

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955- سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des Sciences
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques / Option : Ecotoxicologie Animale

Intitulé

Dépistage de résidus d'antibiotique dans la
chair de Tilapia (*Oreochromis ssp*)
« Méthode Physico-chimique »

Présenté par :

Lassoui Ali
Naghouch Meriem
Rouag Imane
Selougha Ahlem

Examiné par :

Pr. ZAIDI Nedjoua	Université 20 août 1955 Skikda	Prof	Président
Dr. LAIB Imène	Université 20 août 1955 Skikda	MCA	Examinatrice
Dr. BOUCETTA Sabrine	Université 20 août 1955 Skikda	MCA	Promoteur
Dr MAHMOUDI Abdelghani	Université 20 août 1955 Skikda	MCA	Co-promoteur

Année universitaire 2021/2022

Avant-Propos

Remercîment :

Merci avant tout à Allah pour nous avoir donnés le courage, la santé,

Et la patience d'accomplir ce travail

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre directrice de mémoire **Dr Boucetta Sabrine (MCA, Université 20 Aout 55,Skikda)** , et à notre co-directeur **Dr Mahmoudi Abdelghani (MCA, Université 20 Aout 55,Skikda)** Pour avoir accepté de diriger e ce travail ,pour nous avoir fait bénéficier de son expérience ,et pour nous avoir orienté , aidé ,et conseillé,*

Pour être à nos cotés, et nous aider dans les moments difficiles, Merci beaucoup.

Nous tenons a exprimé toutes nos gratitudes aux membres du jury :

Professeur : Zaidi Nedjoua .d' avoir accepté de présider ce jury.

Dr Laib Imène de bien voulu examiner ce travail.

Nous remercions également :

Mme Zaoui Nawel : Technicienne de laboratoire de la biologie Animale,

Université 20 Aout 55, Skikda

Mme Djakhar soumaya : Technicienne de laboratoire de biologie Animale,

Université 20 Aout 55, Skikda

Pour leurs conseils et leur aide, tout au long de notre séjour au laboratoire de biologie animale

À toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace :

*D'abord je remercie Dieu le tout puissant qui m'a donné la
force etLe courage pour réaliser ce modeste travail.*

Je dédie ce travail :

*A la mémoire de mon très cher père et ma très chère nièce Aya Amat
Errahmane*

*.....J'aurais souhaité votre présence en ce moment pour partager ma joie, vous m'avez
toujours fait preuve d'amour et d'affection, vous êtes toujours présents dans mon esprit et
dans mon cœur, que vous âmes reposent en paix*

*A ma très chère mère, merci pour votre amour, votre soutien et vos prières,je
t'aime maman.*

A ma deuxième mamanNora.

*A vous mes frères : Said , Abdelhak ,Saddik ,Brahim et ma sœur : Bariza qui m'avez
toujourssetenu et encouragé durant ces années d' études .*

A vous mes belles : Narimane , Rihem Nour Elhouda . Amani

Meriem



Dédicace :

Remercie Allah de m'avoir donné la force et le courage pour pouvoir réaliser ce modeste travail.

Je dédie ce travail

A l'âme pure de mon père et mon premier soutien à celui dont je porte le nom avec fierté.

A ma très chère mère

Et mon frère

ET mon grand père

*Pour l'éducation et le grand amour dont ils m'ont entouré depuis ma naissance. Et pour leurs
patiences et leurs sacrifices.*

A mon mari et mon fils, Pour m'avoir la curiosité nécessaire

à l'accomplissement de ce travail.

A mes chers frères

A mes chères sœurs

*A tous mes proches : mes tantes, mes cousines et Et toute personne m'aider pendant ce
travail, mes voisins et toutes les familles SELOUGHA, SEMASSEL et ZEGHDOUD.*

A mes chères amies.

A tous mes collègues de travail.

A tous ce qu'encouragé à aller jusqu'about de ce travail.

Et enfin à toute la promotion d'écotoxicologie animale 2021/2022

Ahlem selougha



Dédicace :

D'aborde remercie Dieu le tout puissant qui m'a donné la force et le

courage pour réaliser ce projet de mémoire de fin d'étude.

Je dédie mon travail à

Celle qui m'a arrosé de tendresse et d'espoir ; à la source d'amour de

sacrifice, qui ma bénie par ces prières, à toi chère maman et A mon support de ma vie, qui m'appris, m'a supporté et ma dirigé vers la gloire, mon cher papa.

*A mes très chers frères «**Sami**», «**Zine adinne**» et«**Wail**», je leur souhaite tout le succès possible, que dieu vous préserve*

*A ma chère sœur« **Douaa**», je leur souhaite du bonheur et du succès dans leur vie.*

*A mes deux chères amies « **HibetErrahman**» et « **Chaima** » merci d'être toujours à mes cotés.*

*A tous **les chers** qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à*

mes côtés, et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'études supérieures, mes aimables amis.



IMANE

Dédicace :

D'abord je remercie Dieu le tout puissant qui m'a donné la force et le courage pour réaliser ce modeste travail.

A ma mère la personne la plus précieuse de ma vie, « Tu sais, et crois que du plus Profond de mon cœur, je ne cesse de t'aimer. »,

A mon père

A mes deux Frères Mohammed, Mourad, et Spécialement pour ma sœur la plus Belle La fille magnifique.

*A les deux familles **Lassoui et Fakhete***

*A tous mes enseignants du primaire à l'université
mes collèges de la promo Ecotox*

Sans oublier mes amis :

Mohcen, Abd el halim, Hamza, Anes, Yasser, Hamza, Noufel, Saif,

Abd el Rahmane, Ahmed

*A une personne que je n'oublie pas, Merci pour tous les bons moments,
merci
pour votre aide dans cette période merci énormément A toi (Nami
^^)*

A la mémoire de ma Grand mère

الله يرحمها

Ali



Liste des abréviations :

Abs : l'absorbance.

ANOVA : Analyse unidirectionnelle de la variance.

Aq 1 : aquarium 1

Aq 2: aquarium 2

Aq 3: aquarium 3

Aq 4: aquarium 4

Aq 5: aquarium 5

Aq 6: aquarium 6

Aq t : témoin

ATB : antibiotique

ATB1 : L'érythromycine

ATB2 : la sulfamérazine

C : concentration en $\mu\text{g}/\text{L}$.

CEE : communauté économique

CL10 : Concentration létale 10

CL84 ; Concentration létale 84

CL90 :Concentration létale 90

CM: Carré moyen.

CMI : concentration minimale inhibitrice

DDL: Degré de liberté.

DES : la notion de Dose Sans Effet

DES : dose sans effets

DJA : dose journalière. Européenne.

ERY: L'érythromycine

Fobs: Test de Fisher.

GB: globule blanc

GR : globules rouges

HB : l'hémoglobine

HPLC : Chromatographie Liquide Haute Performance

LMR : la notion de Limite Maximale de Résidus

LOEL : Lowest observed effect level

NOEL : No observed effect level

OMS : Organisation mondiale de la santé

P: Seuil de signification.

PLT : les plaquettes

R² : coefficient de corrélation.

SCE: Sommes des carrées des écarts.

SDZ ; la sulfadiazine

SMTZ : la sulfaméthazine

SMZ : la sulfamérazine

Tab: tableau

TG : Les triglycérides

UV : Ultra Violet

µg : microgramme

µg/l : microgramme par litre

Résumé

La présente étude consiste à un **dépistage de résidus d'antibiotique** dans les tissus de **Tilapia (*Oreochromis ssp*)** et **l'évaluation l'état de santé des tilapias suite à une antibiothérapie, pour des fins Eco toxicologiques.**

Globalement, les individus d'*Oreochromis ssp* ont un poids totale (Wt) qui varie ($19 \leq Wt$ (g) ≤ 89) avec une longueur varie ($10,5 \leq Lt(\text{cm}) \leq 16,4$). Ces Tilapias ont suivi une antibiothérapie par baignade avec cinq (05) doses référentielles de l'érythromycine pendant dix (10) jours et une dose orale d'ordre 0,1g/j(pendant trois(03) jours » avec les sulfamides.

Les résultats des analyses macroscopiques des poissons, ont montré la présence de divers ses altérations tant sur l'état morphologique. Des poissons ont manifesté des : exophtalmie, perte d'œil, érosions, déformations. Que sur l'examen interne (hypoxie et des anémies générales).

Le bilan hémato-biochimiques et lipidique confirme, que les individus de l'Aq5 (CL90) présentent un **trouble sanguin Médiocre [anémie microcytaire hypochrome ; leucocytose associée à une leucopénie] avec une réponse immunitaire définie par une thrombocytopénie.** Globalement, l'ensemble des bio essaies (Aq1, Aq2,Aq3,Aq4 et Aq5) présentent une **pathologie de stress et un épuisement énergétique.**

Le dépistage de résidus « méthode physicochimiques » d'antibiotique dans la chair d'*Oreochromis ssp*. Donne des rendements compris entre **15 et 170 %** pour les trois sulfamides, et entre **65 et 110 %** pour l'érythromycine. Nous pouvons conclure que, la méthode présente des bons rendements et elle peut être utilisée comme **outil pour le contrôle de qualité des antibiotiques dans la chair des** organismes aquatiques.

Mots clés : *Oreochromis ssp*, érythromycine, sulfamide, pathologies, hématologie, dépistage de résidus d'antibiotiques (uv-visible).

Abstract:

The present study consists of a screening of antibiotic residues in the tissues of Tilapia (*Oreochromis ssp*) and the evaluation of the state of health of the tilapias following an antibiotic therapy, for Eco toxicological purposes.

Overall, individuals of *Oreochromis ssp* have a total weight (Wt) which varies ($19 \leq Wt (g) \leq 89$) with a length varies ($10.5 \leq Lt(cm) \leq 16.4$). These Tilapias underwent antibiotic therapy by bathing with five (05) reference doses of erythromycin for ten (10) days and an oral dose of order 0.1g/d (for three (03) days” with sulfonamides.

The results of the macroscopic analyzes of the fish showed the presence of various alterations in both the morphological state. Fish have shown: proptosis, eye loss, erosions, deformations. That on the internal examination (hypoxia and general anemias).

The blood-biochemical and lipid balance confirms that individuals with Aq5 (CL90) have a Mediocre blood disorder [hypochromic microcytic anemia; leukocytosis associated with leukopenia] with an immune response defined by thrombocytopenia. Overall, all of the bioassays (Aq1, Aq2, Aq3, Aq4 and Aq5) present a pathology of stress and energy depletion.

Screening for “physiochemical method” antibiotic residues in the flesh of *Oreochromis ssp*. Gives yields between 15 and 170% for the three sulfonamides, and between 65 and 110% for erythromycin. We can conclude that the method has good yields and it can be used as a tool for the quality control of antibiotics in the flesh of aquatic organisms.

Key words: *Oreochromis ssp*, erythromycin, sulphonamide, pathologies, haematology, antibiotic residue detection (uv-visible).

ملخص :

تتكون الدراسة الحالية من فحص بقايا المضادات الحيوية في أنسجة البلطي (*Oreochromis ssp*) وتقييم الحالة الصحية للبلطي بعد العلاج بالمضادات الحيوية ، لأغراض السمية البيئية.

بشكل عام ، يمتلك أفراد *Oreochromis ssp* وزنًا إجماليًا (Wt) والذي يختلف (19 (g) \geq Wt بطول يختلف) 5.10. Lt (cm) \geq 61.4 خضعت هذه البلطي للعلاج بالمضادات الحيوية عن طريق الاستحمام بخمس (05) جرعات مرجعية من الإريثروميسين لمدة عشرة (10) أيام والجرعة الفموية من أجل 1.0 جرام / يوم (لمدة ثلاثة (03) أيام) مع السلفوناميدات.

أظهرت نتائج التحليلات العيانية للأسماك وجود تغيرات مختلفة في كل من الحالة المورفولوجية. أظهرت الأسماك: جحوظ ، فقدان عين ، تأكل ، تشوهات. هذا على الفحص الداخلي (نقص الأكسجة وفقر الدم العام).

يؤكد توازن الدم والكيمياء الحيوية والدهون أن الأفراد المصابين بـ (CL) 90Aq5 يعانون من اضطراب دم متوسط المستوى [فقر الدم الناقص الصغر ؛ زيادة عدد الكريات البيضاء المرتبط بنقص الكريات البيض] مع استجابة مناعية تحددها قلة الصفائح. بشكل عام ، تمثل جميع المقاييس الحيوية (Aq1) و Aq2 و Aq3 و Aq4 و Aq5 علم أمراض الإجهاد ونضوب الطاقة.

فحص بقايا المضادات الحيوية "بطريقة فيزيائية كيميائية" في لحم *Oreochromis ssp* يعطي عوائد بين 15 و 170%. لثلاثة سلفوناميدات ، وبين 65 و 110% للإريثروميسين. يمكننا أن نستنتج أن هذه الطريقة لها عوائد جيدة ويمكن استخدامها كأداة لمراقبة جودة المضادات الحيوية في لحم الكائنات المائية.

الكلمات المفتاحية: *Oreochromis ssp*، erythromycin ،sulphonamide ، الأمراض، أمراض الدم ،كشف بقايا المضادات الحيوية (المرئية للأشعة فوق البنفسجية).

Table des matières

Table des matières	
Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des Figures	
Liste des tableaux	
I INTRODUCTION	01
II Matériel et Méthode	07
1 Choix du Bio-essaie-Poisson <i>Tilapia ssp</i>	07
1.1 Matériel biologique	07
1.2 Principe De L'essai	08
1.3 Diagnostic et examen macroscopique des pathologies	10
1.3.1 Protocole d'examen d'un poisson malade	10
1.3.2 Examen externe	10
1.3.3 Examen interne	11
2 Dosage des bio-marqueurs hémato-biochimiques et lipidiques du sang de Tilapia	13
2.1 Prélèvement sanguin	13
3 Détection des résidus de l'Erythromycine dans les Bio-essai de poisson <i>Oreochromis ssp</i>	14
3.1 L'antibiothérapie	14
3.1.1 Standard de l'érythromycine	14
3.1.2 Standards des sulfamides	15
3.2. Détection de résidus de l'érythromycine	16
3.2.1 Matériels	16
3.2.1.1 Appareillage d'analyse	16
3.2.1.2. Appareillage d'extraction des sulfamides	16
3.2.1.3 Produits chimiques	17
3.2.1.4 Matériel Biologiques	17
3.3 Méthode expérimentale	18
3-3-1- Solution des échantillons de travail	18
3.3.2 Application de la méthode d'analyse	19
3.3.2.1 Linéarité	19
3.3.2.2 Préparations des solutions pour la gamme d'étalonnage	19
3.3.2.3 Préparation et extraction des échantillons	19
3.3.3 Dosage des résidus d'érythromycine dans les échantillons de poissons	20

3.4 Analyse des résidus de sulfamides dans les bio-essaies de poisson <i>Oreochromis ssp</i>	20
3.4.1 Standards des sulfamides	20
3.4.1.1 Appareillage et matériels	20
3.4.1.2 Solvants et produits chimiques	20
3.4.1.3 Diluants et solvants	20
3.4.1.4 Méthode expérimentale et préparation des solutions	21
3.4.1.5 Solutions mères des sulfamides	21
3.1.4.6 Solution des échantillons de travail	21
3.1.47 Récupération à partir d'échantillons dopés	21
III Résultats de l'examen pathologique des individus de <i>Tilapia ssp</i>	22
1 Résultats et discussion Biomarqueurs Hémato-biochimiques et lipidiques	24
1.1 Résultats des paramètres hématologiques, biochimiques et lipidiques de <i>Tilapia ssp</i> traité par l'Érythromycine « ATB1 »	24
1.1.1 Nombre des globules blancs (GB)	24
1.1.2 Nombre des Lymphocytes (lym)	26
1.1.3 Nombre des globules rouges (GR)	27
1.1.4 Taux de l'hémoglobine (HB)	28
1.1.5 Nombre des plaquettes « PLT » :	30
2 Bio-marqueurs biochimiques des bio-essais après Traitement par l'ATB1.	31
2.1 Taux de glycémie	31
2.2 Biomarqueurs lipidiques des bio-essais après Traitement par l'ATB1	32
2.2.1 Taux de cholestérol	32
2.2.2 Taux de Triglycéride	33
2.3 Bio-marqueurs hématologique chez les bio-essaies traité par les sulfamides (ATB2)	34
2.3.1 Nombre des globules blancs	34
2.3.2 Nombre des Lymphocytes	35
2.3.3 Nombre des globules rouges (GR)	36
2.3.4 Taux de l'hémoglobine (HB)	37
2.3.5 Nombre des plaquettes	38
2.4 Bio-marqueurs biochimiques chez les bi-essaies traités par les sulfamides ATB2	39
2.4.1 Taux de glycémie	39
2.5 Bio-marqueurs lipidiques des bio-essais après Traitement par les sulfamides ATB2	40
2.5.1 Taux de cholestérol	40
2.5.2 Taux de Triglycéride	41
3 Résultats de Analyse des résidus de l'érythromycine	48

3.1 Détermination de la longueur d'onde maximale	49
3.2 Vérification de la Linéarité	49
3.3 Courbe d'étalonnage	49
3.4 Applications et validation à l'analyse de l'érythromycine dans la chair des bio-essaies	50
3.5 Analyse par UV et quantification des sulfamides dans la chair des bio-essaies	51
3.6 Application au dosage des sulfamides dans les échantillons de poissons	52
IV Discussion	53
V Conclusion	55

Liste des Figures

N° Figure	Titre	Page
Figure 1	L'acclimatation des bio-essais et la mise en photopériodes . . .	7
Figure 2	Résumé graphique de la méthodologie Eco toxicologique adoptée.	9
Figure 3	:Prise des paramètres Morpho métriques, physicochimique et examen macroscopique des bio essais.	10
Figure 4	Nécropsie ante-mortem et post-mortem des bio-essais.	11
Figure 5	différentes étapes de la prise de sang de Tilapia SSP.	14
Figure 6	Préparation de la concentration de l'Erythromycine et traitement des Bio-essais.	15
Figure 7	Préparation des sulfamides.	16
Figure 8	Prélèvement tissulaires sous glace pour la détection de résidus d'ATB1 et D'ATB2 . . .	17
Figure 9	Différentes étapes de prélèvement et d'extraction de résidus d'ATB1.	18
Figure 10	Méthodes d'extraction des sulfamides.	21
Figure 11	Variations du nombre des globules blancs (GB ($\times 10^3/\mu/l$) chez le Bio -essaie Tilapia ssp Traité par l'Érythromycine (ATB1).	25
Figure12	Variations du nombre des Lymphocytes ($10^3/\mu/l$) chez le Bio -essaie Tilapia ssp Traité par l'Érythromycine (ATB1).	26
Figure 13	Variations du nombre des globules rouge (GR ($\times 10^6/\mu/l$) chez les Bio -essaie Tilapia ssp Traité par l'Érythromycine (ATB1).	27
Figure 14	Figure 14 :Variations du nombre de l'hémoglobine (HB g/l) chez le Bio -essaie Tilapia ssp Traité par l'Érythromycine (ATB1).	29
Figure15	Variations du nombre des plaquettes (PIT ($\times 10^3/\mu/l$) chez le Bio essaie Tilapia ssp Traité par l'Érythromycine (ATB1).	30
Figure16	Variations de la glycémie (g/l) chez le Bio -essaie Tilapia ssp Traités par l'Érythromycine (ATB1).	31
Figure17	Variations des taux de cholestérol (g/l) chez le Bio essaie Tilapia ssp Traités par l'Érythromycine (ATB1).	32
Figure18	Variations des taux des triglycérides (g/l) chez le Bio essaie Tilapia ssp Traités par l'Érythromycine (ATB1).	33
Figure19	Variations du nombre des globules blancs (GB ($\times 10^3/\mu/l$) chez les Bio -essaies Tilapia ssp Traité par sulfamide (ATB2).	34
Figure20	Variations du nombre des Lymphocytes (Lym ($\times 10^3/\mu/l$) chez les Bio -essaies Tilapia ssp Traités par sulfamide (ATB2)..	35
Figure21	Variations du nombre des globules rouges (GR ($\times 10^6/\mu/l$) chez les Bio -essaies Tilapia ssp Traités par sulfamide (ATB2).	36
Figure22	Variations de l'hémoglobine (HB ($\times 10^3/\mu/l$) chez les Bio -essaies Tilapia ssp Traités par sulfamide (ATB2).	37

Figure23	Variations du nombre des plaquettes ($\times 10^3 \mu/l$) chez les Bio -essaies Tilapia ssp Traités par sulfamide (ATB2).	38
Figure24	Variations de la glycémie (Gly g/l) chez les Bio -essaies Tilapia ssp Traités par sulfamide (ATB2).	39
Figure25	Variations du cholestérols (chol (g/l) chez les Bio -essaies Tilapia ssp Traités par sulfamide (ATB2).	40
Figure26	Variations des triglycérides (g/l) chez les Bio -essaies Tilapia ssp Traités par sulfamide (ATB2).	41
Figure27	Courbes d'étalonnage du détecteur en milieu aqueux (érythromycine).	50
Figure28	Représentation graphique de résultats de l'étude du dosage de l'érythromycine dans la chair des bio-essaies.	51
Figure29	Résultats expérimentaux de l'étude du dosage des sulfamides dans la chair des bio-essaies.	52

Liste des Tableaux.

N° tableau	Titre	Page
Tableau 1	Grille de cotation élaborée pour l'examen interne des bio essaies.	12
Tableau 2	Résultats de l'examen pathologique des individus de Tilapia ssp .	22
Tableau 3	Désignation des aquariums expérimentaux avec les doses d'ATB1 "érythromycine" et l'ATB2 'Sulfamide' pendant une durée de 28 jours(TA).	24
Tableau 4	ANOVA à un facteur contrôlé des variations des globules blancs des Tilapia traités par l'ATB ₁	25
Tableau 5	Résultats des tests de comparaisons multiples (Test de Newmean-Keuls (SNK) et test de Dunnett pour les globules blancs(GB) des Tilapia traités par l'ATB1	25
Tableau 6	ANOVA à un facteur contrôlé des variations des Lymphocytes des Tilapia traités par l'ATB1.	26
Tableau 7	Résultats des tests de comparaisons multiples (Test de Newmean-Keuls (SNK) et test de Dunnett pour les Lymphocytes(Lym) des Tilapia traités par l'ATB1.	27
Tableau 8	ANOVA à un facteur contrôlé des variations des globules rouges des Tilapia traités par l'ATB1.	28
Tableau9	Résultats des tests de comparaisons multiples (Test de Newmean-Keuls (SNK) et test de Dunnett pour globules rouges (GR) des Tilapia traités par l'ATB1.	28
Tableau 10	Résultats des tests de comparaisons multiples (Test de Newmean-Keuls (SNK) et test de Dunnett pour l'hémoglobine (HB) des Tilapia traités par l'ATB1.	29
Tableau 11	Résultats des tests de comparaisons multiples (Test de Newmean-Keuls (SNK) et test de Dunnett pour les plaquettes (PLT) des Tilapia traités par l'ATB1.	31
Tableau 12	Résultats des tests de comparaisons multiples (Test de Newmean-Keuls (SNK) et test de Dunnett la glycémie des Tilapia traités par l'ATB1.	32
Tableau 13	ANOVA à un facteur contrôlé des variations des taux de cholestérols des Tilapia traités par l'ATB1.	33
Tableau 14	ANOVA à un facteur contrôlé des variations des taux de triglycéride des Tilapia traités par l'ATB1.	34
Tableau 15	ANOVA à un facteur contrôlé des variations des globules blancs des Tilapia traités par l'ATB2 .	35
Tableau 16	ANOVA à un facteur contrôlé des variations des lymphocytes des Tilapia traités par l'ATB2 .	36
Tableau 17	ANOVA à un facteur contrôlé des variations des globules rouges des Tilapia traités par l'ATB2.	37

Tableau 18	ANOVA à un facteur contrôlé des variations de l'hémoglobine (HB)Tilapia traités par l'ATB2 .	38
Tableau 19	ANOVA à un facteur contrôlé des variations du Nombre des plaquettes des Tilapia traités par l'ATB2.	39
Tableau 20	ANOVA à un facteur contrôlé des variations de la glycémie des Tilapia traités par l'ATB2 .	40
Tableau 21	ANOVA à un facteur contrôlé des variations cholestérols des Tilapia traités par l'ATB2.	41
Tableau 22	ANOVA à un facteur contrôlé des variations des triglycérides des Tilapia traités par l'ATB2 .	42
Tableau 23	Linéarité : changement de variables de l'érythromycine en milieu aqueux.	49
Tableau 24	:Résultats expérimentaux de l'étude du dosage de l'érythromycine dans la chair des Bio-essais traités par l'ATB1 .	51
Tableau 25	: Résultats globales de résidus des antibiotiques (ery et sulfamide) dans la chair des bios essais Tilapia .	52

Les antibiotiques sont largement utilisés pour le traitement des maladies humaines et animales, et également utilisés dans l'alimentation animale pour favoriser la croissance et améliorer l'efficacité alimentaire (Sarmah *et al.*, 2006 ; Zhang *et al.*, 2015). En raison de leur utilisation intensive chez l'homme et les animaux et de leur élimination incomplète, les antibiotiques pénètrent continuellement dans l'environnement aquatique.

Ces dernières années, des préoccupations croissantes sont apparues au sujet des antibiotiques dans les systèmes aquatiques en raison de leurs effets négatifs potentiels sur les écosystèmes et la santé humaine (Kummerer, 2009). Les antibiotiques sont devenus omniprésents dans les eaux de surface du monde entier, comme les rivières (Kummerer, 2009), les lacs (Liu *et al.*, 2018 ; Yang *et al.*, 2018) et les zones côtières (Jiang *et al.*, 2014 ; Qiao *et al.*, 2018).

Les antibiotiques dans les milieux aquatiques peuvent affecter la croissance des organismes aquatiques (Garcia-Galan *et al.*, 2009 ; Park et Choi, 2008), provoquer une réduction de la biodiversité microbienne et la modification de l'écologie bactérienne (Grenni *et al.*, 2018), renforcer la sélection et la propagation de gènes résistants aux antibiotiques dans l'environnement (Martinez, 2009 ; Zhu *et al.*, 2017).

Les pratiques d'aquaculture dans le monde ont augmenté très rapidement en raison de la forte demande d'aliments nutritifs et de leur importance économique. Cependant, la pollution et les maladies d'origine hydrique constituent des menaces sérieuses pour l'aquaculture (Sanawar *et al.*, 2017).

Dans l'industrie aquicole, les antibiotiques jouent un rôle important dans la croissance des organismes et dans la prévention des maladies infectieuses redoutables. L'utilisation de ces antibiotiques chimiques naturels ou synthétiques a augmenté de façon spectaculaire depuis les dernières décennies et on estime que 200 millions de kg d'antibiotiques ont été utilisés dans le monde. (Ramesh *et al.*, 2018).

En conséquence la contamination des masses d'eau par ces antibiotiques est une préoccupation majeure à l'échelle mondiale. En tant que contaminants, ils peuvent persister dans l'environnement, ce qui peut augmenter la capacité de résistance des microbes et affecter directement la flore et la faune. La Capacité de résistance des microbes et affecter directement la microflore et la faune, entraînant une immunosuppression et retard de croissance (Gaffney *et al.*, 2016 ; Bai *et al.*, 2017).

Les antibiotiques sont souvent présents dans l'écosystème aquatique à des concentrations de l'ordre de $\mu\text{g/L}$ et pourraient avoir des effets néfastes sur les organismes non ciblés (Kim *et al.*, 2009 ; Tran *et al.*, 2017). En tant que contaminant, ils entraînent des effets secondaires indésirables sur la moelle osseuse et les cellules souches hématopoïétiques ainsi que des troubles du système nerveux (Zhao *et al.*, 2016 ; Tran *et al.*, 2017).

Les médicaments soufrés occupent 6 % du total des antimicrobiens utilisés. Parmi eux, les groupes sulfonamides sont largement utilisés comme antibiotiques vétérinaires contre les infections bactériennes, fongiques et protozoaires depuis 1930 (Perlovich *et al.*, 2014). De nos jours, les médicaments sulfonamides sont coalisés avec du métal pour renforcer l'effet contre les agents pathogènes (Mansour, 2013a ; Delgado et Martínez, 2014).

Le groupe des sulfamides a un effet bactériostatique contre les bactéries en agissant sur les enzymes. (inhibiteur compétitif de la dihydroptéroate synthase), et agit également comme une catalase dans la réaction de l'acide p-amino acide benzoïque pour former un nutriment essentiel pour quelques bactéries. Malheureusement, les médicaments sulfonamides et leurs résidus ont été détectés jusqu'à 10.000 ng/L dans les STPs, <100 ng/L dans l'eau, et 998 $\mu\text{g/kg}$ dans les tissus animaux (Vithanage *et al.*, 2014 ; Zhang *et al.*, 2016).

La principale préoccupation est que les sulfonamides ne sont pas facilement biodégradables (Rajapaksha *et al.*, 2014). Le groupe sulfonamide constitue un cycle aromatique para-substitué structurellement et pharmacologiquement similaire, attaché à des amines pour former la sulfadiazine (SDZ) ($\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$; pyrimidin-2-yl sulfamide), de la sulfamérazine (SMZ) ($\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$; dérivé 4-méthylé) et de la sulfaméthazine (sulfadimidine) (SMTZ) ($\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$; dérivé 4,6-diméthyle) (Sanchez Pena *et al.*, 1995 ; Ricken *et al.*, 2013).

Le SMTZ est le sulfamide le plus utilisé en clinique depuis les années 1950. Depuis les années 1950, utilisé efficacement comme vaccin et pour traiter les infections pathogènes. Wan *et al.* (2016) ont déclaré qu'il n'existe pas de méthodes de traitement efficaces pour éliminer le SMTZ dans les stations d'épuration. Stations d'épuration. Ainsi, le SMTZ atteint certainement l'environnement. Le SMTZ est facilement lessivé du sol en raison de sa faible adsorption, et atteint donc finalement l'écosystème aquatique. En outre, les eaux usées et les bio-fertilisants provenant du traitement du SMTZ contribuent comme des sources majeures de SMTZ dans l'écosystème aquatique (El-Ghenymy *et al.*, 2013).

Les concentrations de SMTZ vont jusqu'à 0,67 mg/L dans les échantillons d'eau dans le monde entier (Kim *et al.*, 2011). Le SMTZ a également été identifié dans des produits laitiers (Kim *et al.*, 2008). Dans les échantillons de tissus de poissons, les résidus de SMTZ vont de 947 à 2097 ng/g (Sampaio *et al.*, 2016).

Le SMTZ peut se bioaccumuler dans les organismes aquatiques et former des complexes avec les voies physiologiques et biochimiques, ce qui entraîne des malformations et un stress oxydatif chez les poissons (Ghosh *et al.*, 2011 ; Lin *et al.*, 2013 ; Zhao *et al.*, 2016 ; Miller *et al.*, 2017).

Les tests de toxicité aquatique ont été utilisés pour résoudre les problèmes environnementaux posés par les contaminants organiques. L'évaluation de la toxicité à long terme en utilisant un modèle animal pourrait nous aider à établir des critères pour une eau saine et une évaluation des risques. La réponse des biomarqueurs des poissons (outil d'alerte précoce) sont des indicateurs fiables de l'état de santé des organismes et de leur environnement. milieu environnant. L'évaluation des biomarqueurs du poisson comprend des mécanismes physiologiques et biochimiques se produit dans les tissus, les cellules ou les fluides corporels.

L'érythromycine (ERY) est un antibiotique macrolide utilisé en médecine humaine pour traiter les maladies inflammatoires pelviennes aiguës, les infections de la peau et des respiratoires (Liu *et al.*, 2014). L'ERY est également utilisé en médecine vétérinaire, ainsi qu'en aquaculture (Serdoz *et al.*, 2011 ; Rodrigues *et al.*, 2016). Dans les piscicultures, l'ERY est généralement utilisé contre les cocci à Gram positif, la principale préoccupation pour l'élevage de truites (Serdoz *et al.*, 2011).

L'ERY semble être excrété sous forme inchangée en quantités substantielles, un facteur qui souligne l'importance environnementale de ce composé spécifique (Zuccato *et al.*, 2000).

L'ERY est détecté dans les eaux de surface à des niveaux compris entre plusieurs ng/L et µg/L, comme indiqué dans une précédente revue de la littérature, réalisée par Rodrigues *et al.* (2016). L'ERY a été identifié comme un antibiotique particulièrement préoccupant pour le compartiment aquatique en raison de son mode de consommation, de son rejet continu, de sa persistance dans l'environnement et de ses propriétés toxiques (Johnson *et al.*, 2015).

De plus, l'ERY est inclus dans la liste des produits pharmaceutiques de classe I - haute priorité, nécessitant une surveillance future et le développement d'études écotoxicologiques spécifiques pour aborder leurs effets toxiques (Voogt *et al.*, 2009).

Plusieurs travaux ont montré que les résidus d'ERY pouvaient exercer des effets délétères sur différents organismes aquatiques non ciblés, tels qu'une diminution du taux de croissance, de la reproduction et de la survie, notamment chez les cyanobactéries, les algues, les rotifères, les crustacés et les poissons (Isidori *et al.*, 2005 ; Kim *et al.*, 2009).

Certaines études ont évalué les effets de l'ERY sur les poissons, démontrant qu'il peut affecter la vie sauvage en induisant des effets nocifs même à des concentrations résiduelles (Liu *et al.*, 2014 ; Rodrigues *et al.*, 2016 et 2019a).

L'ERY a également été capable de provoquer une hépatotoxicité chez des animaux de laboratoire tels que les rats (Venkateswaran *et al.*, 1997 ; Pari et Murugan, 2004 ; Abdel-Hameid, 2007). De plus, récemment, il a été démontré que l'ERY peut induire des dommages génotoxiques et un stress oxydatif chez des individus *O. mykiss* exposés à des concentrations pertinentes pour l'environnement (0,05-1 µg/L) (Rodrigues *et al.*, 2016). L'exposition des poissons à des facteurs de stress environnementaux, tels que les antibiotiques, peut susciter un réseau complexe de réponses biologiques. Les interactions moléculaires entre les polluants et les composants cellulaires peuvent entraîner des lésions tissulaires qui peuvent être facilement évaluées par des analyses histologiques (Schwaiger *et al.*, 1997 ; Rodrigues *et al.*, 2017).

Les résidus d'antibiotiques présents dans les denrées alimentaires d'origine animale sont les traces de traitements médicamenteux antibiotiques reçus par l'animal de son vivant. La définition de résidus est codifiée dans une directive européenne (DIRECTIVE 81/851/ CEE, 1981). Dans cette Directive, les résidus sont définis comme étant « *tous les principes actifs ou leurs métabolites qui subsistent dans les viandes ou autres denrées alimentaires provenant de l'animal auquel le médicament en question a été administré* ». Le règlement 2377/90/CEE modifie légèrement cette définition en la complétant. Les résidus sont définis comme toute substance pharmacologiquement active, qu'il s'agisse de principes actifs, d'excipients ou de métabolites présents dans les liquides et tissus des animaux après l'administration de médicaments et susceptibles d'être retrouvés dans les denrées alimentaires produites par ces animaux.

Avant les années 1980, les méthodes de détection des résidus dans les viandes étaient relativement peu sensibles. Les Services Vétérinaires menaient alors, afin protéger la Santé

Publique, une politique de zéro résidu (Prandl, 1973 ; Milhaud and Person, 1981). Si une carcasse ou une pièce de viande était contrôlée positive aux résidus d'antibiotiques, elle était saisie et déclassée.

Au début des années 1980, les progrès techniques ont permis un bon spectaculaire dans les méthodes de détection avec notamment le développement de la Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP ou en anglais HPLC). La politique du zéro résidu n'était alors plus tenable car des quantités infimes de résidus étaient presque systématiquement détectées. Ces quantités détectées étaient si faibles dans la grande majorité des cas qu'il devenait important d'évaluer le danger qu'elles représentaient vraiment pour la Santé Publique.

Deux notions très importantes sont alors apparues dans la réglementation, afin de compléter celle de résidus : la notion de Dose Sans Effet (DSE) et la notion de Limite Maximale de Résidus (LMR ou en anglais MRL).

Les méthodes mises en œuvre pour rechercher les résidus sont divisées en deux groupes: **les méthodes de dépistage** et **les méthodes de confirmation**. Les Décisions [93/256/EEC](#) et [93/257/EEC](#) de la Commission Européenne ont établi la méthode analytique et les critères pour l'identification et la confirmation de la présence de résidus dans un échantillon de denrée alimentaire ainsi que pour la surveillance des denrées alimentaires d'origine animale.

La Décision [2002/657/EC](#) de la Commission Européenne, applicable depuis le 1er septembre 2002, a mis en application la Directive [96/23/EC](#) du Conseil en fixant les règles des méthodes analytiques à utiliser pour le dosage des échantillons et les critères communs spécifiques pour l'interprétation des résultats des laboratoires officiels de contrôle pour ces échantillons (Reig and Toldra, 2007).

Dans cette étude, nous avons soumis les poissons d'élevage Tilapia à de faibles concentrations d'antibiotiques dans le milieu aquatique et à leurs doses légales utilisées en aquaculture.

À cette fin, nous avons exposé le tilapia Hybride (*Oreochromis ssp*), une espèce économique mondiale, cultivée et consommée, à des traitements diététiques et de bain contenant de ery(ATB1) et du SMZ (ATB2) pendant 28 jours. L'objectif était d'explorer les effets systémiques de courte durée d'exposition et à chroniques des antibiotiques sur les fonctions générales de l'organisme et la santé intestinale et hépatique, qui sont des organes importants chez les poissons et d'évaluer leurs risques pour la santé humaine après la

consommation de poisson. Bien que nous n'ayons exposé les tilapias qu'à l'au-dessus de deux méthodes et exploré deux antibiotiques, nous prévoyons que la stratégie utilisée pourrait être largement appliquée dans les évaluations des maladies chroniques d'autres antibiotiques et médicaments vétérinaires sur les poissons et les risques pour la santé humaine.

Afin de répondre à l'objectif fixé, nous avons procédé à trois approches à savoir :

- i. Examen des anomalies macroscopiques chez les bossais
- ii. Étudier les biomarqueurs hémato-biochimique et lipidiques du sang des bio-essais après traitement ATB1 et ATB2.
- iii. Détection de résidus d'ATB dans la chair des poissons (Méthodes physicochimique « analytique et validation »)

1. Choix du Bio-essaie-Poisson *Tilapia ssp* :

Les Poissons d'aquaculture ont été à l'honneur depuis le temps dans la vie de l'homme et Ils constituent encore de nos jours la base de l'alimentation de plusieurs populations (Derbal, 1993).

En Algérie, ils sont abondants et de diverses espèces. Ils sont un excellent aliment par leur richesse en protides, calcium, phosphore et en vitamines. Non seulement ils sont, nutritifs, substantiels mais ils sont faciles à digérer. De ce fait, il est souhaitable, comme il a souligné (Kestemont 2013) qu'ils rentrent le plus largement possible dans l'alimentation humaine. Selon (Daube 2013), les produits de la pêche et de l'aquaculture, outre le rôle joué dans l'alimentation, sont parfois à la base de diverses maladies qui dénaturent les caractères organoleptiques et prédisposent l'homme à de toxiinfections et des zoonoses.

1.1 Matériel biologique

Dans cette étude le tilapia *Oreochromis ssp* (famille des Cichlidae) a été choisi comme organisme d'essai. Les Tilapias, employés comme model biologique, sont obtenus du service aquaculture département des ressources vivantes (Aqua IZAK-BISKRA). Ils ont été transférés au laboratoire pour faire l'objet de cette présente étude. L'ensemble des poissons est incubé dans des conditions environnementales identiques. (Fig.1).



Figure 1: L'acclimation des bio-essaies et la mise en photopériodes (Clichés personnels).

Le bien-être des bio-essais est assuré par une bonne oxygénation par (l'emploi des pompes à air) et, une température ambiante de [22-25°C] par des thermostats. Les individus sont nourris trois (03) fois par jour par un aliment type Aqua bio en fonction d'une équation de croissance, les poissons ont été choisi en fonction du poids, taille et sexe. (**Fig.1**).

1.2 Principe De L'essai et l'exposition aiguë :

Les essais ont été réalisés pendant une période de 10 jours (en accord avec [la ligne directrice 203 de l'OCDE ; OCDE 1992](#)), dans des conditions contrôlées en laboratoire similaires à celles adoptées pendant la période d'acclimatation. Des individus de *Oreochromis ssp* (poids de $19 \leq Wt (g) \leq 989$) avec une longueur varie ($10,5 \leq Lt(cm) \leq 16,4$). Ont été exposés (par voie de Balnéation) à cinq concentrations nominales distinctes d'ERY (**0,3, 1,7, 10, 60 et 300 µg/L**) et à un groupe témoin supplémentaire (sans produit chimique). La sélection des concentrations d'ERY était basée sur :

- les niveaux déjà rapportés dans différents échantillons d'eau de mer (0,1-1900 ng/L) ([Gulkowska et al. 2007 ; Gaw et al. 2014 ; Moreno-González et al. 2014 et 2015 ; Chen et al 2015](#)) .
- les valeurs LC50 publiées pour **l'ERY** pour les espèces de poissons (>100 mg/L pour le poisson ([Kim et al. 2009](#)) et toutes les concentrations sélectionnées **étaient sub-létales**, et le niveau le plus bas était écologiquement pertinent. 80 individus de Tilapia ont été répartis dans six aquariums de 50 L, chacune comprenant 10 poissons ([Rodrigues et al. 2016](#)). Les poissons ont été nourris pendant l'exposition aiguë et le milieu d'exposition a été renouvelé à 80% après 48 h d'exposition ([Rodrigues et al. 2016](#)). Par la suite, les tilapias ont été exposés par le biais de l'alimentation aux **SMZ (sulfamides)** de l'ordre de 0,1g/kg, (pendant 03 jours successive), est cela Pour la validation de la méthode analytique. La Commission du ([Codex Alimentarius 2017](#)) a rapporté une valeur de limite maximale de résidus (LMR) pour la sulfadimidine (sulfaméthazine) de 100 µg·kg⁻¹ dans le muscle, pour les espèces non spécifiées. Selon le règlement ([UE](#)) n° 37/2010 de la Commission européenne, pour le muscle des poissons à nageoires, la valeur LMR pour les sulfamides individuels, ou les résidus totaux combinés de toutes les substances appartenant au groupe des sulfamides, est de 100 µg·kg⁻¹. (**Fig 02**).

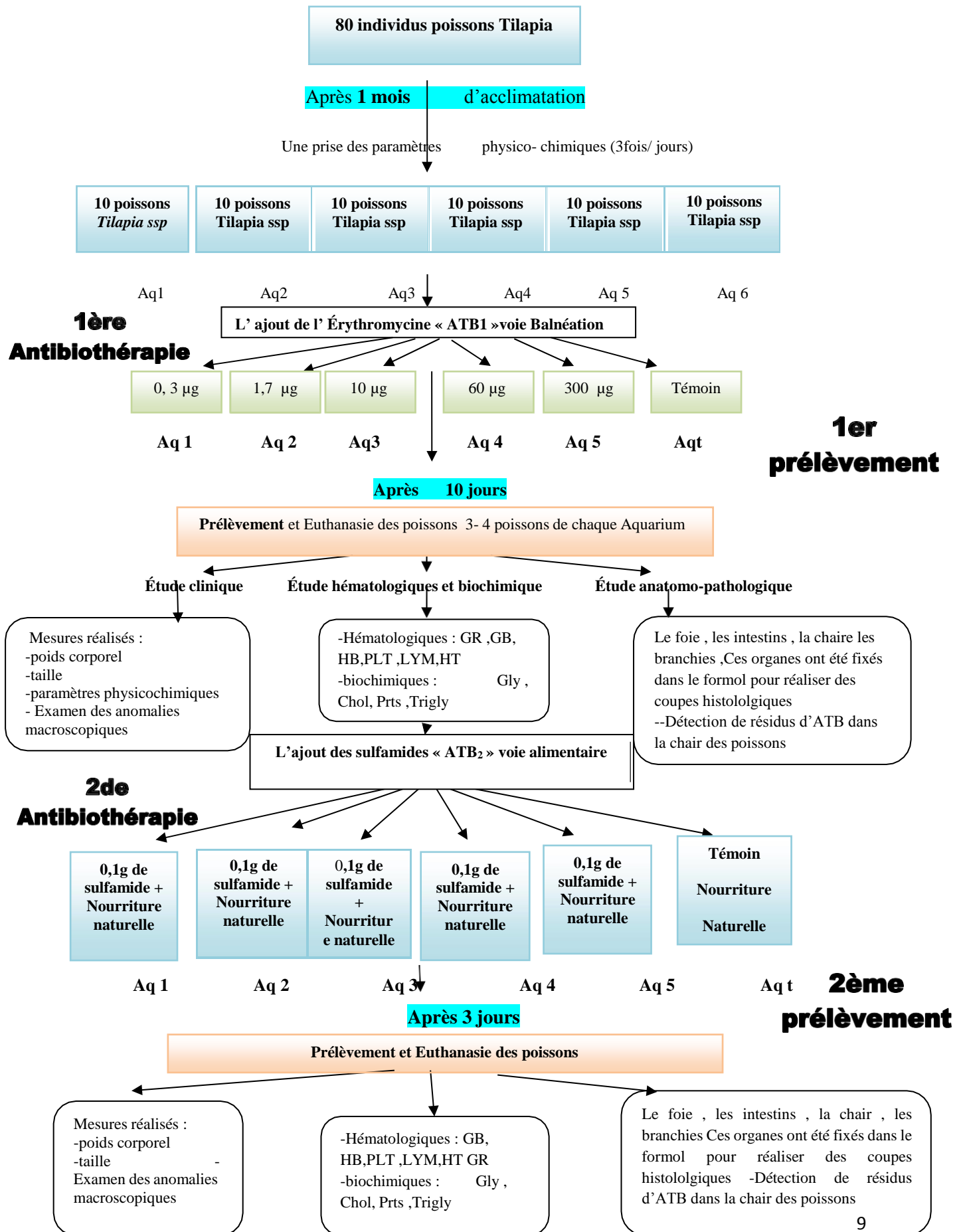


Figure.2 : Résumé graphique de la méthodologie Eco toxicologique adoptée.

1.3 Diagnostic et examen macroscopique des pathologies des bio-éssaies. :

1.3.1 Protocole paramètres Morpho métriques, physicochimique et examen macroscopique des bio essais :

Nous avons examiné les Tilapias par comparaison avec un sujet « normal ». Cet examen doit en outre avoir lieu sur un animal qui vient d'être capturé vivant. Le matériel minimum que nous avons utilisé, un couteau et d'une paire de ciseaux une loupe de grossissement. (Fig.3). Dans le milieu (aquarium), nous avons observé les variations comportementales : locomotion, alimentation, respiration ainsi que des lésions externes. Ces dernières sont encore plus faciles à observer une fois le poisson capturé.



Figure 3 : Prise des paramètres Morpho métriques, physicochimique et examen macroscopique des bio essais (clichés personnels).

1.3.2 Examen externe « ante-mortem et Post-mortem des bio-essaies

Nous avons adopté une manière simple d'envisager l'examen est de noter par rapport à un poisson normal :

- Ce qui est étranger au poisson (parasites)
- Les lésions en relief (tumeurs, gonflements divers)
- Les lésions à niveau (changements de couleur, hémorragie, mucus)
- Les lésions en creux (destructions cutanées : ulcères, nécroses des nageoires).

Cet examen externe doit s'étendre aux branchies dont les lésions sont très souvent à l'origine des mortalités. (Fig.04).



Figure 4: Nécropsie ante-mortem et post-mortem des bio-essais (Clichés personnels).

1.3.3 Examen interne :

Il consiste essentiellement à ouvrir la cavité abdominale et à observer ce qui semble y être anormal (gros parasites, hémorragies), selon une **grille de diagnostic** (élaboré par nous-même) (**Tab 1**) ci-dessous nous avons pu énumérer les anomalies présentés dans la partie résultats. **Autopsie** Elle a permis de rechercher les lésions au niveau du tissu conjonctif sous-cutané, des muscles, des viscères abdominaux et thoraciques, à l'éosine et à l'hématoxyline.

Tableau 1 : Grille de cotation élaborée pour l'examen interne des bio-essais.

pathologie	Désignation	Cotation
Anémie	L'anémie est l'appauvrissement du sang, caractérisé par la diminution notable d'un des plusieurs, ou de tous ses éléments (anémie totale, ou partielles) (Garnier, 2000), l'anémie qui peut être. <input type="checkbox"/>	Générale: lorsque la diminution globale de sang est accompagnée de la réduction numérique de ses éléments tel que les hématies C'est une déchéance qualitative du sang. L'anémie générale sans déchéance qualitative du sang est qualifiée d'oligémie. <input type="checkbox"/>
		Locale ou ischémie : lorsqu'il s'agit d'une conséquence d'un trouble circulatoire des artères locales. <input type="checkbox"/>
Catarrhe	Le catarrhe est un nom donné par les anciens à toutes les inflammations aiguës ou chroniques des muqueuses avec hypersécrétion de glandes de la région enflammé (Garnier, 2000).	<input type="checkbox"/>
Congestion(Hyperémie)	La congestion est l'excès de sang dans les vaisseaux d'un organe ou d'une partie d'organe (Garnier, 2000).	<input type="checkbox"/>
Maladie soculaires	Est l'inflammation de tissus internes de l'œil (Garnier, 2000).	Endo phtalmie <input type="checkbox"/>
		Exophtalmie <input type="checkbox"/>
Hémorragie	On appelle hémorragie, l'effusion plus ou moins considérable de sang hors d'un vaisseau sanguin (Garnier, 2000).	<input type="checkbox"/>
Macroscopiquement Consistance dure et ferme dans l'hypertrophie d'organes fortement vascularisés.	L'hypertrophie	<input type="checkbox"/>
	Hypertrophie	<input type="checkbox"/>
	Hydrothorax	<input type="checkbox"/>
	Inflammation	<input type="checkbox"/>

2. Dosage des biomarqueurs hémato-biochimiques et lipidiques du sang de *Tilapia ssp* :

2.1 Prélèvement sanguin :

Deux (02) prélèvements sanguins ont été réalisés, le premier (01) acte est réalisé après traitement des bio essais « Tilapias » par le premier ATB₁ « l'érythromycine », pendant 10 jours d'exposition (TA) à différentes doses par balnéation, le second geste est réalisé après l'exposition aux sulfamides le second ATB₂ par voie alimentaire d'une posologie de (1dose/jours pendant 3 jours).

Pour que les résultats soient significatifs, nous avons prélever le sang avec soin (**Fig.5**). De nombreuses techniques ont été mises au point pour les poissons par conséquent nous avons réalisé : ponction cardiaque, ponction veineuse et sectionnement du pédoncule caudal, cette dernière étant recommandée pour les petits poissons. L'utilisation d'un anesthésique général, le méthanesulfonate de tricaine (MS-222 ; Sandos) a été recommandé avant la ponction cardiaque (Snieszko, 1960).

L'anticoagulant de choix est l'EDTA, car il permet de conserver les composants sanguins sur une plus longue période, et aussi de son action anticoagulante exceptionnellement efficace.

L'ensemble des paramètres étudiés lors de notre étude sont les paramètres hématologiques (GB ,GR,HB,PLT) et les paramètres biochimiques glycémie(GLY) et paramètres biochimiques (CHOL TOTAL ,TGR, PRTS) (Hrubec *et al.*, 2000). Les tubes ont été évacués sur le champ dans des conditions de conservations adéquates (**glacière hermétiquement fermé**), vu l'hypersensibilité du sang des poissons via le laboratoire pour l'étude concerné. Les paramètres biochimiques et hématologiques ont été analysées au niveau du laboratoire DOS-SONATRACH – SKIKDA.

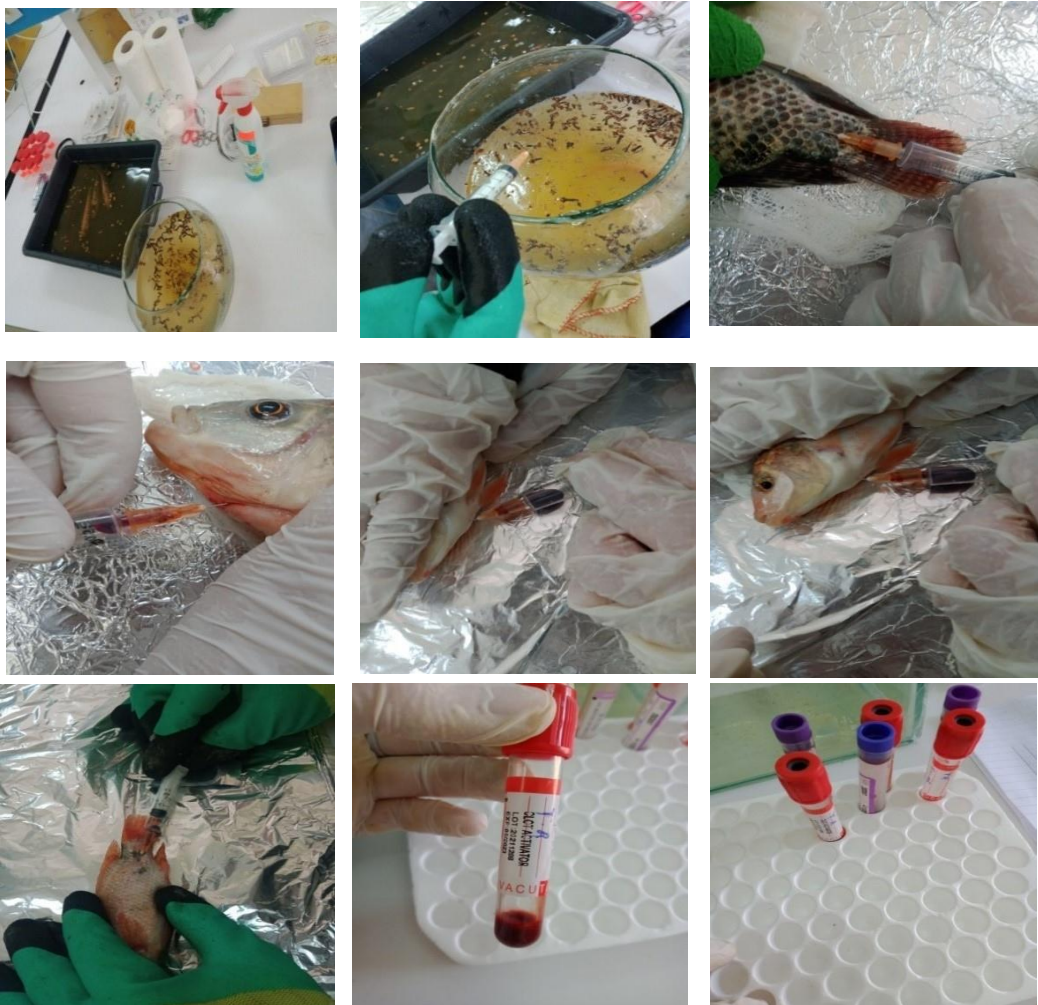


Figure 5: différentes étapes de la prise de sang de Tilpia SSP (cliché personnel).

3. Détection des résidus des antibiotiques (ATB₁ & ATB₂) dans la chair des Bio-essais *Oreochromis ssp* :

3.1 L'antibiothérapie :

Comme déjà expliquer en haut (**Fig.2**), l'exposition des bio essais « Tilapias » par le premier ATB₁ « l'érythromycine », et aux sulfamides le second ATB₂ a subi une Préparation pharmaceutique des médicaments pour avoir es concentrations voulus. (**Fig 6 et 7**).

3.1.1 Standard de l'érythromycine :

Le standard d'érythromycine possède les caractéristiques chimiques suivantes:

- Nom du produit : érythromycine.
- Formule chimique: C₃₇H₆₇NO₁₃

- Masse molaire : 733,92 g/ mole.

L'érythromycine est un antibiotique à large spectre appartenant à la famille des macrolides. Cet antibiotique est extrait d'une bactérie *Streptomyces* en 1950. Ce macrolide qui nous a été fourni est une poudre blanche, très hygroscopique, sans odeur. Sous sa forme de base, il est peu soluble dans l'eau, en revanche il est soluble dans les solvants organiques.

📍 Produits vétérinaires :

Le produit vétérinaire utilisé au cours de cette étude est : ERYTHROCARE 500 mg (Algeria Animal Care, Algérie). Tous les produits ont été utilisés tels quels et leurs solutions ont été fraîchement préparées chaque jour.

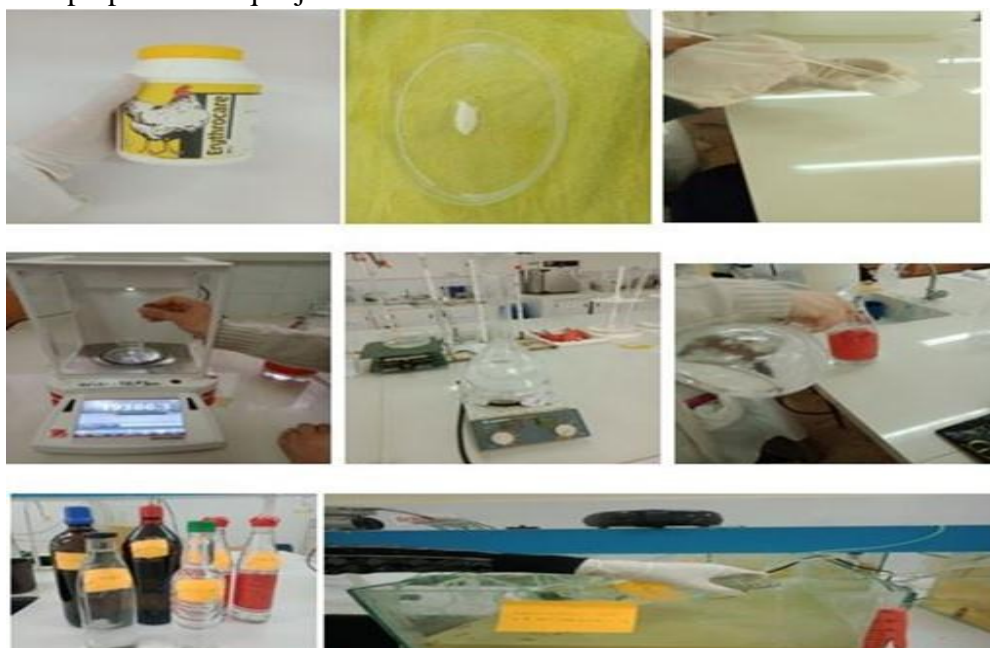


Figure 6: Préparation des concentrations de l'Erythromycine et traitement des Bio-essais (clichés personnels).

3.1.2 Standards des sulfamides :

Durant le travail que nous avons réalisé, les standards purs (étalons) des sulfamides (sulfadiazine, sulfathiazole et sulfaméthazine) sont utilisés (ALGERIA ANIMAL CARE, Algérie).

- ☉ **Produits vétérinaires** : Le produit vétérinaire utilisé au cours de cette étude est :
SULPHACARE 500 mg (Algeria Animal Care, Algérie).



Figure 7:Préparation des sulfamides (clichés personnels)

3.2 Détection de résidus de l'érythromycine :

3.2.1 Matériels :

3.2.1.1 Appareillage d'analyse :

Toutes les études spectrophotométriques ont été faites avec un double faisceau UV/Vis Lambda 365, Ultraviolet-Visible spectrophotomètre. Les spectres étaient automatiquement obtenus par le logiciel Cary 60 UV-Vis. Les absorbances en UV ont été mesurées en utilisant des cuves en quartz (3ml).

La température a été contrôlée par une Étuve de modèle de Memmert (Buchenbach, Allemagne). Les solutions ont été préparées et ensuite agitées à l'aide d'un agitateur de type Vortex (Genèse, Belgique). Une balance électronique a été utilisée pour peser les échantillons.

3.2.1.2 Appareillage d'extraction des sulfamides :

- Robot de cuisine, modèle 702 R (Hamilton Beach/ Proctor-Silex, Washington, NC).
- Homogénéisateur de tissus, modèle Ultra-Turrax T25 (IkaLabortechnik, Janke & Kunkel, Staufen, Allemagne) ou équivalent.

- Centrifugeuse - Modèle CEI réfrigéré PR-J ou équivalent.
- Mélangeur à vortex.
- Système d'extraction en phase solide - C18 sorbant ou équivalent.
- Évaporateur : évaporateur (Organomation, South Berlin, MA) ou équivalent.
- Bain-marie - Pour maintenir la température entre la température ambiante et $100^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ (Buchi Model 481, Brinkmann Instrument, Westbury, NY), ou équivalent.

3.2.1.3 Produits chimiques

@ Étalons :

L'étalon de l'érythromycine a été fourni par la maison laboratoire ALGERIA ANIMAL CARE (Blida, Algérie).

3.2.1.4 Matériel Biologiques :

Les bioessais de poissons ont été prélevés, conditionnés sous glace, en enlevant soigneusement le tissu musculaire sur le côté de chaque poisson en prenant la précaution d'exclure les écailles et la peau. Les échantillons ont été emballés dans des sacs stériles et conservés à -18°C jusqu'à leur analyse (Mukota *et al.*, 2020). (Fig. 08) Les prélèvements tissulaires des bio essaies est effectué selon un calendrier, un prélèvement après traitement par l'ATB1 et un second après traitement par l'ATB2.



Figure 8: Prélèvement tissulaires sous glace pour la détection de résidus d'ATB1 et D'ATB2 (cliché personnel)

3.3 Méthode expérimentale :

3.3.1 Solution des échantillons de travail :

La préparation des échantillons l'érythromycine a été effectuée comme suit :

Une portion pesée équivalente à 400 mg a été transférée dans une fiole jaugée de 100 ml, soniquée pendant 5 min avec environ 10 ml de méthanol – eau (7: 3, v / v) puis la solution a été diluée a volume avec le même solvant. Le mélange a été bien mélange, à laisse toute matière insoluble se déposer puis filtré. (Fig.9).

Un volume mesuré du filtrat a été dilue quantitativement avec le même solvant pour donner une solution d'échantillon ayant une concentration de travail supposée être de 1,0 mg/ml. Cette solution est stable jusqu'à 1 mois si elle est conservée dans l'obscurité à 4°C.



Figure 9: Différentes étapes de prélèvement et d'extraction derésidus d'ATB 1 . (Cliché personnel).

3.3.2 Application de la méthode d'analyse :

3.3.2.1 Linéarité :

Il s'agit de vérifier la linéarité avec le standard pur pour détecter et quantifier l'érythromycine dans les médicaments, il a été nécessaire de procéder au préalable à une analyse statistique pour vérifier la linéarité de la méthode utilisée, ainsi que l'établissement d'une courbe d'étalonnage qui sera un repère servant au dosage de cet antibiotique.

3.3.2.2 -Préparations des solutions pour la gamme d'étalonnage :

Des solutions de concentrations croissantes ont été préparées à partir de la poudre du standard d'érythromycine qui nous a été fourni. Le protocole appliqué à la linéarité nécessite des dilutions successives dans un intervalle de **5 concentrations de 0.3 à 300 µg/ L**. Chaque solution a été préparée et testée **trois fois (n=3)**. Une solution étalon intermédiaire a été préparée **en diluant la solution mère à 500 µg/ L** avec de l'eau, et conservée au réfrigérateur jusqu'à 1 semaine.

3.3.2.3 Préparation et extraction des échantillons :

Coupez les filets de Tilapia sans peau en petits morceaux, séparez d'abord la peau du tissu musculaire, puis coupez le tissu musculaire en petits morceaux (environ 2 x 2 cm). Mélangez une portion de 2 g de tissu musculaire dans un robot ménager pour obtenir une consistance pâteuse uniforme. Pesez 2 g de tissu mélangé dans un tube à centrifuger en polypropylène de 50 ml. Ajoutez 20 ml de solution acide orthophosphorique (0.2%) - méthanol (6:4, v/v). À l'aide d'un homogénéisateur de tissus, homogénéisez le mélange à 10 000 tr/min pendant 90 s. Centrifugez 10 min à 4 500 tr/min et décanter le surnageant dans un autre tube à centrifuger de 50 ml. Homogénéisez le résidu avec la même solution de 20 ml, centrifugez comme précédemment, et combinez le surnageant avec le premier extrait. Filtrer à travers un bouchon de laine de verre. Le volume total du filtrat est d'environ 40 ml. Pour la déprotéinisation, ajoutez 1 mL de solution d'acide orthophosphorique (0.2%) au filtrat et mélangez 30 s sur le mélangeur Vortex. Centrifugez 2 min à 4500 tr/min et filtrez le surnageant à travers un bouchon de laine de verre (Hadir M. Mahera *et al.*, 2008). **(Fig.9)**.

3.3.3 Dosage des résidus d'érythromycine dans les échantillons de poissons :

Afin d'étudier le rendement de la méthode pour l'érythromycine, nous avons préparé des solutions des échantillons de poissons dopées (Aq1,Aq2,Aq3,Aq4,Aq5 et Aqt) de l'érythromycine standard. Chaque solution d'échantillon a été analysée 2 fois par la même méthode. Des normes de travail ont été utilisées pour l'enrichissement des échantillons de poisson à différents niveaux de concentration.

3.4 Analyse des résidus de sulfamides dans les bio-essais de poisson

Oreochromis ssp :

3.4.1 Matériels :

3.4.1.1 Appareillage et matériels :

- **Balance analytique** : C'est une balance très sensible dont les caractéristiques sont : Marque SALTEC, Max : 210 g, D : 0,1mg, Tare : 0,00000.
- **Agitateur vibrant** : De type VORTEX.
- **Flacons stériles** : Nous avons mis les solutions mères des standards ainsi que les différentes dilutions réalisées.
- **Macro-pipette digitale** : Cette macro-pipette à volume Réglable est de type EUROSMA. Elle a une capacité volumique de 1 à 10 ml.
- **Bain à ultra-son** : Le bain ultrasons que nous avons utilisé est de type ULTRASON PRO.
- **Filtre millipore** Le papier filtre utilisé pour filtrer les solutions de la phase mobile est de type Millipore GS (0,22µm). (Milford, MA, USA).

3.4.1.2 - Solvants et produits chimiques :

Les réactifs et les solvants utilisés pour cette analyse étaient de qualité analytique ou de la plus haute pureté disponible. L'eau était dé-ionisée.

3.4.1.3 Diluants et solvants :

- Acétonitrile pour HPLC (Sigma-Aldrich).
- Méthanol pour HPLC (Sigma-Aldrich).

Tous les solvants et standard étaient de catégorie analytique. L'acétonitrile et le méthanol sont le plus souvent utilisés. Les réactifs utilisés sont de qualité analytique et l'eau utilisée est pure.

3.4.1.4 Méthode expérimentale et préparation des solutions :

3.4.1.5 Solutions mères des sulfamides :

Deux solutions mères ont été préparées ; dans la première nous avons mélangé 40mg standard pur avec 10 ml de méthanol, et dans la seconde nous avons mélangé 40 mg de sulfamide avec 10 ml d'acetonitrile afin d'obtenir une solution mère d'une concentration de 4 mg/ml. Les dilutions ont été réalisées en utilisant de l'eau distillée, miscible avec le méthanol, ce qui permet d'avoir des solutions homogènes. (Fig. 11).



Figure 10: Méthodes d'extraction des sulfamides (clichés personnel).

3.4.1.6 Solution des échantillons de travail :

Les solutions des étalons et les solutions d'échantillons de travail ont été préparées selon les mêmes protocoles expérimentaux qui sont décrits dans pour l'érythromycine au-dessus. (Fig.9).

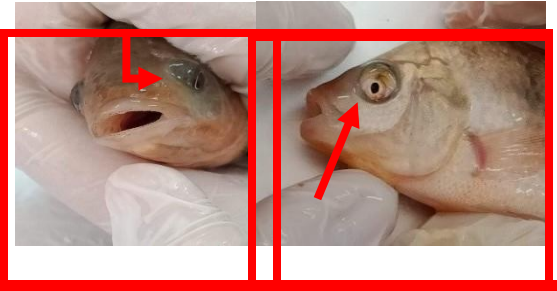
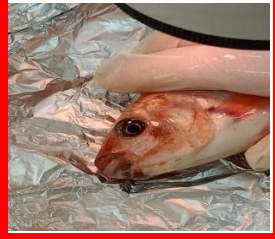
3.4.1.7 Récupération à partir d'échantillons dopés :






Pour déterminer la récupération (rendement) des étalons à partir d'échantillons dopés, ajouter de solutions étalons à l'échantillon de poisson pour obtenir des concentrations finales de travail. Laissez les échantillons dopés s'équilibrer à température ambiante pendant 15 à 30 minutes avant de les homogénéiser. Ensuite, traiter et analyser les échantillons dopés comme décrit précédemment.

III- Résultats de l'examen pathologique des bioessais *Oreochromis ssp* :

- Le tableau (02) ci-dessous englobe l'ensemble des pathologies recensé lors de notre étude.

Tableau 02 : Résultats de l'examen pathologique des individus de *Tilapia ssp* :

Maladies	Symptômes Pathologie semiologie	Photos originals
Exophtalmie	Gonflement de l'œil ,très saillant	
Septicémie hémorragique virale	Léthargie, nage erratique, la peau foncée , Hémorragie sur la peau ,les branchies, les yeux. branchies pales, exophtalmie.	

<p>Maladies alimentaires Carence en vit B1 Les carences en lipides Extrême anémie, pâleur des branchies, une teinte bronzée</p>	<p>Changement de coloration, hémorragie de la base des nageoires</p>	
<p>La pourriture des nageoires</p>	<p>Erosion graduelle des nageoires (souvent la nageoire caudale) Qui apparaissent comme mangées , déchirées</p>	
<p>Infections causées par les microorganismes</p>	<p>Tissu nécrosé sur les branchies</p>	
<p>Infection bactérienne hygiène médiocre Problèmes nutritionnels</p>	<p>Nageoires anormalement veinées de rouge , hémorragies</p>	
<p>Déficit en oxygène (Hypoxie)</p>	<p>Accélération de la respiration et agitation de poissons qui happent l'air en surface</p>	

1- Résultats et discussion Biomarqueurs Hémato-biochimiques et lipidiques:

Les paramètres hématologiques et biochimiques des bio-essais *Tilapia ssp* exposé aux ATBs (Érythromycine et sulfamide) avec le groupe témoin sont présentés ci- dessous. (Tab3).

Tableau 3: Désignation des aquariums expérimentaux avec les doses d'ATB₁ "érythromycine" et l'ATB₂ 'Sulfamide' pendant une durée de 28 jours(TA).

Aquarium	Durée	Aq 1	Aq 2	Aq 3	Aq 4	Aq 5	Aqt
Dose ATB ₁	10jours	10µg/l CL10	60µg/l CL84	0,3µg/l NOEL	1,7µg/l LOEL	300µg/l CL90	(témoin)
Dose ATB ₂	3jours	0,1g/j	0,1g/j	0,1g/j	0,1g/j	0,1g/j	(témoin)

1.1 Résultats des paramètres hématologiques, biochimiques et lipidiques de *Tilapia ssp* traité par l'Érythromycine « ATB₁ » :

1.1.1 Nombre des globules blancs (GB) :

Les variations des Globules blancs dans le sang des bioessais traitées par l'ATB₁ sont représentées dans la (figure 11) Les valeurs maximales et minimales sont variées entre [(122,4 ±0,1 (×10³) µ/l] et de [(0,6±0,1)(×10³) µ/l] respectivement observées dans l'Aqt et l'Aq₅ (témoin et CL90). La figure (11) montre une diminution hautement significative des globules blancs (GB) (P<0,01) chez les poissons traités par les fortes doses d'ATB₁ respectivement (Aq₅ ; Aq₄ ; Aq₁ et Aq₂).

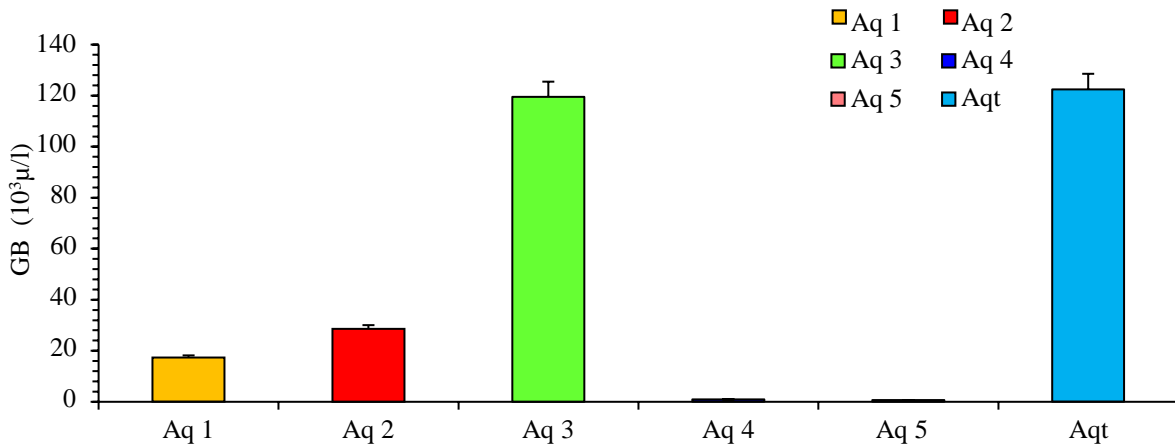


Figure 11 : Variations du nombre des globules blancs (GB ($\times 10^3 \mu/l$)) chez le Bio -essaie *Tilapia ssp* Traité par l'Érythromycine (ATB1).

L'analyse de la variance à un seul critère de classification a montré une différence très hautement significative entre les six (06) aquariums pour les GB (**Tab. 4**).

Tableau 4 : ANOVA à un facteur contrôlé des variations des globules blancs des *Tilapia* traités par l'ATB₁ . :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	5	49294,991	9858,998	1002043,867	< 0,0001***
Erreur	12	0,118	0,0098		
Total corrigé	17	49295,109			

DDL: Degré de liberté; **SCE:** Sommes des carrées des écarts; **CM:** Carré moyen; **F_{obs}:** Test de Fisher; **P:** Seuil de signification.

En outre, les tests de comparaison multiple (**Newmean-Keuls (SNK)**, $p \leq 0,05$), montrent l'existence de six (06) groupes homogènes en fonction des globules blancs y compris l'aquarium témoin. Le test de *Dunnett* décrit des différences très hautement significatives entre les cinq concentrations par rapport au bio essaie témoin (**Tab. 5**).

Tableau 5: Résultats des tests de comparaisons multiples (Test de Newmean-Keuls (SNK) et test de Dunnett pour les globules blancs(GB) des *Tilapia* traités par l'ATB₁.

Modalité	Moyenne estimée	Erreur standard	Groupes
Aq 5	0,600	0,0573	A
Aq 4	0,896	0,0573	B
Aq 1	17,300	0,0573	C
Aq 2	28,600	0,0573	D
Aq 3	119,500	0,0573	E
Aqt	122,400	0,0573	F

1.1.2 Nombre des Lymphocytes (lym) :

Les variations des lymphocytes dans le sang des bioessais traitées par l'ATB1 sont représentées dans la figure 12. Les valeurs maximales sont enregistrées chez les témoins [(114,4 ± 1,01 (×10³) μ/l], en revanche les minimas des « lym » sont observés dans la plupart des Concentrations létales de [(0,08±0,01) ; (0,5± 0,76) ; (0,6 ±0,1) et (5,8± 0,62) (×10³)μ/l] respectivement observées dans (l'Aq₄ ; Aq₂ ; Aq₁ et l'Aq₅).

La figure (12) montre une diminution hautement significative lymphocytes (P<0,01) chez les poissons traités par les fortes doses d'ATB1 respectivement (l'Aq₄ ; Aq₂ ; Aq₁ et l'Aq₅) par rapport aux témoins.

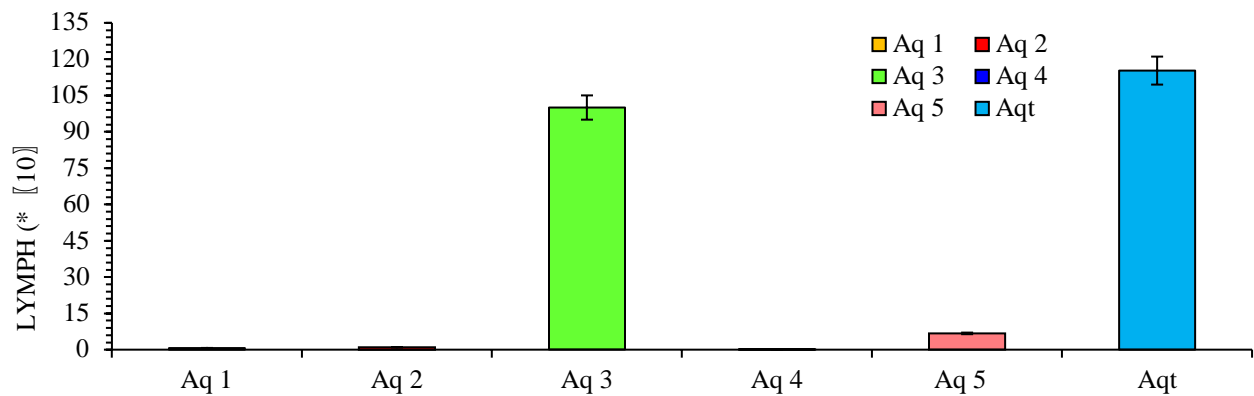


Figure 12: Variations du nombre des Lymphocytes (10³μ/l) chez le Bio -essaie Tilapia ssp Traité par l'Érythromycine (ATB₁).

L'analyse de la variance à un seul critère de classification a montré une différence très hautement significative entre les six (06) aquariums pour les« Lym »(**Tab. 6**).

Tableau 6: ANOVA à un facteur contrôlé des variations des Lymphocytes des Tilapia traités par l'ATB1 :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	5	45013,324	9002,665	12426,705	< 0,0001***
Erreur	12	8,693	0,724		
Total corrigé	17	45022,018			

DDL: Degré de liberté; **SCE:** Sommes des carrés des écarts; **CM:** Carré moyen; **F_{obs}:** Test de Fisher; **P:** Seuil de signification

En outre, les tests de comparaison multiple (**Newmean-Keuls (SNK)**, $p \leq 0,05$), montrent l'existence de quatre (04) groupes homogènes en fonction des lymphocytes y compris l'aquarium témoin. Le test de *Dunnnett* décrit des différences très hautement significatives entre les cinq concentrations par rapport au bio essai témoin (**Tab. 7**).

Tableau 7: Résultats des tests de comparaisons multiples (Test de Newmean-Keuls (SNK) et test de Dunnnett pour les Lymphocytes (Lym) des Tilapia traités par l'ATB1:

Modalité	Moyenne estimée	Erreur standard	Groupes	
Aq 4	0,0900	0,4914	A	
Aq 1	0,7000	0,4914	A	
Aq 2	1,1667	0,4914	A	
Aq 5	6,5000	0,4914	B	
Aq 3	100,3333	0,4914	C	
Aqt	115,1000	0,4914	D	

1.1.3 Nombre des Globules rouges (GR) :

Les variations des globules rouges dans le sang des bio essais traités par l'ATB1 sont représentées dans la figure 13. Les valeurs maximales sont enregistrées chez les témoins et l'Aq₃(NOEL) respectivement [$(1,4 \pm 0,028 (\times 10^6) \mu/l)$; $(1,94 \pm 0,026 (\times 10^6) \mu/l)$], en revanche des minimas des «GR » sont enregistrées chez les tilapias traités par les différentes doses de l'ATB1. La figure (13) montre une diminution hautement significative des globules Rouge (GR) ($P < 0,01$) chez les poissons traités par les fortes doses d'ATB1 respectivement (l'Aq₅ ; Aq₄ ; Aq₁ et l'Aq₂) par rapport aux témoins.

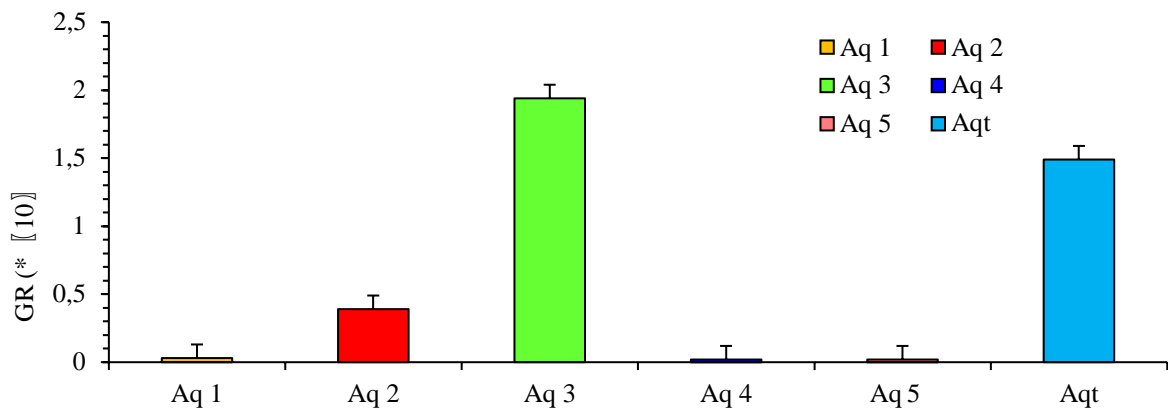


Figure 13: Variations du nombre des globules rouge (GR $(\times 10^6 \mu/l)$) chez les Bio-essais Tilapia ssp Traités par l'Érythromycine (ATB1).

L'analyse de la variance à un seul critère de classification a montré une différence très hautement significative entre les six (06) aquariums pour les « GR » (**Tab. 8**).

Tableau 8 : ANOVA à un facteur contrôlé des variations des globules rouges des Tilapia traités par l'ATB₁ :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	5	10,870	2,1741	7008,346	< 0,0001***
Erreur	12	0,0037	0,0003		
Total corrigé	17	10,874			

DDL: Degré de liberté; **SCE:** Sommes des carrés des écarts; **CM:** Carré moyen; **F_{obs}:** Test de Fisher; **P:** Seuil de signification. **NS :** non significatif.

Les tests de comparaison multiple (Newmean-Keuls (SNK), $p \leq 0,05$), montrent l'existence de quatre (04) groupes homogènes en fonction des globules rouges y compris l'aquarium témoin. Le test de Dunnett décrit des différences très hautement significatives entre les cinq concentrations par rapport au bio essai témoin (**Tab. 9**).

Tableau 9 : Résultats des tests de comparaisons multiples (Test de Newmean-Keuls (SNK) et test de Dunnett pour globules rouges (GR) des Tilapia traités par l'ATB₁.

Modalité	Moyenne estimée	Erreur standard	Groupes		
Aq 4	0,0200	0,0102	A		
Aq 5	0,0200	0,0102	A		
Aq 1	0,0300	0,0102	A		
Aq 2	0,3900	0,0102	B		
Aqt	1,4793	0,0102	C		
Aq 3	1,9500	0,0102	D		

1.1.4 Taux de l'hémoglobine (HB) :

Les variations de l'HB dans le sang des bio essais traités par l'ATB₁ sont représentées dans la figure 14. Les valeurs maximales sont enregistrées chez l'Aq₃(NOEL) et les témoins respectivement [(7,7 ± 0,37) ; (4,2 ± 0,1) g/l], en revanche des minimas des « HB » sont enregistrées chez les tilapias traités par les différentes doses de l'ATB₁.

La figure (14) montre une diminution hautement significative de l'HB ($P < 0,01$) chez les poissons traités par les fortes doses d'ATB₁ respectivement (l'Aq₅ ; Aq₄ ; Aq₁ et l'Aq₂) par rapport aux témoins.

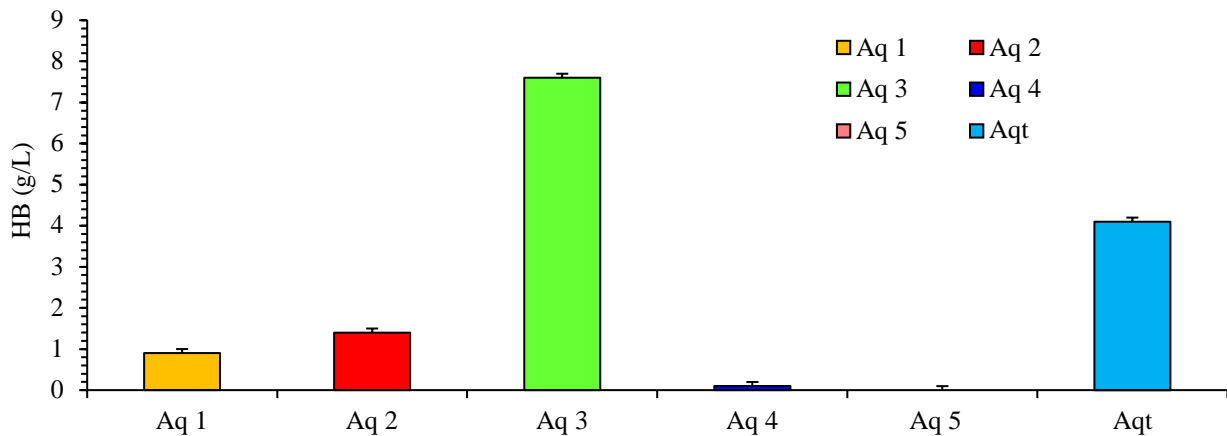


Figure 14: Variations du nombre de l'hémoglobine (HB g/l) chez le Bio -essaie *Tilapia ssp* Traité par l'Érythromycine (ATB₁).

Les tests de comparaison multiple (Newmean-Keuls (SNK), $p \leq 0,05$), montrent l'existence de cinq (05) groupes homogènes en fonction de l'HB dont l'Aq₅ et l'A₄ forment un seul groupe (A). Le test de *Dunnett* décrit des différences très hautement significatives entre les cinq concentrations par rapport au bio essaie témoin (**Tab. 10**).

Tableau 10: Résultats des tests de comparaisons multiples (Test de Newmean-Keuls (SNK) et testde *Dunnett* pour l'hémoglobine (HB) des *Tilapia* traités par l'ATB₁.

Modalité	Moyenne estimée	Erreur standard	Groupes
Aq 5	0,0967	0,1014	A
Aq 4	0,1300	0,1014	A
Aq 1	0,8967	0,1014	B
Aq 2	1,4000	0,1014	C
Aqt	4,1000	0,1014	D
Aq 3	7,4333	0,1014	E

1.1.5 Nombre des plaquettes « PLT » :

Les variations des plaquettes dans le sang des bio essais traités par l'ATB1 sont représentées dans la figure 15

Les valeurs maximales sont enregistrées chez l'Aq₃(NOEL) et les témoins respectivement [(240 ±1) ; (120±0,73)(×10³μ/l)], en revanche des minimas des « PLT » sont enregistrées chez les tilapias traités dans l'Aq₅ (0,5 ± 0,76) (×10³μ/l) par les différentes doses de l'ATB₁. La figure (15) montre une diminution hautement significative plaquettes (PLT) (P<0,01) notamment les poissons traités par les fortes doses d'ATB₁ notamment (l'Aq₅).

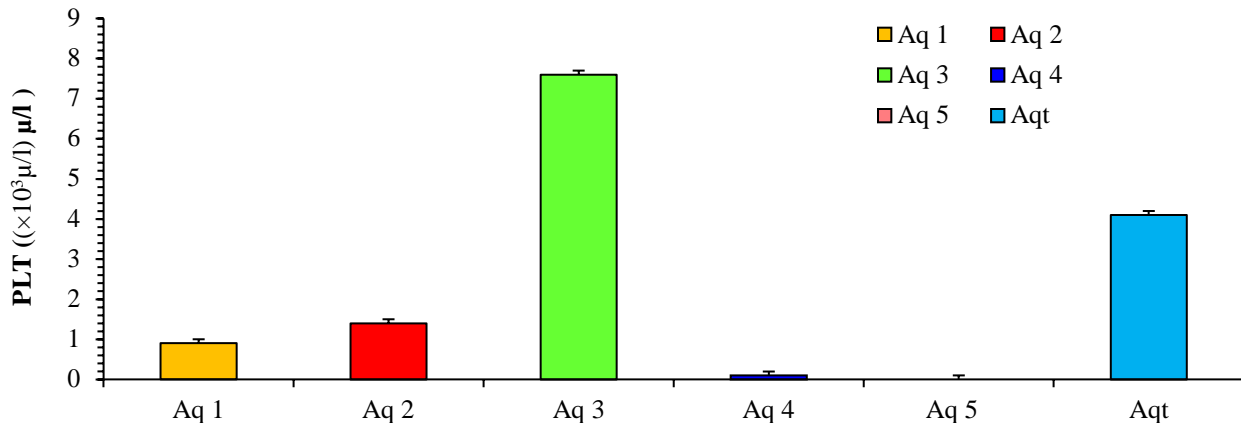


Figure 15 : Variations du nombre des plaquettes (PIT (×10³μ/l) chez le Bio -essaie *Tilapia ssp* Traité par l'Érythromycine (ATB₁).

Les tests de comparaison multiple (Newmean-Keuls (SNK), $p \leq 0,05$), montrent l'existence de cinq (05) groupes homogènes en fonction des plaquettes dont l'Aq₅ et l'A₄ forment un seul groupe (A). Le test de *Dunnnett* décrit des différences très hautement significatives entre les cinq concentrations par rapport au bio essaie témoin (**Tab. 11**).

Tableau 11 : Résultats des tests de comparaisons multiples (Test de Newman-Keuls (SNK) et test de Dunnett pour les plaquettes (PLT) des Tilapia traités par l'ATB₁.

Modalité	Moyenne estimée	Erreur standard	Groupes
Aq 5	1,1667	0,5358	A
Aq 4	4,0000	0,5358	B
Aq 1	16,0000	0,5358	C
Aq 2	31,0000	0,5358	D
Aqt	120,8333	0,5358	E
Aq 3	241,0000	0,5358	F

2. Biomarqueurs biochimiques des bio-essais après Traitement par l'ATB₁ :

2.1 Taux de glycémie :

À l'exception des bio-essais du témoin qui présente une glycémie de (2,2 ±0,4 g/l), nous avons enregistrées des minimas proches de zéro dans l'Aq1 (0,07±0,1 g/l) La figure (16) montre une différence très hautement significative des taux de glycémie (P<0,01).

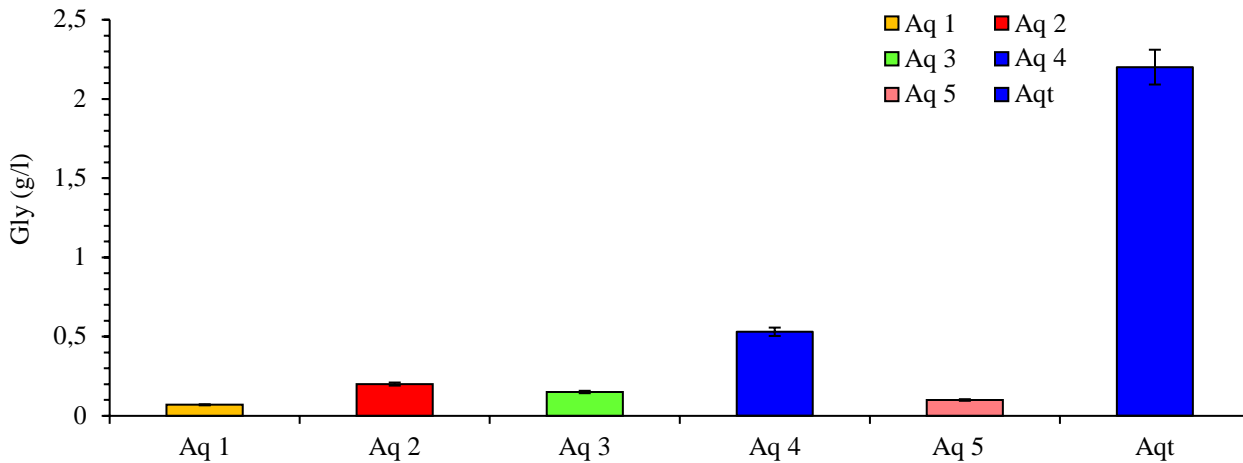


Figure 16: Variations de la glycémie (g/l) chez le Bio -essaie Tilapia ssp Traités par l'Érythromycine (ATB₁).

Les tests de comparaison multiple (Newmean-Keuls (SNK), $p \leq 0,05$), montrent l'existence de deux (02) groupes homogènes en fonction de la glycémie dont l'Aq_t forme un groupe homogène « B » par rapport aux autres concentrations respectivement (Aq₁, Aq₅, Aq₃, Aq₂, et Aq₄) qui forment un seul groupe (A). Le test de *Dunnnett* décrit des différences très hautement significatives entre les cinq concentrations par rapport au bio essai témoin (**Tab. 12**).

Tableau 12 : Résultats des tests de comparaisons multiples (Test de Newmean-Keuls (SNK) et test de *Dunnnett* la glycémie des *Tilapia* traités par l'ATB1 :

Modalité	Moyenne estimée	Erreur standard	Groupes
Aq 1	0,0567	0,1352	A
Aq 5	0,1000	0,1352	A
Aq 3	0,2500	0,1352	A
Aq 2	0,2667	0,1352	A
Aq 4	0,4767	0,1352	A
Aq _t	2,4833	0,1352	B

2.2 Biomarqueurs lipidiques des bio-essais après Traitement par l'ATB1 :

2.2.1 Taux de cholestérol :

Les résultats obtenus dans la figure (17) montrent une hétérogénéité du taux de cholestérol chez les bio essais expérimentaux.

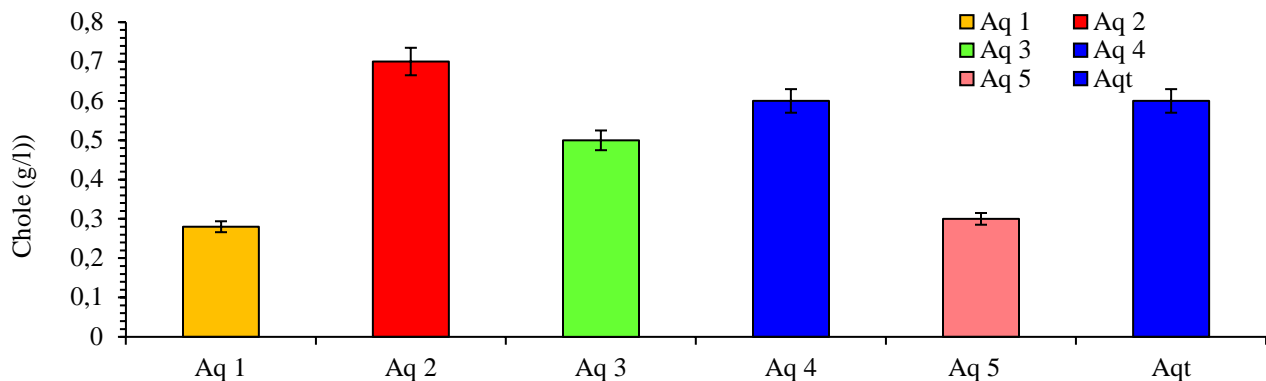


Figure 17 : Variations des taux de cholestérol (g/l) chez le Bio essai *Tilapia* ssp Traités par l'Érythromycine (ATB₁).

Le tableau (13) montre une différence non significative des taux de cholestérol ($P > 0,01$). Les tests de comparaison multiple (Newmean-Keuls (SNK), $p \leq 0,05$), montrent l'existence d'un

(01) seul groupe homogène en fonction du cholestérol. . Le test de *Dunnnett* décrit une seule différence significative entre l'Aqt et l'Aq₂.

Tableau 13 : ANOVA à un facteur contrôlé des variations des taux de cholestérols des Tilapia traités par l'ATB₁:

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	5	0,555	0,111	1,715	0,205NS
Erreur	12	0,777	0,064		
Total corrigé	17	1,333			

DDL: Degré de liberté; **SCE:** Sommes des carrés des écarts; **CM:** Carré moyen; **F_{obs}:** Test de Fisher; **P:** Seuil de signification. **NS :** non significatif.

2.2.2 Taux de Triglycéride :

Les résultats obtenus dans la figure (18) montrent une hétérogénéité du taux des triglycérides chez les bio essais expérimentaux.

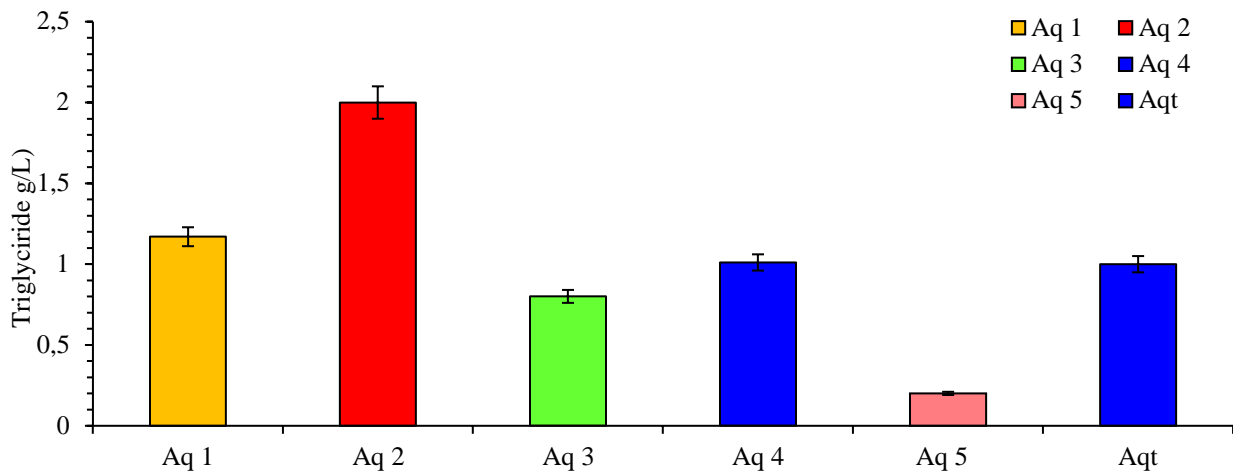


Figure 18 : Variations des taux des triglycérides (g/l) chez le Bio essai Tilapia ssp Traités par l'Érythromycine (ATB₁) .

Le tableau (14) montre une différence non significative des taux de Triglycérides ($P > 0,01$). Les tests de comparaison multiple (Newmean-Keuls (SNK), $p \leq 0,05$), montrent l'existence d'un (01) seul groupe homogène en fonction des triglycérides. Le test de *Dunnnett* décrit aucune différence significative entre l'Aqt et les différentes concentrations (**TAB. 14**).

Tableau 14 : ANOVA à un facteur contrôlé des variations des taux de triglycéride des Tilapia traités par l'ATB1 :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	5	181,276	36,255	1,166	0,380 NS
Erreur	12	372,893	31,074		
Total corrigé	17	554,170			

DDL: Degré de liberté; **SCE:** Sommes des carrés des écarts; **CM:** Carré moyen; **F_{obs}:** Test de Fisher; **P:** Seuil de signification.

2.3 Biomarqueurs hématologique chez les bio essaies traiter parles sulfamides (ATB₂) :

2.3.1 Nombre des globules blancs :

Les variations des Globules blancs dans le sang des bio-essais traitées par l'ATB₂ sont représentées dans la figure 19. Les valeurs maximales et minimales sont variées entre [(125 ±2,02 (×10³) µ/l] et de [(7,6±0,8) (×10³) µ/l] respectivement observées dans l'Aq₅ et l'Aq₄ (LOEL et CL90).

La figure (19) montre une augmentation hautement significative des globules blancs (GB) (P<0,01) chez les poissons traités par les fortes doses d'ATB₂ à l'exception de l'Aq₄.

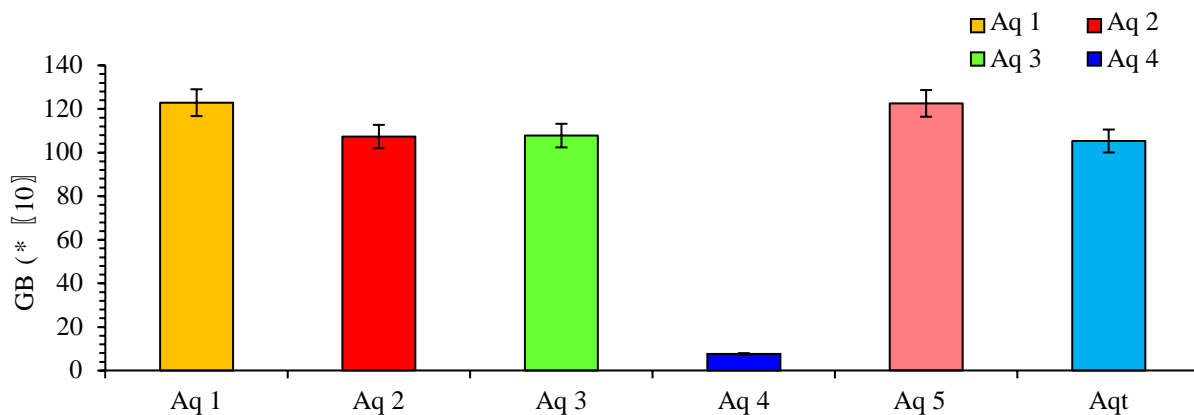


Figure 19 : Variations du nombre des globules blancs (GB (×10³µ/l) chez les Bio -essais Tilapia ssp Traité par sulfamide (ATB₂).

Le tableau (15) montre une différence très hautement significative des globules blancs (P<0,01). Les tests de comparaison multiple (Newmean-Keuls (SNK), p ≤ 0,05), montrent

l'existence de trois (03) groupes homogènes en fonction globules blancs. Le test de *Dunnnett* décrit aucune différence significative entre l'Aqt et les différentes concentrations (**Tab. 15**).

Tableau 15: ANOVA à un facteur contrôlé des variations des globules blancs des *Tilapia* traités par l'ATB₂ :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	5	28119,204	5623,840	1866,318	< 0,0001****
Erreur	12	36,160	3,013		
Total corrigé	17	28155,364			

DDL: Degré de liberté; **SCE**: Sommes des carrés des écarts; **CM**: Carré moyen; **F_{obs}**: Test de Fisher; **P**: Seuil de signification.

2.3.2 Nombre des Lymphocytes :

Les variations des lymphocytes dans le sang des bio-essais traitées par l'ATB₂ sont représentées dans la figure 20. Les valeurs maximales [(116 ±2,70; (111± 6,56) et (103,7±3,55)(×10³)µ/l] respectivement observées dans l'Aq₅, l'Aq₂ et l'Aq₁ (CL 90,CL 84 et CL10). Les minimales sont enregistrées chez les individus de l'Aq₄(LOEL).

La figure (20) montre une diminution hautement significative des Lymphocytes (Lym) (P<0,01) chez les poissons traités par les fortes doses d'ATB₂.

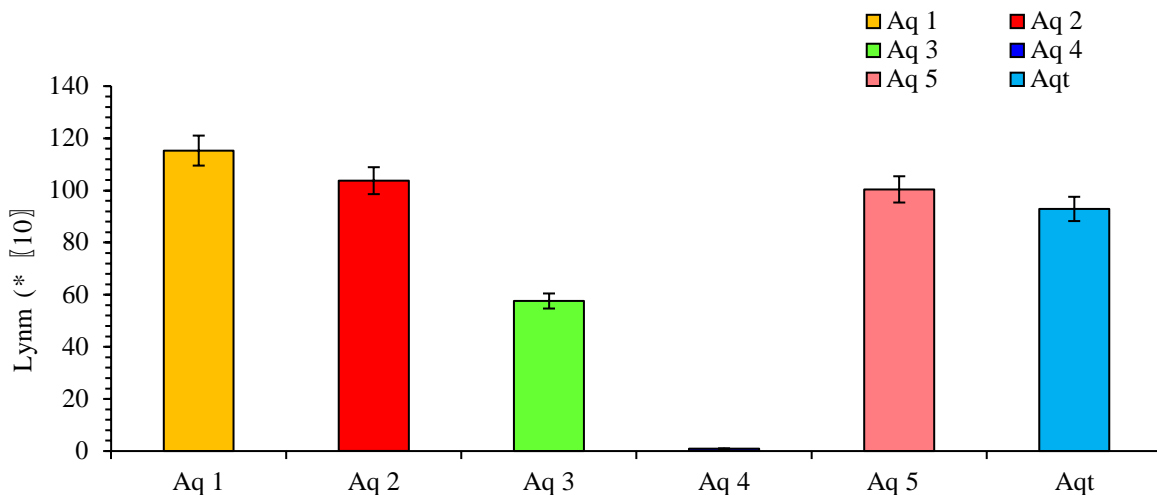


Figure 20 : Variations du nombre des Lymphocytes (Lym (×10³µ/l)) chez les Bio -essais *Tilapia* ssp Traités par sulfamide (ATB₂).

(P<0,01). Les tests de comparaison multiple (Newmean-Keuls (SNK), p ≤ 0,05), montrent l'existence de cinq (05) groupes homogènes en fonction des lymphocytes. Le test de *Dunnnett* décrit aucune différence significative entre l'Aqt et les différentes concentrations (**Tab. 16**).

Tableau 16 : ANOVA à un facteur contrôlé des variations des lymphocytes des Tilapia traités par l'ATB2 :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	5	26524,7650	5304,9530	334,1352	< 0,0001
Erreur	12	190,5200	15,8767		
Total corrigé	17	26715,2850			

DDL: Degré de liberté; **SCE:** Sommes des carrés des écarts; **CM:** Carré moyen; **F_{obs}:** Test de Fisher; **P:** Seuil de signification.

2.3.3 Nombre des globules rouges(GR)

Les variations des Globules rouges dans le sang des bio-essais traitées par l'ATB₂ sont représentées dans la figure 21. Les valeurs maximales sont enregistrées chez les individus de l'Aq₅ [(3 ±1,02)(×10⁶) μ/l] une stabilité de la valeur des GR est détectée chez les bio-essais des autres Aquarium semblable des témoins. La figure (21) montre une légère hétérogénéité des globules rouges (P>0,01) chez les poissons traités par l'ATB₂.

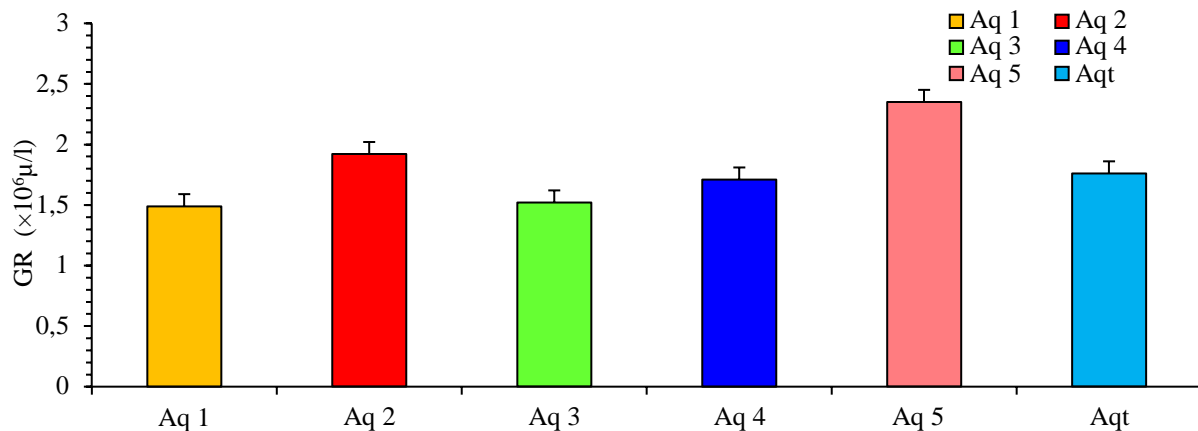


Figure 21: Variations du nombre des globules rouges (GR (×10⁶μ/l) chez les Bio -essais Tilapia ssp Traités par sulfamide (ATB₂).

Le tableau (17) montre une différence non significative des globules rouge (P>0,01). Les tests de comparaison multiple (Newmean-Keuls (SNK), p ≤ 0,05), montrent l'existence d'un (01) seul groupe homogène en fonction GR. Le test de *Dunnnett* décrit aucune différence significative entre l'Aqt et les différentes concentrations (**Tab. 17**).

Tableau 17:ANOVA à un facteur contrôlé des variations des globules rouges des Tilapia traités par l'ATB₂ :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	5	1,0425	0,2085	0,5638	0,7263NS
Erreur	12	4,4374	0,3698		
Total corrigé	17	5,4799			

DDL: Degré de liberté; **SCE:** Sommes des carrés des écarts; **CM:** Carré moyen; **F_{obs}:** Test de Fisher; **P:** Seuil de signification

2.3.4 Taux de l'hémoglobine(HB)

Les variations l'hémoglobine dans le sang des bio-essais traitées par l'ATB₂ sont représentées dans la figure 22. Les valeurs enregistrée chez les individus traités sont proches allons de [(5 ± 0,9)(×10³)μ/l] observé chez les Tilapias de l'Aq₁, jusqu'à [(09 ± 0,5)(×10³)μ/l] observé chez les tilpias de l'Aq₅. La figure (22) montre une légère hétérogénéité de l'HB (P>0,01) chez les poissons traités par l'ATB₂.

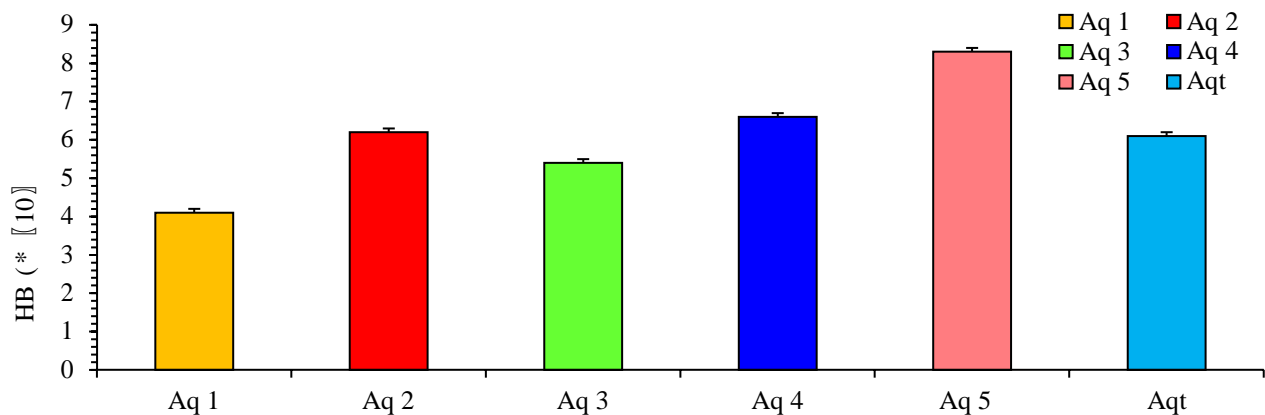


Figure 22 : Variations de l'hémoglobine (HB (×10³μ/l) chez les Bio -essais Tilapia ssp Traités par sulfamide (ATB₂).

Le tableau (16) montre une différence non significative de l'HB (P>0,01). Les tests de comparaison multiple (Newmean-Keuls (SNK), p ≤ 0,05), montrent l'existence d'un (01) seul groupe homogène en fonction de l'HB. Le test de *Dunnnett* décrit aucune différence significative entre l'Aqt et les différentes concentrations (**Tab. 18**).

Tableau 18 : ANOVA à un facteur contrôlé des variations de l'hémoglobine (HB)Tilapia traités par l'ATB2 :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	5	30,3383	6,0677	16,8287	< 0,0001
Erreur	12	4,3267	0,3606		
Total corrigé	17	34,6650			

DDL: Degré de liberté; **SCE:** Sommes des carrés des écarts; **CM:** Carré moyen; **F_{obs}:** Test de Fisher; **P:** Seuil de signification. **NS :** non significatif.

2.3.5 Nombre des plaquettes :

Les résultats obtenus dans la Figure (23) montrent une élévation significative du nombre des plaquettes chez les bio essais de l'Aq₄ [(408 ±4,72)(×10³) μ/l]. Une proximité de valeur est observée chez les autres individus y compris le témoin.

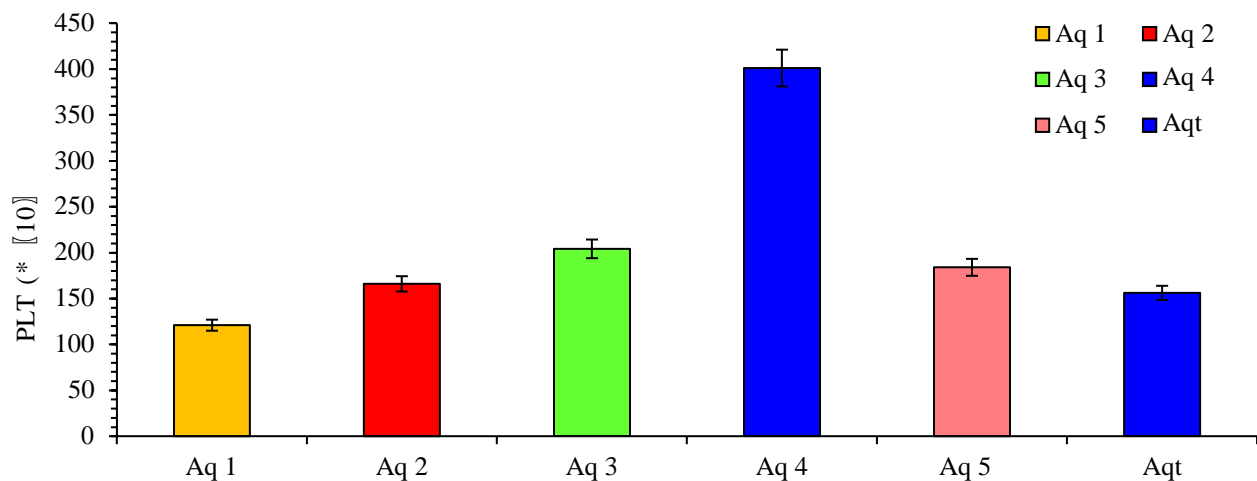


Figure 23: Variations du nombre des plaquettes (×10³μ/l) chez les Bio -essais Tilapia ssp Traités par sulfamide (ATB₂).

Le tableau (19) montre une différence très hautement significative du nombre des plaquettes (P<0,01). Les tests de comparaison multiple (Newmean-Keuls (SNK), p ≤ 0,05), montrent l'existence de six (06) groupes non homogènes en fonction PLT. Le test de *Dunnnett* décrit différence significative entre L' Aq₄et l' Aqt (**Tab. 19**).

Tableau 19: ANOVA à un facteur contrôlé des variations du Nombre des plaquettes des Tilapia traités par l'ATB₂.

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	5	153569,111	30713,822	75,484	< 0,0001***
Erreur	12	4882,666	406,888		
Total corrigé	17	158451,777			

DDL: Degré de liberté; **SCE:** Sommes des carrées des écarts; **CM:** Carré moyen; **F_{obs}:** Test de Fisher; **P:** Seuil de signification. **NS** : non significatif.

2.4 Biomarqueurs biochimiques chez les bi-essaies traités par les sulfamides ATB₂:

2.4.1 Taux de glycémie :

La figure (24) ci-dessous montre représente une fluctuation hautement significative de la glycémie chez les traités par rapport aux témoins qui présentent un taux élevé ($1 \pm 1,007$ g/l).

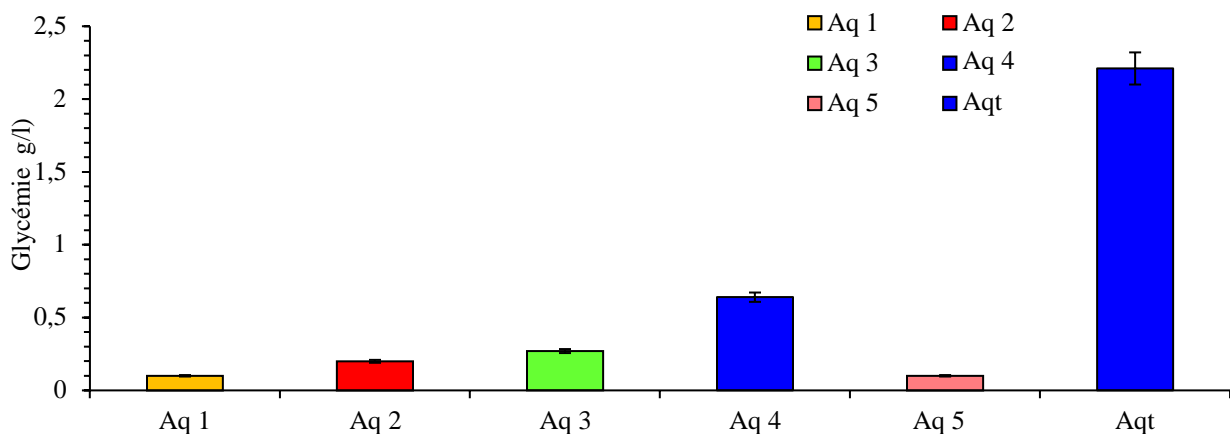


Figure 24: Variations de la glycémie (Gly g/l) chez les Bio -essaies Tilapia ssp Traités par sulfamide (ATB₂).

Le tableau (20) montre une différence très hautement significative de la glycémie ($P < 0,01$). Les tests de comparaison multiple (Newmean-Keuls (SNK), $p \leq 0,05$), montrent l'existence de deux (02) groupes homogène en fonction de la glycémie. Le test de *Dunnnett* décrit une différence significative entre l'Aqt et les différentes concentrations (**Tab. 20**).

Tableau 20: ANOVA à un facteur contrôlé des variations de la glycémie des Tilapia traités par l'ATB₂.

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	5	8,534	1,706	9,680	0,0007***
Erreur	12	2,115	0,176		
Total corrigé	17	10,649			

DDL: Degré de liberté; **SCE:** Sommes des carrées des écarts; **CM:** Carré moyen; **F_{obs}:** Test de Fisher; **P:** Seuil de signification. **NS** : non significatif.

2.5 Biomarqueurs lipidiques des bio-essais après Traitement par les sulfamides ATB₂ :

2.5.1 Taux de cholestérol :

Les résultats obtenus dans la figure (25) ci-dessous présente une légère fluctuation des taux du cholestérol chez les individus traités par les sulfamides.

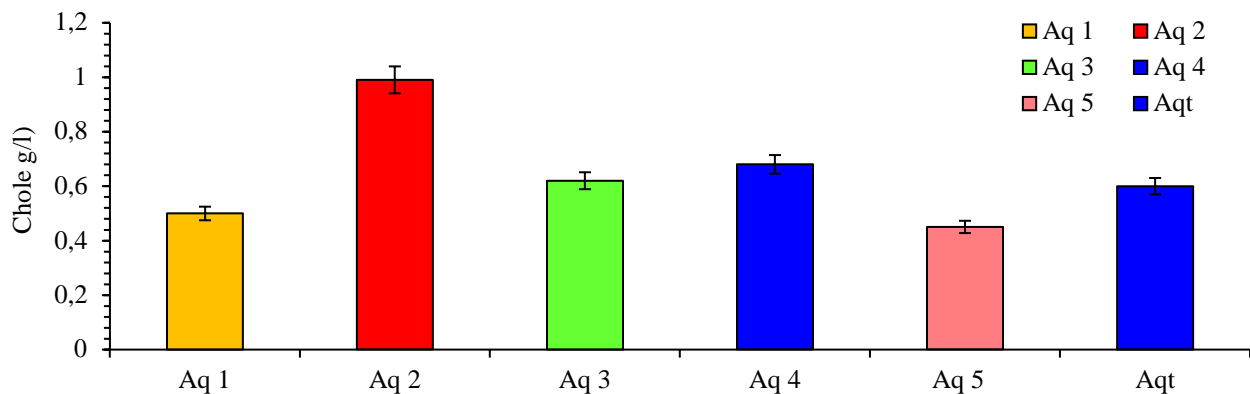


Figure 25 : Variations du cholestérols (chol (g/l) chez les Bio -essais Tilapia ssp Traités par sulfamide (ATB₂).

Le tableau (21) montre une différence non significative du cholestérol. ($P > 0,01$). Les tests de comparaison multiple (Newmean-Keuls (SNK), $p \leq 0,05$), montrent l'existence d'un (01) seul groupe homogène en fonction cholestérol. Le test de *Dunnnett* décrit aucune différence significative entre l'Aqt et les différentes concentrations (**Tab. 21**).

Tableau 21 : ANOVA à un facteur contrôlé des variations cholestérols des Tilapia traités par l'ATB₂ :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	5	0,2810	0,0562	0,7798	0,5830
Erreur	12	0,8649	0,0721		
Total corrigé	17	1,1460			

DDL: Degré de liberté; **SCE**: Sommes des carrés des écarts; **CM**: Carré moyen; **F_{obs}**: Test de Fisher; **P**: Seuil de signification. **NS** : non significatif.

2.5.2 Taux de Triglycéride :

Les résultats obtenus dans la figure (26) ci-dessous présente une fluctuation des taux des triglycérides chez les individus traités par les sulfamides. Un maxima est observé chez les biotes de l'Aq₂ (2,5 ± 0,77 g/l).

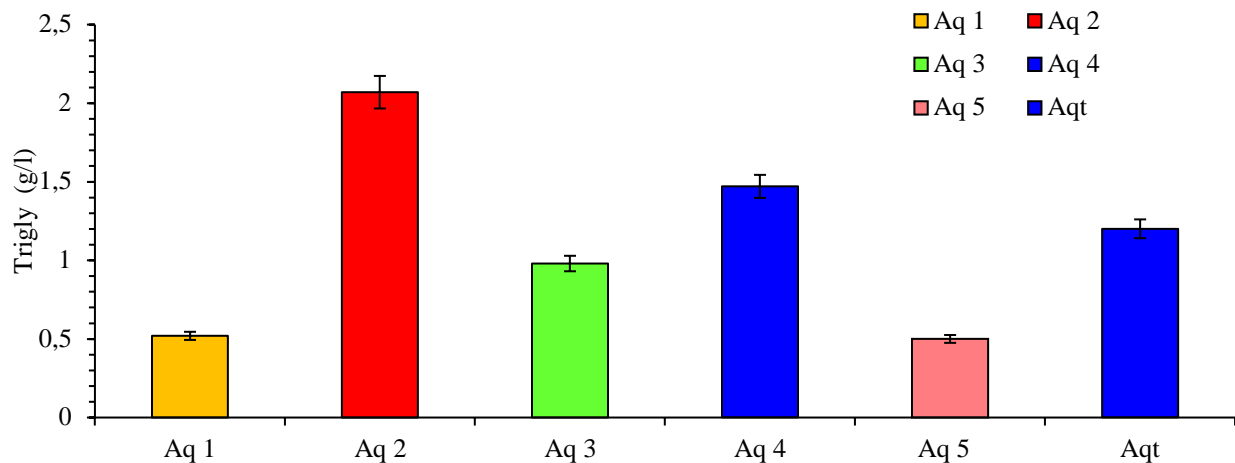


Figure 26 : Variations des triglycérides (g/l) chez les Bio -essais Tilapia ssp Traités par sulfamide (ATB₂).

Le tableau (22) montre une différence significative des triglycérides ($P < 0,05$). Les tests de comparaison multiple (Newmean-Keuls (SNK), $p \leq 0,05$), montrent l'existence d'un (01) seul groupe homogène en fonction des triglycérides Le test de *Dunnnett* décrit aucune différence significative entre l'Aqt et les différentes concentrations (**Tab. 22**).

Tableau 22: ANOVA à un facteur contrôlé des variations des triglycérides des Tilapia traités par l'ATB₂ :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	5	4,2394	0,8479	3,3934	0,0385
Erreur	12	2,9984	0,2499		
Total corrigé	17	7,2378			

DDL: Degré de liberté; **SCE:** Sommes des carrées des écarts; **CM:** Carré moyen; **F_{obs}:** Test de Fisher; **P:** Seuil de signification. **NS** : non significatif.

Les paramètres sanguins des poissons peuvent être utilisés comme des indicateurs efficaces et sensibles pour détecter la santé des poissons. Le profil hématologique dans les fermes piscicoles peut indiquer l'état physiologique et la santé des poissons. physiologique et la santé des poissons, de sorte que des méthodes alternatives de diagnostic sanguin standard sont utilisées pour établir et évaluer le stress et/ou l'influence de l'état pathologique sur les performances (Tavares-Dias & Moraes, 2004 ; Barbieri et al., 2017 ; Bosisio et al., 2017 ; Fazio, 2019).

En outre, ces modifications des paramètres sanguins dépendent de plusieurs facteurs, tels que l'espèce, la température, l'âge, la lumière, la nutrition, la maturité sexuelle, les changements cycliques de la santé, la qualité de l'eau, l'oxygène dissous, le sexe, les pentes d'eau statique et la manipulation, le stress, transport, la taille, la densité d'alimentation et de reproduction ainsi que les infections microbiennes et les parasitaires (Ranzani-Paiva et al., 2003 ; Tavares-Dias et Moraes, 2004 ; Val et al. et al., 2016 ; Fazio, 2019).

La recherche hématologique est un outil qui permet d'étudier les changements physiologiques causés par la pollution environnementale (Zaghloul, 2001 ; Zaghloul et al., 2005). Les paramètres hématologiques, tels que le nombre d'hématocrites, d'hémoglobines, de WBC et de RBC sont une application pour un large indice de toxicité potentielle pour les études de toxicité et la chez les animaux aquatiques (Sancho et al., 2000 ; Barcellos et al., 2003).

La connaissance des caractéristiques du sang peut être utilisée comme un indice efficace et sensible de suivi des changements physiologiques et pathologiques des poissons (Kim & Kang, 2017). Un outil important pour diagnostiquer la santé, avec des degrés variables de réponse sanguine des poissons et en fonction de différents facteurs de stress, est la stimulation et le

traitement. Différents facteurs de stress, sont la stimulation et le traitement des maladies parasitaires ou infectieuses. (Rehulka, 2002 ; Chen et al., 2004 ; Martins et al., 2004 ; Silveira-Coffigny et al., 2004) . Les paramètres hématologiques sont des indicateurs du bilan hydrique, de l'état nutritionnel et de la santé générale des poissons (Chang & Hur, 1999 ; Denson et al., 2003). Par conséquent, Les variables hématologiques ont été utilisées comme indicateurs de l'état de santé des espèces de poissons afin de détecter les changements physiologiques dus au stress, tels que l'exposition aux polluants, l'hypoxie, le transport, l'anesthésie et l'acclimatation (Akinrotimi, 2009).

- **Concentration d'hémoglobine (Hb) :**

Dans la présente étude, il existe de différence significative dans l'hémoglobine (HB) des traités par l'ATB₁ et L'ATB₂ chez *Oreochromis ssp* entre les différentes doses administrés (.Essam et al. 2002) ont rapporté que la moyenne d'hémoglobine d'un échantillon de sang de poisson-chat est de 14,7 à 1,2 g / dl. D'autre part les résultats obtenus sont en accord avec ceux de la moyenne rapportée par (Mohammed .1999) qui a déclaré que la concentration d'hémoglobine est dans la gamme de 5,27- à 9,7 g/ 100 ml de échantillons de sang de poissons collectés à différents endroits en Egypte. (Singh et al. 2008) ont suggéré que différents polluants de l'eau sont la source radicale possible des troubles physiologiques des poissons.

Dans la présente étude, le test ANOVA à un seul facteur a révélé diminution hautement significative de l'(HB) ($P < 0,01$) chez les poissons traités par les fortes doses d'ATB₁ respectivement (l'Aq₅ ; Aq₄ ; Aq₁ et l'Aq₂) par rapport aux témoins. Une augmentation de l'hémoglobine dans le sang des bio-essais traitées par l'ATB₂ enregistrent des valeurs approximatives proches allons de $[(5 \pm 0,9) (\times 10^3) \mu/l]$ observé chez les Tilapias de l'Aq₁, jusqu'à $[(09 \pm 0,5) (\times 10^3) \mu/l]$ observé chez les tilpias de l'Aq₅. La figure (22) montre une légère hétérogénéité de l'HB ($P > 0,01$) chez les poissons traités par l'ATB₂.

Le taux d'Hb peut révéler la teneur en oxygène du sang. Lors d'un stress interne ou externe, une **anoxie** peut se produire, ce qui met fin au mécanisme de la phosphorylation oxydative, qui est la voie alternative de synthèse de l'énergie dans l'organisme. Les organes tels que le cœur et le cerveau sont les plus sensibles à un léger manque d'oxygène ; les cellules peuvent mourir en une minute si l'ATP est parallèle aux besoins. De plus, l'**anoxie** peut également altérer le métabolisme biochimique (Nilsson et Lutz, 2004 ; Vazquez et Guerrero, 2007).

L'Hb est donc essentielle pour l'adaptation de l'organisme au stress environnemental et pour une fonction métabolique normale. L'analyse de l'Hb indique donc l'état de santé d'un organisme lié à l'oxygène de l'organisme. La diminution de la concentration d'hémoglobine dans cette étude est un signe **d'anémie microcytaire hypochrome**. Une observation similaire a également été remarquée chez *Cyprinus carpio* exposé au acide clofibrique et diclofénac (Saravanan et al., 2011).

Un taux d'Hb élevé est dû à une augmentation de l'affinité/du transport de l'oxygène dans des conditions de stress (Forget et Franklin Bunn, 2013). Dans la présente étude, l'augmentation observée du taux d'Hb indique **une érythrocytose** ou le remplacement de l'Hb oxydée et dénaturée par le toxique (Nussey et al., 1995).

Nos résultats de la méthode automatique ne diffèrent pas statistiquement (Faggio et al., 2013). Selon (Fazio et al. 2019) l'Hb déterminée automatiquement chez différentes espèces de poissons était de 4,70 à 16,6 g/dL. L'étude réalisée par (Witeska et al. 2016) a montré que le taux d'Hb sanguin chez les poissons âgés de 5 à 8 mois cliniquement sains de *Cyprinus carpio* en bonne santé était de 62,4 à 69,6 g/l. Les données bibliographiques révisées par (Witeska et al. 2016) montrent que le taux d'Hb chez *C. carpio* est compris entre 34,1-114,3 g/L. (Suljevic et al. 2016) ont montré que la concentration en hémoglobine chez *C. carpio* (56,80-87,50 g/L) était significativement plus faible que celle de *Carassius carassius* Hb (60,42-97,66 g/L). La concentration d'hémoglobine dans le sang des juvéniles de *Solea senegalensis* élevés dans des conditions d'aquaculture intensive était de 26-63 g/l. conditions d'aquaculture intensive était de 26-63 g/L (Peres et al., 2015).

- **Globules rouges (GR) :**

Dans la présente étude, une augmentation progressive de la numération des GR, de l'Hb est enregistrée après le second traitement par l'ATB₂ coïncidé avec une augmentation progressive de la numération des GB, des lymphocytes. Les variations des Globules rouges dans le sang des bio-essais traitées par l'ATB₁ sont enregistrées chez les témoins et l'Aq₃(NOEL) respectivement [(1,4 ± 0,028 (×10⁶) μ/l) ; (1,94 ± 0,026 (×10⁶) μ/l) , en outre les maximas des Globules rouges dans le sang des bio-essais traitées par l'ATB₂ sont enregistrées chez les individus de l'Aq₅ [(3 ± 1,02) (×10⁶) μ/l] .

Des résultats similaires ont été trouvés chez *Oreochromis* exposé aux antibiotiques (Sampaio et al., 2016) et chez la truite arc-en-ciel (Saglam et Yonar, 2009). Les altérations des GR indiquent la condition anémique d'un organisme. L'exposition d'*Oreochromis ssp* à la sulfamérazine a provoqué une diminution des paramètres hématologiques tels que l'Hb et GR, ce qui indique l'état anémique des poissons dû à l'inhibition de l'érythropoïèse chez les poissons (Saglam et Yonar, 2009). Une diminution du nombre d'érythrocytes exposés à l'oxytétracycline chez la carpe indique l'effet immunosuppresseur de l'antibiotique (Rijkers et al., 1980). De plus, les métabolites réactifs des sulfamides peuvent affecter directement la fonction des éléments cellulaires du système immunitaire (Leeder et al., 1991 ; Kaya et al., 1997).

Selon Fange (1994), les érythrocytes (hématies) sont les cellules sanguines les plus abondantes chez les poissons. Ils constituent généralement 98-99% de toutes les cellules sanguines de ces animaux. La numération érythrocytaire (en anglais : RBC), un important paramètre de diagnostic, dépend de divers facteurs environnementaux, par exemple la température de l'eau (Paul et al., 2019). Elle peut également être modulée par de nombreux facteurs biologiques, tels que l'activité des poissons, l'âge, le sexe, l'état nutritionnel et le statut reproductif, et peut différer entre diverses populations d'une même espèce. Les GR varient généralement de $0,5-1,5 \times 10^6/\mu\text{L}$ chez les espèces moins actives à $3,0-4,2 \times 10^6/\mu\text{L}$ chez les plus actives (Witeska, 2013). Selon (Fazio et al. 2019), les GR déterminés automatiquement chez différentes espèces de poissons était compris entre $0,81$ et $3,73 \times 10^6/\mu\text{L}$. Les GR mesurés dans le sang de *C. carpio* s'est révélé être de $0,33$ à $2,95 \times 10^6/\mu\text{L}$ (Witeska et al., 2016). L'altération des indices érythrocytaires indique l'état anémique du poisson en condition de stress (Saleh et Marie, 2016). Selon Martins et al. (2008), de faibles taux de globules rouges et d'hématocrite indiquent que les globules rouges sont affectés ou détruits par une infection. La structure des GR est ellipsoïdale et comporte des cellules nucléées. Les GR sont très sensibles à de légers changements internes ou externes (Witeska, 2013). Par conséquent, la mesure des GR peut fournir l'état de santé d'un organisme. En raison de sa propriété lipophile, les sulfamides et l'érythromycines peuvent traverser les membranes des GR. ce qui pourrait entraîner une fragilité des membranes. De plus, l'échange gaz/ion au cours d'une demande énergétique élevée peut également affecter la membrane des GR (Cicha et coll, 2003). Dans la présente étude, les altérations du nombre de GR peuvent être dues à une réponse compensatoire à la toxicité des antibiotiques (Witeska et al., 2020).

- **Globules Blancs :**

L'altération du taux de GB est une indication de stress et de lésions tissulaires. Les variations des Globules blancs dans le sang des bio essais traitées par l'ATB1 sont représentées dans la figure 11. Les valeurs maximales et minimales sont variées entre $[(122,4 \pm 0,1) (\times 10^3) \mu/l]$ et de $[(0,6 \pm 0,1) (\times 10^3) \mu/l]$ respectivement observées dans l'Aq1 et l'Aq5 (témoin et CL90). L'AV1 prouve une diminution hautement significative des globules blancs (GB) ($P < 0,01$) chez les poissons traités par les fortes doses d'ATB₁ respectivement (Aq5 ; Aq4 ; Aq1 et Aq2).

Les variations des Globules blancs dans le sang des bio-essais traitées par l'ATB₂ sont représentées dans la figure 23. Les valeurs maximales et minimales sont variées entre $[(125 \pm 2,02) (\times 10^3) \mu/l]$ et de $[(7,6 \pm 0,8) (\times 10^3) \mu/l]$ respectivement observées dans l'Aq5 et l'Aq4 (LOEL et CL90). L'AV1 a révélé une augmentation hautement significative des globules blancs (GB) ($P < 0,01$) chez les poissons traités par les fortes doses d'ATB₂ à l'exception de l'Aq4. Toutes les valeurs étaient statistiquement significatives ($p < 0,05$). Le système immunitaire joue un rôle essentiel dans le maintien du processus physiologique et de l'immunité contre les agents pathogènes.

Le processus physiologique et la réponse immunitaire d'un organisme peuvent être mesurés par l'analyse du taux de globules blancs. L'entrée de nouveaux globules blancs dans la circulation sanguine, produits dans la rate en cas de stress, peut augmenter le taux de globules blancs. Produites dans la rate en cas de stress peuvent augmenter le nombre de globules blancs dans l'organisme. La production d'anticorps chez les poissons en situation de stress peut entraîner une augmentation du taux de GB (Joshi et al, 2002). Une diminution du taux de leucocytes dans le sang a également été rapportée chez les poissons exposés aux antibiotiques (Grondel et al., 1985 ; Lunden et Bylund, 2002). La leucocytose et la leucopénie sont des indications de la réponse des poissons à la toxicité des antibiotiques.

- **Les plaquettes « PLT » :**

Les valeurs maximales des plaquettes dans le sang des bio essais traités par l'ATB1 sont enregistrées chez l'Aq3 (NOEL) et les témoins respectivement $[(240 \pm 1) ; (120 \pm 0,73) (\times 10^3 \mu/l)]$, en revanche des minimas des « PLT » sont enregistrées chez les tilapias traités dans l'Aq5 $(0,5 \pm 0,76) (\times 10^3 \mu/l)$ par les différentes doses de l'ATB₁. L'AV1 une diminution hautement significative plaquettes (PLT) ($P < 0,01$) notamment les poissons traités par les fortes doses d'ATB₁ notamment

(l'Aq₅). En revanche, l'AV1 des plaquettes de sang des bio essaies traité par l'ATB2 montre une élévation significative du nombre des plaquettes chez les bio-essaies de l'Aq₄ [(408 ±4,72) (×10³) μ/l]. Une proximité de valeur est observée chez les autres individus y compris le témoin.

La diminution progressive du nombre de PLT indiquant l'apparition d'une thrombocytopénie ; un type de trouble dans lequel il y a un nombre inférieur de PLT. **La thrombocytopénie** d'origine médicamenteuse survient lorsque certains médicaments annulent les PLT ou inhibent la capacité de l'organisme à en fabriquer un nombre suffisant. Certains médicaments entraînent la production d'anticorps dans l'organisme, qui détruisent les PLT. Ce processus est connu sous le nom de thrombocytopénie immunitaire d'origine médicamenteuse (Van den Bemt *et al.* 2004).

Il a été prouvé que les sulfamides sont à l'origine de la thrombocytopénie (Warkentin 2018). De nombreux mécanismes infectieux ont été corrélés à la thrombocytopénie d'origine médicamenteuse, parmi lesquels les sulfamides s'avèrent être associé aux anticorps dépendants des médicaments (DD Abs) de type quinine. Dans cette classe, les DD Abs se fixent rigidement aux PLT en présence d'antibiotiques et ciblent spécifiquement deux gènes : GPIIb/IIIa ou GPIb/IX, entraînant une diminution drastique du nombre de PLT dans le sang de l'organisme cible (Bakchoul & Marini 2018).

- **Glycémie :**

Une élévation du taux de glucose dans le sang indique un mauvais métabolisme des glucides (Poopal *et al.*, 2017) et est également utilisée comme un indicateur sensible du stress environnemental chez les poissons. Les altérations de l'hématologie, biochimiques et antioxydants chez les poissons peuvent révéler l'anémie, l'existence de maladies et de troubles métaboliques dans des conditions environnementales. Maladie, et des troubles métaboliques dans des conditions environnementales, de maladies et de stress (IslasFlores *et al.*, 2013 ; Cui *et al.*, 2014 ; Poopal *et al.*, 2017). Les paramètres biochimiques tels que le glucose et les protéines sont les principaux fournisseurs d'énergie de l'organisme, et leurs niveaux indiquent l'état de santé du poisson et de l'environnement, les médicaments synthétiques tels que les fluoroquinolones, les sulfonamides, les ionophores, les pénicillines, les aminoglycosides, les arsenicaux, les macrolides et les tétracyclines sont des antibiotiques communément classés et largement utilisés pour les maladies vétérinaire.

- **Triglycéride et cholestérol :**

Les niveaux de triglycérides et de cholestérol ont montré une augmentation non significative ($p > 0,05$) tout au long de la période expérimentale par rapport au groupe témoin, ce qui pourrait être dû à la mobilisation des triglycérides sous stress chimique pour répondre à une demande accrue d'énergie afin de surmonter les conditions dommageables provoquées par le toxique/ et pour répondre à l'énergie requise pour soutenir une activité physique accrue, la bio-transformation et l'élimination du xénobiotique (Omitoyin, *et al* 2006). Le dysfonctionnement du foie et l'inhibition des enzymes qui convertissent le cholestérol en acide biliaire conduisent à l'hypercholestérolémie observée (Murray, 1991). La mesure des paramètres lipidiques est un outil important pour détecter les changements nutritionnels, physiologiques et pathologiques chez les poissons (Akinrotimi, 2012).

Les triglycérides (TGs) ont également montré des fluctuations biphasiques avec un niveau maximal à observé chez les biotes de l'Aq₂ ($2,5 \pm 0,77$ g/l) traités par l'ATB2. Alors qu'il a diminué après le traitement par l'ATB1. Les TG sont une source d'énergie très importante pendant le stress, et une augmentation du taux de TG peut être due à la mobilisation des lipides pour faire face à une demande énergétique accrue (Tan *et al.* 2018). La teneur élevée en TG dans le sang peut être due à leur transfert du site de synthèse pour une utilisation ultérieure par un processus d'oxydation ou d'instauration régulière de ces molécules. Les troubles hépatiques et la perturbation du métabolisme lipidique favorisent également une augmentation de leur taux (Gaber *et al.* 2013). La nature lipophile non polaire des sulfamides peut dégrader les membranes cellulaires contenant des lipides, ce qui entraîne des taux élevés de TG dans l'organisme des poissons. La diminution des TG à la fin de la période d'exposition peut être due à une faible consommation d'aliments ou à une absorption moindre en raison du mauvais fonctionnement de l'intestin et du foie et de l'initiation de la biogénèse membranaire (Van Meer *et al.* 2008).

3. Résultat de l'Analyse des résidus de l'érythromycine :

Les résidus de l'érythromycine sont quantifiés dans la chair des bio essaies pour les cinq concentrations à longueur d'onde variable réglé à 215 nm selon (Rattaya R. Taveechai *et al* 2007). Un volume de 3 ml de chaque échantillon a été mesuré en double pour obtenir l'absorbance moyenne de l'échantillon et de l'étalon de référence. Les concentrations de résidus de

l'érythromycine dans les échantillons ont été calculées à partir de l'équation linéaire obtenue d'une courbe d'étalonnage.

3.1 Détermination de la longueur d'onde maximale :

Le spectrophotomètre UV-Visible est universel et utilise dans plusieurs études. C'est un moyen disponible dans la majorité des laboratoires et, intègre dans la plupart des appareils d'analyse (ex : HPLC). Selon les résultats obtenus et les informations données par la bibliographie, nous avons fixé les valeurs suivantes : 215 nm pour l'érythromycine, 270 nm pour le sulfadiazine, 285 nm pour le sulfathiazole et 268 nm pour le sulfadimidine (Sulfathiazole), car ces antibiotiques présentent des absorbances importantes en UV chaque longueur d'onde, avec des réponses optimums du détecteur.

3.2 Vérification de la Linéarité :

Afin d'entamer la méthode d'analyse proprement dite des paramètres de détection et de quantification de l'érythromycine, plusieurs d'essais ont été effectués en utilisant le standard. Dans les conditions décrites, la courbe d'étalonnage pour l'érythromycine a été construite en traçant l'absorbance de l'érythromycine en fonction de la concentration de ce macrolide.

3.3 Courbe d'étalonnage :

La linéarité de la méthode est vérifiée sur 5 points de gamme d'étalonnage dans le domaine de concentrations de 0.3 à 300 µg/L en érythromycine. Les résultats ont été reportés dans **tableau (23) et figure (27)**.

Tableau 23 : Linéarité : changement de variables de l'érythromycine en milieu aqueux. :

C (µg/L)	300	60	10	1.7	0.3
Abs	3,264	0,88	0,316	0,339	0,25

La conformité de la loi de Béer doit être évidente dans la gamme des concentrations étudiées.

L'équation du modèle linéaire postule est : $y = 0.0100x + 0.2659$

Ou,

Y : sont les valeurs de l'absorbance.

X : les valeurs de concentration en µg/ L.

Le coefficient de corrélation (r^2) est égal à **0,9991**. Cette valeur de coefficient de corrélation est supérieure à 0,9990, indiquant la bonne linéarité de la méthode dans la gamme de concentrations étudiées.

D'après le **tableau 23** et la **figure 27**, la loi de la B er était respectée dans la gamme des concentrations de 0,3 à 300 $\mu\text{g/L}$. Une cor elation linéaire entre l'absorbance d'érythromycine et la concentration de ce macrolide a été trouvée, en utilisant la longueur d'onde maximale.

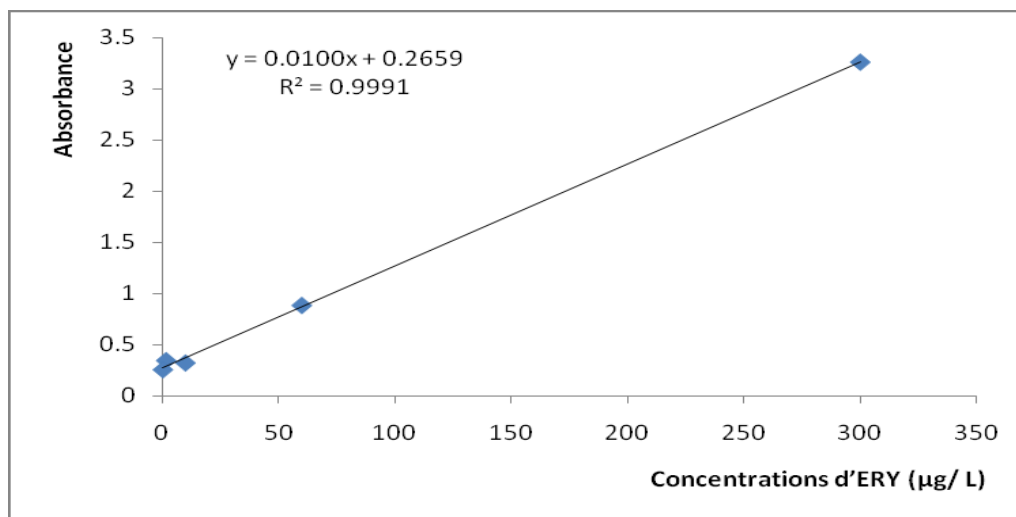


Figure 27: Courbes d'étalonnage du détecteur en milieu aqueux ( rythromycine).

3.4 Applications et validation à l'analyse de l'érythromycine dans la chair des bio-essaies :

La validation du protocole par l'expérience de récupération a été déterminée en utilisant le pourcentage de récupération (Rendement, ρ). Trois répliques de poissons exempts d'érythromycine dop es avec des concentrations différentes d'érythromycine standard ont été soumises aux procédures d'extraction et mesur es par notre méthode. Comme nous pouvons voir dans le **tableau (24) et la figure (28)** les résultats obtenus par la méthode proposée sont concordants avec les quantités examinées, et sont également dans les limites autorisées par le l'**AFSSA** de la qualité des produits alimentaires d'origine animale.

Des taux des rendements dans l'intervalle de **09   140 %** ont été obtenus, indiquant que la méthode mise au point est convenable pour la détermination de l'érythromycine dans les échantillons de poisson sans aucune interférence matricielle.

Tableau 24 : Résultats expérimentaux de l'étude du dosage de l'érythromycine dans la chair des Bio-essais traités par l'ATB₁ :

C _{Théo} (µg/L)	300	60	10	1,7	0,3	0,2
Abs	-	0,204	-	-	0,096	0,084
C _{Exp} (µg/L)	-	0,041	-	-	0,0001152	1,083×10 ⁻⁴
% m/m	-	69%	-	-	38,4%	54,19%
Abs	0,017	-	0,373	0,458	-	-
C _{Exp} (µg/L)	29,651	-	11,803	2,297	-	-
% m/m	9,88%	-	118,037%	135,103%	-	-

Cette méthode a de nombreux avantages par rapport aux autres méthodes analytiques en termes de simplicité, sensibilité, rapidité, coût des instruments, précision et sélectivité. Au vu de ces avantages, cette méthode peut être utilisée pour le contrôle de la qualité en routine de ce médicament dans les échantillons de poissons.

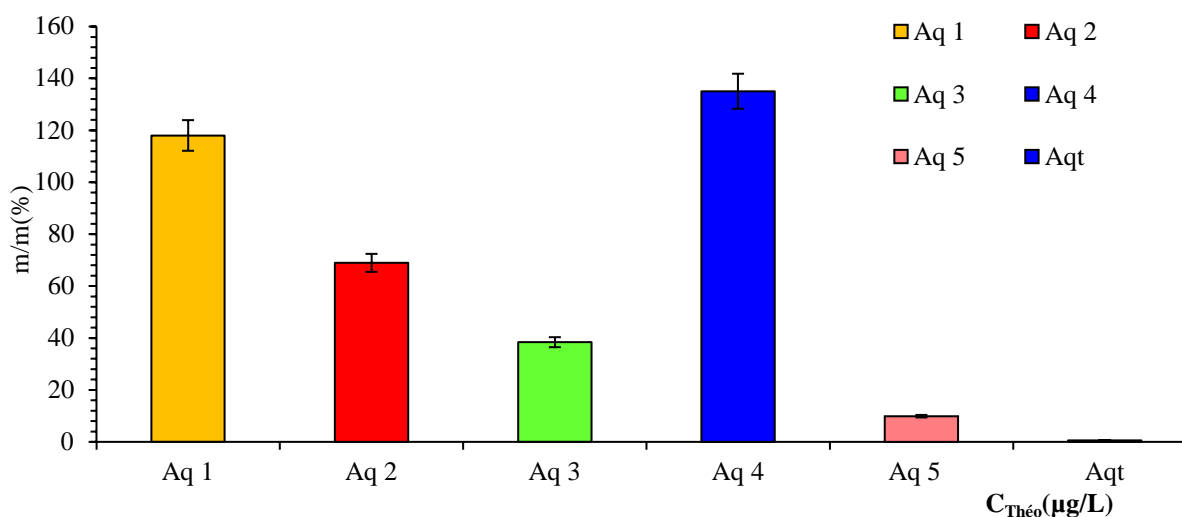


Figure 28 : Représentation graphique de résultats de l'étude du dosage de l'érythromycine dans la chair des bio-essais.

3.5 Analyse par UV et quantification des sulfamides dans la chair des bio-essais :

Après l'emplacement de 3 ml de chaque échantillon dans le système UV. Surveiller la réponse d'absorbance en UV avec une longueur d'onde spécifique de chaque sous- sulfamide. Au

cours des opérations de routine, des aliquotes de solution étalon de travail (**0,3 g/g**) sont ajoutées et analysées avec les échantillons. Les sulfamides sont quantifiés dans les tissus des bio-essais par une méthode de standard ajouté.

3.6 Application au dosage des sulfamides dans les échantillons de poissons :

Après la préparation des solutions d'analyse et la courbe d'étalonnage est établie, nous sommes actuellement entraine d'effectue le dosage des sulfamides dans les échantillons de poissons. Les rendements de dosage ont été calculés en basant sur les résultats d'essais effectués en utilisant le standard. (**Fig. 29**).

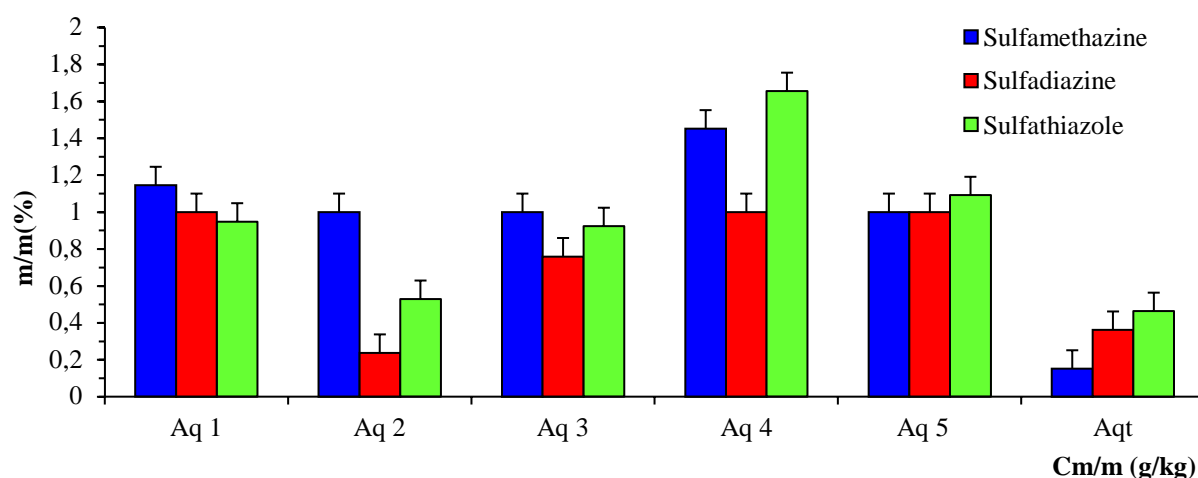


Figure 29 : Résultats expérimentaux de l'étude du dosage des sulfamides dans la chair des bio-essais.

D'après ces résultats, les rendements sont compris entre 15 et 170 % pour les trois sulfamides, et entre 65 et 110 % pour l'érythromycine. Nous pouvons conclure que, la méthode présente des bons rendements et peut être utilisée comme outil pour le contrôle de qualité des antibiotiques dans la chair des bio-essais *Oreochromis ssp.*(**Tab.25**).

Tableau 25: Résultats globales de résidus des antibiotiques (ery et sulfamide) dans la chair des bios essais Tilapias.

	Concentration Erythromycine (µg/L)	% Massique Sulfamide
Aq 1	6,982	69,82%
Aq 2	50,369	89,94%
Aq 3	1,595	93,82%
Aq 4	327,934	109,31%
Aq 5	0,293	97,66%
Aqt	255,803	85,26%

4 Discussion :

L'analyse des résidus de médicaments vétérinaires dans les produits carnés et les fruits de mer est un élément important des programmes de sécurité alimentaire des organismes de réglementation nationaux, afin de garantir que les consommateurs ne sont pas exposés à des substances potentiellement dangereuses (Lohne et al. 2012). (Toussaint et al. 2005) ont établi une méthode de détermination des résidus d'antibiotiques quinolones dans viandes par chromatographie liquide avec spectrométrie de masse en tandem. (Hammel et al. 2008) ont développé une approche de dépistage multiple pour la surveillance des contaminants chimiques potentiels dans le miel par chromatographie liquide- ionisation par électro spray et spectrométrie de masse en tandem.

(Draisci et al. 2001) ont créé un nouveau test immuno-enzymatique électrochimique (ELISA) sensible pour la détection de deux macrolides (érythromycine et tylosine) dans le muscle bovin (Okerman et al. 2003) ont analysé les résidus d'antibiotiques dans les tissus rénaux de bovins et autres au moyen d'un dosage immunologique par fluorescence en phase solide. Cependant, les produits pharmaceutiques identifiés comme de nouveaux émergents sont utilisés en grandes quantités en médecine humaine et vétérinaire pour le traitement de différentes maladies. Parmi les produits pharmaceutiques, les antibiotiques dans l'environnement aquatique représentent un grand défi car l'exposition prolongée à de faibles doses peut favoriser la résistance aux antibiotiques (Hernandez et al. 2006). L'utilisation d'antibiotiques et de médicaments dans les fermes piscicoles a suscité des recherches sur l'élimination de ces résidus dans les muscles des poissons (McCracken, 1976). (Won et al. 2011) ont analysé les produits marins nationaux et importés en Corée à la recherche de 14 antimicrobiens sulfonamides par UPLC-MS / MS et ont découvert que les échantillons comprennent des poissons plats, jacoever, daurade, anguille commune, crabe bleu, crevette et ormeau. (Swapna et al. 2012) ont détecté les résidus d'antibiotiques dans les crevettes d'élevage des états du sud de l'Inde. Les résultats ont montré que la streptomycine, la tétracycline et les β - lactamines n'ont pu être détectées dans aucun des échantillons et que sulfonamides et l'érythromycine ont été détectés dans les crevettes d'élevage à un niveau <100 ppb..

(Lin et al. 2005) ont établi la détermination des résidus de médicaments vétérinaires sulfonamides dans l'anguille et l'anguille grillée, y compris la sulfamérazine, la sulfadimidine, la sulfaméthoxy-pyridazine, le sulfamet-hoxazole, la sulfamon-ométhoxine, la sulfadimé-thoxine, la sulfaquinoxaline par chromatographie liquide à haute performance [13].L'échantillon a été extrait

avec du dichlorométhane et les récupérations étaient de l'ordre de 80% ~ 93%. La LOD était de 0,02 mg/kg. Et la LQ était de 0,05 mg/kg. (Ji et al. 2005) ont établi une méthode pour déterminer les résidus de tétracycline, chlortétracycline, oxytétracycline, doxycycline, déméclo-cycline, méthacycline et minocycline dans les produits aquatiques. Les échantillons ont été extraits par une solution tampon EDTA-MCI vaine et ont été purifiés par une colonne d'extraction en phase solide HLB. La colonne à phase inversée Inertsil C8-3 a été utilisée. La phase mobile était méthanol-acétonitrile + acide trifluoroacétique 0,01 mol/L. La limite de détection de cette méthode était de 1,5 ~ 5,0 µg/kg. Les taux de récupération étaient de 75,2 % ~ 100,6 % et les écarts types relatifs étaient de 2,19 % ~ 10,56 %.

Lors de notre plan d'expériences préliminaires (**Extraction et déprotéinisation**), plusieurs systèmes de solvants ont été testés pour l'extraction et la déprotéinisation. Le méthanol a été testé comme solvant d'extraction, mais il a co-extrait des quantités considérables de lipides. (USDA-FSIS, 1987) utilisant l'eau comme solvant d'extraction a également été testée. Cependant, une certaine masse gélatineuse s'est formée après que le tissu musculaire du poisson-chat ait été homogénéisé avec de l'eau. Le liquide n'a pas pu être séparé du gel, surtout lorsque des échantillons de filets de poisson-chat très frais ont été utilisés. Les mélanges homogénéisés avec l'acide ortho phosphorique (0.2%) et le méthanol étaient difficiles à séparer complètement par centrifugation, et les récupérations d'antibiotique dopé étaient faibles. Ces mélanges homogénéisés ont donné des récupérations plus élevées que les solvants. Le mélange ortho phosphorique (0.2%) - le méthanol (6:4, v/v) a été le plus efficace pour faciliter la séparation entre les phases liquide et solide après la centrifugation, probablement parce que le mélange est proche des points isoélectriques des protéines de poisson. Il a donc été sélectionné pour des expériences ultérieures. Les échantillons ont été extraits deux fois pour une meilleure récupération. La solution d'orthophosphorique à 0.2% utilisée dans la déprotéinisation a facilité l'extraction de la phase solide.

Les antibiotiques sont le plus souvent produits sous la forme de mélanges complexes décomposant apparentés (Omura, 1997). Il est difficile de contrôler tous les composants des ATBs dans les tissus animaux. Lorsque le résiduel est suffisamment élevé pour détecter chaque composant, il est préférable de surveiller chaque composant. Cependant, le niveau résiduel du médicament dans les tissus animaux est en fait trop faible. Par conséquent, on pense qu'il est une mesure pratique de considérer le composant principal du médicament comme indicateur pour

évaluer le niveau résiduel (Won et al. 2011). Les échantillons de tissus contiennent de nombreux composés divers, en plus des traces possibles des analytes cibles. Il est donc très important d'extraire autant que possible les analytes déterminés et d'exclure les substances interférentes présentes dans les matrices biologiques. Différentes méthodes d'extraction et de nettoyage ont été développées (Won et al. 2011), (Yang et al. 2015 ; Luo et al. 2005).

Érythromycine et sulfamide ont une absorption UV relativement forte (Won et al. 2011), de sorte que la détection UV est suffisamment sensible pour la détermination de ces médicaments. Dans l'analyse UV-visible des produits chimiques, il est extrêmement important de choisir une longueur d'onde de détection appropriée sans aucune interférence des contaminants. La longueur d'onde d'absorption maximale du composé à analyser est généralement utilisée comme longueur d'onde de détection (Won et al. 2011). (Lin et al. 2005) ont établi la détermination des résidus de médicaments vétérinaires sulfonamides dans l'anguille et l'anguille grillée, y compris la sulfamérazine, la sulfadimidine, la sulfaméthoxy-pyridazine, le sulfamet-hoxazole, la sulfamonométhoxine, la sulfadiméthoxine, la sulfaquinoxaline par chromatographie liquide à haute performance [13]. L'échantillon a été extrait avec du dichlorométhane et les récupérations étaient de l'ordre de 80% ~ 93%. La LOD était de 0,02 mg/kg. Et la LQ était de 0,05 mg/kg.

(Ji et al. 2005) ont établi une méthode pour déterminer les résidus de tétracycline, chlortétracycline, oxytétracycline, doxycycline, déméclo-cycline, méthacycline et minocycline dans les produits aquatiques.

Les échantillons ont été extraits par une solution tampon EDTA-MCI vaine et ont été purifiés par une colonne d'extraction en phase solide HLB. La colonne à phase inversée Inertiel C8-3 a été utilisée. La phase mobile était méthanol-acétonitrile + acide trifluoroacétique 0,01 mol/L. La limite de détection de cette méthode était de 1,5 ~ 5,0 µg/kg. Les taux de récupération étaient de 75,2 % ~ 100,6 % et les écarts types relatifs étaient de 2,19 % ~ 10,56 %.

Cette étude vise à évaluer l'effet des antibiotiques macrolides (érythromycine (ery) et sulfamides(SMTZ)) chez une espèce commerciale, le Tilapia hybride « *Oreochromis ssp* » poisson d'eau douce, dans une démarche de l'aquari-expérimentation au laboratoire (Toxicité aiguë de 28 jours).

Au terme de ce travail, nous pouvons conclure Le succès thérapeutique dépend de la manière dont le médicament est employé. Il faut respecter, les doses, la précocité du traitement, la fréquence. Les Abs que nous avons choisis sont polyvalents, ils sont mentionnés sans toxicité pour l'homme et le poisson.

En bref, L'exposition à court terme du poisson Tilapia hybride aux ATBs a affecté les biomarqueurs hémato-biochimique et lipidiques. Le profil hématologique (HB, GR,GB, lymphocytes, Plaquettes) des bio essais étudié lors de cette étude peut indiquer son statut physiologique et sa santé, de sorte que l'hématologie combinée à d'autres méthodes de diagnostic de routine pourrait être utilisée pour identifier et évaluer les conditions qui causent le stress et/ou les maladies qui affectent les performances de production.

Le taux d'Hb peut révéler la teneur en oxygène du sang. Lors d'un stress interne ou externe, une anoxie et une érythrocytose sont signalées chez les bio essais traités par l'érythromycine(l'Aq5 ; Aq4 ; Aq1 et l'Aq2) et ceux de l'(Aq1 et Aq5) traités par les sulfamides. En revanche, les individus de l'Aq3 développent un signe d'anémie microcytaire hypochrome suite à la diminution de la concentration d'hémoglobine. Dans la présente étude, les altérations du nombre des **GR** peuvent être dues à une réponse compensatoire à la toxicité des antibiotiques, c'est le cas des bio-essais de l'Aq5 qui représente la plus forte dose (CL90) de l'erytromycine'ATB1'. Ce qui confirme le déclenchement du système humanitaire par l'analyse du taux de globules blancs « **GB** » **ayant un maxima aux biote de l'Aq5.** Tandis- que, une **leucocytose associée à une leucopénie** sont des indications de la réponse des poissons à la toxicité des antibiotiques observés chez les individus de l'Aq4(LOEL).

Les bio-essais traitées lors de notre travail présentent la pathologie dite « **La thrombocytopénie** » d'origine médicamenteuse survient à l'exposition aux macrolides en annulant les **PLT** ou inhibent la capacité de l'organisme à en fabriquer un nombre suffisant. Ici, L'érythromycine et les sulfamides ont entraîné la production d'anticorps dans l'organisme, qui détruisent les **PLT**, c'est une pathologie observée notamment aux bio-essaies de **l'Aq5.**

L'analyse des biomarqueurs Biochimiques « Glycémie » montre que les sujets d'*Oreochromis ssp* exposés aux ATBs (D3, D4et D5) présente un taux glycémie réduit moins important de celui des témoins quel que soit le poids des Tilapias.

Lors de cette étude une fluctuation hautement significative de **la glycémie** chez les traités par rapport aux témoins « Aqt » qui présentent un taux de glycémie élevé. Les tests de comparaison multiple (Newmean-Keuls (SNK), $p \leq 0,05$), montrent l'existence de deux (02) groupes homogène en fonction de la glycémie. Le test de *Dunnnett* décrit une différence significative entre l'Aqt et les différentes concentrations. L'ensemble des bioéssais traités (Aq1, Aq2, Aq3, Aq4 et Aq5) présentent une **pathologie de stress et un épuisement énergétique**, le glucose l'un des s principaux fournisseurs d'énergie de l'organisme, et son niveau indique l'état de santé du poisson et de l'environnement.

Cette étude a permis de déterminer la qualité nutritionnelle du Tilapia Hybride (*Oreochromis ssp*) exposés aux AB expérimentaux. La méthode proposée est basée sur l'analyse des compositions biochimiques de la chair des poissons aux différentes dose en comparant avec le témoin. La caractérisation d'*Oreochromis ssp* dès son arrivé au laboratoire (post-mortem) a été initiée par certaines mesures morphologiques à savoir la taille, la largeur, l'épaisseur et le poids des spécimens et quelques **paramètres biochimiques** (et aussi **technologique**) comme le **pH**, , la teneur en myoglobines, le taux de cendres... Ont montrés des fluctuations en fonction de la dose d'antibiotiques, il reste à prédire le délais dont le quel le produit est consommable ou non

La variation génétique peut être due à des facteurs interspécifiques entre espèces et à des facteurs intra spécifiques au sein des espèces. Par ailleurs, les différences entre les valeurs hématologiques sont affectées par une multitude de facteurs intrinsèques et extrinsèques. Les changements dans ces paramètres dépendent de plusieurs facteurs tels que l'espèce, la température, l'âge, le stress, la photopériode, l'état nutritionnel, le cycle de la maturité sexuelle, l'état de santé , la qualité de l'eau, les altérations de l'oxygène dissous, le sexe, l'environnement lotique ou lentique,, le stress lié à la manipulation et au transport , l'inflammation du poisson., la taille, l'alimentation et la densité de peuplement et infection microbienne et parasitisme .

L'interprétation correcte de ces paramètres nécessite des valeurs de référence appropriées pour chaque espèce afin de minimiser l'effet des différences entre les espèces. Un grand nombre d'espèces de poissons (environ 23 500 espèces) ont reflété les principales différences de valeur hématologique. Les plages de référence normales des paramètres hématologiques sont considérées comme importantes pour l'évaluation et le suivi de l'état de santé des poissons. Ces dernières années, davantage de plages de référence normales des paramètres hématologiques des poissons d'élevage et des poissons sauvages ont été établies.

L'évaluation de l'analyse hématologique améliorera la pisciculture en facilitant la détection précoce des situations de stress et/ou des maladies qui pourraient affecter les performances de production. Approximativement 80% des antibiotiques importants en médecine humaine sont consommés dans le secteur animal comme outil thérapeutique, mais en grande partie, pour favoriser la croissance chez les animaux sains. L'utilisation excessive et inadaptée des antibiotiques chez les animaux contribue à amplifier la menace de la résistance aux antibiotiques. Certains types de bactéries responsables d'infections graves chez l'homme sont déjà devenus résistants à la plupart des traitements disponibles et très peu d'options thérapeutiques prometteuses sont en cours de développement pour prendre le relais.

À travers cette étude expérimentale, nous avons mis en évidence la présence de résidus érythromycine et sulfamide dans la chair de tilapia ssp. Infirmant ainsi une utilisation généralisée des antibiotiques pour les ppa (produits de pêche et d'aquaculture).

L'analyse spectrophotométrique des échantillons a révélé que des niveaux significativement élevés de résidus de l'érythromycine détectés au niveau des cinq doses administrées (par balnéation), suivi par les échantillons traités par les sulfamides (Voie alimentaire).

L'utilisation inadaptée, incontrôlée et excessive des antibiotiques chez les animaux de production contribue à amplifier la menace de la résistance aux antibiotiques. C'est le cas de plusieurs bactéries responsables d'infections grave chez l'homme et qui sont devenu résistants à la plupart des traitements disponibles.

Les échantillons confirmés positifs par UV-visible ont été soumis à une congélation. Nous suggérons dans les futurs travaux de tester l'impact de (l'ébullition et la friture) sur la concentration moyenne des résidus d'antibiotiques. Pour conclure cette étude on peut dire qu'il devient impératif et essentiel de réaliser des bases de données scientifiquement exploitables afin d'élaborer des réglementations et des prises de décisions visant à protéger la santé du consommateur.

Ce qui nous amène à formuler certaines recommandations afin d'éviter au maximum la présence des résidus d'antibiotiques et les dangers qu'ils présentent à savoir risque allergique, risque embryotoxique, effet mutagène ou cancérigène et l'acquisition d'antibiorésistance par les bactéries rendant difficile l'antibiothérapie humaine :

☞ En plus de la formation au métier d'éleveurs en aquaculture, il faudrait suivre des formations qui pourraient contribuer à la sensibilisation des éleveurs sur le danger des antibiotiques.

☞ Les vétérinaires, les biologistes (écotoxicologie Animale) prescripteurs de médicaments, sont autant responsables de cette situation.

☞ il serait bénéfique de penser à l'utilisation des produits « BIO » afin de remédier à ce problème.

Références bibliographiques :

Abdel-Hameid, NAH (2007). Rôle protecteur du dimethyl diphenyl bicarboxylate (DDB) contre l'hépatotoxicité induite par l'érythromycine chez les rats mâles. *Toxicologie in vitro* , 21 (4), 618-625.

Abeles, SR, Jones, MB, Santiago-Rodriguez, TM, Ly, M., Klitgord, N., Yooseph, S., Akinrotimi, O.A., Agokei, E.O. and Aranyo, A.A.(2012) Changes in blood parameters of *Tilapia guineensis* exposed to different salinity levels. *J. Environ. Eng. Technol.*,1: 4-12.

Anonyme .1994 .intervention du représentant de l'OMS(organisation mondiale de la santé Antibiotics in typical marine aquaculture farms surrounding Hailing Island, South China: Occurrence, bioaccumulation and human dietary exposure. *Mar Pollut Bull.* 90: 81–187.

Bai, L., Cao, C., Wang, C., Wang, C., Zhang, H., Jiang, H., 2017. Roles of phytoplankton and macrophyte-derived dissolved organic matter in sulfamethazine adsorption on goethite. *Environ. Pollut.* 230, 87-95.

Bakchoul, T. & Marini, I. 2018 Drug-associated thrombocytopenia. *Hematology* 2018 (1), 576–583.

Baquero F, Martinez JL, Canton R. 2008 bovin : enquête en Anjou, page 9-90 .

Brausch, J., Connors, K., Brooks, B., Rand, G., 2012. Human pharmaceuticals in the aquatic environment: a review of recent toxicological studies and considerations for toxicity testing. In: Whitacre DM (Ed) *Reviews of environmental contamination and toxicology*, vol. *Reviews of environmental contamination and toxicology*. Springer, New York, pp 1–99.

Cars O, Diazhogberg L, Murray M, Nordlerg O, Sivaraman S, Tomoson G. 2008. Chatellet MC. 2007. Modalités d'utilisation des antibiotiques en élevage *Chemistry* ; (2020) 14:32 P

Chen Qinghua. Risks and control of antibiotic use in aquaculture. Fisheries Science and Technology Information. Vol. 36 (2009) No. 2, p. 67-72.

Chen, H., Liu, S., Xu, X.R., Liu, S.S., Zhou, G.J., Sun, K.F., Zhao, J.L., Ying, G.G., 2015.

Chu, L., Wang, J., Liu, Y., 2015. Degradation of sulfamethazine in sewage sludge mixture by gamma irradiation. Rad. Phys. Chem. 108, 102-105.

Cicha, I., Suzuki, Y., Tateishi, N., Maeda, N., 2003. Changes of RBC aggregation in oxygenation-deoxygenation: pH dependency and cell morphology. Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 284, H2335-H2342. DOI: 10.1152/ajpheart.01030.2002.

Codex Alimentarius, “Maximum residue limits (MRLs) and risk management recommendations (RMRs) for residues of veterinary drugs in foods. CAC/MRL 2–2017. Updated at the 40th session of the Codex Alimentarius Commission,”2017,

<http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codextexts/maximum-residue-limits/en/>.

Cui, Y.T., Liu, B., Xie, J., Xu, P., Habte-Tsion, H.M., Zhang, Y.Y., 2014. The effect of emodin on cytotoxicity, apoptosis and antioxidant capacity in the hepatic cells of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). Fish Shellfish Immunol. 38, 74-79. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2014.02.018>.

Delgado, D.R., Martínez, F., 2014. Preferential solvation of sulfadiazine, sulfamerazine and sulfamethazine in ethanol + water solvent mixtures according to the IKBI method. J. Mol. Liquids 193, 152-159.

Draisci R. , Delli Q.F. , Achene L.. A new electrochemical enzyme-linked immunosorbent assay for the screening of macrolide antibiotic residues in bovine meat. Analyst. Vol. 162 (2001)No. 11, p. 1942-1946.

Duval J, Soussy CJ. 1990. Antibiothérapie (4^{ème} édition), .Effects of stocking density on growth, body composition, digestive enzyme levels and blood biochemical parameters of *Anguilla marmorata* in a recirculating aquaculture system.

EFSA. 2007. The community summary report trends and sources of zoonoses, zoonotic agents antimicrobial resistance and food borne outbreaks in the European Union in 2005 Rapport may 2007 the EFSA Journal 94,3-288.

El-Ghenemy, A., Rodríguez, R.M., Arias, C., Centellas, F., Garrido, J.A., Cabot, Elhadidy, M., Miller, W.G., Arguello, H., Álvarez-Ordóñez, A., Duarte, A., Dierick, K. et Botteldoorn, N. (2018). Base génétique et structure de la population clonale de la résistance aux antibiotiques chez *Campylobacter jejuni* isolé à partir de carcasses de poulets de chair en Belgique. *Frontières en microbiologie*, 9, 1014.

Enriquez B. 2002. La pharmacovigilance vétérinaire : objectifs, mission, mise en œuvre et résultats, page 35-40.

EU, “Council regulation (EU) no. 37/2010 of 22 December 2009, on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin,” *Official Journal of the European Union*, L 15/1,2010,https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-5/reg_2010_37/reg_2010_37_en.pdf.

Fabre JM, Petit C, Bosquet G. 2006. Comprendre et prévenir les risques de résidus d’antibiotiques dans les denrées d’origine animale, édition 2006, page 4.

Faggio, C., Casella, S., Arfuso, F., Marafioti, S., Piccione, G., Fazio, F., 2013. Effect of storage time on haematological parameters in mullet, *Mugil cephalus*. *Cell Biochemistry and Function*. 31, 412–416.

Fange, R., 1994. Blood cells, haemopoiesis and lymphomyeloid tissues in fish. *Fish Shellfish Immunol*. 4 (6), 405–411.

farmed salmon (*Oncorhynchus kisutch*) with previous storage in slurry ice (-1.5C°). *LWT*

Fazio, F., 2019. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: a review. *Aquaculture* 500, 237–242.

Field, J.B., Elvehjem, C.A., Juday, C. 1943. A study of the blood constituents of carp and trout. *J. Biol. Chem.* 148, 261–269 for the detection of antimicrobial residues in a range of aquaculture fish. *BMC*.

Forget, B.G., Franklin Bunn, H., 2013. Classification of the disorders of hemoglobin. Cold Spring Harb. Perspect. Med. 3, a011684.

Gaber, H. S., El-Kasheif, M. A., Ibrahim, S. A. & Authman, M. 2013, Effect of water pollution in El-Rahawy drainage canal on hematology and organs of freshwater fish. World Applied Sciences Journal 21, 329–341.

Gaffney, V.D.J., Cardoso, V.V., Benoliel, M.J., Almeida, C.M.M., 2016. Chlorination and oxidation of sulfonamides by free chlorine: Identification and behaviour of reaction products by UPLC-MS/MS. J. Environ. Manag. 166, 466-477.

García-Galán, MJ, Díaz-Cruz, MS, & Barceló, D. (2009). Combiner l'analyse chimique et l'écotoxicité pour déterminer l'exposition environnementale et évaluer les risques liés aux sulfamides. *Trac Trends in Analytical Chemistry* , 28 (6), 804-819.

Gaw, S., Thomas, K.V., Hutchinson, T.H., 2014 Sources, impacts and trends of pharmaceuticals in the marine and coastal environment. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 369

Ghosh, S., Bag, P.P., Malla Reddy, C., 2011. Co-Crystals of sulfamethazine with some carboxylic acids and amides: co-former assisted tautomerism in an active pharmaceutical ingredient and hydrogen bond competition. Cryst. Growth Des. 11, 3489-3503.

Gogny M, Puyt JD, Pellerin JL. 2001. Classification des principes actifs. L'arsenal thérapeutique vétérinaire, page 165-168.

Grenni, P., Ancône, V. et Caracciolo, AB (2018). Effets écologiques des antibiotiques sur les écosystèmes naturels : une revue. *Journal microchimique* , 136 , 25-39.

Grondel, J.L., Gloudemans, A.G.M., van Muiswinkel, W.B., 1985. The influence of antibiotics on the immune system. II. Modulation of fish leukocyte responses in culture. Veterinary Immunol. Immunopathol. 9, 251-260.

Gulkowska, A., He, Y., So, M.K., Yeung, L.W., Leung , H.W., Giesy, J.P., Lam, P.K., Martin, M., Richardson, 726 B.J., 2007. The occurrence of selected antibiotics in Hong Kong coastal waters. Mar Pollut Bull. 54(8), 1287-727.

Hadir M. Maher, Rasha M. Youssef, Riad H. Khalil, Sabry M. El-Bahr, Simultaneous multiresidue determination of metronidazole and spiramycin in fish muscle using high performance liquid chromatography with uv detection, *Journal of Chromatography B*, 876 (2008) 175–181.

Hammel Y.A. , Mohamed R. , Gremaud E. . Multi-screening approach to monitor and quantify 42 antibiotic residues in honey by liquid chromatography-tandem mass spectrometry.

Hernandez F. , Sancho J.V. , Ibanez M. . Antibiotic residue determination in environmental waters by LC-MS. *Trend in Analytical Chemistry*. Vol. 26 (2007) No. 6, p. 466-484.

Hesser, E.F., 1960. Methods of routine fish hematology. *Prog. Fish Cult.* 22, 164–171

Hirsh R, Ternes T, Haberer K, Kratz KL. 1999. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment, page 109-118.

Hrubec, T.C., Cardinale, J.L., Smith, S.A., 2000. Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured tilapia (*Oreochromis Hybrid*). *Vet. Clin. Pathol.* 29, 7–12

Isidori, M., Lavorgna, M., Nardelli, A., Pascarella, L. & Parrella, A. 2018 Toxic and genotoxic evaluation of six antibiotics on non-target organisms. *Science of the Total Environment* 346 (1–3), 87–98.

Islas-Flores, H., Gomez-Olivan, L.M., Galar-Martinez, M., Colín-Cruz, A., Neri-Cruz, N., Garcia-Medina, S., 2013. Diclofenac-induced oxidative stress in brain, liver, gill and blood of common carp (*Cyprinus carpio*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 92, 32-38. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.01.025>.

Jean-Marie H. 2010. Les résidus de médicaments présentent-ils un risque pour la santé publique ?, page 88.

Ji Caini, Yue Zhenfeng, Xie Liqi,. Study on simultaneous detection of 7 tetracyclines residues in aquatic products by high performance liquid chromatography. *Chinese Journal of Veterinary Science and Technology*. Vol. 35 (2005) No. 10, p.820-826.

Johnson, AC, Keller, V., Dumont, E. et Sumpter, JP (2015). Évaluation des concentrations et des risques de toxicité des antibiotiques ciprofloxacine, sulfaméthoxazole, triméthoprime et érythromycine dans les rivières européennes. *Science de l'environnement total* , 511 , 747-755.

Joshi, P.K., Bose, M., Harish, D., 2002. Changes in certain haematological parameters in a siluroid catfish *Clarias batrachus* (Linn) exposed to cadmium chloride. *Pollut. Res.* 21, 119-131.

Journal of Chromatography A. Vol. 1177 (2008) No. 1, p. 58-76.

Judith Takadong, Sasanya James, Reybroeck Wim, Ntale Muhammad, Nyanzi Kaya, S., Pirincci, I., Bilgili, A., 1997. Veteriner Uygulamah Farmakoloji. Medisan Press, Ankara, Turkey, 2, 377 – 388.

Kim, H.Y., Yu, S.H., Lee, M.J., Kim, T.H., Kim, S.D., 2009. Radiolysis of selected antibiotics and their toxic effects on various aquatic organisms. *Radiat. Phys. Chem.* 78, 267-272.

Kim, J.-W., Ishibashi, H., Yamauchi, R., Ichikawa, N., Takao, Y., Hirano, M., Koga, M., Arizono, K., 2009. Acute toxicity of pharmaceutical and personal care products on freshwater crustacean (*Thamnocephalus platyurus*) and fish (*Oryzias latipes*). *J Toxicol Sci.* 34(2), 227–232.

Kim, K.R., Owens, G., Kwon, S.I., So, K.H., Lee, D.B., Ok, Y.S., 2011. Occurrence and environmental fate of veterinary antibiotics in the terrestrial environment. *Water Air Soil. Pollut.* 214, 163

Kim, N., Kim, D.K., Kim, W.Y., 2008. Sulfamethazine detection with direct-binding optical waveguide light mode spectroscopy-based immunosensor. *Food Chem.* 108, 768-773.

Klein G. 1999. Food as a potential vector for antibiotic résistances.1.Relevance of residues and selected food borne, *Berliner and Michener Tierarztliche wochenschrif*, page 365- 369

Klotins K. 2006. Utilisation des antibiotiques comme stimulateurs de croissance : controverse etsolutions..

Kolbener P. 2005. Résidus de médicaments vétérinaires, page1-2. Manuel suisse des denrées alimentaires. Chapitre 55.

Kümmerer, K., 2009. The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use present knowledge and future challenges. *J. Environ. Manage.* 90(8), 2354–2366.

Laurentie M, Sanders P. 2002. Résidus de médicaments vétérinaires et temps d'attente dans le lait, *Bulletin des groupements techniques vétérinaires*, page 197-201.

Leeder, N. S., Nakhoda, A., Spielberg, S.P., Dosch, H.M., 1991. Cellular toxicity of sulfomethoxazole reactive metabolites-II-inhibition of natural killer cell activity in human peripheral blood mononuclear cells. *Biochem. Pharmacol.* 41, 575-583.

Lin Haidan, Xie Shouxin, Wu Yingxuan. Determination of sulfonamides veterinary drugs residues in eels and roasted eels by SPE-HPLC. Food Science. Vol. 26 (2005) No. 1, P. 176-179.

Lin, T., Chen, Y.Q., Chen, W., 2013. Impact of toxicological properties of sulfonamides on the growth of zebrafish embryos in the water. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 36, 1068-1076.

Liu S., Fan W., Zhong S., Ma C., Li P., Zhou K., Peng Z. & Zhu M., 2014. Quality evaluation of tray-packed tilapia fillets stored at 0°C based on sensory, microbiological, biochemical and physical attributes. *African Journal of Biotechnology*, 9(5): 692-701.

Liu, L., Su, JQ, Guo, Y., Wilkinson, DM, Liu, Z., Zhu, YG et Yang, J. (2018). Schémas biogéographiques à grande échelle du résistome antibiotique bactérien dans les plans d'eau de Chine. *Environnement international* , 117 , 292-299.

Liu, P., Zhang, H., Feng, Y., Yang, F. et Zhang, J. (2014). Élimination des traces d'antibiotiques des eaux usées : une étude systématique de la nanofiltration associée à des processus d'oxydation avancés à base d'ozone. *Journal de génie chimique* , 240 , 211-220.

Lohne J.J. , Andersen W.C. , Clark S.B. , . Laser diode thermal desorption mass spectrometry for the analysis of quinolone antibiotic residues in aquacultured seafood. Rapid Communications in Mass Spectrometry. Vol. 26 (2012) No. 24, p.2854-2864.

- Losson B ,2002** . Introduction aux maladies des poissons D.E.S Aquaculture , inédit , Liège. - **Philippart J.C , 2005** .les maladies des poissons transmissibles aux humains , ecologie des poissons ,D.E.S .inédit , Aquaculture , Liège .
- Cotran Ramzi S , Kumar Vinay , Collins , 2000**. Anatomie pathologique , troisième édition française traduite de la sixième de la langue anglaise , Piccin Nuova Libreria S.P.A
- Lunden, T., Bylund, G., 2002**. Effect of sulfadiazine and trimethoprim on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).*Veterinary Immunol. Immunopathol.* 85, 99-108
- Maatar A, Bouhaine Y. 2004**. L'aquaculture en Algérie situation et perspectives, étude du lac EL MELLAH, Mémoire de docteur vétérinaire université Mentouri de Constantine.140p
- Mansour, A.M., 2013a**. Coordination behavior of sulfamethazine drug towards Ru(III) and Pt(II) ions: Synthesis, spectral, DFT, magnetic, electrochemical and biological activity studies. *Inorgan. Chimi. Acta* 394, 436-445
- Martinez-Porchas, M., Martinez-Cordova, L.R., Ramos-Enriquez, R., 2009**. Cortisol and glucose: Reliable indicators of fish stress? *Pan-Am. J. Aquat. Sci.* 4 (2), 158–178
- Martins, M.L., Mourino, J.L.P., Amaral, G.V., Vieira, F.N., Dotta, G., Jatoba, A.M.B., Pereira-Jr, G., 2008**. Haematological changes in Nile tilapia experimentally infected with *Enterococcus* sp. *Braz. J. Biol.* 68 (3), 657–661
- McCracken A. , Fidgeon S. , O'Brien J.J. . An investigation of antibiotic and drug residues in fish. *Journal of Applied Bacteriology. Vol. 40 (1976) No. 1, p. 61-66.***
- Meeting in the challenge of antibiotic resistance. *Brit.Med*, J.337, page 726-728.
- Membrane lipids: where they are and how they behave. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 9 (2), 112–124

Mevius DJ, Rutter JM, Hart CA, Imberechts H, Kempf G, Laffont JP, Luthman J, Moreno MA, Pantosti A, Pohl P, Wallasey CM. 1999. Antibiotic resistance in the European Union associated with the therapeutic use of veterinary medicines. Report and qualitative risk assessment by the committee for veterinary medicinal products, page 1-57.

Milhaud G, Pinault L. 1999. Législation de la pharmacie vétérinaire. Editions le point vétérinaire. Chapitre III : évaluation des médicaments vétérinaires : Autorisation de Mise sur le Marché (AMM), limites maximales de résidus (LMR), page 25-40.

Milhaud G. 1978. L'utilisation rationnelle des médicaments vétérinaires et le temps d'attente, page 177-185.

Milhaud, G., & Person, JM (1981). Evaluation de la toxicité des résidus d'antibiotiques dans le lait [résistance aux antibiotiques]. *Recueil de Médecine Vétérinaire* .

Miller, T.H., Bury, N.R., Owen, S.F., Barron, L.P., 2017. Uptake, biotransformation and elimination of selected pharmaceuticals in a freshwater invertebrate measured using liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Chemosphere* 183, 389-400.

Moreno-González, R., Rodríguez-Mozaz, S., Gros, M., Barceló, D., León, V.M., 2015. Seasonal distribution of pharmaceuticals in marine water and sediment from a Mediterranean coastal lagoon (SE Spain). *Environ Res.* 138, 326-344.

Moreno-González, R., Rodríguez-Mozaz, S., Gros, M., Pérez-Cánovas, E., Barceló, D., León, V.M., 2014. Input of pharmaceuticals through coastal surface watercourses into a Mediterranean lagoon (Mar Menor, SE Spain): Sources and seasonal variations. *Sci Total Environ.* 490, 59–72.

Morin R, Uhlund C, Lévesque G. 2005. L'utilisation des antibiotiques en pisciculture au Québec, page 6.

Mukota Aziz Kimera, Gondam Melanie Flore Kamini, Tsafack Julie.

Murray, R.K. (1991). *Harpers Biochemistry.* 22nd. PrenticeHall, International Inc., USA.

Nilsson, G.E., Lutz, P.L., 2004. Anoxia Tolerant Brains. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 24, 475-486

- Nouws Verdyk. 1991.** Injections sites and with drawl times, Ann.Rech.Vet, page 145- 150.
- Nussey, G., Van Vuren, J. H. J. & Du Preez, H. H. 1995** Effect of copper on blood coagulation of *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology* 111 (3), 359–367
- OECD, 1992.** Test no. 203: fish, acute toxicity test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. OECD Publishing
- Okerman L. , De W.K. , Van H.J. ., Simultaneous determination of different antibiotic residues in bovine and in porcine kidneys by solid-phase fluorescence immunoassay. Journal of Aoac International. Vol. 86 (2003) No. 2, p. 236-240.**
- Okolo MI. 1986.** Bacterial drugs resistance in meat animal: a review *International Journal of zoo noses*, page 143-152
- Omitoyin, B.O, Ajani, E.K., Adesina, B.T.and Okuagu, C.N.F. (2006)** Toxicity of lindane (gamma Hexachlorocyclohexane) to *Clarias gariepinus* (Burchell1822). *World J. Zool.*, 1(1): 57-63.
- P.L., Brillas, E., 2013** Electro-fenton and photoelectron-fenton degradation of the antimicrobial sulfamethazine using a boron-doped diamond anode and an air-diffusion ACCEPTED MANUSCRIPT ACCEPTED MANUSCRIPT cathode. *J. Electroanal. Chem.* 701, 7-13.
- Padoue,Italie**Daube G , 2013.**Gestion de la qualité du produit ,D.E.S. agriculture , inédit , Liège . **Garnier D, 2000.** Dictionnaire des termes de médecine , 20^{ème} édition , édition Maloine , Paris. -**Ipungu et al. J. Appl. Biosci.** Étude des lésions anatomo-pathologiques des Tilapiaet Clarias vendus sur les marchés de Lubumbashi. République Démocratique du Congo, *Journal of Applied Biosciences* 84:7674–7681.
- Pari, L., & Murugan, P. (2004).** Rôle protecteur de la tétrahydrocurcumine contre l'hépatotoxicité induite parl 'estolate d'érythromycine. *Recherche pharmacologique* , 49 (5), 481-486.

PARK, Sujung et CHOI, Kyungho. Évaluation des risques des agricoles couramment utilisés sur les écosystèmes aquatiques. *Écotoxicologie* , 2008, vol. 17, n° 6, p. 526-538.

Paul, T., Shukla, S.P., Kumar, K., Poojary, N., Kumar, S., 2019. Effect of temperature on triclosan toxicity in *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage, 1878): Hematology, biochemistry and genotoxicity evaluation. *Sci. Total Environ.* 668, 104–114

Peres, H., Costas, B., Perez-Jimenez, A., Guerreiro, I., Oliva-Teles, A., 2015. Reference values for selected hematological and serum biochemical parameters of Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858) juveniles under intensive aquaculture conditions. *J. Appl. Ichthyol.* 31 (1), 65–71

Perlovich, G. L., Kazachenko, V. P., Strakhova, N. N. & Raevsky, O. A. 2014 Impact of sulfonamide structure on solubility and transfer processes in biologically relevant solvents. *Journal of Chemical & Engineering Data* 59 (12), 4217–4226.

Poopal, R.K., Ramesh, M., Maruthappan, V., Babu Rajendran, R., 2017. Potential effects of low molecular weight phthalate esters (C₁₆H₂₂O₄ and C₁₂H₁₄O₄) on the freshwater fish *Cyprinus carpio*. *Toxicol. Res.* 6, 505-520.

Potil G, Caillon J, Jacqueline C, Navas D, Kergueris MF, Batard E. 2006. Pharmacocinétique et modalités d'administration des antibiotiques, page 2-4. Laboratoire de Pharmacocinétique et de Pharmacie Clinique EA 525 Université V. Segalen Références Bibliographiques Bordeaux 2 et Pharmacie centrale hôpital Haut-Lévêque CHU de Bordeaux.

Pouliquen H, Le Bris. H. 2001. Residues of antibacterial drugs in foods tuff of fish origin: risk assessment, page 676-677

Prändl, O. (1973). Effets de l'administration d'antibiotiques aux animaux sur l'état hygiénique des aliments d'origine animale. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift* , 60 (2), 76-78.

Puyt JD, Guérin –Faublée V. 2006. Médicament anti-infectieux en médecine vétérinaire. Bases de l'antibiothérapie. Edition 2006, page 1-27.

Qiao, M., Ying, GG, Singer, AC et Zhu, YG (2018). Bilan de la résistance aux envisager en Chine et son environnement. *Environnement international* , 110 , 160-172.

Ramesh, M., Thilagavathi, T., Rathika, R. & Poopal, R. K. 2018 Antioxidant status, biochemical, and hematological responses in a cultivable fish *Cirrhinus mrigala* exposed to an aquaculture antibiotic Sulfamethazine. *Aquaculture* 491, 10–19

Ranzani-Paiva, M.J.T.E.L., Rodrigues, M.L., Veiga, A.C., Eiras, B.E.S., 2003. Differential leukocyte counts in “dourado” *Salminus maxillosus* Valenciennes, 1840 from the MogiGuaçu River, Pirassununga, SP. *Braz. J. Biol.* 63, 517–25.

Rattaya Rattanapol Taveechai, Wachiranee Vongkom, Worapot Suntornsuk, Leena Suntornsuk, Simple and rapid spectrophotometric method for the analysis of erythromycin in pharmaceutical dosage forms, *Journal of Food and Drug Analysis*, Vol. 15, No. 1, 2007, Pages 10-14

Rehulka, J., Minarik, B. Rehulková, E., 2004. Red blood cell indices of rainbow trout *Onchorhynchus mykiss* (Walbaum) in aquaculture. *Aquacult. Res.* 35, 529–546

Reig, M., & Toldra, F. (2008). Résidus de médicaments vétérinaires dans la viande : Préoccupations et méthodes rapides de détection. *Science de la viande* , 78 (1-2), 60-67.

Ricken, B., Corvini, P.F.X., Cichocka, D., Parisi, M., Lenz, M., Wyss, D., MartínezLavanchy, P.M., Müller, J.A., Shahgaldian, P., Tulli, L.G., Kohler, H.P.E., Kolvenbach, B.A., 2013. ipso-Hydroxylation and subsequent fragmentation: a novel microbial strategy to eliminate sulfonamide antibiotics. *Appl. Environ. Microbiol.* 79, 5550-5558

Rodrigues B., Alvares T.S., Da Costa M.P., Sampaio G.S.L., De la Torre C.A.L., Marsico E.T. & Conte Junior C.A., 2013. Concentration of biogenic amines in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) preserved in ice and its relationship with physicochemical parameters of quality. *Journal of Aquaculture Research & Development*, 4(3): 1-4.

Rodrigues, R. R., Greer, R. L., Dong, X., DSouza, K. N., Gurung, M., Wu, J. Y., ... &

Shulzhenko, N. (2017). Antibiotic-induced alterations in gut microbiota are associated with changes in glucose metabolism in healthy mice. *Frontiers in microbiology*, 8, 2306.

Rodríguez A., Carriles N., Cruz J.M. & Aubourg S.P., 2008. Changes in the flesh of cooked

Saglam, N., Yonar, M.E., 2009. Effects of sulfamerazine on selected haematological and immunological parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792). *Aquacult. Res.* 40, 395-404.

Saleh, Y.S., Marie, M.A.S., 2016. Use of *Arius thalassinus* fish in a pollution biomonitoring study, applying combined oxidative stress, hematology, biochemical and histopathological biomarkers: A baseline field study. *Mar. Pollut. Bull.* 106, 308-322

Samanidou V.F. , Evaggelopoulou E.N. . Analytical strategies to determine antibiotic residues in fish. *Journal of Separation Science.* Vol. 30 (2007) No. 30, p. 2549-2569.

Sampaio, F.G., Carra, M.L., Jonsson, C.M., Goncalves, V.T., DalBo, G., Damacena Nunes, K.S., Valim, J.H., Lima Dallago, B.S., do Nascimento de Queiroz, S.C., Reyes Reyes, F.G., 2016. Effects of dietary exposure to sulfamethazine on the hematological parameters and hepatic oxidative stress biomarkers in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 97, 528-535

Sampaio, F.G., Carra, M.L., Jonsson, C.M., Goncalves, V.T., DalBo, G., Damacena Nunes, K.S., Valim, J.H., Lima Dallago, B.S., do Nascimento de Queiroz, S.C., Reyes Reyes, F.G., 2016. Effects of dietary exposure to sulfamethazine on the hematological parameters and hepatic oxidative stress biomarkers in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 97, 528-535

Sanawar, H., Xiong, Y., Alam, A., Croué, J.P., Hong, P.Y., 2017. Chlorination or monochloramination: Balancing the regulated trihalomethane formation and microbial inactivation in marine aquaculture waters. *Aquaculture* 480, 94-102

Sanchez Pena, M., Acedo, M.J., Salinas, F., Mahedero, M.C., Aaron, J.J., 1995. Analysis of sulfamethazine in the presence of sulfamerazine or sulfadiazine by first-derivative photochemically induced fluorescence. *J. Pharmaceut. Biomed. Analysis* 13, 1107- 1112.

Saravanan, M., Prabhu Kumar, K., Ramesh, M., 2011. Haematological and biochemical responses of freshwater teleost fish (*Cyprinus carpio*) (Actinopterygii: Cypriniformes) during acute and chronic sublethal exposure to lindane. *Pestic. Biochem. Physiol.* 100, 206-211

Sarmah, AK, Meyer, MT et Boxall, AB (2006). Une perspective globale sur l'utilisation, les ventes, les voies d'exposition, l'occurrence, le devenir et les effets des antibiotiques vétérinaires (AV) dans l'environnement. *Chimiosphère* , 65 (5), 725-759.

Schwaiger, K., Schmied, EM et Bauer, J. (2010). Analyse comparative des caractéristiques de résistance aux antibiotiques de *Listeria* spp. et *Enterococcus* spp. isolée de poules pondeuses et d'œufs dans des systèmes d'élevage conventionnels et biologiques en Bavière, en Allemagne. *Zoonoses et santé publique* , 57 (3), 171-180.

Science and Technology, **41**: 1726-1732.

Scippo ML. 2008. Technologie, sécurité et qualité des aliments introduction à la qualité et la sécurité des aliments : aspects chimiques. Contrôle des résidus et des médicaments vétérinaires, page 2-36.

Serdoz, F., Voinovich, D., Perissutti, B., Grabnar, I., Hasa, D., Ballestrazzi, R., ... & Pellegrini, E. (2011). Développement et évaluation pharmacocinétique de formulations lipidiques d'érythromycine pour administration orale chez la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal européen de la pharmacie et de la biopharmacie* , 78 (3), 401-407.

Stamm C. 2005. Produits agrochimiques : Quels dangers pour le milieu aquatique?, page 3-5.

- Steven Allan, Tebandeke Emmanuel. 2020.** Primary validation of Charm II tests
- Swapna K.M. , Rajesh R. , Lakshmanan P.T. . Incidence of antibiotic residues in farmed shrimps from the southern states of India Indian. Journal of Geo-Marine Sciences. Vol. 41 (2012)No. 4, p. 344-347.**
- Tamtam F, Barbara L, Joëlle E, Fabien MA, Desportes MC. 2009.** Surface water contamination by antibiotic residues in rural area, page 175–186
- Tan, C., Sun, D., Tan, H., Liu, W., Luo, G. & Wei, X. 2018**
- Tavares-Dias, M., Moraes, F.R., 2004.** Hematologia de peixes teleósteos. Ribeirão Preto, Villimpress Complexo Gráfico
- Teale CJ. 2002.** Antimicrobial resistance and the food chain, Journal of Applied Microbiology 92, page85-89
- Tenover FC, Huches JM. 1996.** The challenges of emerging infectious diseases. Development and spread of multiply-resistant bacterial pathogens , page 300-304.
- Tianero, MDB, Hanif, N., de Voogd, NJ, van Soest, RW et Tanaka, J. (2009).** Un nouvel acide gras antimicrobien de l'éponge calcaire Paragrantia cf. waguensis. *Chimie & Biodiversité* , 6 (9), 1374-1377.
- Toussaint B. , Chedin M. , Bordin G. Determination of (fluoro)quinolone antibiotic residues in pig kidney using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. I. Laboratoryvalidated method. Journal of Chromatography A. Vol. 1088 (2005) No. 1-2, p. 32-39.**
- Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 18 (1),9–16
- Van den Bemt, P. M., Meyboom, R. H. & Egberts, A. C. 2004** Druginduced immune thrombocytopenia. Drug Safety 27 (15), 1243–1252.
- Van Meer, G., Voelker, D. R. & Feigenson, G. W. 2008**
- Vandenbogaard AE. 2001.** Human health aspect of antibiotic use in food animals: a review tijdschrift voor diergeneeskunde, page 590-595

Vazquez, G.R., Guerrero, G.A., 2007. Characterization of blood cells and hematological parameters in *Cichlasoma dimerus* (Teleostei, Perciformes). *Tissue Cell* 39, 151-160

Venkateswaran, S., Pari, L., Viswanathan, P. et Menon, VP (1997). Effet protecteur de Livex, une formulation à base de plantes contre l'hépatotoxicité induite par l'estolate d'érythromycine chez le rat. *Journal d'ethnopharmacologie* , 57 (3), 161-167.

Vithanage, M., Rajapaksha, A.U., Tang, X., Thiele-Bruhn, S., Kim, K.H., Lee, S.E., Ok, S.Y., 2014. Sorption and transport of sulfamethazine in agricultural soils amended with invasive-plant-derived biochar. *J. Environ. Manag.* 141, 95-103

Wan, Z., Hu, J., Wang, J., 2016. Removal of sulfamethazine antibiotics using CeeFegraphene nanocomposite as catalyst by Fenton-like process. *J. Environ. Manag.* 182, 284-291

Wang F., Jiang L., Yang Q., Han F., Chen S., Pu S., Vance A. & Ge B., 2011. Prevalence and antimicrobial susceptibility of major foodborne pathogens in imported seafood. *Journal of Food Protection*, 74(9): 1451-1461.

Warkentin, T. E. 2018 Thrombocytopenia caused by platelet destruction, hypersplenism, or hemodilution. In: Hematology (R. Hoffman, E. Benz, H. Heslop & J. Weitz, eds). Elsevier, Cambridge, MA, pp. 1955–1972

Witeska, M., 2013. Erythrocytes in teleost fishes: a review. *Zool. Ecol.* 23, 275-281.

Witeska, M., Lugowska, K., Kondera, E. 2016. Reference values of hematological parameters for juvenile *Cyprinus carpio*. *Bull. Eur.Ass. Fish Pathol.* 36, 169-180

Won S.Y. , Lee C.H. , Chang H.S. . Monitoring of 14 sulfonamide antibiotic residues in marine products using HPLC-PDA and LC-MS/MS. Food Control. Vol. 22 (2011) No. 22, p.1101-1107.

Yang Fang, Yu Kongjie, Huang Jiansheng. Determination of florfenicol residue in eel muscle by HPLC. Chinese Journal of Analysis Laboratory. Vol. 24 (2005) No. 2, p. 44-46.

Yang, Y., Song, W., Lin, H., Wang, W., Du, L. et Xing, W. (2018). Antibiotiques et gènes de résistance aux antibiotiques dans les lacs mondiaux : une revue et une méta-analyse. *Environnement international* , 116 , 60-73.

Yves L. 2006. Inquiétudes sur la présence d'antibiotiques et de bactéries antibiorésistantes dans les eaux.

Zhang Xiaoshuang, Li Nan, Cai Wengui., Cause and advise on aquaculture water pollution in China. Chinese Fisheries Economics. (2007) No. 5, p. 30-33.

Zhang, H., Zhou, Y., Huang, Y., Wu, L., Liu, X. et Luo, Y. (2016). Résidus et risques d'antibiotiques vétérinaires dans les sols végétaux protégés suite à l'application de différents engrais. *Chimiosphère* , 152 , 229-237.

Zhang, T., Yang, Y. et Pruden, A. (2015). Effet de la température sur l'élimination des gènes de résistance aux antibiotiques par digestion anaérobie des boues activées révélé par approche métagénomique. *Microbiologie appliquée et biotechnologie* , 99 (18), 7771-7779.

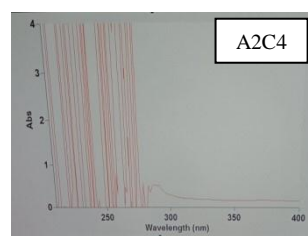
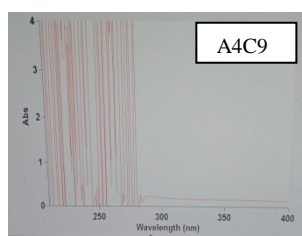
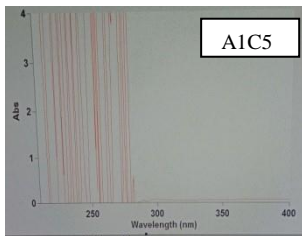
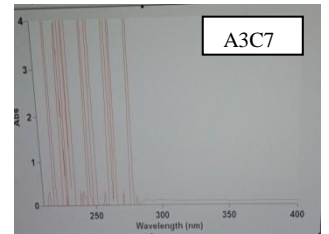
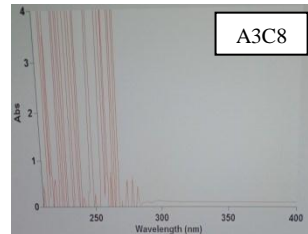
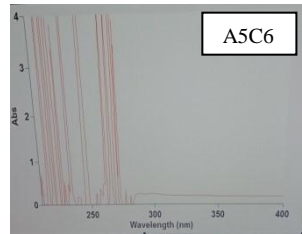
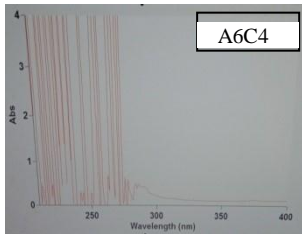
Zhao, S., Wang, X., Li, Y., Lin, J., 2016. Bioconcentration, metabolism, and biomarker responses in marine medaka (*Oryzias melastigma*) exposed to sulfamethazine. *Aquat. Toxicol.* 181, 29-36

Zuccato, E., Castiglioni, S., Fanelli, R., Reitano, G., Bagnati, R., Chiabrando, C., ... & Calamari, D. (2006). Produits pharmaceutiques dans l'environnement en Italie : causes, occurrences, effets et contrôle. *Sciences environnementales et recherche sur la pollution* , 13 (1), 15-21.

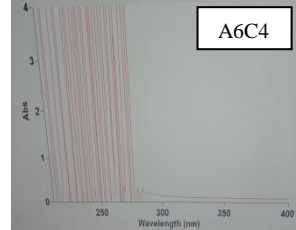
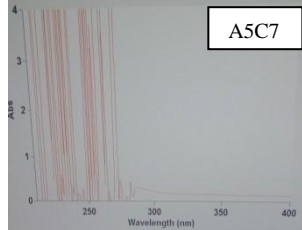
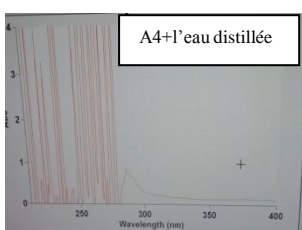
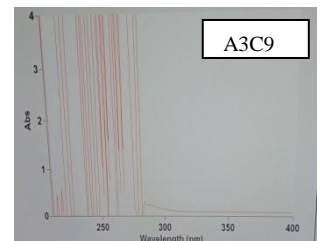
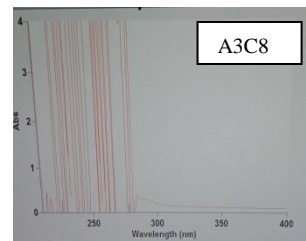
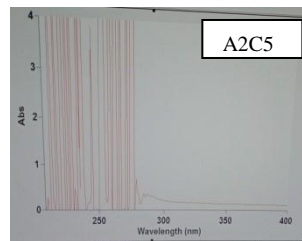
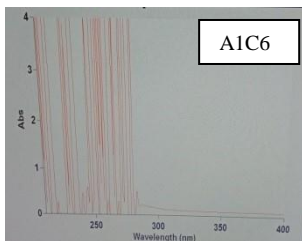
ANNEXES

Résultats UV - Erythromycine :

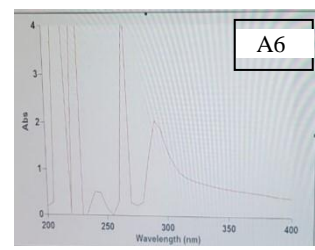
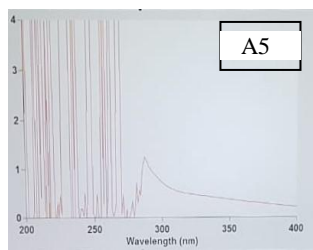
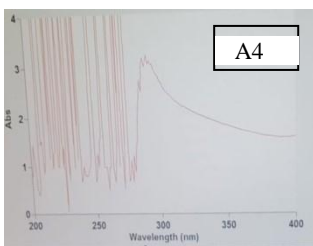
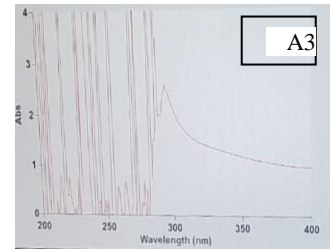
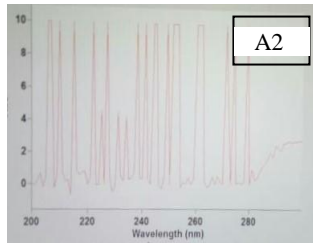
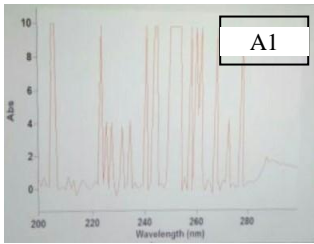
Méthode 1



Méthode 2



Résultats UV Sulfamide :



Mémoire : Master 02 en écotoxicologie Animale

Intitulé : Dépistage de résidus d'antibiotique dans la chair de Tilapia « *Oreochromis ssp* »
‘ Méthode Physicochimique » ‘

Auteurs : Lassoui Ali ;Naghoucha Meriem ; Rouag Imane ;Selougha Ahlem

Année : 2021/2022

Résumé

La présente étude consiste à un **dépistage de résidus d'antibiotique** dans les tissus de Tilapia (*Oreochromis ssp*) et **l'évaluation l'état de santé des tilapias suite une antibiothérapie, pour des fins Eco toxicologiques.**

Globalement, les individus d'*Oreochromis ssp* ont un poids totale (Wt) qui varie ($19 \leq Wt$ (g) ≤ 89) avec une longueur varie ($10,5 \leq Lt$ (cm) $\leq 16,4$). Ces Tilapias ont suivi une antibiothérapie par balnéation avec cinq (05) doses référentielles de l'érythromycine pendant dix (10) jours et une dose orale d'ordre 0,1g/j(pendant trois(03) jours » avec les sulfamides.

Les résultats des analyses macroscopiques des poissons, ont montré la présence de divers ses altérations tant sur l'état morphologique. Des poissons ont manifesté des : exophtalmie, perte d'œil, érosions, déformations. Que sur l'examen interne (hypoxie et des anémies générales).

Le bilan hémato-biochimiques et lipidique confirme, que les individus de l'Aq5 (CL100) présentent un **trouble sanguin Médiocre [anémie microcytaire hypochrome ; leucocytose associée à une leucopénie] avec une réponse immunitaire définie par une thrombocytopénie.** Globalement, l'ensemble des bio essaies (Aq1,Aq2,Aq3,Aq4 et Aq5) présentent une **pathologie de stress et un épuisement énergétique.**

Le dépistage de résidus « méthode physicochimiques » d'antibiotique dans la chair d'*Oreochromis ssp*. Donne des rendements compris entre **15 et 170 %** pour les trois sulfamides, et entre **65 et 110 %** pour l'érythromycine. Nous pouvons conclure que, la méthode présente des bons rendements et elle peut être utilisée comme **outil pour le contrôle de qualité des antibiotiques dans la chair des organismes aquatiques.**

Mots clés : *Oreochromis ssp*, érythromycine, sulfamide, pathologies, hématologie, dépistage de résidus d'antibiotiques (uv-visible).