879THV-2

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université de Saad DAHLAB Blida -1-

Institut des sciences Vétérinaires

Mémoire de fin d'étude

En vue d'obtention du diplôme de docteur vétérinaire

THEME

LA RECHERCHE DES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUE DANS LE LAIT CRU DANS LA REGION DE TIZI OUZOU

Présenté par

Mr FERHATI Mohamed Amine & Mr SARADONI Idir

Jury composé de

YAHIA A.	M.A.A	Univ. de BLIDA	Président
FEKNOUS N	M.A.B	Univ. de BLIDA	Examinatrice
TARZAALI D.	M.A.B	Univ. de BLIDA	Promotrice

Promotion 2014

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir aidé et de nous avoir donné la foi et la force pour achever ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance et tout notre respect et gratitude à notre promotrice M^{elle} TARZAALI Dalila, Maitre assistante à l'université Saad DAHLEB de Blida pour l'encadrement et l'encouragement qu'elle nous a donné et de nous avoir guidé dans la réalisation de ce travail, pour sa patience et sa disponibilité.
Qu'elle trouve ici l'expression de notre profonde gratitude
Nous remercions chaleureusement:

Mr YAHIA A Maître assistante à l'université Saad Dahleb de Blida-1- pour avoir présidé le jury.

Mme FEKNOUS N Maître assistante à l'université Saad Dahleb de Blida-1- pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos remerciements vont également à tous ceux qui ont participé de prés ou de loin à la réalisation de ce travail.

DEDICACES

Je dédie se modeste travail à

A ceux qui ont fait de moi ce que je suis et qui sont présents pour me soutenir à tout moment.

A mes parents avec mon plus grand amour pour leur soutien et encouragement, ainsi que leur sacrifices qu'ils ont consentis durant tous mes années d'études.

A mes chers frères

A Toutes la Famille SARADONI.

A ma grand mère, mes oncles, mes tantes, mes cousins

Pour votre soutien et vos encouragements.

A mon binôme : Mouhamed ainsi que sa Famille.

A ma promotrice M elle : TARZAALI DALILA

A Toute la promotion 2013/2014.

Merci pour votre amitié, votre soutien et tous les bons moments passés ensembles

A tous ceux que j'ai oubliés, que vous m'en excusiez…

Dédicace

Je dédie se modeste travail à

A ceux qui ont fait de moi ce que je suis et qui sont présents pour me soutenir à tout moment.

A mes parents avec mon plus grand amour pour leur soutien et encouragement, ainsi que leur sacrifices qu'ils ont consentis durant tous mes années d'études.

*A mes chers frères : **NACER, FARHET, REDOUAN, MASSINISSA.***

*A Toutes les Familles : **FERHATI, KACI, IDARI, HAMEDI.***

*A ma grand mère, mes oncles, mes tantes, mes cousins **SAID , MEZIAN ,MADANI BOUSSAD.***

Pour votre soutien et vos encouragements.

*A mon binôme : **IDIR** ainsi que sa Famille.*

*A ma promotrice M elle : **TARZAALI DALILA***

*A mes Amis : **Lyes, Mourad, Samir, Lounes wali, Smail, Arezki, El Hadi, Abdelah, Hamza, Mastapha, Mus, Mourad, Said, Samir, Yacin, Amar, Omar, Yacin, Omar, Sfinja, Maknas, Sofiane, Nacer, Merzouk, Achour, Farhat, Josef, Mahdi.***

A Toute la promotion 2013/2014.

Merci pour votre amitié, votre soutien et tous les bons moments passés ensembles

A tous ceux que j'ai oubliés, que vous m'en excusiez…

MOHAMED AMINE

RESUME

Le lait est un produit de large consommation, qui doit répondre à des normes draconiennes, afin d'assurer une qualité irréprochable tant sur le plan microbiologique que toxicologique. Le lait destiné à la consommation humaine doit être exempt de tout type de contamination. Malheureusement, l'usage croissant est souvent irraisonné de molécules antibiotiques se solde très souvent par la présence de substances chimiques indésirable nommé résidus dans le lait produit par la vache traité.

Ces résidus peuvent représenter un danger d'ordre allergique, toxique ou microbien pour le consommateur et aussi des lourdes pertes pour l'industrie de transformation laitière.

Notre étude réalisée sur 118 échantillons de lait cru de vache provenant de la wilaya de Tizi-Ouzou par le Delvotest SP qui a révélé :

- 1 échantillon de lait contaminé, représenté par un taux de 0,85% de résidus d'antibiotique.
- 105 échantillons de lait cru non contaminés avec un taux de 88.99%. résidus d'antibiotique.
- 12 échantillons de lait cru été douteux, soit 10,17 % de résidus d'antibiotique.

Mots clés : Lait cru, Delvotest SP, Résidus d'antibiotique, Tizi-Ouzou.

SUMMARY

Living and fragile product, milk is a product of mass consumption that must meet stringent standards to ensure the highest quality both microbiologically that toxicological significance. Milk for human consumption must be free from any kind of contamination. Unfortunately, the increasing use of antibiotics and often irrational molecules often results in the presence of undesirable chemical residues in the product named by processed cow milk.
These residues may represent a toxic or allergic order microbial hazard to the consumer and also heavy losses to the dairy processing industry.

Our study of 118 samples of raw milk from the wilaya of Tizi-Ouzou using the Delvotest SP revealed that:

- 1 contaminated milk sample, represented by a ratio of 0.85%.
- 105 samples of raw milk not contaminated with a rate of 88.99%.
- 12 samples of raw milk were doubtful, or 10.17%.

Keywords: Raw milk, Delvotest SP, antibiotic residues, Tizi-Ouzou.

الموجز

الحليب هو نتاج الاستهلاك الشامل التي يجب أن تستوفي معايير صارمة لضمان أعلى مستوى من الجودة الميكروبيولوجية على حد سواء أن أهمية السمية. يجب أن يكون الحليب للاستهلاك البشري خالية من أي نوع من التلوث. للأسف، تزايد استخدام المضادات الحيوية والجزيئات غالبا غير عقلاني غالبا ما يؤدي إلى وجود مخلفات كيميائية غير مرغوب فيه في يسمي حليب البقر المصنعة المنتج

.

.هذه المخلفات قد تمثل خطرا على النظام الميكروبية السامة أو حساسية للمستهلك وأيضا خسائر فادحة لصناعة الألبان

كشفت دراستنا من 118 عينات من الحليب الخام من ولاية تيزي وزو باستخدام دلفوتست سب ما يلي

1عينة الحليب الملوث، ممثلة نسبة قدرها 0.85٪

105عينات من الحليب الخام غير ملوثة بنسبة 88.99٪

كانت 12 عينة من اللبن الخام المشكوك فيه، أو 10.17٪

كلمات : ، بقايا المضادات الحيوية، تيزي وزو

الذين يعيشون والمنتجات الهشة و
الحليب الخام،،
البحث

SUMMARY

Living and fragile product, milk is a product of mass consumption that must meet stringent standards to ensure the highest quality both microbiologically that toxicological significance. Milk for human consumption must be free from any kind of contamination. Unfortunately, the increasing use of antibiotics and often irrational molecules often results in the presence of undesirable chemical residues in the product named by processed cow milk.
These residues may represent a toxic or allergic order microbial hazard to the consumer and also heavy losses to the dairy processing industry.

Our study of 118 samples of raw milk from the wilaya of Tizi-Ouzou using the Delvotest SP revealed that:

- 1 contaminated milk sample, represented by a ratio of 0.85%.
- 105 samples of raw milk not contaminated with a rate of 88.99%.
- 12 samples of raw milk were doubtful, or 10.17%.

Keywords: Raw milk, Delvotest SP, antibiotic residues, Tizi-Ouzou.

LISTE DES ABREVIATIONS

-ATB : antibiotiques

- °C : Degré celsus.

-cal : calorique

-CCS : concentration en cellules somatiques.

- CMT: californien mastitis test.

- E.coli: Escherichia coli

- g : Gramme.

- g/l : Gramme par litre.

- IM : intra mammaire.

- l: Litre.

- LMR : Limite maximale de résidus.

- mg : milligramme

- mg/l : milligramme par litre.

- ml : millilitre.

- mn : minute

- ng/l : nanogramme par litre.

- PMN : Poly.morpho.nucléaire

- UI: Unité internationale.

-ppb : Partie par billion

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Matériels et appareillage de laboratoire 21

Figure 2 : Séparation le nombre d'ampoules. 22

Figure 3 : Ouverture de la feuille d'aluminium. 23

Figure 4 : Prélèvement du lait. 24

Figure 5 : couverture des ampoules. 24

Figure 6 : Incubation des ampoules. 25

Figure 7 : lecture des résultats. 26

Figure 8 : Pourcentage de la contamination du lait par les résidus d'antibiotique dans la la région d'Aghribs. 28

Figure 9 : Pourcentage de la contamination du lait par les résidus d'antibiotique dans la la région de Fréha. 29

Figure 10 : Pourcentage de la contamination du lait par les résidus d'antibiotique dans la la région de Timizart. 30

Figure 11 : Pourcentage de la contamination du lait par les résidus d'antibiotiques dans la Les trois régions : Aghribs, Freha et Timizart. 32

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : la composition moyenne du lait de vache 3

Tableau II : quelques micro-organismes utilisés en technologie laitière et leurs propriétés.15

Tableau III : résultats de la recherche des résidus antibiotiques dans le lait cru de la commune d'Aghribs. 27

Tableau IV : résultats de la recherche des résidus antibiotiques dans le lait cru provenant de la commune de Fréha 29

Tableau V : résultats de la recherche des résidus antibiotiques dans le lait cru provenant de la commune de Timizart. 30

Tableau VI : résultats de la recherche des résidus antibiotiques dans le lait cru provenant de Les trois communes : Aghribs , Timizart et Fréha. 31

SOMMAIRE

Remerciements
Dédicaces
Résumé en français
Résumé en anglais
Résumé en arabe
Liste des abréviations
Liste des figures
Liste des tableaux

Introduction 1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE
CHAPITRE 1 : LE LAIT.

1.1. Définition 2
1.2. Caractères physico-chimiques du lait de vache 2
1.3. Composition chimique du lait 2
1.4. Composition biologique du lait 3
1.4.1. Les Cellules de la sécrétion lactée (cellules somatiques 4
1.4.2. Les Micro-organismes 4
1.4.2.1. Flore non pathogène 4
1.4.2.2. La flore pathogène 5

CHAPITRE 2 : LES MAMMITES.

2.1. Définition 6
2.1.1. Mammites cliniques 6
2.1.2. Mammite sub-clinique 6
2.1.3. Mammite non spécifique 6
2.2. Etiologie des mammites 6
2.2.1. Espèces bactériennes responsables 6
2.3. Pathogénie 7

2.3.1. Phase d'invasion 7
2.3.2. Phase d'infection 7
2.3.3. Phase d'inflammation 7
2.4. Diagnostic des mammites 8
2.4.1. Diagnostic des mammites cliniques 8
2.4.2. Diagnostic des mammites sub cliniques 8
2.5. Traitement des mammites 8
2.5.1. Traitement parentéral 9
2.5.2. Traitement intra mammaire 9
2.5.2.1. Les bêta-lactamines 9
2.5.2.2. Les tétracyclines 9
2.5.2.3. Les aminosides 9
2.5.2.4. Les macrolides 9
2.5.3. Traitement des mammites sub-cliniques 9
2.5.4. Traitement au tarissement 9
2.5.4.1. Stratégies thérapeutiques 10
2.5.4.1.1. Traitement antibiotique 10
2.5.4.1.2. Traitement sélectif 10
2.5.4.1.3. Traitement avec obturateur interne 10
2.5.4.2.4. Autres techniques 10

CHAPITRE 3 : LES RISQUES LIES A LA PRESENCE DES RESIDUS D'ATB DANS LE LAIT

3.1. Les résidus d'antibiotiques dans le lait 11
3.2. Les causes de la présence des antibiotiques dans le lait 11
3.3. Importance et conséquences de la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait 11
3.3.1. Importance et conséquences sur la santé publique 11
3.3.2. Les risques pour la santé publique 12
3.3.2.1. Risque toxique 12
3.3.2.2. Risque allergique 13
3.3.2.3. Risque cancérigène 13
3.3.2.4. Risque bactériologique 13
3.3.2.4.1. La sélection de souches bactériennes résistantes 13
3.3.2.4.2. Modification de la microflore intestinale 13
3.4 .Risques technologiques 13

3.5 . Risques économiques 14
3.5.1. Importance des résidus inhibiteurs en industrie laitière 14
3.5.1.1. Conséquences de l'inhibition des ferments lactiques 15

CHAPITRE 4 : METHODES DE DETECTION DES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES DANS LE LAIT

4.1. Définition 16
4.2. Méthode microbiologique 16
4.3. Méthode enzymatique 18
4.4. Méthodes immuno-enzymatique 18
4.4.1. DelvoX Press TM BL 18
4.4.2. Snap Test 18
4.4.3. Charm Rosa milk mrl-3 19
4.4.4. Système CHARM II 19
4.4.5. Beta Star Kit 19

PARTIE EXPERIMENTALE

1. La recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru par le Delvotest SP 20
1.1. Période et lieu de l'étude 20
1.2. Origine des échantillons 20
1.3. Les conditions de prélèvement du lait 20
2. Matériel et méthodes 21
3. Résultats 27
4. Discussion 33
5. Conclusion 36
6. Recommandations 37

Références bibliographiques
Annexes -

INTRODUCTION

Le lait est un produit naturel, pur, blanc, il assure chez tous les mammifères la couverture de tous les besoins alimentaires des nouveau-nés. Il représente la première matière de base pour les industriels de la filière laitière. Il est le produit de base de l'alimentation humaine et une des voies d'élimination des médicaments et principalement après les traitements intra-mammaires largement utilisé pour lutter contre les mammites.

Les normes qualitatives et législatives des produits laitiers sont très exigeantes et ceci pour garantir aux consommateurs une innocuité totale.

Les résidus d'antibiotiques dans le lait doivent être une source de préoccupation des pouvoirs publics, surtout lorsqu'on connaît leurs effets néfastes sur la santé humaine (antibiorésistance, problèmes allergiques, etc.), sur la technologie laitière (pertes économiques) [1].

La production laitière algérienne de lait fait couvrir près de 50% des besoins, elle est passée de 1.500.000.000 litres en 2000 à 2.100.000.000 litres en 2006 (dont 10 à 15% sont collectés pour l'industrie laitière) [2].

Pour toutes ces raisons, il importe que les denrées d'origine animales, et notamment le lait et les produits laitiers soient exempts de toute trace d'antibiotiques lors de leurs mises sur le marché. Pour cela, l'industrie laitière doit disposer de tests simples, rapides et fiables pour déceler la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait.

Dans ce contexte, nous avons réalisé ce travail qui comporte deux parties :

- Une partie bibliographique, traitant le lait, les antibiotiques et leur usage ainsi que leurs résidus dans le lait et leurs risques.
- Une partie expérimentale réservée à la présentation, à l'interprétation et à la discussion des résultats correspondant à la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru par le DelvoTest® dans les élevages de la wilaya de Tizi-Ouzou.

PARTIE BEBLIOGRAPHIQUE

1.1. Définition

Le lait est un aliment de premier ordre. Chez tous les mammifères il assure à lui seul la couverture de tous les besoins alimentaires des nouveau-nés [3].

En 1983, la fédération internationale de laiterie proposé la définition suivante pour le lait : « produit de la sécrétion mammaire, obtenu par une ou plusieurs traites sans aucune addition ou soustraction » [4]. La vache assure de très loin la plus grande part de la production mondiale (90%) [5] [6]. Ce lait est le produit laitier le plus consommé et le plus étudié en nutrition humaine [7].

1.2. Caractère physico-chimique du lait de vache

Le lait est un liquide opaque de couleur blanche, plus ou moins jaunâtre selon la teneur en carotène de sa matière grasse. Sa saveur est douce et son odeur faible, mais identifiable. Le pH est légèrement acide [8].

Le lait est un milieu hétérogène dans lequel trois phases distinctes coexistent [9] :

- La phase aqueuse, qui contient l'eau (87% du lait) et les produits solubles pouvant donner naissance au lactosérum (lactose, sels, protéines solubles, composés azotés non protéiques, biocatalyseurs tels que vitamines hydrosolubles ou enzymes).
- La suspension colloïdale micellaire (2,6%), qui peut donner naissance au caillé obtenu par la coagulation des caséines suite à l'action de micro-organismes ou d'enzymes.
- L'émulsion (4,2%), qui peut donner naissance à la crème, une couche de globules gras rassemblés à la surface du lait par effet de gravité

1.3. Composition chimique du lait

Le lait est constitué essentiellement d'eau, de glucides (lactose), de protéines, de lipides et de sels dont les proportions diffèrent selon les espèces et des races (tableau n° I).

Tableau 1: La composition moyenne du lait de vache [10].

Les constituants biochimiques	Quantité
Eau	900 à 910 g/l
Glucides (lactose)	47 à 50 g/l
Lipides	35 à 45 g/l
glycérides	34 à 44 g/l
phospholipides (lécithine)	0,5 g/l
Protides	30 à 36 g/l
caséine	27 à 30 g/l
protéines solubles (albumines, globulines)	5,6 g/l
substances azotées non protéiques	1,5 g/l
Sels	8 à 10 g/l
Phosphate	30 g/l
Chlorure	15 g/l
Citrates	2 g/l
Vitamines	Très variants
Vitamine A	1500 UI
Vitamine D	20 UI
Vitamine E	0,8 mg
Vitamine K	Traces
Vitamine B1 (thiamine)	0,45 mg
Vitamine B2 (riboflavine)	1,5 mg
Vitamine B9 (pyroxène)	0,4 mg
Vitamine B12	0,003 mg
Vitamine PP (niacine)	0,9 mg
Vitamine acide pantothénique	3,5 mg
Vitamine C (acide axorbique)	20 mg
Enzymes	Traces
Pigments (carotène, xanthophylle)	Traces
Gaz dissous (anhydride carbonique, azote, oxygène)	Traces
Valeurs caloriques	700 - 730 cal

Chacun des constituants du lait possède une structure spécifique et des propriétés physico chimiques qui les distinguent des autres.

1.4. Composition biologique du lait

Selon Veisseyre (R). (1975) : le lait, même recueilli aseptiquement et provenant d'un animal parfaitement sain, contient toujours des cellules parmi lesquelles on distingue:

- Des cellules issues du sang et de la glande mammaire de l'animal.
- Des micro-organismes divers tapissant normalement le canal du trayon.

1.4.1. Les Cellules de la sécrétion lactée (cellules somatiques)

Comme tout liquide biologique, le lait, même normal contient des cellules somatiques. Elles sont de nature hétérogène. Outre les cellules d'origine sanguines (PMN, macrophages et les lymphocytes) impliquées essentiellement dans les défenses immunitaires de la mamelle, le lait contient également les cellules épithéliales qui proviennent de la desquamation de l'épithélium glandulaire ou des canaux lactifères, ces dernières ne jouent aucun rôle physiologique particulier [12].

La détermination du seuil est très variable mais le seuil de 200 000 cellules/ml semble le plus utilisé à travers le monde [13].

La présence des cellules somatiques ne présente, elle même, aucun pouvoir pathogène ou toxique mais elle est le signe révélateur d'existence de germes ou de produits indésirables [14].

1.4.2. Les Micro-organismes

Le lait contient peu de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, à partir d'un animal sain. Il s'agit essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores [15] [16]. Par contre, chez l'animal malade, d'autres microorganismes peuvent se trouver dans le lait et sont généralement pathogènes et dangereux du point de vue sanitaire [17].

Les bactéries, généralement, majoritaire de la flore totale peuvent être classées en deux grands groupes, flore non pathogène et flore pathogène [18].

1.4.2.1. Flore non pathogène

En général, 93 % des laits contiennent [19].

- Moins de 50 000 germes totaux/ml, où la flore psychrotrophe reste généralement dominante (3 000 bactéries/ml).
- Les flores lactiques et thermorésistantes sont présentes à des niveaux moyens de l'ordre de 1 000 bactéries/ml.
- Les teneurs moyennes en flores coliformes sont inférieures à 500 bactéries/ml (et).

Cette flore constitue la flore de transit sans grande conséquence pour les conservations ou les transformations ultérieures du lait [18].

1.4.2.2. La flore pathogène

Nombreux sont les germes pathogènes, qui peuvent contaminer le lait. Habituellement, sont ceux responsables de mammites; ils sont formés de deux groupes au sein desquels, on distingue les pathogènes majeurs et mineurs

- germes contagieux (*Streptococcus agalactiae, Staphylococcus aureus*).
- germes d'environnements (*Escherichia coli, Streptococcus uberis, Streptococcus dysgalactiae.*

D'autres germes, responsables de maladies infectieuses contagieuses, induisent également de temps à autre des troubles mammaires *: Brucelles, mycobactérium tuberculosis, bacillus anthracis,* virus de la leucose et de la fièvre aphteuse [20].

2.1. Définitions

La mammite est une inflammation d'un ou plusieurs quartiers de la mamelle quelle qu'en soit l'origine traumatique, chimique, physique ou biologique et le degré de la gravite clinique ou subclinique, l'évolution chronique, aigue ou suraiguë ou la terminaison. C'est-à-dire la guérison apparente réelle ou la mort de l'animal [21].

2.1.1. Mammite clinique

Se caractérise en plupart des symptômes cliniques directement perceptibles que se soit dans le lait (grumeaux, odeur, consistance…) ou au niveau de quartiers atteint (chaleur, douleur, rougeur…), et des perturbations de la sécrétion lactés.

Dans les cas aigus, des signes généraux peuvent surajouter au tableau clinique (fièvre, abattement, troubles nerveux par exemple) [22].

2.1.2. Définition d'une mammite subclinique

Se sont des infections mammaires asymptomatiques. Aucune modification macroscopique du lait, les germes responsables sont essentiellement le gram positif, on peut aussi trouvée des entérobactéries. Ces mammites sont identifies par des examens complémentaires et surtout par les résultats de CCS marquant l'inflammation de parenchyme mammaire ou des analyses bactériologiques de lait mettant en évidence l'infection [22].

2.1.3. Mammite non spécifiques

Ce type de mammite se présente lorsqu'aucun germe pathogène n'est isolé et identifié [23].

2.2. Etiologie des mammites

[24], l'infection de la glande mammaire est due à la pénétration de micro-organismes pathogène par le canal du trayon, plus de 2000 espèces du germes ont été identifié, qui sont d'une importance inégale basée sur la combinaison de la fréquence, de la persistance et de la sévérité des infections qui varient selon l'espèce en cause.

2.2.1. Espèces bactériennes responsables

On distingue les agents pathogènes majeurs et les agents pathogènes mineurs [25] :

1) Les agents pathogènes majeurs:

a) Les agents pathogènes majeurs contagieux comprennent:

- *Staphylococcus aureus* (coagulase +);
- *Streptococcus agalactiae*.

b) Les agents pathogènes majeurs d'environnement comprennent :

- *Escherichia Coli, klebsiella* ;
- *Streptococcus uberis;*
- *Streptococcus dysgalactiae;*
- *Arcanobacterium pyogénes*.

2) Les agents pathogènes mineurs:

Sont des bactéries bien adaptées à la glande mammaire et qui ne causent pas de dommages importants, ce sont surtout les *staphylocoques* coagulase négative, *corynébacterium spp* et les microcoques, d'autre agents mineurs comme *enterobacter spp, Serratia spp, pseudomonas spp, proteus spp, enterococcus spp, citrobacter spp* sont de moindre importance et proviennent majoritairement de l'environnement.

2.3. Pathogénie

Le processus infectieux passe par trois phases :

2.3.1. Phase d'invasion

Le stade d'invasion est celui ou les germes passent de l'extérieure du canal du trayon et finissent par s'établir dans la partie inferieur de la cavité de trayon, hormis le cas des mammites d'origine hématogène (mammite brucellique tuberculeuse) [26] [27] [23].

2.3.2 Phase d'infection

Les germes se multiplient rapidement et envahissent le tissu glandulaire, une population bactérienne s'installe alors dans le canal du trayon, puis la multiplication et l'extension au tissu mammaire peut se produire fréquemment ou épisodiquement selon la sensibilité de ce tissu [28].

2.3.2. Phase d'inflammation

Dans ce cas la mammite clinique se manifeste et/ ou la numération leucocytaire du lait est élevée [28]. En générale, la présence d'un germe constitue un obstacle au développement des autres germes. C'est la raison pour laquelle dans une exploitation, la flore se limite habituellement à une, voire deux espèces pathogènes [4].

2.4. Diagnostic des mammites

Après avoir réalisé l'examen général de l'animal, on effectue un examen minutieux de la mamelle, cet examen comprend une inspection à distance de la mamelle, une palpation superficielle puis profonde, avec notamment une palpation des nœuds lymphatiques retromammaires de la glande et des trayons. On réalise également un examen du lait en trayant les premiers jets dans un bol à fond noir [29] [30] [31].

2.4.1. Diagnostic des mammites cliniques

Ce diagnostic repose sur la mise en évidence des symptômes caractéristiques de l'inflammation de la mamelle, les signes généraux sont présents lors de mammites aigue et surtout suraiguës [32]. Lorsque l'inflammation est modérée les signes généraux sont absents et seuls sont présents les signes fonctionnels. Ces modifications concernent l'aspect, la coloration et l'homogénéité du lait [33].

2.4.2. Diagnostic des mammites sub cliniques

Selon Radostits, O. M, et al (1997) : le diagnostic des mammites sub-cliniques est basé sur:

- Le dénombrement des cellules somatiques dans le lait;
- La recherche des modifications physico-chimiques du lait;
- L'analyse bactériologique.

2.5. Traitement des mammites

Selon Charron, F. (1989) et Hanzen, CH. (2000): la stratégie curative repose essentiellement sur l'antibiothérapie. Cependant, cette dernière doit répondre à certains critères bactériologiques, pharmaceutiques, cliniques et enfin économiques.

Traiter correctement les mammites cliniques en lactation c'est donc également prévenir une infection mammaire au sein d'un troupeau, l'objectif de ce traitement n'est pas uniquement à la rémission des symptômes cliniques, mais c'est également l'élimination de l'infection, ceci nécessite un traitement correctement réalisé [36].

2.5.1. Traitement parentéral

Préconisé lorsque l'animal présente des signes généraux et/ou lorsque la mamelle est très enflée (diffusion d'antibiotiques par voie intra mammaire est impossible). Utilisé surtout lors de mammite suraiguë ou aigue afin de prévenir l'apparition d'une septicémie ou d'une bactériémie [37] [38].

2.5.2. Traitement intra mammaire

Selon [39] C'est le mode de traitement le plus utilisé, la diffusion du produit injecté dépend de trois facteurs : l'état inflammatoire de la glande, la vacuité des canaux lactifères et la nature de l'excipient. Le choix de la molécule se fera en fonction du germe causal :

2.5.2.1. Les bêtalactamines

La plus part diffusent largement et rapidement mais leurs concentrations intra cellulaire est toujours très faible. La pénicilline est très efficace contre les *streptocoques* surtout *streptocoque agalactiae*. Les céphalosporines contre les *staphylocoques* et les germes résistants à la pénicilline.

2.5.2.2. Les tétracyclines

Les *corynébactéries* ainsi que les *mycoplasmes* y sont très sensibles agissent en synergie en association avec les macrolides et les chloramphénicols.

2.5.2.3. Les aminosides

Ont une bonne action sur les coliformes, corynébactéries et streptocoque, et staphylocoque anaérobies et présentent une bonne association avec les bétalactamines.

2.5.2.4. Les macrolides

Ont le même spectre que les pénicillines et ce sont les plus indiqués car leur diffusion intra cellulaire est excellente ainsi que leur persistance [40].

2.5.3. Traitement des mammites sub-cliniques

Pour des raisons économiques et épidémiologiques, le traitement des mammites sub-cliniques n'a pas lieu d'être préconisé en cours de lactation. Il doit être mis en place lors du tarissement, par l'administration d'une suspension antibiotique intra-mammaire [41].

2.5.4. Traitement au tarissement

L'objectif est différent selon l'état infectieux de la vache au moment du tarissement. Si La mamelle de la vache est saine au moment du tarissement, le seul objectif sera de prévenir des nouvelles infections souvent dues à des germes d'environnement, en fin de période sèche.

Par contre, si la vache présente une mammite sub-clinique au tarissement, on aura un objectif supplémentaire curatif: la guérir bactériologiquement de cette infection [13].

2.5.4.1. Stratégies thérapeutiques

2.5.4.1.1. Traitement antibiotique

Il est le traitement majeur des vaches infectées au tarissement. Il s'effectue par voie diathélique grâce à l'utilisation de seringues intra mammaires et a un rôle à la fois curatif et préventif.

- **L'action curative :** dirigée vers les germes à Gram+. Le traitement au tarissement pourra être plus efficace qu'un traitement au cours de la lactation car on pourra utiliser une dose plus importante d'antibiotiques sans crainte de résidus dans le lait et le contact sera étroit et prolongé avec le germe du fait de l'involution mammaire et de l'absence d'effet chasse-lait [42].
- **L'action préventive :** dirigée contre les germes d'environnement particulièrement à Gram– comme *E.coli* [22].

Le traitement antibiotique offre également une protection non négligeable aux quartiers non infectés des vaches infectées [43].

2.5.4.1.2. Traitement sélectif

Il consiste à ne traiter au tarissement que les vaches considérées comme infectées. Ce système a un intérêt économique [44]. Mais a aussi une importance au niveau de la santé publique avec la demande croissante d'une baisse de l'utilisation des antibiotiques pour les animaux destinés à la consommation humaine, afin de limité les résidus dans les denrées d'origine animale [43].

2.5.4.1.3. Traitement avec obturateur interne

Il s'agit d'une substance non antibiotique inerte placée dans le canal du trayon. Après administration, il obture le trayon afin d'empêcher les bactéries de pénétrer, il a pour fonction de mimer le bouchon de kératine du trayon [45].

Il s'administre dans les trayons après la dernière traite et s'enlève juste avant le vêlage. Ce traitement ne peut s'effectuer que sur des vaches saines car il n'a aucune fonction curative, son grand intérêt est son rôle préventif [46].

2.5.4.2.4. Autres techniques

La vaccination a pu être envisagée mais il en résulte une augmentation des immunoglobulines du lait sans diminuer les infections [47].

3.1. Les résidus d'antibiotiques dans le lait

Les résidus sont définis comme toute substance pharmacologiquement active, qu'il s'agit de principe actifs, d'excipient ou de métabolite présent dans les liquides et tissus des animaux après administration des médicaments et susceptibles d'être retrouvés dans les denrées alimentaire produit par ces animaux [48].

3.2. Les causes de la présence des antibiotiques dans le lait

Les causes les plus fréquentes de présence d'antibiotiques dans le lait sont [49] :

- Le non respect du délai d'attente des médicaments «c'est le temps nécessaire après la dernière administration du médicament pour que le lait ne présente plus de résidus d'antibiotiques».
- La traite des quartiers de la mamelle d'une vache traitée par des antibiotiques.
- Le lait résiduel dans les équipements de traite utilisés pour les vaches traitées.
- La traite d'une vache récemment achetée et traitée chez l'ancien propriétaire.
- Le transfert accidentel du lait contaminé dans la citerne de stockage du lait sain.
- Le non respect de la dose et la voie d'administration des médicaments au cours des traitements.

3.3. Importance et conséquences de la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait

3.3.1. Importance et conséquences sur la santé publique

La présence de résidus d'additifs ou de substances médicamenteuses dans les denrées d'origine animale constitue une préoccupation permanente en hygiène et sécurité des denrées alimentaires en vues de préservés la santé de consommateur.

La toxicité directe aigue de résidu d'antibiotique est d'antibiotique est nulle : le risque toxique d'une dose unique et importante est inexistant au regard des quantités que le consommateur est susceptible d'absorber [50].

Seul le chloramphénicol est interdit en production animales, faisant exception à la règle du fait des propriétés aplasiantes sur la moelle osseuse [51].

3.3.2. Les risques pour la santé publique

Le principal danger est une manifestation des symptômes de choc allergiques, particulièrement d'éruptions cutanées, des manifestations respiratoires, des réactions articulaires et des troubles digestifs. Par ailleurs, l'absorption des antibiotiques se traduit par deux types de modifications de la flore intestinale: une transformation dans l'équilibre des germes, qui se traduit par la disparition des Gram négatif. Par suite d'une accoutumance (antibiorésistance), même avec de faibles doses d'antibiotiques consommés dans l'alimentation; on observe un développement de bactéries pathogènes résistance aux antibiotiques, qui provoquent une infection dans l'organisme et ne sont pas affectées par un traitement aux antibiotiques [52].

3.3.2.1. Risques toxiques

La consommation de lait et de produits laitiers contenant des antibiotiques, tels que pénicillines, tétracyclines, est un danger potentiel pour la santé des consommateurs [53].

Les risques toxiques dans ce cas résultent de l'absorption répétée de résidus d'antibiotiques retrouvés dans les aliments et de leur accumulation dans l'organisme humain. Les manifestations de cette toxicité dépendent de la dose administrée et de la voie d'administration. Ce risque est inexistant en ce qui concerne les résidus d'antibiotiques dans le lait car les quantités retrouvées dans le lait sont toujours trop faibles [54] [55].

3.3.2.2. Le risque allergique

Les réactions sont en générale consécutives à la consommation de lait contenant des traces d'antibiotiques et ces accidents se caractérisent, le plus souvent par une symptomatologie variée : dermatoses, manifestations respiratoires, réactions articulaires, trouble digestive, réactions œdémateuses du type œdème de Quincke. Mais aussi dans les cas graves, par un choc anaphylactique mortel [56].

Des très faibles taux de résidus présent dans l'organisme, comparés à la concentration d'antibiotiques administrés à titre curatif ou prophylactique, il est très improbable qu'ils soient à l'origine d'une sensibilisation primaire de l'individu, il ne pourrait par conséquent intervenir qu'en tant que facteur déclenchant [57].

3.3.2.3. Risques cancérigènes

Certains antibiotiques ont des propriétés carcinogènes connues. Les résidus de ces antibiotiques peuvent avoir un effet carcinogène sur le long terme, suite à une consommation régulière d'aliments contenant ces résidus. Ces antibiotiques ou composés utilisés comme antibiotiques sont alors interdits d'utilisation chez les animaux de production. C'est le cas des nitrofuranes et des nitroimidazoles [58].

3.3.2.4. Risque bactériologique

Ces risques bactériologiques sont représentés par deux phénomènes principaux correspondant à des modifications qualitatives et/ou quantitatives de la flore bactérienne du tube digestif des consommateurs. Ce sont [59] :

- La sélection de souches bactériennes résistantes.
- Le déséquilibre de la flore bactérienne normale du tube digestif.

3.3.2.4.1. La sélection de souches bactériennes résistantes

De nombreux travaux scientifiques ont alors démontrés que la présence de résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires était à l'origine de l'émergence de résistances bactériennes chez les humains, ceci s'explique par le fait que la présence d'un antibiotique à des taux supérieurs à la concentration minimale inhibitrice entraînerait des modifications génétiques au niveau bactérien conférant ainsi à la bactérie la possibilité de survivre en présence de l'antibiotique en question [60].

3.3.2.4.2. Modification de la microflore intestinale

La présence d'un antibiotique dans le milieu intestinal peut conduire à une modification de la composition de la flore : un antibiotique particulièrement actif contre les germes anaérobies et les gram+ vont détruire une partie importante de la flore digestive. Le vide ainsi crée pourra être rempli par d'autres micro-organismes qui pourront alors proliférer et devenir pathogènes. Ces micro-organismes peuvent être soit des germes de la flore subdominante (*E.coli*), soit des germes en transit (*Candida albicans, Salmonella sp*) [61].

3.4. Risques technologiques

Pour les industries laitières, les résidus antimicrobiens ont des conséquences néfastes au niveau technique pour la transformation du lait en produits laitiers, notamment pour la fabrication

des fromages et du beurre. Elles résultent essentiellement de l'inhibition totale ou partielle des phénomènes fermentaires d'origine bactérienne. Ainsi, toutes les étapes de la transformation du lait en fromages peuvent être perturbées : il y a défaut de coagulation du lait et le caillé ressort de mauvaise qualité, une insuffisance de l'égouttage et le rendement de fabrication est diminué ; il y a une mauvaise maturation du fromage (consistance, couleur, odeur, gout modifiés) ainsi qu'une prolifération anarchique des bactéries coliformes insensibles aux ATB et dont la multiplication n'est plus inhibée par les ferments lactiques. Concernant la fabrication du beurre, il y a une mauvaise acidification, une diminution du développement des germes d'arome d'où pertes de gout et d'arome, ainsi qu'une diminution du rendement de fabrication [54].

Les résidus d'antibiotiques peuvent rendre une fabrication impossible ou le plus souvent être à l'origine de baisses de rendement, de faveurs anormales et de développement de flores indésirables [62].

3.5. Risques économiques

Les pertes subies, chaque année, par les industries laitières sont estimées à des centaines de millions de dollars [61].

La présence des résidus d'ATB dans le lait en interdit sa commercialisation et risque de perturber les échanges internationaux, surtout si des substances d'utilisation interdite chez la vache laitière sont retrouvées (chloramphénicol) [63].

3.5.1 Importance des résidus inhibiteurs en industrie laitière

Les technologies laitières reposent en partie sur l'utilisation de bactéries lactiques. Celles-ci sont responsables de l'acidification de lait qui permet la coagulation des caséines, elle participe au développement des arômes dans de nombreux produits laitiers surtout les yaourts [64, 63].

Tableau II : Quelques micro-organismes utilisés en technologie laitière et leurs propriétés [65,11].

Genre	Bactérie	Propriété
Streptococcus	*S. thermophilus*	Acidification et maturation des fromages
	S. lactis	Coagulation spontanée.
	S. diacetylactis	Ferment d'arôme (crémerie et beurrerie).
Leuconostoc	*L. citroyorum*	Ferment d'arôme (crémerie et beurrerie).
Lactobacillus	*L. bulgaricus*	Acidifiant puissant (flore spécifique du yaourt agent responsable de la
	L. lactis	Maturation des fromages et acidification.
	L. casei	Maturation des fromages.
	L. caucasicus	Fermentation du kéfir.

3.5.1.1 Conséquences de l'inhibition des ferments lactiques

La plupart des micro-organismes utilisés en technologie laitière sont plus ou moins sensible à la majorité des antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire, susceptibles d'être à l'origine de résidus et en particulier aux béta-lactamines. De très faibles concentrations de résidus d'antibiotiques peuvent ainsi inhiber l'activité de ces micro-organismes. L'inhibition des ferments lactiques est totale à une concentration de 0,50 UI /ml [18].

Les traitements par la chaleur (pasteurisation, stérilisation, upérisation, dessiccation) comme l'adjonction de pénicilline n'ont pratiquement aucun effet inactivant sur les résidus d'antibiotiques, la pénicilline peut aussi se trouver à partir de lait cru ou traité par la chaleur, aussi bien dans les produits de transformation laitière (lait fermenté, beurre, fromage) que dans la poudre de lait.

4.1. Définition

La législation algérienne relative à la qualité du lait rend obligatoire la recherche de résidus d'antibiotiques dans laits crus, lait déshydratés conditionnés, et les laits déshydratés destinés aux industries alimentaires. Les résultats de cette recherche doivent être **négatifs**, soit **absent** d'antibiotiques dans les laits cités précédemment (**Journal Officiel de la république Algérienne N 35 du Safar 1419 correspondant au 25 mai 1998).** En revanche le législateur algérien ne fixe pas à notre connaissance les modalités de cette recherche (voir Annexe A).

De nombreuses méthodes permettant de rechercher la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait. Elles différent par leur sensibilité, leur coût, les difficultés techniques et matériels inhérentes à leur réalisation. Certaines permettent outre une identification précise de la molécule en cause. Une quantification fine de celle-ci.

4.2. Méthode microbiologique

La méthode repose sur les compétences d'un personnel de laboratoire qualifié, des délais de réalisation relativement longs (entre 16h et 24h) pour épreuve de confirmation. Différant kits de détection ont été développés. Ces derniers peuvent être utilisés par le vétérinaire ou l'éleveur au niveau de la ferme ou par les techniciens au niveau des laiteries ou des unités de transformation laitière.

a. Le Delvotest SP®

Le Delvotest (MCS®), le kit de détection de résidus d'antibiotique le plus largement utiliser. Déférentes déclinaisons simplifiée de ce test existent (Delvotest P®, Delvotest SP®) mais elles reposent toutes sur les mêmes principes d'inhibition de Bacillus Stearthermophilus .Ces test se présentent sous forme de kits normalisés contenant un nombre standardisé de spores de la bactérie dans le milieu gélosé [66].

L'échantillon de lait à tester est mis à diffuser dans le milieu gélosé contenant des substances nutritives, un indicateur de ph et du triméthoprime. Après une incubation à 64C° de 2h30 pour le Delvotest P® et de 3h pour le Devotest SP ®, la croissance normale du micro-organisme et la production d'acide qui résulte provoquent un virage de couleur de l'indicateur de PH du poupre au jaune .En présence de substances inhibitrices, la couleur poupre du milieu gélosé persiste après la période d'incubation prescrite [67].

Ces tests présentent un spectre de détection et une sensibilité vis –a -vis des pénicillines comparable à ceux de la méthode d'acidification officielle. Néanmoins ils ne permettent pas la détection de certaines molécules antibiotiques telles que les tétracyclines et les quinolones qui pourraient être présentes dans le lait à des teneurs supérieure aux LMR .aussi pour certaines substances interdites comme le chloramphénicols et nitrofuranes[68].

b.le Copan Test P® et S 100 ®

Les Copan Test P® et Copan Test S100® kits : on le même principe que le Delvotest SP®, la seule différence que la tablette nutritive préalablement incorporée à gélose, ce qui réduit la procédure d'une étape par rapport Delvotest ®. Ils associent le principe de diffusion en gélose avec la réduction d'un indicateur coloré. L'absence de substances antibiotiques inhibitrices est indiquée par un virement de l'indicateur. Il se présente sous la forme de tubes unitaires ou de microplaques prêts à l'emploi permettant selon la présentation d'effectuer des analyses individuelles ou collectives.

Le Copan Test® moins sensible que le Delvotest SP®. Des résidus désinfectants de certains vermifuges en forte concentration sont susceptibles de perturber l'analyse .Les résultats peuvent être également faussés par du lait sub-mammiteux au pH alcalin [69].

c.Valio-T®

C'est un test assez similaire du Delvotest SPdans sa méthode et son spectre de détection .Mais il est encore plus long dans sa réalisation ce qui en limite l'intérêt .Il présentait dans le passé, l'avantage d'avoir une sensibilité proche de l'ancienne méthode officielle, puisqu' il utilise Streptococcus thermophilus comme organisme test [70] [68].

d. Farm Test ®

Le CHARM FARM Test ® est un test qui utilise une seule fiole en seule étape, permet de détecter cinq familles de produits vétérinaire : les bèta-lactamines , les sulfamides ,les tétracyclines , les aminosides et les macrolides dans le lait cru de vache .

Les résultats restent stables pendant 8h après le test et peuvent être lus par comparaison de couleur ou par l' utilisation d'un Ph mètre .Cependant, l'acquisition d'un matériel spécifique le (Charmment Auto Farm) est nécessaire à réalisation de ce test .Une présentation sous forme de microplaque : (Charm AIM-96) permet de tester plus 90 échantillons en moins de 4 heures.

4.3. Méthode enzymatique

a. Test Penzym®

Reposent sur inhibition par les béta-lactamines éventuellement présentes dans le lait à tester d'une enzyme : la DD carboxypeptidase. Cette inactivation traduit par l'apparition d'une coloration jaunâtre au lieu de celle rosée ou orangée habituellement observée en l'absence de résidus de béta-lactamines.

Rapide (20mn), il est très spécifique des bétalactamines (pénicillines et céphalosporines). Bien qu'il ne soit pas approuvé comme test officiel, il est largement ce test est très spécifique des bétalactamines (pénicillines et céphalosporines). Bien qu'il ne soit pas approuvé comme test officiel, il très largement utilisé en industrie laitière comme outil de screening des laits de grand mélange .la sensibilité de ce test est de l'ordre de, 0,004 à 0,012 U/ ml [71].

4.4. Méthodes immuno-enzymatique

Ces technique bien que rapide (de quelque minutes à vingt minutes), reste onéreux. Elles sont souvent spécifique d'une famille d'antibiotique (souvent les béta-lactamines) et se caractérise par des limites de détection inférieure aux LMR.

4.4.1. DelvoX Press TM BL®

Il consiste à faire réagir une quantité définie de lait à tester avec une quantité précise d'un soluté dit traceur qui a pour fonction de complexer les résidus antibiotique. Le mélange versé dans le tube recouvert d'un enduit spécifique qui est sensé réagir avec l'excédent de traceur libre .Le complexe traceur-antibiotique est éliminé par rinçages successifs et un substrat colorimétrique réagit avec traceur fixe sur les parois du tube.

Le test permet la détection spécifique des béta-lactimines.

4.4.2.Snap Tests ®

Le Snap test® se décline différentes versions (béta-lactamines,tétracylines ,gentamycine…) Les récepteurs présents peuvent se relier soit à l'antibiotique présent dans le lait ,soit aux antibiotiques fixés à la surface du test .Ce test permet de rendre un résultat en 10 mn.

4.4.3. Charm rosa milk mrl-3 ®

Ce sont des tests rapides permettant de détecter, aux seuils LMR les bêtalactamines ou les tétracyclines après une incubation de 8 mn a 55°C Ils utilisent le principe de l'immuno-chromatographie sur bandelette qui contient des anticorps et un colorant marqué. Tout à fait adapter à une analyse individuelle, la lecture est très simple et peut être faite sur un lecteur mémorisant [72].

4.4.4. Système CHARM II®

Ces méthode est subordonnée à l'utilisation d'un analyseur permettant de quantifier le produit d'une réaction d'immuno-compétition entre les résidus d'antibiotique éventuellement présent et une molécule marquée au carbone 14 ou au tritium. Cette technique permet de réaliser simultanément l'identification de la molécule et un dosage semi quantitatif relativement précis .Elle couvre en outre l'ensemble des antibiotiques (chloramphénicol) [73]

4.4.5. Beta Star Kit®

Le test Betastar est une méthode du type "Receptor Assay" basée sur l'emploi d'un récepteur spécifique lié à des particules d'or. Il permet la détection rapide, dans le lait, des résidus de Pénicillines et de Céphalosporines. Lors de la première étape d'incubation, les antibiotiques bêtalactamines, s'ils sont présents, se lient au récepteur. Pendant la seconde étape d'incubation, le lait migre sur un support immuno-chromatographique (membrane fixée a une bandelette) qui comporte deux bandes de capture. La première bande retient tous les récepteurs qui n'ont pas lié d'antibiotique pendant la première étape, faisant apparaitre une coloration rouge intense qui traduit une absence de résidus. En cas de présence de Bêta-lactamine en excès, les complexes récepteurs-antibiotiques formés ne peuvent pas se lier et aucune coloration n'apparait. La deuxième bande basée sur la fixation d'un anticorps, sert de référence et fait apparaitre dans touts les essais une coloration rouge d'égale intensité [74].

PARTIE EXPERIMENTALE

1. Recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru par le DELVOTEST SP

1.1. Période et lieu de l'étude

Notre étude expérimentale a portée sur la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru prélevé au niveau des élevages provenant de la commune d'Aghribs , Fréha et Timizart de la wilaya de Tizi-Ouzou, durant la période du 2 janvier au 24 Février 2014.
Le lait produit par ces vaches était destiné à l'auto consommation ou bien pour la transformation (fromage, yaourt, camembert).

1.2. Origine des échantillons

118 échantillons du lait cru, provenant de 118 vaches différentes, réparties au niveau de 18 élevages de bovins laitiers de trois communes (Aghribs, Freha et Timizart), ont été récoltés dans la wilaya de Tizi-Ouzou, choisis selon la facilité d'accès, la disponibilité et surtout l'esprit coopératif des éleveurs.

1.3. Les conditions de prélèvement du lait

Après lavage, séchage et désinfection des trayons et la mamelle, les premiers jets sont éliminés. Le lait est recueilli dans des flacons en plastiques stériles et identifiés (portant le numéro d'élevage, la vache et la région), d'une capacité de 60 ml, correspondant au mélange des quatre quartiers de la mamelle. Puis sont stockés et transportés dans une glacière à +4°C

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériels

2.1.1 Matériels de collecte

Le matériel utilisé est le suivant :

- Louche en acier pour le prélèvement du lait.
- Flacon en plastique avec bouchons stériles de 60 ml.
- Etiquettes adhésives pour l'identification des flacons.
- Glacière pour le transport des échantillons.

2.1.2 Matériels et appareillage de laboratoire

- Micropipette 0,1 ml à usage unique.
- Réfrigérateur.
- Incubateur à 64 °C
- Minuterie
- Le Kit Delvotest SP® (figure 1).

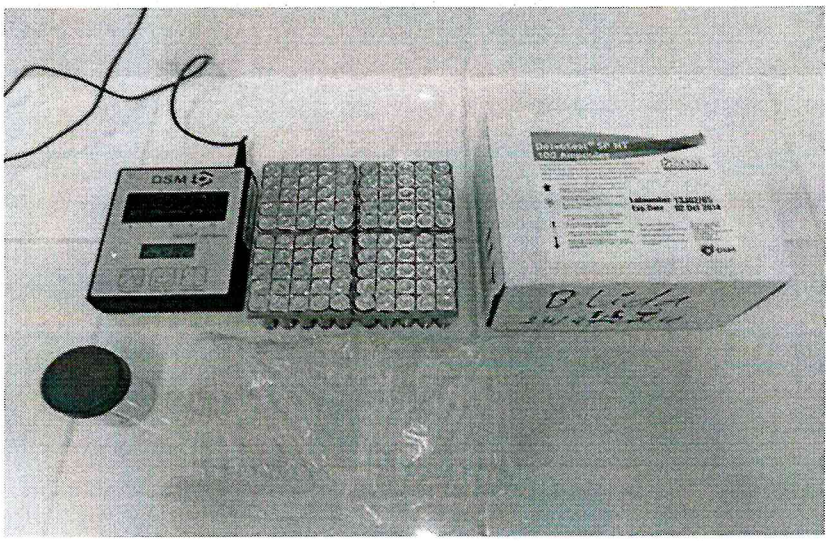

Figure 1 : Matériels et appareillage de laboratoire

Le kit d'analyse, Delvotest SP, composé de :

- ✓ 100 Ampoules séparées les un des autres renfermant un milieu gélosé solide violacé contenant un indicateur de pH et du triméthoprime, ensemencé par un germe test (Bacillus *stearothermophilus var.calidolactis*) et enrichis en éléments nutritifs de croissance. Les ampoules sont recouvertes d'une feuille d'aluminium.
- ✓ micropipettes stérile pour le prélèvement de 0,1ml des échantillons de laits, fournie avec le kit

2.2. Méthode :

2.2.1. Choix de la méthode :

Nous avons choisi cette méthode pour le large spectre des antibiotiques identifiés et la rapidité du test.

Les différentes étapes effectuées au cours de notre analyse sont les suivantes :

- Laver et sécher soigneusement les mains avant de manipuler le kit.
- Enlevé 10 tubes de lait cru identifie dans le réfrigérateur.
- Allumé l'incubateur jusqu' au réglage à la température 64,2°C.
- Enlevé le nombre d'ampoules nécessaires dans le kit, en faisant très attention à la feuille d'aluminium des ampoules adjacentes, ne pas arracher l'ampoule. (Figure 2).

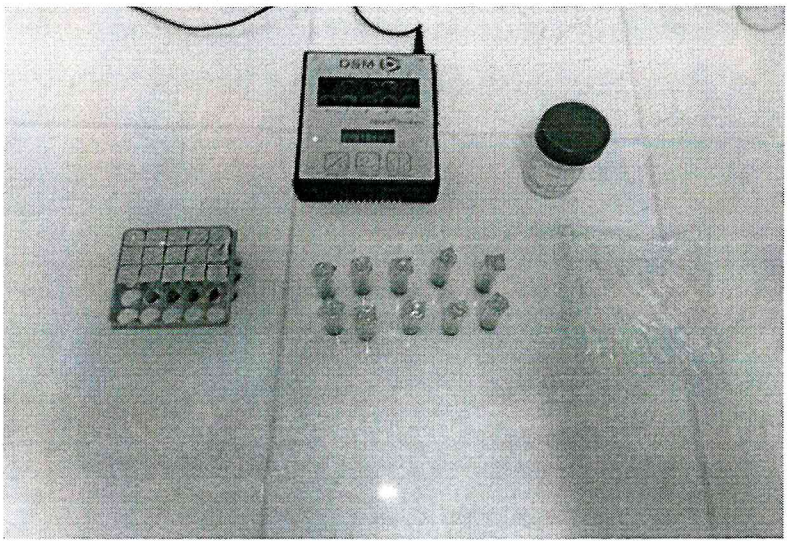

Figure 2 : Séparation du nombre d'ampoules.

- Replacer les ampoules restantes dans des conditions adéquates. Si la température des ampoules non utilisés monte jusqu'à la température ambiante, cela risque de réduire la durée de vie du test.
- Identifier les ampoules par des chiffres
- Ouvrir les ampoules en perçant un trou dans la feuille d'aluminium, avec la pointe de la seringue sans embout (Figure 3). Ne pas manipuler les ampoules de façon brusque, car le milieu gélosé risque d'être décollé. Cela peut affecter la qualité de coloration du test lors de la lecture des résultats.

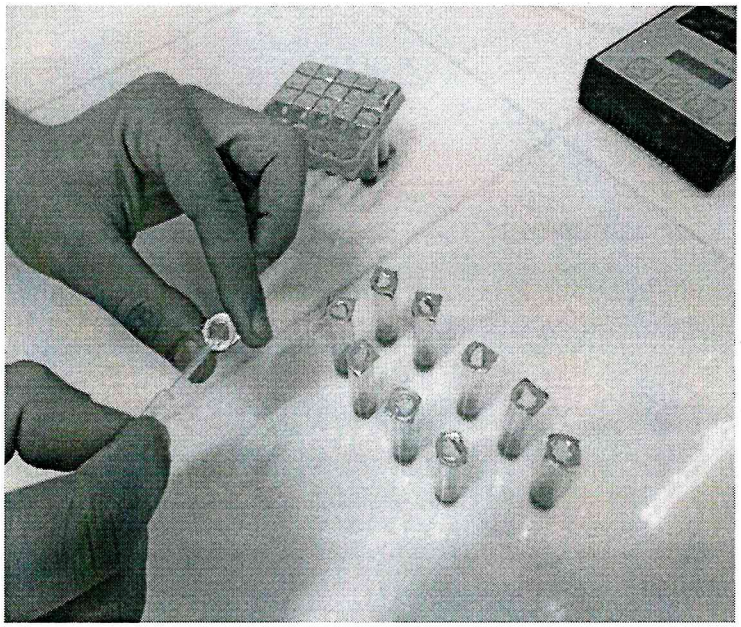

Figure 3: Ouverture de la feuille d'aluminium

- Agitation des échantillons de lait à analyser.
- Prélever 100µl de l'échantillon du lait par micropipette jetable, plongé d'environ1cm dans le lait (figure 4).

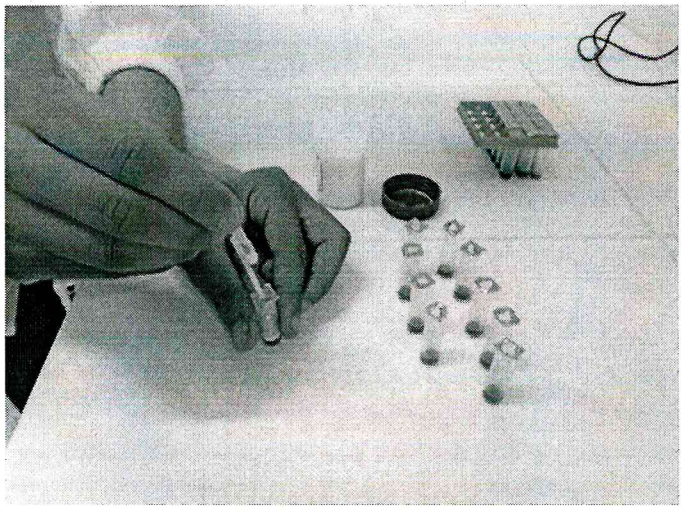

Figure 4: Prélèvement du lait

- Utiliser chaque micropipettes jetables pour chaque échantillon de lait tester
- Verser ensuite la totalité de l'échantillon de lait prélevé dans l'ampoule identifiée correspondant. Pour cela pressé lentement et complètement la micropipette pour ajouter le lait à la surface de l'agar.
- Couvrir les ampoules avec le papier adhésif (Figure 5) :

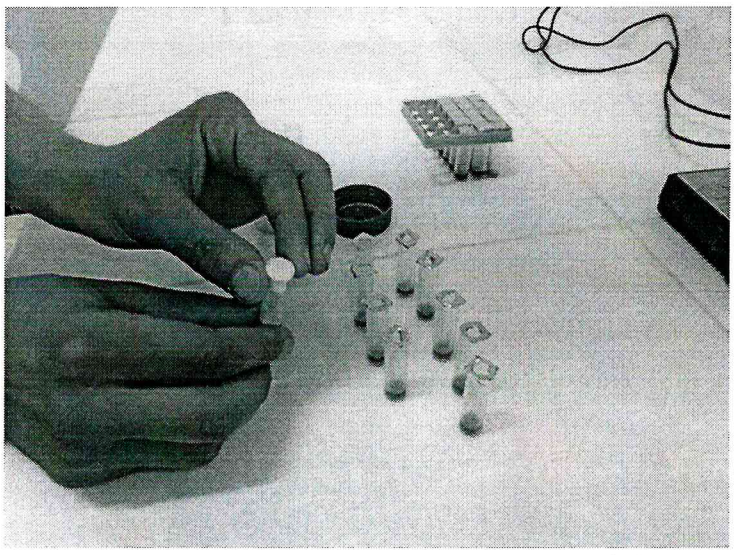

Figure 5 : couverture des ampoules.

- Placer les 10 ampoules dans un incubateur à 64,2°C pendant 3h (Figure 6). Des fluctuations excessives de températures affecteront la durée du test et sa sensibilité.

Figure 6: Incubation des ampoules

La lecture :

Pour le bon déroulement de la lecture on utilise en parallèle deux témoins :

- **Témoin positif :**

Un échantillon standard de pénicilline (4µg/l ou 4 ppb) : coloration violette.

- **Témoin négatif :**

Un échantillon de lait exempt d'antibiotiques : coloration jaune.

La lecture des échantillons doit se faire dans les 2/3 inférieurs de l'agar

Après 3 heures de l'incubation à 64,2°C, retirer les ampoules du l'incubateur et lire les résultats. Les résultats doivent être lus dans les 2 /3 inferieurs de l'agar (figure 7).

- Une coloration jaune indique l'absence de substance antibactérienne.
- Une coloration jaune/violette indique la présence de substance antibactérienne à une concentration égale ou inferieur au seuil de détection.

- Une coloration violette indique la présence de substance d'antibiotique inhibitrice dans l'échantillon de lait analysé à une concentration égale ou supérieure au seuil de détection.

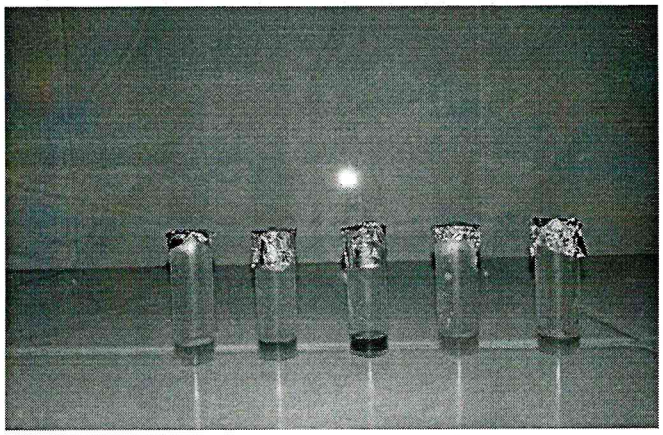

Figure 7 : lecture des résultats.

Le seuil de sensibilité du Delvotest SP se situe entre 2 et 4 ng/ml pour la pénicilline G et entre 25 et 100 ng/ml pour la sulfadiazine.

- **Remarque :**

Un échantillon de lait exempt d'antibiotiques et un échantillon standard de pénicilline (4µg/l ou 4 ppb). Sont systématiquement analysés en parallèle pour vérifier le bon déroulement du test.

3. Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans les laits crus d'élevages de la wilaya de TIZI-OUZOU :

Les résultats détaillés de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru des élevages sont représentés dans l'Annexe B.

Par rapport aux différentes localités, les résultats sont rapportés dans les tableaux suivants :

a.Région d'Aghribs

Le tableau et la figure 8 représentent les résultats obtenus de l'analyse des laits crus de la commune d'Aghribs.

Tableau II: Résultats de la recherche des résidus antibiotiques dans le lait cru de la commune d'Aghribs

Nombre d'élevages	Nombre de prélèvements	Positif (+)	%	Douteux (+/-)	%	Négatif (-)	%
1	11	0	0	2	18,18	9	81,82
2	2	0	0	0	0	2	100
3	16	0	0	0	0	16	100
4	18	0	0	1	5,55	17	94,45
5	3	0	0	1	33,33	2	66,67
6	5	0	0	0	0	5	100
Total	**55**	0	**0**	4	**7,27**	51	**92,73**

Ces résultats sont illustrés dans la figure 8 :

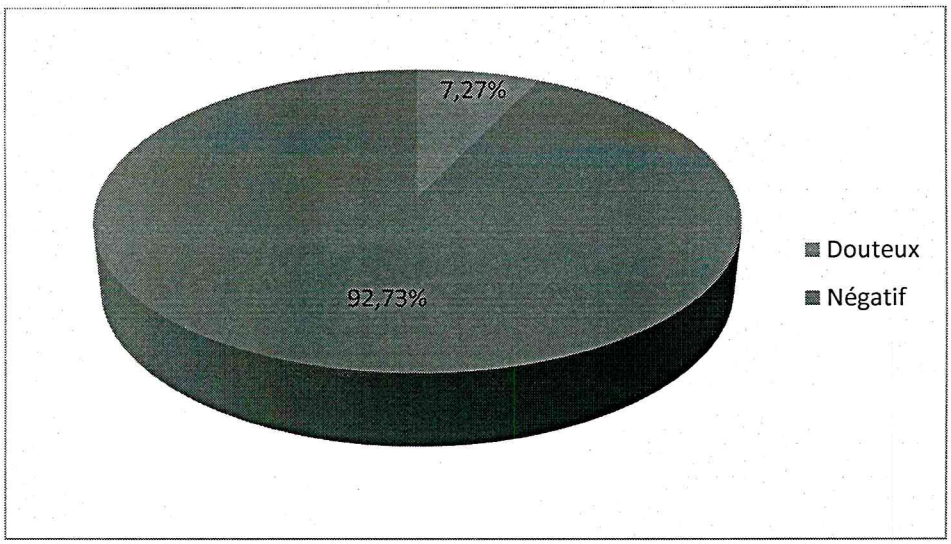

Figure 8 : Pourcentage de la contamination du lait par les résidus d'antibiotique dans la région d'Aghribs.

Les résultats provenant de la commune d'Aghribs montrent que :

- 51 échantillons de lait analysé sont négatifs, c'est-à-dire absence de résidus d'antibiotiques, soit (92,73%).
- Aucun échantillon de lait analysé est positif soit (0%).
- 04 échantillons de lait analysé sont douteux soit (7,27%).

Tous les prélèvements provenant du de la commune d'Aghribs ont révélé une négativité de 100 %.

a. Région de Fréha

Le tableau et la figure 9 représentent les résultats obtenus de l'analyse des laits de cru dans la région de Fréha.

Tableau III : Résultats de la recherche des résidus antibiotiques dans le lait cru provenant de la commune de Fréha :

Nombre d'élevage	Nombre de prélèvement	Positif (+)	%	Douteux (+/-)	%	Négatif (-)	%
1	28	0	0	3	10,71	25	89,28
2	15	0	0	2	13.33	13	86,67
Total	**43**	0	**0**	5	**11,63**	38	**88,37**

Ces résultats sont illustrés dans la figure 9 :

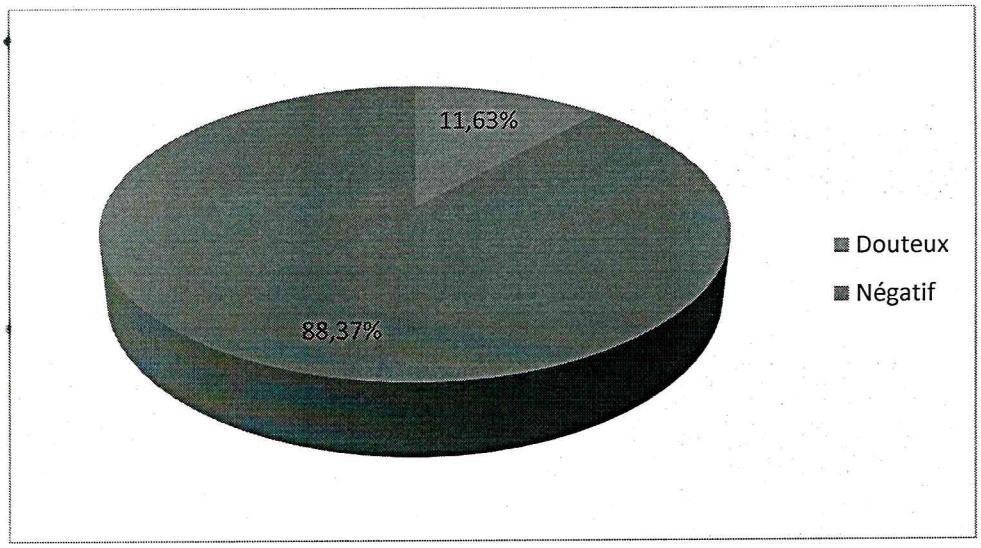

Figure 9: Pourcentage de la contamination du lait par les résidus d'antibiotiques dans la région de Fréha

Les résultats provenant de la commune de Fréha montrent que :

- 38 échantillons de lait analysés sont négatifs, c'est-à-dire absence de résidus d'antibiotiques, soit (88,37%).
- Aucun échantillon de lait analysé est positif, soit (0%).
- 05 échantillons de lait analysés sont douteux, soit (11,63%).
- Tous les prélèvements provenant des élevages de la commune de Fréha ont révélé une négativité de 100 %.

b. Région de Timizart

Le tableau IV et la figure 10 représentent les résultats obtenus de l'analyse des laits crus dans la région de Timizart.

Tableau IV : résultats de la recherche des résidus antibiotiques dans le lait cru provenant de la commune de Timizart :

Nombre d'élevages	Nombre de prélèvements	Positif (+)	%	Douteux (+/-)	%	Négatif (-)	%
1	4	1	25	0	0	3	75
2	5	0	0	1	20	4	80
3	4	0	0	1	25	3	75
4	4	0	0	1	25	3	75
5	3	0	0	0	0	3	100
Total	**20**	1	**5**	3	**15**	16	**80**

Ces résultats sont illustrés dans la figure ci-dessous :

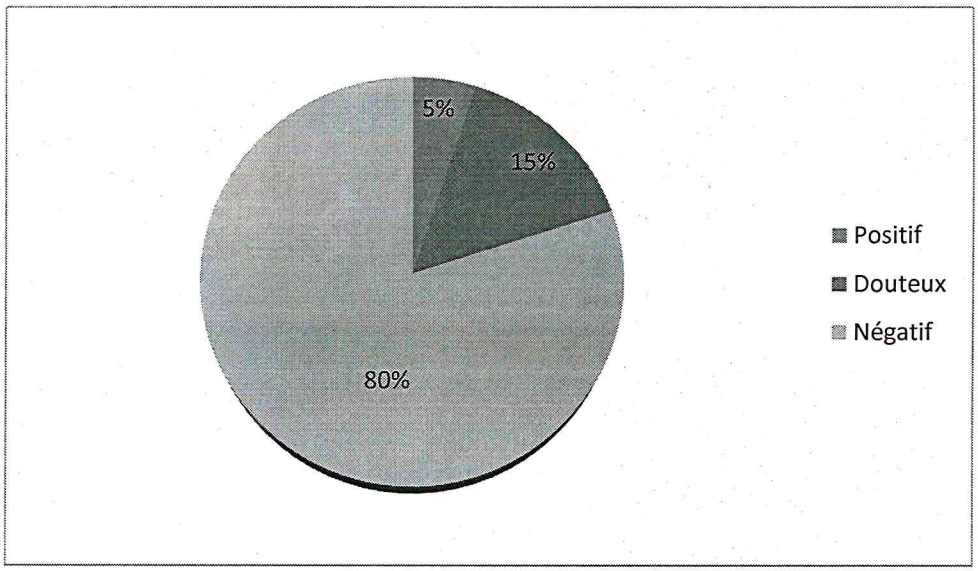

Figure 10 : Pourcentage de la contamination du lait cru par les résidus d'antibiotiques dans la région de Timizart.

Les résultats provenant de la commune Timizart montrent que :

- 16 échantillons de lait analysé sont négatifs, c'est-à-dire absence de résidus d'antibiotiques, soit (80 %).
- 01 échantillon de lait analysé est positif soit (5 %).
- 03 échantillons de lait analysé sont douteux soit (15 %).

Tous les prélèvements provenant du de la commune Timizart ont révélé une négativité de 100 %.

d. Les trois communes confondues (Aghribs, Fréha et Timizart).

L'association des résultats obtenus sur les laits crus des régions (Aghribs, Freha et Timizart) de la wilaya de Tizi-Ouzou est représentée dans le tableau V.

Tableau V: Résultats confondus de la recherche des résidus d'antibiotique dans les laits crus

Communes	Nombre de prélèvement	Positif (+)	%	Douteux (+/-)	%	Négatif (-)	%
Aghribs	55	0	0	4	7,27	51	92,93
Fréha	43	0	0	5	11,63	38	88,37
Timizart	20	1	5	3	15	16	80
Total	**118**	1	**0,85**	12	**10,17**	105	**88,99**

Il en ressort que 11,02% des laits crus testés (0,85% laits positifs + 10,17%laits douteux) sont contaminés par les résidus d'antibiotiques contre 88,99% des laits négatifs.

La figure 11 illustre la contamination des laits crus par les résidus d'antibiotiques dans les élevages des trois régions confondus (Aghribs, Fréha et Timizart).

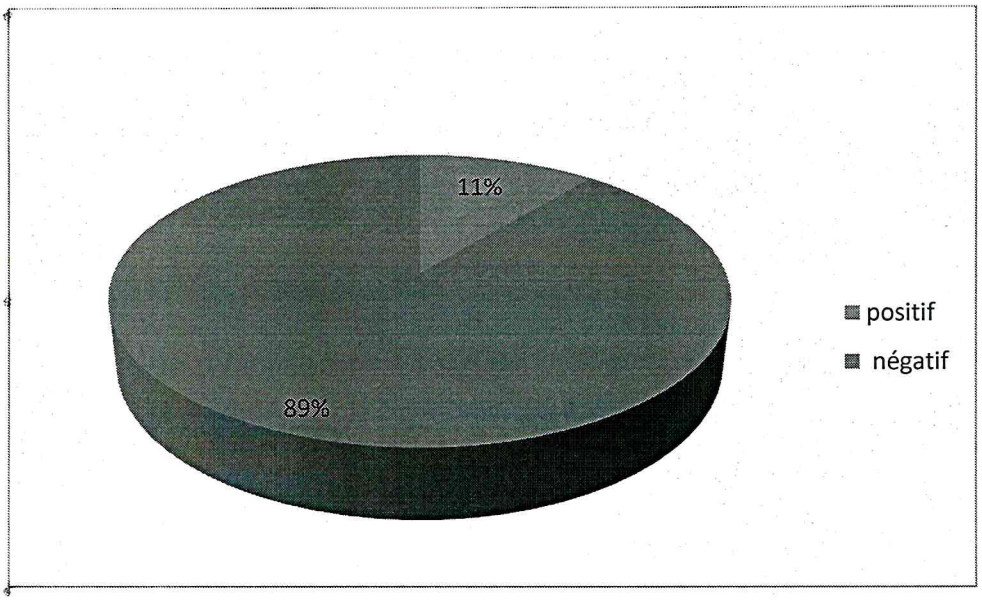

Figure 11: pourcentage de la contamination du lait cru par les résidus d'antibiotiques dans les trois régions confondus (Aghribs, Fréha et Timizart).

4. Discussion

Notre étude expérimentale, porté sur la recherche des résidus d'antibiotiques au moyen de Delvotest SP sur le lait cru provenant des communes d'Aghribs, Fréha, et Timizart de la wilaya de Tizi-Ouzou a montrée que:

- 13 échantillons sont contaminés par les résidus d'antibiotiques avec un taux de 11,02% (0,85% lait positif + 10,17% sont douteux).
- 105 échantillons sont négatifs, soit un taux de (88,78%).

4.1. Les résultats positifs

- Sur les 118 échantillons de laits crus analysés au moyen du Delvotest SP seulement 1 échantillon est positif, soit (0,85%). C'est-à-dire présentant des résidus à une concentration inférieure à celle du seuil de détection.

Notre resultat semble être inferieure à celle retrouvée dans le lait cru produit dans l'Algerois (Alger et de Boumerdes) par Ouslimani S en 2007. En effet, les taux de contamination retrouvés sont 9,87%:

La positivité de nos échantillons avec un taux de 0.85% permet de confirmer la croissance d'année en année, de la filière laitière qui peine à entrer dans un processus d'industrialisation et de la modernisation des élevages ; et aussi les connaissances des éleveurs dans ce domaine.

Mais aussi ces résultats bas peuvent être probablement expliqués par plusieurs hypothèses :

- L'utilisation des antibiotiques à titre curatifs afin d'éradiquer l'infection, d'éviter la mortalité des animaux et de restaurer leur production.
- Le non respect de la période colostrale (14 traites) [75, 76].
- La taille de notre échantillon, 118 provenant d'un nombre réduit d'élevage (13 élevages) limité pour des raisons d'accessibilité aux fermes et du fait des caractères artisanal des élevages (moyen thérapeutiques réduits, production limitée et destinée à l'autoconsommation des fermiers) pourrait expliquer le pourcentage bas d'échantillons positifs.

Le Devotest SP offre un large spectre de détection et présente une sensibilité voisine des

seuils LMR, il est facile à employer et accessible à tout le monde, il faut un minimum de rigueur pour mener à bien l'analyse.

Le principal inconvénient du Delvotest SP est sa durée : 2h 30 ou 3 heures, de plus il est très peu sensible aux agents désinfectants, qui ne peuvent le rendre positif qu'à des doses très importantes. Quand de tels produits sont utilisés pour nettoyer le matériel laitier dans les conditions normales, leurs concentrations finales dans le lait est tellement faible qu'elle n'influe pas sur les résultats du test. En général, la souche est inhibée à des concentrations de produits supérieures 0,1% (100 ppm ou plus) [76].

4.2. Les résultats négatifs

Notre résultat sur les laits crus a montré que 88,99% des laits sont négatifs.

La totalité de la négativité des échantillons de lait cru prélevée ne permet pas pour autant de conclure avec certitude que tout le lait cru dans ces régions est exempt de tout résidu d'antibiotique.

Le Delvotest présente l'intérêt d'avoir un spectre large de détection mais L'inconvénient de ce test est le manque de sensibilité à certains antibiotiques : Risque de Faux négatifs.

Il ne permet pas de mettre en évidence la totalité des molécules d'antibiotiques utilisées en élevage bovin laitier en Algérie, en l'occurrence, la colistine et la rifaximine.

Certains auteurs ont appliqué à tester l'activité de divers antibiotiques en solution dans le lait (normal ou mammiteux) vis-à-vis de population bactériennes (Streptocoques et Staphylococcus aureus). Les résultats montrent que le lait a une action inhibitrice sur l'activité des antibiotiques d'où la possibilité de faux négatifs [77][78][79][80][81].

Certains antibiotiques tel que la Néomycine, Kanamycine et le Chlorotétracycline sont réputés être sensibles à la chaleur, ils peuvent être détruit dans une proportion de 50% à 60% [81].

Vue les conditions d'élevage défectueuses (le non respect de la densité, la température élevée de bâtiment, le nombre de vache…) peuvent influencer d'une façon directe sur les résultats.

On peut penser aussi à la taille des élevages en moyen (15 à 20 vaches) sont plus exposées au risque des résidus d'antibiotiques.

La croissance d'une flore de contamination due à la mauvaise conservation du prélèvement pourra provoquer une acidification du lait ou une destruction de certains antibiotiques (la conservation d'un prélèvement une heure et demie à la température du laboratoire peut faire diminuer de 50% le taux de détection de la pénicilline dans un lait supplémenté avec 0,005 et 0,01UI de cette molécule) [63].

Le taux élevé de négativité des échantillons de laits crus analysés provenant des vaches de la région de Tizi-Ouzou peut être expliqué par la conscience et le savoir faire des éleveurs qui sont pour la plupart conventionnés avec laiteries de la région qui sont soucieux de l'image de leur produits.

4.3. Les résultats douteux

Pour la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru nous avons utilisé le Delvotest SP qui est un test de routine, qui donne souvent lieu à des taux un peut élever de lait douteux.

Dans notre cas nous avons trouvé 10,17% le lait cru douteux. C'est-à-dire que la concentration des résidus d'antibiotiques dans le lait cru est proche du seuil de détection du test (4 ppb Penicilline).

Pour trancher dans ces résultats il faut faire passé les échantillons dans des autres tests plus performant et plus sur tel la chromatographie en phase liquide (HPLC), l'ELISA ou la méthode officielle qui demandent plus d'argent et de temps.

CONCLUSION

CONCLUSION

Le lait est un produit de large consommation par excellence. Largement utilisé par les industries et la filière laitières, c'est pour ce la, nous nous somme intéressés dans le cadre de notre travail à l'estimation de la qualité de ce produit.

Pour la recherche systématique des résidus d'antibiotiques dans les échantillons de lait il est nécessaire de disposer des méthodes de détection spécifiques et fiables.
Et pour cella nous avons choisie le Delvotest SP dans notre étude qui est plus avantageux, fiable et sensible.
Les résultats de cette étude ont permet de mettre en évidence une contamination faible des résidus d'antibiotiques, qui est un critère majeur de bonne qualité.

La présence d'un taux bas de positivité de résidus d'antibiotiques dans le lait a montré la conscience des éleveurs et leur sensibilisation vis-à-vis des risques de la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait cru essentiellement pour la filière laitière et la santé pour le consommateur.
A notre niveau, notre échantillonnage n'est pas suffisant, se qui ne nous a pas permis de conclure définitivement sur la qualité réelle du lait cru de vache, dans ces communes de Tizi-Ouzou car il faudrait sans doute effectuer des analyses sur un nombre d'échantillons beaucoup plus important avec une durée de stage plus longue.

RECOMMANDATIONS

Le vétérinaire a un rôle privilégie dans la filière laitière.

Par ces conseils il peut convaincre les éleveurs par son savoir faire pour assurer un lait de qualité.

A l'issu de notre étude, pour minimiser la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait cru avec tous les problèmes qui en découlent et pour garantir un aliment sain aux consommateurs sans risque pour leurs santé. Nous recommandons certaines notions faciles à l'application :

- Une utilisation adéquate des médicaments vétérinaires et mettre en place de bonnes pratiques d'élevage.
- Lors de tarissement les vaches traitées doivent être séparées des sains pour éviter toutes erreurs lors de la traite.
- Identifier toutes les vaches en traitement.
- Mentionner sur un registre tous les traitements administrés aux animaux.
- Eliminer les premiers jets du lait avants la traite .
- Interdiction de livraison du colostrum dans les 7 jours qui suivent le part.
- Le vétérinaire doit impérativement informer l'éleveur de respecter le délai d'attente du médicament pour éviter tout problème de résidus dans le lait.
- Vulgariser des techniques d'élevage et sensibilisation vis à vis des risques sanitaires et des règles d'hygiène à observer, au profil des éleveurs.
- Renforcer la réglementation par la prise de texte réglementaire de traçabilité lors de la collecte avec un suivi rigoureux au moment de l'élaboration des produits transformés, pour assurer la sécurité du consommateur.

- Il importe grandement de communiquer aux prés du grand public les risques des résidus d'antibiotiques des denrées alimentaires d'origine animale.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Cauty, I. et Pereau, J. M., (2005). La conduite du troupeau laitier : La qualité du lait, 1er Edition France agricoles, 55-57.

HACINI, N. (2007). Filière lait et risques alimentaires. Mag vet. 22-29.

3. Lederer J, (1977). Encyclopédie moderne de l'hygiène alimentaire. Tome II. Hygiène des aliments. 2ème édition. Edition Maloine, Paris, 310 pages.

4. Hanzen CH, (1999). Pathologie de la glande mammaire de la vache laitière: Aspects individuels et d'élevage. 4ème Edition Université de Liège.

5. FAO (1990)., Annuaire FAO de la production, vol 44, Rome,

6. Alais, C.H., Linden, G. et Miclo, L. (2003). Biochimie alimentaire, 5ème Edition Dunod. Paris, 163-189.

7. FAO, (1990). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaines : Alimentation et nutrition, Rome, (1998), n°20.

8. FAO., (1995). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine , Internet Explorateur.

9. Debry, G. (2001). Lait, nutrition et santé. Paris : Technique et documentation.

10. Anonyme, (2000). EMC universitaire 2000.

11. Veisseyre (R). (1975) Technologie du lait. 3ème édition. Paris : La maison rustique, 714p.

12. Rupp, R. (2000). Analyse génétique de la résistance aux mammites chez les ruminants laitiers. Thèse Doctorat de l'Institut National Agronomique, Paris-Grinon.

13. Bradley, A. J. et Green, M. J. (2004). The importance of the nonlactating period in the epidemiology of intramammary infection and strategies for prevention. Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract. **20:** 547-568.

14. Badinand, F. (1994). Maîtrise du taux cellulaire du lait. Rec.Méd.Vét, 170, n° 6/7, 419-427.

15. Jay, J.M. (1986). Modern food microbiology. 3th Ed, Van Nostrand Reinhold Cy.

16. Robinson, R.K. (1981). Dairy microbiology. Vol 1: The microbiology of milk. London: Appl. Sci. Publ.

17. Larpent, J.P. (1996). Lait et produits laitiers non fermentés. In BOURGEOIS, C.M., MESCLE, J.F. et ZUCCA, J. Microbiologie alimentaire tome I : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Edit Lavoisier Tech&Doc, Paris, 671 p.

18. Monosallier, A. (1994). La prévention des infections intra-mammaires par l'hygiène. Séminaire de la fédération internationale des laiteries, 29-34.

19. Sommelier, L. et Heuchel, V. (1999). Caractérisation microbiologique et aptitude technologique des laits ultra propres. Compte-rendu Institut de l'Elevage, n° 9983118, 32p.

20. Hanzen, CH. (2000). Preupédentique et pathologies de la reproduction male et femelle biotechnologie de la reproduction pathologie de la glande mammaire. 3ème et 4ème Edit université de Liège.

21. Hanzen, CH. (2004). Chapitre 8 Propédeutique de la glande mammaire 1er doctorat.

22. Serieys, F. (1995). Conditions et limites de l'efficacité du traitement au tarissement de la vache laitière. Bulletin des GTV **1:** 11-16.

23. Weisen J, P. (1974). Prophylaxie des mammites 2, dépistage des mammites .Edition Vigot frère.

24. Le Roux, Y. (1999). Les mammites chez la vache laitière inflammation de la glande mammaire : première pathologie en élevage laitier .Explorateur internet

25. Bouchard, E. (2003). Cours de pathologie mammaire, faculté de médecine vétérinaire de montréal.

26. Noireterre Ph. (2006). Suivis de comptage cellulaires et d'examens bactériologiques lors de mammites Cliniques chez la vache laitière : Etude expérimentale au centre d'élevage Lucien Bizet de Poizy. Thèse de diplôme de Docteur Vétérinaire.ENV Lyon.

27. Flache Hugues, (2002) : cinétique des comptages cellulaires de quartiers après mammites cliniques chez la vache laitière. Thèse De Docteur Vétérinaire. Ecole Nationnale Vétérinaire de Lyon, 72.

28. Cullen.G.A . (1966) : Cells in milk.Veterinary Bulltin, 36,337-346.

29. Matthews, J. (1999): Diseases of the goat, 2nd édition. Blackwell Science. Oxford, 266pp.

30. David, V. et De Cremoux, R. (2000) : Palpation et observation de la mamelle. Réussir La Chèvre, 237, 27-29.

31. Winkelmann, J. (2005) : Schaf- und Ziegenkrankheiten, *3.* Auflage. Eugen Ulmer KG, Stuttgart, 130 pp.

32. Rosenberger, G. (1979). Examen clinique des bovins. Les éditions de point vétérinaire.

33. Kelly, W.R. (1971). Diagnostic clinique vétérinaire maloine Sa. Editeur. 256-259.

34. Radostits, O. M, Blood, D. C et Gay, C.C. (1997) : Text book of the deseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses veterinary medicine: 15, 576. Eighth edition Saunders.

35. Charron, F. (1989). Contribution à l'étude de la prophylaxie des mammites bovines, approche critique de la lactation du groupement de défense sanitaire de nord. Thèse doctorat vétérinaire ENV. Alfort.

36. Rainard, P, (1979). Traitement des mammites de la vache laitière .Thèse Doc .Vet.

37. Ziv, G. (1980). Pratical pharmacokinetic aspects of mastitis thetapy 1: Parental treatment agri pratice, 277-290.

38. Lacombe, J.F. (1993). Les antibiotiques dans le traitement des mammites bovines. Bulletin des G.T.V n 02 ,21-28.

39. Rouxel,T. (2001). Etude de l'activité bactéricide de quelques antibiotiques in vitro en solution dans du lait. Thèse de doctorat d'état ENV. Nantes.

40. Berg, C. (2001). Infections intramammaires des vaches laitières enfin de lactation : Nature et sensibilité aux antibiotiques des bactéries pathogènes isolées.

41. Dedert, A. (2001). Traitement des mammites cliniques en élevage biologiques : Essai sur le terrain d'une huile essentielle. Thèse de diplôme de Docteur vétérinaire. Nantes.

42. Lepoutre, D. (1992). Le traitement hors lactation. Bulletin des GTV **3:** 11-15.

43. Browning, J.W., Mein.G.A., Barton, M., Nicholls, T. J. et Brightling, P. (1990). Effects of antibiotic therapy at drying off on mastitis in the dry period and early lactation. Aust. Vet. J. 67: 440-442.

44. Browning, J. W., Mein, G. A., Brightling, P., Nicholls, T. J. et Barton, M. (1994). Strategies for mastitis control: dry cow therapy and culling. Aust. Vet. J. 71: 179-181.

45. Bradley, A. J. et Green, M. J. (2000). A study of the incidence and significance of intramammary enterobacterial infections acquired during the dry period. J. Dairy Sci. 83: 1957-1965.

46. Berry E, A. et Hillerton, J. E. (2002). The effect of an intramammary teat seal on new intramammary infections. J. Dairy Sci. **85:** 2512-2520.

_47. Smith K, L., Todhunter, D. A. et Schoenberger, P. S. (1985). Environmental pathogens and intramammary infection during the dry period. J. Dairy Sci. 68: 402-417.

48. Laurentie, M, Sanders, P. (2002) : résidus de médicaments vétérinaires et temps d'attente dans le lait, Bull. Group. Tech. Vét., 2002(15), 197-201.

49. Anonyme7. (1995) : a propos de la contamination physique et chimique du lait, l'iode. Institut de l'Elevage.

50. Duflocq F; (1982): les résidus d'antibiotiques dans le lait après un traitement par voie intra mammaire. Thése pour le doctorat vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.92 p.

51. keck G,(1981): chloramphinicol: antibiotique à risque ? Rec. Méd. Vét ;157(6),507-513.

52. Schmid A ; 1983 : chloramphenicol résidues in foods of animal origin as a potential cause of aplastic anemia in man. Fortschr Med.Nov.10;101(42): 1913-20.

53.Berche, P, Louis, J et Simonet, M, (1991). « Bactériologie : les bactéries des infections humaines», Éd. Médecine Sciences, Flammarion, Paris

54. Labie, CH, (1981). «Dispositions législatives destinées à éviter la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait». Rec. Méd. Vét., 157, 161-167.

55. Gaudin, P, (1999). «Origines et conséquences des substances dites inhibitrices dans la filière lait». Etude au niveau d'un groupe laitier. Thèse pour le diplôme de docteur vétérinaire. Nantes.

56. Ecckhoutte, M, (1978), « Antibiotiques et alimentation humaine », Revue de Méd.Vét, 125, (5), 717-740.

57.Dewdney J.M ; Maes, L ; J.P ; Blanc F; Scheid, Jackson T; Lens S et Vershueren C; 1991: risk assessment of antibiotic residues of beta-lactams and macrolides in food products with regard to their immune-allergic potential.Food chem. Toxic.29,477-483.

58. Leitner A; Zöllner P and Lindner W.(2001) "Determination of the metabolites of nitrofuran antibiotics in animal tissue by high performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry" *Journal of Chromatography A*, p939, p1-2, p49-58

59. Milhaud G et Person J.M. (1981) :Evaluation de la toxicité des résidus d'antibiotiques dans le lait. Rec- Méd - Vét. 157 (2): 179 – 185.

60. Chataigner B et Stevens A, (2002). Investigation sur la présence de résidus d'antibiotiques dans les viandes commercialisées à DAKAR, projet PACEPA, Rapport de l'Institut Pasteur de DAKAR.

61. Form G, (2003). Les résidus inhibiteurs dans le lait. Evolution des méthodes de détection-Facteurs de risques en région Rhône-alpes. Thèse Méd. Vét. P121

62. Brouillet P, (1994). Inhibiteurs dans le lait : La mauvaise utilisation des médicaments. Hors série de la semaine vétérinaire, numéro 3, 16-19.

63. Brouillet, P (1994),. Maîtrise de la présence d'inhibiteurs dans le lait, Rec.Méd.Vét., n° 170 (6/7), 445-455.

64.Luquęt, F.M., (1985) : Lait et produits laitiers: Vache-brebie-chèvre, Tome I : Les laits de la mamelle à la laiteri, Edit Lavoisier, Tech □Doc, Paris, 397 p.

65.Alais, C., **(1984) :** Science du lait principes des techniques laitière , 4ème Edition, Sepaic, Paris 814 p.

66. Sischo WM ; (1996) :quality Milk and Tests for Antibiotic Residues.Journal of Dairy Science , 79, 1065-1073.

67. Suhren G; Beukers R, (1998): Delvotest SP for detection of cloxacillin and sulfamethxazol in milk: IDF interlaboratery study. Journal of AOAC International,81,978-990.

68. Mitchell J.M; Griffiths M.W; McEwen S.A; McNab W.B et Yee A.J; (1998) Antimicrobial drug residusin milk and meat: Causes, concerns, prevalence, regulations, test,and test performance. Journal of Food Protection,

69. Reybroeck W ; (2004) : les résidus antibiotiques dans le lait : utilisation des Kits de dépistage des inhibiteurs ; Le Point Vétérinaire, 242, 52-57.

70. Verhneset R ; Vandaele E ,(2002) : Détection rapide des inhibiteurs dans le lait .Point Vét ;2002,**33**

71. Frère et J.M ; Klein D et Ghuysen J.M ; (1980) : Enzymatic method for rapid and sensitive determination of β-lactam antibiotics. Antimicrobial agents and chemotherapy, 18, 506-510.

72. Brouillet P, (2002). Les tests rapides de détection des antibiotiques dans le lait. Bulletin des GTV. 15. Avril – Mai – Juin : 183 – 189.

73. korsrud G.O; Salisbury C.D; Fesser A.C et MacNeil J.D; (1994): investigation of Charm Test II receptor assays for the detection of antimicrobial residus in suspect meat samples.Analyst.119(12):2737-41.

74. Gaudin V et Afssa F, (2005). Dossier de reconduction du test Bétastar. Test rapide de détection de résidus actifs d'antibiotiques de la famille des Bétalactamines (pénicillines, céphalosporines) dans le lait.

75. Neuman, M., (1979) : Vade-mecum des antibiotiques et agents chimiothérapiques anti-infectieux , 4ème édition, Paris, , 7-25

76. Larpent, J.P(1997) : Microbiologie alimentaire : Technique de laboratoire , Edit Lavoisier, Tech □Doc, Paris, 1073 p.

77. Price K .E , Gallian M .J , Heather C.D , et luther A.G (1956) :
The infkuence of mick and other Media on antibiotic sensitivity of mastitis organisme . antibiotics annual . 3 : 753-762

78. Krabbenhoft K .L , Adams A . P et Schiper J . A (1965): Antibiotic sensitivitiés of organisms isolated from mastitic and non mastitic mammary secret : Appl –microbiol . 13 (5), 762 – 765

79. Owen W. E et Watis J.L (1987) effects of milk on activity of milk antimicrobis against staphylococcus aureus isolated from bovin Udders . J – Dairy sci . 70 : 1946 – 1951

80. Shitandi, A., (2004): Risk factors and control strategies for antibiotic residues in milk at farm level in Kenya, Doctoral dissertation, 50p.

81.Fang W , et Vikerpuur M . (1995) Potency of antibacterial arugsin milk as analysed by B – glucoronidase – based fluorometry . J . vet –pharmacol – therap . 18 : 422 – 428

APPENDICE A

Arrêté interministériel du 29 Safar 1414 correspondant au 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation.

ARTICLE 1 : Le présent arrêté a pour objet de définir les spécifications de certains laits destinés à la consommation ainsi que les conditions et les modalités relatives à leur présentation et à leur étiquetage.

ARTICLE 2 : La dénomination " lait " est réservée exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale, obtenue par une ou plusieurs traites, sans aucune addition ni soustraction et n'ayant pas été soumis à un traitement thermique.

ARTICLE 3 : Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum.

ARTICLE 4 : La dénomination " lait " sans indication de l'espèce animale de provenance, est réservée au lait de vache.
Tout lait provenant d'une femelle laitière, autre que la vache, doit être désigné par la dénomination " lait ", suivie de l'indication de l'espèce animale dont il provient.

ARTICLE 5 : Le lait destiné à la consommation ou à la fabrication d'un produit laitier, doit provenir de femelles laitières en parfait état sanitaire.

ARTICLE 6 : Le lait ne doit pas :

- être coloré, malpropre ou malodorant;
- provenir d'une traite opérée moins de sept (07) jours après le part;
- provenir d'animaux atteints de maladies contagieuses ou de mammite;
- contenir notamment des résidus **antiseptiques, antibiotiques** et pesticides;
- coaguler à l'ébullition;
- provenir d'une traite incomplète;
- subir un écrémage même partiel.

En outre, le lait ne doit pas subir:

- de soustraction ou de substitution de ses composants nutritifs;
- de traitements, autres que le filtrage ou les procédés thermiques d'assainissement susceptibles de modifier la composition physique ou chimique, sauf lorsque ces traitements sont autorisés.

ARTICLE 7 : Les laits sont classés, en fonction du nombre de germes totaux, en trois (3) catégories:

- Catégorie A : moins de 100.000 germes totaux par millilitre;
- Catégorie B : de 100.000 à 500.000 germes totaux par millilitre;
- Catégorie C : plus de 500.000 à 2.000.000 de germes locaux totaux par millilitre

ARTICLE 8 : Le lait doit répondre aux spécifications suivantes:

- germes totaux. : Maximum deux (02) millions;
- salmonelle : absence;
- stabilité à l'ébullition : stable;
- acidité en grammes d'acide lactique/litre: maximum 1,8;
- densité : 1030 - 1034;
- matières grasses : 34 grammes par litre au minimum.

ARTICLE 9 : Le lait doit être conservé immédiatement après la traite à une température inférieure ou égale à six (06) degrés Celsius.

ARTICLE 10 : Le lait doit être mis à la disposition des entreprises laitières dans les conditions suivantes:

- le délai entre la traite et la délivrance du lait aux entreprises laitières, est fixé à quarante-huit (48) heures au maximum;
- le délai entre la traite et le premier traitement thermique est fixé à soixante-douze (72) heures au maximum.

ARTICLE 44 : Les différents intervenants dans le processus de mise à la consommation du lait, doivent se conformer aux dispositions du présent arrêté dans un délai de six (6) mois à compter de sa publication au Journal officiel de la République algérienne démocratique et populaire.

ARTICLE 45 : Le présent arrêté sera publié au Journal officiel de la République algérienne démocratique et populaire.

Fait à Alger, le 29 Safar 1414 correspondant au 18 août 1993.

Le ministre P. le ministre de l'économie
de l'agriculture Le ministre délégué au commerce
Mohamed Elyes MESLI Mustapha MOKRAOUI

Le ministre de la santé et de la population
Seghir BABES

APPENDICE B

Les résultats de la recherche des résidus d'antibiotique dans le lait cru

Régions	Elevages	Nombre de vache	Résultat
Aghribs	1	1	–
		2	–
		3	–
		4	–
		5	–
		6	–
		7	–
		8	+ou -
		9	–
		10	+ou -
		11	–
	2	1	–
		2	–
	3	1	–
		2	–
		3	–
		4	–
		5	–
		6	–
		7	–
		8	–
		9	–
		10	–
		11	–
		12	–
		13	–
		14	–
		15	–
		16	–
	4	1	+ou -
		2	–
		3	–

	4	4	–
		5	–
		6	–
		7	–
		8	–
		9	–
		10	–
		11	–
		12	–
		13	–
		14	–
		15	–
		16	–
		17	–
		18	–
	5	1	+ou -
		2	–
		3	–
	6	1	–
		2	–
		3	–
		4	–
		5	–
Fréha	1	1	–
		2	–
		3	–
		4	–
		5	–
		6	–
		7	–
		8	–
		9	–
		10	–
		11	–
		12	–
		13	–
		14	–

	1	15	–
		16	–
		17	+ou -
		18	–
		19	+ou -
		20	–
		21	–
		22	–
		23	–
		24	–
		25	+ou -
		26	–
		27	–
		28	–
	2	1	–
		2	–
		3	–
		4	+ou -
		5	–
		6	–
		7	–
		8	–
		9	–
Fréha		10	–
		11	–
		12	+ou -
		13	–
		14	–
		15	–
Timizart	1	1	–
		2	+
		3	–
		4	–
	2	1	–
		2	+ou -
		3	–

		4	–
		5	–
	3	1	–
		2	–
		3	–
		4	+ou -
	4	1	–
		2	–
		3	–
		4	+ou -
	5	1	–
		2	–
		3	–