ZEA en conditions d'ensilage anaérobie. En raison de sa structure chimique et de ses effets biologiques, la zéaralénone est classée parmi les mycotoxines à activité œstrogénique.

Une dose journalière tolérable de 0,2 µg/kg de poids corporel par jour a été établie par le comité scientifique de l'alimentation humaine. La ZEA est fréquemment détectée dans le maïs, l'orge, le blé et le sorgho, mais également dans l'avoine, le riz, le foin, certaines noix et le tabac. Des résidus peuvent être retrouvés dans les tissus et organes d'animaux exposés, ainsi que dans le lait, principalement sous forme de métabolites tels que le zéaralénol et ses dérivés.

V.4.3. Patuline

La patuline est une mycotoxine produite par plusieurs champignons appartenant principalement aux genres *Penicillium* et *Aspergillus*. Elle est essentiellement associée à la pomme, à la suite d'une contamination par *Penicillium expansum*. Le développement de ce champignon et la production de patuline sont favorisés lorsque l'intégrité du fruit est altérée, notamment par des blessures dues aux insectes ou aux manipulations post-récolte.

V.4.4. Trichothécènes

Les trichothécènes constituent une vaste famille regroupant plus de 160 mycotoxines, produites principalement par *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*. Les composés les plus fréquemment rencontrés sont le déoxynivalénol (DON), les toxines T-2 et HT-2, le diacétoxyscirpénol (DAS) et le nivalénol (NIV). Parmi eux, la toxine T-2 est la plus toxique, tandis que le DON est considéré comme la moins toxique.

V.4.5. Fumonisines

Les fumonisines sont produites principalement par *Fusarium verticillioides* et *Fusarium proliferatum*, champignons fréquemment isolés sur le maïs, mais également sur le sorgho et le millet. Leur présence dans les céréales est liée à une infection fongique influencée par les conditions climatiques, l'humidité et les dommages causés par les insectes.

V.4.5. Ochratoxines

L'ochratoxine A (OTA) est la principale ochratoxine d'intérêt sanitaire. Elle est produite dans les régions tempérées par *Penicillium verrucosum*, notamment lors du stockage des céréales, et dans les régions tropicales par *Aspergillus ochraceus*. Ces deux espèces sont fréquemment retrouvées sur le maïs et les fourrages secs.

V.6. Evaluation des risques de contamination

Il est difficile d'évaluer le risque de contamination mycotoxique car ce risque est un phénomène d'origine naturelle, difficilement contrôlable (contamination fongique liée aux conditions environnementales), et il peut être multiple par le fait qu'une moisissure peut produire plusieurs mycotoxines simultanément. Selon l'AFSSA, l'évaluation du risque est l'évaluation de la possibilité qu'un effet indésirable sur la santé survienne suite à l'absorption d'une denrée alimentaire présentant un danger, dans une population donnée, après exposition au danger.

V.7. Méthodes de recherche et de dosage des mycotoxines dans les aliments

-Le principe de la détermination des mycotoxines est basé sur leur extraction des aliments par des solvants organiques convenables et leur purification sur une colonne d'immuno-affinité. Les colonnes d'immuno-affinité contiennent chacune un anticorps très spécifique pour chaque mycotoxine recherchée et la purification de la mycotoxine dépend de son affinité à l'anticorps en question. Il est important de noter que l'anticorps peut être dénaturé par une température élevée et des changements de pH. Le tampon doit être toujours au dessus du gel et la colonne doit être conservée entre 2 et 8°C. L'élution de la toxine est effectuée par un éluant (solvant organique) dénaturant la liaison anticorps-antigène. L'identification et la quantification de la toxine dans l'éluât se fait finalement par chromatographie liquide de haute performance (HPLC) couplé à un fluorimètre. La figure 1 montrant les principales étapes utilisées pour l'analyse des mycotoxines par HPLC.

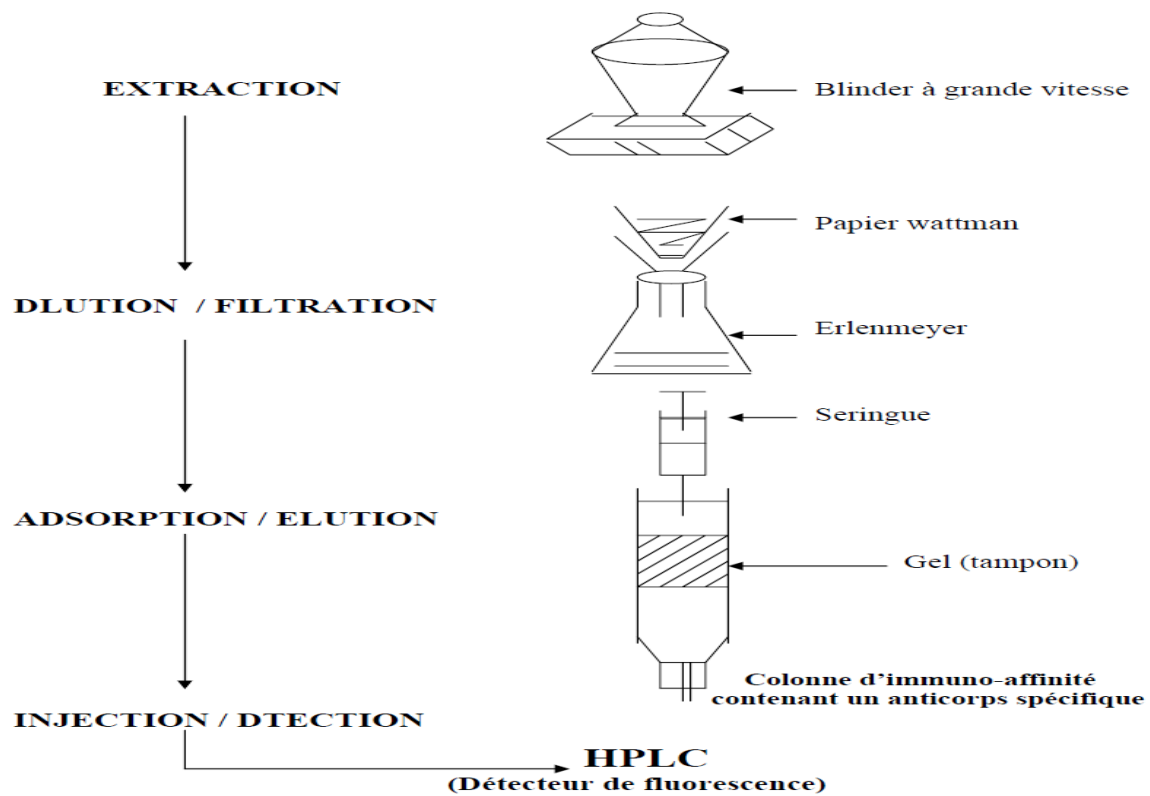


Figure 1 : Les principales étapes utilisées pour l'analyse des mycotoxines par HPLC (Turner et al.,2015).

D'autres méthodes :

- **Chromatographie liquide sur couche mince (CCM)** : Il s'agit d'une technique d'analyse qui s'appuie sur les différences d'affinités de substances chimiques entre une phase fixe, la plaque, et une phase mobile, l'éluant. Cette différence va permettre la séparation de ces différentes substances sur la plaque.
- **ELISA** : Cette technique repose sur la visualisation d'une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction enzymatique colorimétrique.

V.8. Exemples d'analyse des mycotoxines

L'analyse des mycotoxines dans les denrées alimentaires doit être ciblée par les investigateurs vu l'écologie des moisissures qui diffère d'une moisissure à une autre et la nature chimique propre de chaque aliment, ainsi selon ces recommandations nous avons procédé aux analyses suivantes :

- Détermination des aflatoxines dans le blé.
- Détermination de l'OTA dans les fruits secs et les olives noires de table.

V.8.1. Analyse des aflatoxines dans le blé

50g d'échantillon ont été extraits par 250 ml du mélange acétone: eau (85:15 v/v) en utilisant un blinder à grande vitesse pendant 3 minutes. Après filtration sur papier wattman n°4, 5 ml du filtrat sont dilués par 95 ml d'une solution de tampon phosphate (PBS, pH 7.3).

Une colonne d'immuno-affinité contenant un anticorps spécifique des aflatoxines (AFB1, AFB2, AFG1 et AFG2) est conditionnée par 10 ml du tampon PBS. 50 ml du filtrat dilué ont été appliqués à la colonne à un flux de 3 ml.min⁻¹, la colonne a été lavée par 20 ml d'eau bidistillée et l'air dans la colonne a été éliminé par une seringue jusqu'au sec.

Les aflatoxines ont été éluées par application en premier de 500 µl du méthanol. Ensuite, 1250 µl du méthanol ont été appliqués à la colonne et collectés par pression de l'air à travers la colonne. Après élution, l'éluât a été dilué avec 3250 µl d'eau bidistillée et mélangé au vortex. 100 µl de l'éluât dilué a été injecté à un HPLC.

La dérivation post-colonne a été effectuée avec la pyridine hydrobromide perbromide (PBPB) à 0.005 % dans l'eau bidistillée à un flux de 0.4 ml.min⁻¹. La colonne C18 Phenomenex (250 x 4.6 mm, 5µm) a été utilisée. La phase mobile utilisée était le mélange acétonitrile-eau-méthanol (17:54:29, v/v/v) à un flux de 1 ml.min⁻¹. Le fluorimètre a été opéré à des longueurs d'ondes d'excitation et d'émission respectivement de 365 nm et 435 nm. Le temps de rétention de l'AFB1 a été 7,8 min.

V.8.2. Analyse de l'OTA dans les olives noires de table

10 g d'un échantillon broyé ont été extraits par une solution contenant 50 ml de chloroforme et 10 ml d'acide chlorhydrique à 0,1M pendant 1h dans un shaker.

L'extrait a été filtré et le chloroforme évaporé avec un rotavapeur. La phase aqueuse a été dégraissée par le n-hexane qui va être éliminé par la suite. La phase aqueuse I^{aire} a été alcalinisée avec 10 ml du carbonate de sodium (NaHCO₃, 0,1N) et extraite une 2^{ème} fois avec 50 ml de chloroforme pendant 20 min. Le chloroforme est ensuite éliminé et la phase aqueuse II^{aire} acidifiée avec l'HCl (0,1M) est extraite une 3^{ème} fois avec 50 ml de chloroforme pendant 20 min. Le chloroforme a été évaporé à sec à l'aide d'un rotavapeur. Le résidu sec obtenu est dissous dans 1 ml de la phase mobile.

0,5 ml de l'extrait final ont été évaporés au sec et additionnés de 0,4 ml d'un tampon Tris (0,04 M), NaCl (1M) ajusté à pH 7,5. A cette solution, on ajoute 100 µl de l'enzyme carboxypeptidase et l'ensemble est incubé à 37°C pendant 3 heures. 50 µl de cette solution ont été analysés par HPLC sous les conditions chromatographiques.

Chapitre VI : Facteurs antinutritionnels endogènes dans les aliments

VI.1. Introduction

Les matières premières utilisées en alimentation animale peuvent contenir divers composés indésirables susceptibles d'altérer leur valeur nutritionnelle et leur innocuité. Ces composés, de nature très variée, peuvent avoir des origines chimiques, biologiques ou technologiques et influencer négativement les performances zootechniques ainsi que la santé des animaux. Dans le cas particulier des matières premières d'origine végétale, les principaux composés indésirables sont les facteurs antinutritionnels. Ces substances, naturellement présentes dans certains végétaux, interfèrent avec les processus digestifs ou métaboliques en limitant l'utilisation, l'absorption ou la biodisponibilité des nutriments par l'organisme animal. La connaissance de ces facteurs et de leurs mécanismes d'action est essentielle afin d'optimiser l'alimentation animale et de prévenir d'éventuels effets délétères.

VI.2. Définition

Les facteurs antinutritionnels (FAN) sont définis comme des composés susceptibles de réduire l'efficacité et la biodisponibilité d'un nutriment sur son site d'utilisation cellulaire. Ce sont des substances qui bloquent, après ingestion, l'utilisation digestive ou métabolique des nutriments. Les plus connus sont des antivitamines, des acides organiques chélateurs des cations minéraux, des antienzymes. Les tanins condensés, les lectines, saponines et certains alcaloïdes. A la suite de consommation répétée de certains aliments, ils conduisent généralement à des effets secondaires néfastes. Ces facteurs modifient généralement la valeur nutritionnelle des graines. On peut classer ces différents facteurs antinutritionnels en deux catégories :

- Ceux qui existent naturellement dans les graines,
- Ceux qui sont dus à une contamination qui peut être d'origine fongique ou liée au sol ou à d'autres influences environnementales.

VI.3. Exemples de facteurs antinutritionnels endogènes

VI.3.1. Inhibiteurs de protéases

Toutes les graines et en particulier celles des légumineuses contiennent des inhibiteurs d'enzymes. Les plus néfastes par leurs effets sont les inhibiteurs de protéases qui agissent sur les enzymes protéolytiques au cours de la digestion, spécifiquement sur la trypsine et la chymotrypsine. Ce sont des protéines ou des peptides dont le poids moléculaire varie de 8000 à 22000 daltons.

Le retard de croissance, l'hypersécrétion pancréatique et la carence anormale en acides aminés soufrés sont des effets observés chez des animaux consommant des graines de légumineuses crues.

VI.3.2. Polyphénols

Flavonoïdes, tanins, acides phénoliques sont très répandus dans le règne végétal. Il s'agit d'un groupe très diversifié de composés phénoliques plus ou moins polymérisés ou condensés. Les polyphénols condensés sont constitués de proanthocyanidines polymériques difficilement hydrolysables et non absorbables.

Les interactions de tanins avec les protéines dans l'aliment et dans le tractus digestif au niveau de la muqueuse intestinale expliquent leurs effets antinutritionnels.

Les polyphénols sont des substances jouant un rôle défavorable sur la digestibilité des nutriments et notamment de l'azote alimentaire. Après oxydation, ils se lient aux résidus lysine des protéines par l'intermédiaire des liaisons covalentes et contaminent les extraits protéiques, ce qui entraîne une diminution de leur qualité nutritionnelle : baisse de digestibilité de protéines et blocage de la biodisponibilité de la lysine. Les tanins ayant des propriétés astringentes sont utilisés pour améliorer la palatabilité des aliments, tandis que à forte dose cette propriété astringente diminue l'appétibilité, réduit la consommation alimentaire et par conséquent la croissance. Certains polyphénols protègent des plantes vis-à-vis de microorganismes ; d'autres empêchent les pertes dues à une germination.

VI.3.3. Alpha- galactosides

Ce sont des oligosides à base de galactose, fructose et glucose dont les liaisons osidiques α 1- 6 ne sont pas hydrolysables par les enzymes digestives de l'espèce humaine. Ces glucides sont aux nombres de trois : le raffinose (α -galactose 1-6 β -glucose 1-2 β -fructose), le stachyose (α -galactose 1-6 raffinose) et verbascose (α -galactose 1-6 stachyose). Les α -galactosides passent vers le colon où ils sont fermentés par la microflore digestive entraînant ainsi le phénomène de flatulence et de diarrhée. Ils peuvent être éliminés partiellement par solubilisation ou, éventuellement par voie enzymatique au cours de la germination ou fermentation des graines.

VI.3.4. Saponines

Ce sont des composés thermostables, de nature glucidique souvent présents dans les graines comme le soja. Elles sont de deux types : les saponines stéroïdiques et les triterpénoïques. Ces composés contiennent un aglycone à structure de stéroïde (C 27) ou de triterpène (C 30) relié à une chaîne glucidique mono ou polyholosidique formée de pentose, d'hexoses ou d'acide uronique. Les saponines sont des composés à propriété tensioactive. Cette propriété est due à la présence d'une asymétrie au niveau de la molécule : partie hydrophobe et partie hydrophile.

Les saponines confèrent aux aliments un goût amer. Des interactions hydrophobes conduiraient à la formation de complexes non covalents au niveau des sites récepteurs de goût, les liaisons pourraient aussi se former par l'intermédiaire de fonctions glycosidiques. Les saponines sont peu dangereuses car en plus du goût amer (inacceptable), elles sont indigestibles.

VI.3.5. Phytates

Acide phytique ou acide myo-inositol hexaphosphorique de formule brute $C_6H_{18}O_{24}P_6$ et de PM 660 Da, est composé d'un radical inositol estérifié par 6 radicaux phosphates. C'est un polyanion pouvant avoir une grande influence sur les propriétés fonctionnelles et nutritives des aliments.

Les phytates sont les principaux agents chélateurs des grains de céréales et de graines de légumineuses. Au cours de la digestion, ils forment des complexes avec de très nombreux minéraux (Mg^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} ...). Bien que soluble en milieu acide, ces complexes sont peu ou pas dissociables *in vivo*. Tous les minéraux n'ont pas la même affinité pour les phytates.

La stabilité de ces derniers et leur affinité pour les cations varient ainsi : $Fe < Ca < Mn < Co < Cu$. Les phytates peuvent former avec les protéines des complexes : soit directement avec les protéines par des liaisons de type ionique, soit indirectement par l'intermédiaire d'un cation tel que le calcium, avec les groupements chargés négativement.

VI.3.6. Lectines

Ce sont des glycoprotéines de nature non immunoglobulique, de poids moléculaire élevé entre 36000 à 132000 Dalton selon le degré de polymérisation. Ce sont de substances thermostables, non dénaturables par la chaleur. Elles ont la propriété d'agglutiner spécifiquement les hématies des animaux supérieurs. Cette propriété a été établie depuis Stilmark qui a effectué un travail sur la capacité d'hémagglutination de l'extrait toxique de grains de Ricinus.

Les grains de ricin contiennent une substance, « la ricine » capable d'agglutiner les érythrocytes ; des tests d'hémagglutinations sur d'autres plantes montrent plus tard que de nombreux aliments consommés par l'homme possèdent des activités analogues. Des phytohémagglutinines ont été décelées dans de nombreuses sources végétales et plus spécialement dans les graines de légumineuses : Soyine dans les graines de soja, phasine dans les graines d'haricot... L'ingestion des lectines chez les animaux supérieurs réduit l'efficacité de l'absorption des produits de la digestion.

VI.4. Digestibilité d'un aliment

C'est la capacité de cet aliment à être hydrolysé pendant le transit ; la digestibilité se définit aussi comme la quantité de nutriments, exprimée pour 100 g de constituants alimentaires ingérés, qui traverse la paroi intestinale.

VI.5. Biodisponibilité

C'est l'aptitude d'un nutriment ingéré dans un aliment à être mis à la disposition des organes ou cellules cibles où il doit exercer son action :

- Aptitude à l'hydrolyse au cours du transit digestif ;

- Aptitude des produits d'hydrolyse à être absorbés par la muqueuse intestinale ;
- Aptitude des nutriments à être transportés dans le milieu intérieur (systèmes de transport, protéines vectrices) ;
- Aptitude à pénétrer au travers des membranes cellulaires, dans les organes et cellules cible ;
- Aptitude à atteindre les organites intracellulaires, jusqu'au noyau lui-même.

VI.6. Différents procédés d'élimination des facteurs antinutritionnels endogènes

VI.6.1. Procédés thermiques

Les procédés thermiques sont les plus couramment utilisés pour réduire la quantité des facteurs antinutritionnels présents dans les graines. Le mécanisme par lequel la chaleur inactive les facteurs antinutritionnels est appelé dénaturation. Plusieurs types de facteurs antinutritionnels sont détruits par la chaleur tandis que d'autres sont persistants. L'action de la chaleur intervient à plusieurs niveaux :

- Four, sous vide, micro-ondes ;
- Cuisson extrusion ;
- Friture plate ou profonde ;
- Blanchiment ;
- Pasteurisation (autoclave), stérilisation (U.H.T).
- Séchage : - Séchage sous –vide ou par évaporation – lyophilisation ;
- Grillage et torréfaction ;

VI.6.2. Trempage

Le trempage est une technique traditionnelle qui consiste à tremper les graines. La température et la durée de trempage constituent des paramètres déterminants pour leur efficacité. Le trempage est souvent utilisé comme prétraitement des graines. Son utilisation permet d'enlever les téguments plus ou moins rigides des graines. Au cours du trempage, des transferts des matières peut avoir lieu entre le compartiment alimentaire et le milieu de trempage, une partie des inhibiteurs peut être éliminée au moment de la diffusion

VI.6.3. Germination

Au cours de la germination, la température et l'humidité permettent la mise en place de modifications biologiques profondes au sein des graines végétales. De grands nombres d'hydrolases sont activées permettant l'hydrolyse de certains inhibiteurs présents dans les graines : inhibiteurs d'amylases, facteurs antitrypsiques, hémagglutinines.

VI.6.4. Fermentation

La fermentation est un processus anaérobie au cours duquel des enzymes endogènes ou exogènes peuvent être activés permettant ainsi la dégradation de certains facteurs antinutritionnels.

VI.7. Méthodes de recherche des facteur antinutritionnels endogène dans les aliments

L'HPLC peut être utilisée pour séparer et quantifier différents facteurs antinutritionnels tels que les polyphénols, les lectines, les saponines, les tanins, etc. Les échantillons sont injectés dans une colonne de chromatographie et séparés en fonction de leur polarité, permettant ainsi leur identification et leur quantification.

La spectrophotométrie est souvent utilisée pour détecter la présence de certains composés antinutritionnels, tels que les cyanogénines. Ces substances peuvent être converties en cyanure par hydrolyse enzymatique et la quantité de cyanure libéré peut être mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre.

Des méthodes immunologiques, comme l'immunoessai, peuvent être utilisées pour détecter la présence de protéines antinutritionnelles spécifiques, telles que les inhibiteurs de la trypsine ou les antigènes des allergènes alimentaires.

L'activité enzymatique de certains facteurs antinutritionnels peut être mesurée à l'aide de réactions enzymatiques spécifiques. Par exemple, l'activité des inhibiteurs de la trypsine dans les légumineuses peut être déterminée en mesurant l'inhibition de l'enzyme trypsine sur un substrat spécifique.

Certains facteurs antinutritionnels peuvent réagir avec des réactifs chimiques spécifiques, produisant des changements de couleur ou d'autres réactions caractéristiques. Par exemple, les tanins peuvent réagir avec le réactif de Folin-Ciocalteu pour former un complexe coloré, qui peut être quantifié à l'aide d'un spectrophotomètre.

VI.8. Recherche des phytates dans les aliments

V.8.1. Extraction des phytates

L'extraction des phytates à partir d'échantillons alimentaires, tels que la farine, débute par une prise d'essai de 5 g. Cette prise est agitée dans 20 ml d'acide chlorhydrique à 0,5 M pendant 3 h à température ambiante. Ce traitement acide permet de libérer les phytates, qui sont des composés antinutritionnels, de la matrice alimentaire. Après agitation, le mélange est soumis à une centrifugation à 15 000 tours/min pendant 15 min. Cette étape permet de séparer les phytates dissous dans le liquide surnageant des autres composants solides. Le liquide ainsi obtenu est prélevé et placé dans un ballon rond de 250 ml pour évaporation. L'évaporation à sec de ce liquide concentre les phytates, permettant leur purification dans les étapes suivantes.

VI.8.2. Purification sur résine échangeuse d'ions

L'extrait sec, une fois concentré, est élué en utilisant 15 ml d'acide chlorhydrique à 0,25 N. Ce liquide est ensuite chargé progressivement sur une résine échangeuse d'ions anioniques. L'élution est réalisée à un débit constant de 15 gouttes/min, contrôlé par une pompe péristaltique. Cette étape permet de retenir les phytates sur la résine échangeuse d'ions, tandis que d'autres impuretés non liées à la résine sont éliminées. Les phytates sont ensuite élués sept fois, chaque fois avec 4 ml d'acide chlorhydrique à 2,0 N. Les fractions d'élution sont collectées dans un ballon rond de 25 ml, avec un débit de 5 gouttes/min. Une fois toutes les fractions recueillies, elles sont évaporées à sec, permettant ainsi de concentrer et purifier les phytates extraits.

VI.8.3. Chromatographie en phase liquide à haute performance

L'extrait sec issue de l'étape de purification, est repris par 2 ml de phase mobile sans phytate, Le liquide est ensuite filtré sur membrane et injecté dans le système chromatographique.

Références bibliographiques

- Agarwal, V. K. (Ed.). (1992).** Analysis of antibiotic/drug residues in food products of animal origin. Springer.
- Billon, J. (1981).** Recherche, identification et dosage des résidus d'antibiotiques dans le lait. *Recueil de Médecine Vétérinaire*.
- Bogaerts, R., and Wolf, F. (1980).** A standardized method for the detection of residues of anti-bacterial substances in fresh meat. *Fleischwirtschaft*, 60(4), 667.
- Comelade, E. (1990).** Technology and food hygiene: *Nutrients*. Paris: Éditions Jacques Lanore.
- Conseil supérieur d'hygiène publique de France, Section de l'alimentation et de la nutrition, & Pfohl-Leszkowicz, A. (1999).** Les mycotoxines dans l'alimentation: *Évaluation et gestion du risque*. Tec & Doc.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (n.d.).** Code international de conduite pour la distribution et l'utilisation des pesticides.
- Frias, J., Miranda, M. L., Doblado, R., and Vidal-Valverde, C. (2005).** Influence of germination on nutritional value of legumes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(12), 5095–5102.
- Gemedé, H. F., and Ratta, N. (2014).** Antinutritional factors in plant foods: Potential health benefits and adverse effects. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 3(4), 284–289.
- Gilani, G. S., Cockell, K. A., and Sepehr, E. (2005).** Effects of antinutritional factors on protein digestibility and amino acid availability. *Journal of AOAC International*, 88(3), 967–987.
- Hartley, D. (Ed.). (2003).** The agrochemicals handbook. Royal Society of Chemistry.
- Hotz, C., and Gibson, R. S. (2007).** Traditional food-processing and preparation practices to enhance the bioavailability of micronutrients. *Journal of Nutrition*, 137(4), 1097–1100.
- Kocić-Tanackov, S., El-Saber Batiha, G., Hussein, D. E., Algammal, A. M., and Jeandet, P. (2021).** Application of natural antimicrobials in food preservation: Recent views. *Food Control*, 126, 108066. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108066>
- Krieger, R. I. (Ed.). (2010).** Hayes' handbook of pesticide toxicology (3rd ed.). Elsevier Academic Press.
- Kumar, V., Sinha, A. K., Makkar, H. P. S., and Becker, K. (2012).** Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition. *Food Chemistry*, 120(4), 945–959.
- McDonnell, G., and Russell, A. D. (1999).** Antiseptics and disinfectants: Activity, action, and resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(1), 147–179.
- Möesch, C., and Buxeraud, J. (2017).** Généralités sur les antiseptiques. *Actualités Pharmaceutiques*, 56(568), 1–3.
- Moll, M., and Moll, N. (2000).** Précis des risques alimentaires. Tec & Doc.

Pitt, J. I., and Hocking, A. D. (2009). Fungi and food spoilage (3rd ed.). Springer.

Turner, J. A. (Ed.). (2018). The pesticide manual: A world compendium (18th ed.). British Crop Production Council.

Turner, P. C., Wild, C. P., and Gong, Y. Y. (2015). Mycotoxins: Methods and protocols. Humana Press.

Wang, J., MacNeil, J. D., and Kay, J. F. (Eds.). (2011). Chemical analysis of antibiotic residues in food. Wiley & Sons.

Wu, Y., and Zeng, Z. (Eds.). (2024). Antibiotic residues, antimicrobial resistance and intervention strategies of foodborne pathogens. MDPI Books.