

III. — STOCKAGE DES ANTIBIOTIQUES DANS LES ORGANES ET LES TISSUS

PAR

R. FÉVRIER, J. P. VACHEL, M. MICHEL

Station de Recherches sur l'Élevage, Jouy-en-Josas.

Lorsque l'usage des antibiotiques se développa en alimentation animale, certains hygiénistes exprimèrent la crainte que les ingestions répétées par l'animal n'aboutissent à un stockage dans des organes ou tissus qui, ultérieurement consommés par les humains, seraient susceptibles de provoquer une accoutumance.

BIRD (1950) n'a pas retrouvé des quantités notables d'antibiotiques dans le corps de l'animal, mais le nombre réduit de travaux consacrés à ce problème nous a incités à poursuivre des recherches dans cette direction, à la suite de notre étude de 1953.

Nous disposions de 15 animaux, recevant notre régime témoin habituel :

	de 20 à 60 kg	de 60 à 100 kg
Orge	75	84
Farine de luzerne	3	3
Farine de viande	4	2
Farine de poisson	4	3
Levure	3	—
Tourteau d'arachide	8	6
Mélange minéral.....	3	2

Un groupe de 5 animaux reçut cette ration seule, un autre groupe reçut en plus de l'auréomycine, à raison de 40 mg/kg de 25 à 60 kg et 20 mg/kg de 60 à 100 kg. Le troisième groupe reçut de la pénicilline-procaïne à raison de 20 mg/kg. de 25 à 60 kg et 10 mg/kg de 60 à 100 kg. Ces doses sont deux fois plus fortes que celles utilisées couramment.

Ils furent abattus à 100 kg environ.

Méthode de dosage

1° Prise d'échantillons

Les animaux à abattre prenaient un repas le matin à 7 h. Ils étaient abattus dans la matinée, entre 9 h et 12 h. De cette façon, la plus grande

partie du repas se trouvait encore dans l'estomac au moment de la prise d'échantillon.

Sur chacun des animaux, des échantillons ont été prélevés dans le sang, la bile, le foie, les reins et le jambon. Ces échantillons furent placés dans des flacons bouchés et conservés à -15°C jusqu'au transport au laboratoire. Les échantillons analysés chez les porcs n'ayant pas reçu d'antibiotique ont permis d'éprouver la méthode de dosage et de vérifier que la croissance du *Staphylococcus* n'était pas inhibée par des substances autres que les antibiotiques, qui auraient été présentes dans tous les échantillons, quel qu'ait été le régime des porcs.

Le dosage microbiologique de ces échantillons nécessite la mise en solution de l'antibiotique à doser. La solution est titrée par une méthode turbidimétrique utilisant un staphylocoque comme organisme test.

2° Milieux de culture et solutions tampon

FORMULE DE LA GÉLOSE (pour entretien de la souche)

Peptone	5 g
Extrait de levure.....	3
Gélose	20
Eau q. s. p.....	1 l

FORMULE DU BOUILLON DE CULTURE

Peptone.....	5 g
Levure.....	5
NaCl	3,5
PO ₄ H ₂ K.....	1,32
PO ₄ HK ¹	3,68
Glucose.....	2
Extrait de foie	0,1 l (1)
Eau distillée q. s. p.....	1 l

(1) Digestion pepsique de foie de porc à la concentration de 20 p. 100.

Solution tampon pour le dosage de l' <i>Auréomycine</i>		
Phosphate monopotassique	0,1 M	pH 4,5
Solution tampon pour le dosage de la <i>Pénicilline</i>		
PO ₄ H ₂ K.....	3,1 g	
PO ₄ HK ₂	2,7	
eau distillée q.s.p.....	1 000 cm ³	pH 6,5

Toutes ces préparations sont autoclavées 10 minutes à 120°C .

3° Mise en solution de l'antibiotique à doser

Les *tissus* et le *sang* sont traités comme suit :

Une prise d'essai de 20 g est broyée au « mixer » dans 4 volumes d'acétone. Après filtration sur verre fritté, le filtrat est amené au pH voulu (6,5 pour la *Pénicilline* et 4,5 pour l'*Auréomycine*). Il est concentré sous vide et filtré à nouveau. La solution obtenue est amenée à la dilution convenable pour le dosage. Toutes les dilutions et tous les rinçages sont effectués avec le tampon phosphate.

4^o Technique du dosage

Le microorganisme utilisé est la souche de staphylococcus aureus FDA 209 P. Il est sensible à 0,002 mcg/cm³ d'Auréomycine et 0,005 mcg/cm³ de Pénicilline G Procaïne. Sa croissance dans certaines conditions est une fonction linéaire de la concentration en antibiotique.

Le staphylocoque est repiqué tous les mois sur gélose inclinée et conservée en réfrigérateur.

L'*inoculum* utilisé pour l'ensemencement du bouillon nécessaire au dosage est une culture stationnaire sur bouillon, obtenue après 2 passages, qui permet un ensemencement à densité microbienne constante. Cette culture peut être stockée 2 mois en réfrigérateur sans perdre de sa vitalité.

Le bouillon nécessaire au dosage est ensemencé avec 1 p. 100 de cette culture et placé 1 heure à 37°C.

Les solutions étalon sont diluées aux concentrations suivantes :

Pénicilline	0,1	0,2	0,4	0,8 unités/cm ³ (1)
Auréomycine	0,02	0,04	0,06	0,08 mcg/cm ³

(1) L'unité de pénicilline, soit 0,6 mcg de Pénicillinate G de Na, correspond à 1 mcg de Procaïne Pénicilline G.

Les échantillons à doser sont dilués d'après le titre prévu à 0,1, 0,2 et 0,8 u/cm³ pour la pénicilline et 0,02, 0,04 et 0,08 γ /cm³ pour l'Auréomycine.

Ces solutions sont distribuées en tubes à essai à raison de 1 cm³ par tube ; on utilise pour les étalons, 3 tubes par concentration et, pour les solutions à doser, 2 tubes. On ajoute ensuite 9 cm³ de bouillon ensemencé par tube.

Par portoir de 50 tubes, on place 12 tubes étalon, 36 tubes de solutions à doser (6 échantillons) et 2 tubes témoin sans antibiotique.

Les tubes sont placés au bain-marie à 37°C pendant 3 heures.

Après ce délai, la croissance est stoppée avec du formol à 30 p. 100 (2 gouttes par tube). On mesure la turbidité à l'électrophotomètre. On construit la droite étalon en portant en abscisse la concentration en antibiotique et en ordonnée le pourcentage de transmission.

On détermine la concentration en antibiotique des solutions à doser par lecture sur la droite étalon. On multiplie cette concentration par l'inverse de la dilution, pour avoir la teneur de l'échantillon original.

Résultats

Ils sont indiqués dans les tableaux ci-dessous. On est amené à faire les constatations suivantes :

Comme on pouvait le prévoir, les teneurs en antibiotiques du sang, de la bile et des tissus des porcs ayant reçu des antibiotiques sont très

faibles ou nulles. Les teneurs des échantillons correspondants, prélevés chez des porcs n'ayant pas reçu d'antibiotique (lot témoin), ont été uniformément nulles.

1° Pénicilline

Echantillon	Nombre de dosages	Teneurs (1)	
		Moyenne	Extrêmes
Sang	11	0	0
Bile totale	11	0,2	0 et 2,5
Foie	11	0	0
Rein	10	0,15	0 et 0,5
Jambon.....	10	0,3	0 et 1,25

(1) En unités de pénicilline par g ou cc.

2° Auréomycine

Sang	8	traces	0 et 0,2
Bile totale.....	8	0,4	0 et 1,0
Foie	7	traces	0 et 0,45
Rein	7	—	0 et 0,3
Jambon	7	—	0 et 0,6

(1) En mcg de chlorhydrate d'auréomycine par g ou cc.

3° Témoin

Teneur en pénicilline et auréomycine nulle.

On peut donc estimer que la pénicilline ou l'auréomycine ne sont pas stockées dans les tissus et liquides organiques des porcs traités. Les quantités que l'on a pu y doser sont très faibles par rapport à celles des contenus du tractus digestif.

Nous avons effectué quelques dosages sur des fèces et de l'urine d'animaux vivants, pour comparer l'importance de l'élimination par ces deux voies :

Fèces d'animaux recevant :

40 mg d'auréomycine/kg de ration.....	12	mcg/g	2 dosages
---------------------------------------	----	-------	-----------

Urine d'animaux recevant :

40 mg d'auréomycine par kg.....	0,56	mcg/g	3 dosages
20 mg d'auréomycine par kg.....	0,70	—	1 —
20 mg de pénicilline par kg.....	2,4	—	3 —
Aucun antibiotique	0	—	2 —

Ces résultats, en particulier la plus grande richesse des urines en pénicilline qu'en auréomycine, concordent avec l'opinion de BARON (1950), qui estime que l'on retrouve dans l'urine, 2 à 4 heures après l'ingestion, de 2 à 13 p. 100 de l'auréomycine ingérée oralement, alors qu'environ 33 p. 100 de la pénicilline ingérée est absorbée, puis rapidement excrétée par l'urine, le reste étant détruit dans le tractus intestinal ou éliminé par les fèces.

Résumé et conclusion

Des dosages de pénicilline et d'auréomycine ont été effectués sur différents tissus et organes de porcs ayant ingéré ces antibiotiques pendant toute leur vie. Les résultats montrent que leur concentration est souvent nulle, parfois de l'ordre de 1 à 3/10 d'unité par cc et confirment, par conséquent, les travaux qui ont été consacrés à cette question.

L'élimination des antibiotiques semble s'opérer par l'urine, en particulier dans le cas de la pénicilline, et surtout par les excréta solides.

Les différents tissus étudiés étant généralement consommés cuits, on peut donc affirmer que leur consommation n'entraîne aucune ingestion d'antibiotique par l'homme, et à fortiori, aucune accoutumance.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BARON (A. L.). — « Handbook of antibiotics », 1 vol. p. 63 et 186. 1950.
BIRD (H. R.). — « Antibiotics in feed ». Présenté à la « 40 th. annual Convention » de l'Association of American Feed Control Officials, Washington, 5 octobre 1950.
-