



Université Saad DAHLAB - Blida
Faculté des sciences Agro-Vétérinaires et Biologiques
Département des sciences vétérinaires

Projet de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de docteur vétérinaire

THEME :

**ETUDE DE LA QUALITE HYGIENIQUE ET
SANITAIRE DU LAIT CRU DE CITERNE DE LA
LAITERIE DE BENI-TAMOU**

Présenté par :

M^{elle} TAIBI Amina et M^{elle} GUEMMAR Nesrine

Devant le jury :

Mr BERBER A Professeur à l'université Saad DAHLEB, Blida	Président
Mr KHALED H Maitre assistant à l'université Saad DAHLEB, Blida	Examineur
M ^{elle} TARZAALI Dalila Maitre assistante, Blida	Promotrice

*** Promotion, Juillet, 2012 ***

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Saad DAHLAB - Blida
Faculté des sciences Agro-Vétérinaires et Biologiques
Département des sciences vétérinaires

Projet de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de docteur vétérinaire

THEME :

**ETUDE DE LA QUALITE HYGIENIQUE ET
SANITAIRE DU LAIT CRU DE CITERNE DE LA
LAITERIE DE BENI-TAMOU**

Présenté par :

M^{elle} TAIBI Amina et M^{elle} GUEMMAR Nesrine

Devant le jury :

Mr BERBER A Professeur à l'université Saad DAHLEB, Blida	Président
Mr KHALED H Maitre assistant à l'université Saad DAHLEB, Blida	Examineur
M ^{elle} TARZAALI Dalila Maitre assistante, Blida	Promotrice

*** Promotion, Juillet, 2012 ***

SOMMAIRE

Remerciements

Dédicaces

Résumé en français

Résumé en anglais

Résumé en arabe

Liste des abréviations

Liste des figures.

Liste des tableaux

INTRODUCTION

01

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 : LE LAIT.

1.1. Définition	02
1.2. Les constituants chimiques du lait	02
1.2.1. L'eau	03
1.2.2. La matière grasse	03
1.2.3. Les glucides	03
1.2.3. Matière azotée	03
1.2.3.1. Les protéines	04
1.2.3.2. Les matières azotées non protéiques (ANP)	04
1.2.4. Les matières minérales et salines	04
1.2.5. Les vitamines	05
1.2.6. Les enzymes	05
1.3. La composition biologique du lait	05
1.3.1. Les cellules	05
1.3.2. Les micro-organismes	06

CHAPITRE 2 : LES ANTIBIOTIQUES ET L'ANTIBIOTHERAPIE

2.1. Introduction	07
2.2. Définition	07
2.3. La classification et mode d'action des antibiotiques	07
2.4. Les caractéristiques de choix d'un antibiotique	09
2.5. Utilisation des antibiotiques en élevage bovin	09
2.5.1. Utilisation des antibiotiques à but curatif ou préventif	10
2.6. Les causes de la présence des antibiotiques dans le lait	10
2.7. Conséquences de la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait	11
2.7.1. Risques pour la santé du consommateur	11
2.7.1.1. Le risque toxicologique	11
2.7.1.2. Le risque allergique	11
2.7.1.3. Le risque bactériologique	11
2.7.2. Les risques technologiques	12
2.8. Les méthodes de détection des résidus d'antibiotiques dans le lait	12
2.8.1. La méthode microbiologique	12
2.8.1.1. La méthode officielle	13
2.8.1.2. Les tests de détection rapides	13
2.8.1.2.1. Les tests d'inhibition	13
2.8.1.2.2. Les méthodes immuno-enzymatiques	14
2.8.1.2.3. Méthodes physico-chimique	14

CHAPITRE 3 : LES CELLULES SOMATIQUES

3.1. Introduction	15
3.2. La nature des cellules somatiques présentes dans le lait	15
3.2.1. Les macrophages	15
3.2.2. Les lymphocytes	15
3.2.3. Les cellules épithéliales	16
3.2.4. Les cellules leucocytaires	16
3.3. Répartition et variation de nombre des cellules somatiques	16
3.4. Les méthodes de la numération cellulaire	17
3.4.1. Les méthodes directes	18
3.4.1.1. Le counter coulter	19
3.4.1.2. le fossomatic	19

3.4.1.3. Les méthodes microscopiques	19
3.4.2. Les méthodes indirectes	20
3.4.2.1. Le californian mastitis test (CMT) ou test au teepol	20
3.4.2.2. Méthode ELISA	20
3.4.2.3. Mesure de l'activité NAGasique dans le lait	20
3.5. La conséquence de la concentration en cellules somatiques	21
3.5.1. La conséquence sur la production laitière	21
3.5.2. La conséquences sur la composition du lait	21
3.6. Importance des concentrations cellulaires du lait	21

CHAPITRE 4 : BACTERIOLOGIE DU LAIT

4.1. Introduction	21
4.2 Les germes du lait	21
4.2.1. Flore lactique	21
4.2.2. Flore thermorésistante	21
4.2.3. Flore coliforme	21
4.2.4. Flore psychotrophe	22
4.2.5. Flore butyrique	22
4.2.6. Flore pathogène	22
4.3. L'origine de la flore du lait	22
4.3.1. La flore originale	22
4.3.2. La flore de contamination	23
4.4. Maîtrise de la teneur en germes mésophiles totaux du lait	23
4.5. Classification bactériologique du lait	24
4.6. Evolution bactériologique du lait	24
4.7. Impacts économique et sanitaires de la qualité du lait	24
4.7.1. Impacts sanitaires	24
4.7.2. Impacts économiques	25

LA PARTIE EXPERIMENTALE

1.1. Période et lieu de l'étude	26
1.2. Origine des échantillons	26
1.3. Matériel et méthodes	27

1.4. Les résultats	35
1. 5. Discussion	46
La conclusion	49
Recommandation	50
Référence bibliographique	
Annexe	

REMERCIEMENT

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 toute notre 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.

Nous remercions chaleureusement:

Mr BERBER A Professeur à l'université Saad Dahleb de Blida pour avoir présidé le jury, ainsi que:

Mr KHALED H maître assistant à l'université Saad Dahleb de Blida pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Qu'elle trouve ici l'expression de notre profonde gratitude

Nous remercions chaleureusement l'ensemble des responsables de la laiterie de Béni-Tamou et surtout Mr GHARBI Samir, Mr BEN KHELATTE Fouzi, Mr AMMOURA et Mr MOHAMED CHERIF pour leurs aides consenties pour la réalisation de notre travail.

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

DEDICACE

A Mes très chers parents qui ont provoqué en moi suffisamment de force et de caractère pour faire de moi ce que je suis aujourd'hui.

A mes chers frères : **Amine, Aboubacker, et mon petit frère Aymen.**

A ma chère et unique sœur : **Asma.**

A toutes mes cousines : **Fatima zahraa, Om soulaïm, Om salite, Om el hassan, Om salama, Amina et Hadjer.**

A ma tante: **Malika.**

A mes grandes mères : **Bakhta et Om el kheir.**

A toutes mes amies : **Hafida, Nour el houda, Fatima, om el kheir.**

A ma binôme : **Nesrine.**

A toutes les étudiants de ma promotion.

A tous ceux que j'aime et qui m'aiment.

AMINA

DEDICACE

Je dédie ce travail :

A mes parents :

Pour m'avoir supporté pendant toutes ces années

Pour m'avoir permis de devenir ce que je suis

Merci, avec tout mon amour pour vous

A toute ma famille :

Mon frère **Smail** et sa femme **Salma**.

Ma sœur **Latifa** : de sa présence à mes cotés et m'avoir soutenu.

Ma sœur **Hakima** et son marie **Ben youssef**.

Ma sœur **Sofia** et son marie **Mohamed**.

Ma sœur **Amel** et son marie **Boumdienne**.

Ma sœur **Naziha** et son marie **Abd el kader**.

A mes neveux : **Mahamed, Abd el kader, Riade, Yassine, Youssef, Ayoub, Abd el malek**.

A mes nièces: **Nour el houda, Iimane, Wissam, Amina**.

A mes amis les plus chers : **Amina, Nour el houda et Lamia** qui m'ont beaucoup aidé et encouragé pour la bonne réalisation de ce mémoire.

A tous qui m'ont aidé de près ou de loin.

NESRINE

RESUME

Le lait cru est un aliment complet qui occupe une place importante dans l'alimentation humaine, vu sa richesse en différents éléments nutritifs. En parallèle, le lait peut être un milieu favorable pour la multiplication des germes provenant du non respect des conditions d'hygiène sans oublier l'état sanitaire des animaux. Le lait peut être aussi contaminé par les résidus d'antibiotiques, suite à une mauvaise utilisation des antibiotiques lors des traitements des infections surtout mammaire, cette dernière est reflétée par la présence de cellules somatique dans le lait.

Notre travail a pour but l'évaluation de la qualité hygiénique et sanitaire du lait de citerne de la laiterie de Beni-Tamou.

D'après les résultats obtenus, nous notons que :

- Sur 105 échantillons de laits cru analysés, un seul est contaminé par les résidus d'antibiotiques, soit 0,95%.
- Sur 105 échantillons de laits crus analysés, le taux cellulaire moyen est de 425 714,286 cell/ml.
- Sur 56 échantillons de laits crus analysés, le nombre moyen des germes totaux est de $261\,785 \cdot 10^6$ germes/ml.

Ce lait est destiné pour la consommation humaine, pour cela des efforts d'hygiène considérable sont donc à entreprendre de l'étable à la table.

Mots clés : lait cru, citerne, résidus d'antibiotiques, germes totaux, cellules somatiques.

Summary

The raw milk is a complete food which occupies an important place in human nutrition, given its wealth of different nutrients. Alongside the milk may be a favorable environment for multiplication of germs from the non-compliance, not to mention hygienic and animal health. Milk can also be contaminated with antibiotics, due to improper use of antibiotics during treatment of infections, especially mastitis, the latter is reflected by the presence of somatic cells in milk.

Our work aims at evaluating the hygienic and sanitary tank milk from the dairy of Beni-Tamou.

From the results obtained, we note that:

- Out of 105 raw milk samples analyzed, only one is contaminated with antibiotics residues, or 0.95%.
- Out of 105 raw milk samples analyzed, the somatic cell rate is 425 714.286 cells / ml.
- Out of 56 raw milk samples analyzed, the total bacteria rate is .106 261 785 bacteria / ml.

This milk is intended for human consumption, for that, hygiene considerable efforts are to be taken from farm to table.

Keywords: raw milk tank, antibiotic residues, total bacteria, somatic cells.

ملخص

الحليب الخام غذاء كامل يحتل مكانة هامة في التغذية البشرية، نظرا لثروته من المواد الغذائية المختلفة. بالتوازي، يمكن أن يكون وسط ملائم لتكاثر الجراثيم الآتية من عدم احترام شروط النظافة، ولا تنسى الصحة الحيوانية. ويمكن أيضا تلوث الحليب ببقايا المضادات الحيوية، وذلك بسبب الاستخدام الغير السليم للمضادات الحيوية أثناء علاج الأمراض، خاصة أمراض الثدي،
يتعكس هذا الأخير بوجود الخلايا الجسمية في الحليب.

عملنا يهدف إلى تقييم الصحة والصرف الصحي لحليب الصهاريج الملبنة بني تامو.

من النتائج التي تحصلنا عليها، نلاحظ ما يلي:

- من أصل 105 عينات من الحليب الخام التي حللت، واحد فقط ملوثة ببقايا المضادات الحيوية، أي 0.95%.
- من أصل 105 عينات من الحليب الخام التي حللت، فإن معدل متوسط الخلايا هو 425 714.286 خلية / مل.
- من أصل 56 عينة من الحليب الخام التي حللت، فإن متوسط عدد البكتيريا الإجمالية 10^6 261 785 بكتيريا / مل.

هذا الحليب مخصص للاستهلاك البشري، ولهذا جهود كبيرة للإهتمام بالنظافة يتعين اتخاذها من المزرعة إلى المائدة.

كلمات المفتاح: الحليب الخام، الصهاريج، بقاء المضادات الحيوية، البكتيريا الكلية، الخلايا الجسمية.

LISTE DES ABREVIATIONS

ANP : les matières azotées non protéiques

CCS : Contage des cellules somatiques

CMT : California Mastitis Test

FIL : Fédération Internationale de laiterie

LBT : la laiterie de Beni Tamoun

LMR: la limite maximum de résidus

NCT : Numération cellulaire de tank

PCA : Plat Count Agar

PMN : polymorphonucleaires neutrophiles

TIAC : Toxi-infection alimentaire collective

TSE : Tryptone sel eau

UHT : Ultra haute température

LISTE DES FIGURES

Figure n° 1 : proportion moyenne des composants essentiels du lait de vache	2
Figure n° 2: Le Kit «Delvo x press β II»:	28
Figure n° 3 : matériel utilisé pour les germes totaux	28
Figure n° 4 : Mettre 0,2 ml de standard	29
Figure n° 05: mettre 0,2 ml de l'échantillon	30
Figure n° 06: addition 0,2 ml de tracer	30
Figure n° 07: mettre les tubes dans la ligne A	30
Figure n° 08: rincer les tubes 3 fois	30
Figure n° 09: addition de 1ml de developer	31
Figure n° 10: mettre les tubes dans la ligne B	31
Figure n° 11: préparation des dilutions	31
Figure n° 12: mettre 1ml de dilution dans la boîte pétri	32
Figure n°13: ajouter 15 ml de la gélose	32
Figure n°14: laisser la boîte solidifier	32
Figure n°15 : préparation des dilutions	33
Figure n°16 : ajouter le bleu de méthylène	33
Figure n°17 : remplissage de la lame	34
Figure n°18 : observation sous le microscope	34
Figure n° 19: les résultats de la recherche des résidus d'antibiotique du lait cru de citerne des collecteurs conventionnés	36
Figure n°20: les résultats de la recherche des résidus d'antibiotique du lait cru de citerne des collecteurs de LBT.	36
Figure n°21: les résultats de la recherche des résidus d'antibiotique des collecteurs confondus.	37

LISTE DES TABLEAUX

Tableau n°I : la classification des antibiotiques et modes d'action.	8
Tableau n°II: Règle d'interprétation des résultats du CMT	19
Tableau n° III : coefficient de travail pour la numération cellulaire	35
Tableau n° IV : Les résultats du comptage cellulaires du lait cru des collecteurs Conventionnés	38
Tableau n°V: Distribution des laits crus de citernes des collecteurs conventionnés en fonction des NCT.	39
Tableau n° VI : Les résultats du comptage cellulaires du lait cru des collecteurs de la LBT.	39
Tableau n°VII: Distribution des laits crus de citernes de la LBT en fonction des NCT	40
Tableau n°VIII: Distribution des laits crus de toutes les citernes de la laiterie en fonction Des NCT.	40
Tableau n° IX: Les résultats du dénombrement des germes totaux des échantillons de lait analysés des collecteurs conventionnés.	41
Tableau n°X : Distribution des laits crus de citernes des collecteurs conventionnés en fonction du dénombrement des germes totaux	42
Tableau n° XI: Les résultats de la numération cellulaires des échantillons de lait analysés des collecteurs de la LBT.	43
Tableau n°XII : Distribution des laits crus de citernes des collecteurs de la LBT, en fonction du dénombrement des germes totaux.	44
Tableau n°XIII : Distribution des laits crus de citernes de tous les collecteurs de la laiterie analysés, en fonction du dénombrement des germes totaux	45

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION

La filière laitière est aujourd'hui parmi les secteurs alimentaires dominés, leur développement nécessite une véritable prise en compte de la maîtrise des risques sanitaires pour garantir la santé du consommateur et la qualité des produits qui lui sont destinés.

Le lait serait l'aptitude à être conditionné en lait de consommation ou transformé en divers produit (fromage, dessert lacté) sans difficulté technologiques, afin de concourir à la couverture des besoins nutritionnels des consommateurs en toute sécurité, c'est-à-dire sans véhiculés de germes ou de substances susceptibles d'entraîner des troubles quelque soit la gravité [1].

La présence des antibiotiques, le taux élevé des germes totaux et des cellules somatiques sont des paramètres d'altération de la qualité hygiénique et sanitaire du lait cru.

la santé humaine peut se trouver compromise par la présence d'agents pathogènes, de toxines et de résidus d'antibiotiques dans le lait cru par des risques toxicologiques, allergiques et les toxi-infections.

Sur le plan technologique, certaines opérations de transformation industrielle peuvent se trouver compromise par l'inhibition des ferments lactiques dans l'industrie laitière.

Sur le plan économique, la présence des antibiotiques dans le lait en interdit sa commercialisation et le taux élevé des germes peut influencer la prime de lait.

Dans ce contexte, nous avons réalisé notre étude expérimentale au niveau de la laiterie de Beni-Tamou qui a pour but de contrôler la qualité hygiénique et sanitaire du lait cru de citernes provenant de la wilaya de Blida, Tipaza, Médéa et Aïn Defla.

Nôtre étude a pour objectif :

- La recherche des résidus des antibiotiques réalisée par la méthode du Delvo X press
- Le dénombrement des germes totaux présents dans le lait cru de citernes,
- La numération cellulaire.

CHAPITRE 1

LE LAIT

1.1. Définition:

En générale, le lait est sécrété par les glandes mammaires des femelles mammifères dont l'activité chez la vache commence à la mise bas et se poursuit pendant une dizaine de mois, tant que dure la traite.

Le lait destiné à l'alimentation humaine a été défini en 1908, lors du premier congrès international pour la répression des fraudes alimentaires, comme « 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 » [2].

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 désignée par la dénomination "lait" suivie de l'indication de l'espèce animale dont il provient : "lait de chèvre", "lait de brebis", "lait d'ânesse"(voir annexe A).

1.2. Les constituants chimiques du lait :

Le lait est constitué essentiellement d'eau, de glucides (lactose), de protéines, de lipides et de sels (voir Figure n°01), dont les proportions diffèrent selon les espèces et des races.

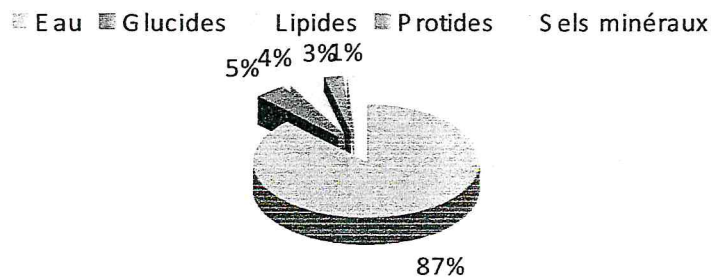


Figure n° 1 : proportion moyenne des composants essentiels du lait de vache [3]

1.2.1. L'eau :

L'eau est un élément quantitativement le plus important, elle représente environ 9/10 (81 à 87 %) du lait [4]. Elle joue le rôle de dispersant des différents constituants du lait qui forment en son sein des secteurs différents par leur composition et leur dimension.

1.2.2. La matière grasse:

La majorité des matières grasses du lait sont les triglycérides (97 à 98%). Les 2 à 3% représentés par des phospholipides et du cholestérol, estérifié ou non, la presque totalité de la matière grasse est contenue dans des globules gras en suspension dans le lait cru. Ces globules gras présentent un diamètre variant de 2 à 12 μm , avec une moyenne générale de 4 μm [5], les globules de gras dans le lait sont en émulsion de type "huile dans l'eau" [6].

La matière grasse du lait a une importance considérable dans l'industrie laitière, puisque c'est l'un des paramètres de base du paiement du lait par les producteurs [7].

1.2.3. Les glucides:

Ils forment avec les protéines, les lipides et les acides nucléiques l'un des principaux groupes de substances des êtres vivants. Tous en contiennent. Ce sont des composés de carbone, d'hydrogène et d'oxygène.

Le lait contient des glucides essentiellement représentés par le lactose, son constituant le plus abondant après l'eau [8].

Le lactose est le glucide, ou l'hydrate de carbone, le plus important du lait puisqu'il constitue environ 40% des solides totaux. D'autres glucides peuvent être présents en faible quantité, comme le glucose et le galactose qui proviendraient de l'hydrolyse du lactose. En outre, certains glucides peuvent se combiner aux protéines [6].

La teneur en glucides et salines du lait varie considérablement selon les espèces [9].

1.2.3. Matière azotée:

Selon LUQUET (1986) [10], on distingue deux types de matières azotées dans le lait:

- ❖ Les matières azotées non protéiques pour 5%.
- ❖ Les protéines pour 95%.

1.2.3.1. Les protéines :

Elles constituent avec les sels la partie la plus complexe du lait. Leur importance tient à plusieurs raisons : quatrième groupe de substances par son abondance après l'eau, le lactose et les matières grasses [8].

On distingue deux grands groupes de protéines dans le lait : les caséines et les protéines [11],

- ❖ Les caséines ont une teneur de 27 g/l ; elles se répartissent sous forme micellaire de phosphocaséinate de calcium et elles sont facilement dégradées par toutes protéolytiques [7].
- ❖ Les protéines solubles du lactosérum se répartissent entre [7]:
 - Les albumines : β lactoglobuline : 3 g
Lactalbumine : 1,2 g
Sérum albumine : 0,4 g
 - Les globulines : Immunoglobulines : 0,7 g
Lacto-transferrine : 0,3 g
 - les enzymes : Lipase, protéase, phosphatase alcaline,
Xanthine-oxydase, lactoperoxydase

La majeure partie des protéines du lait est naturellement synthétisée dans les cellules sécrétoires de la glande mammaire. Cependant certaines proviennent de plasmocytes spécialisés, d'autres du sang [5].

1.2.3.2. Les matières azotées non protéiques (ANP) :

Il représente chez la vache 5% de l'azote total du lait. Il est essentiellement constitué par l'urée (33 à 79% de l'azote non protéique du lait).

On y trouve également et par ordre d'importance les acides aminés, l'acide urique, l'ammoniac, la créatinine. Il y a une corrélation étroite entre la teneur en urée du lait et celle du sang [12].

1.2.4. Les matières minérales et salines :

La fraction minérale, bien que mineure dans la composition du lait, joue un rôle essentiel au point de vue nutritionnel [7].

Il faut distinguer entre les matières salines (9g à 9,5g/l) et les matières minérales (7g à 7,5g/l) identifiées souvent aux cendres. En effet, au cours de l'incinération du lait un certain nombre de sels sont détruits ou modifiés [13].

On a l'habitude de distinguer les sels majeurs et les oligo-éléments, les premiers sont constitués essentiellement de chlorures, phosphates, citrates de potassium, calcium, sodium et magnésium. Parmi les seconds, très nombreux et variables avec l'alimentation des animaux, figurent notamment l'aluminium, le brome, le zinc, le manganèse et surtout le fer et le cuivre dont l'intérêt nutritionnel et technologique est important [13].

1.2.5. Les vitamines :

Les vitamines sont des substances organiques qui, à l'état de traces ; permettent la croissance, le fonctionnement de l'organisme. Celui-ci est généralement incapable de les synthétiser. La carence des rations alimentaires en vitamines provoque des maladies caractéristiques tels les avitaminoses.

Le lait figure parmi les aliments qui contiennent la plus grande variété de vitamines [13].

On classe les vitamines en deux grandes catégories :

- Les vitamines hydrosolubles (vitamines du groupe B et vitamine C) de la phase aqueuse du lait.
- Les vitamines liposolubles (vitamines A, D, E et K) associées à la matière grasse, certaines sont au centre du globule gras et d'autres à sa périphérie [9].

1.2.6. Les enzymes :

Le lait véritable tissu vivant, contient de nombreux enzymes mais leur étude est difficile car on ne peut pas toujours facilement séparer les enzymes naturelles du lait de celles qui sont sécrétées par les microbes présents dans le liquide.

1.3. La composition biologique du lait:

1.3.1. Les cellules :

Un lait, même recueillie aseptiquement et provenant d'un animal parfaitement sain contient toujours des cellules parmi lesquelles, on distingue : (des cellules épithéliales, des polymorphonucléaires neutrophiles (PMN), des lymphocytes, des macrophages, des éosinophiles, des cellules diverses (cellules kératinisées, hématies)) [14, 15] . La présence d'un nombre élevé de cellules somatiques dans le lait est l'indicateur d'une inflammation mammaire [16].

1.3.2. Les micro-organismes :

Le lait il est habituellement le siège de nombreuses contaminations intervenant au cours des manipulations qu'il doit nécessairement subir par la suite. Presque tous les germes peuvent proliférer très facilement dans le lait qui constitue un excellent milieu de culture. Les germes du lait peuvent être des moisissures (sont le nom générique a des petits champignons siphomycètes « thalle continu, non cloisonne par conséquent non cellulaire » qui se développent sur les matière humides et des levures (sont des champignons vivants isolément en cellules indépendantes, les levures

peuvent former des voiles à la surface des milieux liquides ou elles se développent et elle change souvent leur taille et leur forme [17], ou des bactéries (les bactéries, généralement, majoritaires de la flore totale peuvent être classées en deux grands groupes, la **flore non pathogène** (Cette flore n'a aucune répercussion sur la santé du consommateur. En général, 93% des laits contiennent) et la **flore pathogène** (nombreux sont les germes pathogènes, qui peuvent contaminer le lait. ils sont formés de deux groupes au sein desquels, on distingue les pathogènes majeurs et mineurs « germes contagieux » (*Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*) et germes d'environnement (*Escherichia coli*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*)) [18, 13].

D'autres germes, responsables de maladies infectieuses contagieuses, induisent également de temps à autre des troubles mammaires : Brucelles, *mycobacterium tuberculosis*, *bacillus anthracis*, virus de la leucose et de la fièvre aphteuse [3].

CHAPITRE 2

LES ANTIBIOTIQUES

2.1. Introduction:

Les antibiotiques représentent, de très loin, la classe des médicaments la plus employée, en médecine humaine comme en médecine vétérinaire. Les termes de « thérapeutique antibiotique » ou d' « antibiothérapie » traduisent cet usage très important, qui, s'il est justifié du fait de l'efficacité remarquable de ces composés dans la lutte contre les maladies infectieuses, doit répondre à un certain nombre de règles qui découlent de la connaissance de ces substances, de leurs caractères physico-chimique essentiels et surtout de leurs propriétés biologique dans l'organisme ; leur devenir dans l'organisme (leur pharmacocinétique) et leur activité antibactériennes [19].

2.2. Définition :

L'usage fait que l'on nomme antibiotique, toute substance d'origine naturelle ou synthétique possèdent une activité antibactérienne et qui n'est pas toxique pour l'hôte humaine ou animale, pour que son administration puisse être réalisée par voie générale [20].

Selon BOURIN et *al* (1999) [21], les antibiotiques sont définis par leur :

- Activité antibactérienne (spectre d'activité),
- Toxicité sélective (mode d'action),
- Activité en milieu organique (pharmacocinétique),
- Bonne absorption et diffusion dans l'organisme.

2.3. La classification et mode d'action des antibiotiques :

Les antibiotiques antibactériens sont très nombreux, on en compte des milliers mais la plupart sont trop toxiques pour être utilisables en thérapeutiques.

Seulement quelques dizaines sont employés en raison de leur toxicité modérée, acceptable en thérapeutique [23].

Les antibiotiques sont classés dans des familles et parfois des groupes dans lesquels les représentants possèdent des caractères voisins ou identiques: la nature chimique et l'origine, le spectre d'action, le mécanisme d'action, les mécanismes de résistance, les effets secondaires [24].

Les principales familles d'antibiotiques actuellement utilisées en thérapeutique sont:

- Les bêtalactamines (pénicillines et céphalosporines);
- Les aminosides (streptomycine, néomycine, gentamycine);
- Les antibiotiques polypeptidiques (colistine, Bacitracine);
- Les tétracyclines (oxytétracycline, tétracycline);
- Les macrolides (Tylosine, Erythromycine).

Ainsi que les principaux antibactériens de synthèse qui sont :

- Les sulfamides (Sulfaguanidine).
- Les quinolones (flumiquine).

D'une façon générale, les classifications et les modes d'action des antibiotiques sont présentés dans le tableau n°I.

Le tableau n°I : la classification des antibiotiques et modes d'action [25, 26, 27].

Les antibiotiques	Le Mode d'action	Spctre d'activité	Le type d'action	La charge électrique
Les bêtalactamines	Agissent au niveau la paroi en inhibant étape de synthèse du péptidoglucane entraînant la lyse de bactérie.	Pénicilline sensible a la pénicillinase (étroit)	Bactéricides	Acide
Les aminosides	Ils perturbent la synthèse des protéines au niveau de la fraction 30S du ribosome entraînant la destruction bactérienne.	Large	Bactéricides	Basique
Les tétracyclines	Le mécanisme intime parait être l'inhibition de la fixation du complexe aminocide-ARNt synthétase sur le complexe ribosome-messenger	Très large	Bactériostatique	Acide
Les	Agissent en inhibant la synthèse protéique bactérienne ,ils se fixent sur l'unité 50S du ribosome et bloquent ainsi la			

macrolides	réunion du dernier stade de la synthèse	Moyen	Bactériostatique	Basique
Les sulfamides	Ils entrent en compétition avec l'acide para-amino-benzoïque (PAB) bloquant ainsi l'action de la synthétase.	Large	Bactériostatique	Acide
Les quinolones	Inhibent la synthèse de l'ADN de la bactérie en se fixant sur le complexe <ADN-ADN gyrase> en empêchant la réplication et transcription de l'ADN.	Gram -	Bactéricide	Acide

2.4. Les caractéristiques de choix d'un antibiotique

Chaque antibiotique a des propriétés caractéristiques qui orientent son utilisation dans des circonstances précises. Les indications thérapeutiques sont donc bien définies et dépendent en grande partie du produit [24].

Avant toute décision d'antibiothérapie il faudra :

- Avoir une idée sur les agents pathogènes fréquemment rencontrés dans le lieu ou à la période de l'année ou l'on se trouve.
- Avoir des connaissances en bactériologie à propos de ces micro-organismes.
- Avoir des notions générales sur leur sensibilité aux antibiotiques.
- Connaître la nature de l'affection.
- Connaître la possibilité de pénétration de l'antibiotique jusqu'à la source de l'infection (passage à travers la barrière hémato-encéphalique, à travers les tissus inflammés).
- Connaître les risques de réactions adverses du sujet à l'antibiotique (surtout les réactions allergiques).
- Avoir des notions, même vagues, sur le prix de l'antibiotique et le coût total du traitement.

2.5. Utilisation des antibiotiques en élevage bovin

Les médicaments antibiotiques vétérinaires sont utilisés chez les animaux, soit pour guérir ou prévenir les affections, soit pour favoriser la croissance. Ils peuvent ainsi générer des résidus dans les denrées alimentaires d'origine animale notamment le lait.

Il faut noter que certains antibiotiques ont été spécifiquement dédiés à un usage vétérinaire, comme l'apramycine ou le florfenicol [28].

2.5.1. Utilisation des antibiotiques à but curatif ou préventif :

- ❖ **Thérapeutique (antibiothérapie) :** bien que cette dernière soit indiquée dans le traitement des maladies infectieuses (mammites surtout), il est recommandé de ne pas vendre (ou de mélanger) le lait provenant d'une vache atteinte de mammite jusqu'à ce qu'il y ait élimination complète des catabolites des antibiotiques utilisés [29].
- ❖ **Prophylactique :** pour que la prévention des animaux sains. Ces traitement sont mis en œuvre en médecine individuelle pour prévenir les infections en relation avec des interventions chirurgicales mais surtout en élevage du groupe, à certaines périodes critiques de l'élevage (chez la vache, traitement au tarissement pour guérir les infections persistantes de la lactation précédente et d'assurer une protection contre les nouvelles infections qui s'établissent surtout au début de la période sèche) [23].

2.6. Les causes de la présence des antibiotiques dans le lait :

Les causes les plus fréquentes de la présence d'antibiotiques dans le lait sont [30] :

- 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» [30].
- Le non respect des modalités d'utilisation des traitements. Certaines pratiques à proscrire ont été détectées :
 - utilisation en intramammaire de produits prévus pour la voie générale : au risque d'inhibiteur s'ajoutent celui de l'inefficacité (produit inadapté).
 - utilisation de traitement de tarissement en lactation : il peut s'agir d'une confusion de produits. Les produits de tarissement ont une très longue durée d'action et le délai d'attente n'est pas adapté pour les vaches en lactation.
 - surmédicalisation : auto-médicalisation et approvisionnement en médicaments anarchique sans passer par le circuit classique de prescription vétérinaire et de délivrance d'une ordonnance [31].
- lors des traitements hors lactation, c'est l'absence d'identification des animaux traités qui semble jouer le plus grand risque en cas de changement de trayeur [32].

- le non respect de la dose est régulièrement constaté. Augmenter la dose lors d'injection ou doubler une administration par voie intramammaire vont allonger systématiquement la durée d'élimination dans le lait [33].
- la contamination par le matériel de traite (la mauvaise vidange et une absence de rinçage de la griffe et des tuyaux non vidangés) [31].

2.7. Conséquences de la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait :

2.7.1. Risques pour la santé du consommateur:

Les risques attribués à la présence d'antibiotiques dans le lait peuvent être classés en trois catégories:

2.7.1.1. Le risque toxicologique :

La consommation de lait et de produits laitiers contenant des antibiotiques, tels que pénicillines, tétracyclines, est un danger potentiel pour la santé des consommateurs [34].

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 [33, 35].

2.7.1.2. Le risque allergique :

En médecine humaine, l'allergie est un effet secondaire reconnu des antibiotiques et en particuliers des bétalactames. Quand aux macrolides, ils causent peu d'effets secondaires [36].

Ces réactions sont en générale consécutives à la consommation de lait contenant des traces d'antibiotiques et ces accidents se caractérisent, le plus souvent par 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 [37].

2.7.1.3. Le risque bactériologique :

La résistance « naturelle » est présente dans toutes les souches de l'espèce considérée et préexiste à l'usage des antibiotiques. Elle constitue une caractéristique propre à l'espèce considérée et délimite le spectre d'activité des antibiotiques [38].

2.8.1.1. La méthode officielle :

Cette méthode est efficace et sensible, mais néanmoins assez difficile à reproduire dans des conditions normales de laboratoire d'une laiterie, elle se réalise en deux étapes [41].

- L'acidification ou dépistage dont l'objectif est de détecter un maximum de substances différentes à un seuil proche ou inférieur à la Limite Maximum de Résidus (LMR). elle doit aussi permettre de faire rapidement des analyses sur un grand nombre d'échantillons. C'est une méthode de réalisation simple pouvant être en partie automatisée mais qui demande un certain temps: 2h 30 en étuve.
- Les épreuves de confirmation : les échantillons positifs ou douteux sont soumis à une série de trois épreuves de diffusion en trois géloses différents, ensemencées avec trois germes différents, selon la nature de résidu présent, l'inhibition sera différente selon la gélose et l'on pourra s'orienter vers telle ou telle famille d'antibiotique. C'est une méthode relativement longue (> 18 h) [39].

2.8.1.2. Les tests de détection rapides :

2.8.1.2.1. Les tests d'inhibition :

- **Le delvotest :**

C'est un test biologique simple standardisé, fondé sur la multiplication d'un germe *Bacillus stearothermophilus*, variété *Calidolactis* sur milieu solide [42]. Très utilisé par les laiteries, ce test n'est pas spécifique et offre un large spectre de détection (la plus part des antibiotiques) et une bonne sensibilité vis-à-vis de la pénicilline qui représentent le plus grand risque technologique.

- **Copan test :**

C'est le test le plus récent, très proche du delvotest, nécessite la même durée et la même température d'incubation, le même réactif colore. Son milieu gélosé contient, comme le delvotest MCS, tous les ingrédients pour la réaction [42].

- **Le valio T101 ;**

Il présente également le même principe que le Delvotest mais utilise *Streptococcus thermophilus*, bactérie mise en œuvre dans la fabrication des yaourts et dans les tests d'inhibition de l'ancienne méthode officielle. Le révélateur d'acidification est aussi un réactif coloré qui passe du bleu au jaune quand il y a production d'acide par la bactérie en croissance [38].

2.8.1.2.2. Les méthodes immuno-enzymatiques :

- **Le Delvo-x-press :**

Le Delvo-x-press est un test rapide, immuno-enzymatique qui détecte les résidus de bêtalactamines présents dans le lait, en 10 minutes. Ce test est fondé sur le dosage de l'excès d'un réactif spécifique et l'interprétation est effectuée par une mesure colorimétrique [42].

- **Le snap test :**

Ce test utilise des récepteurs immunologiques conjugués à une enzyme, ces récepteurs peuvent se lier spécifiquement soit aux bêtalactamines de l'échantillon teste ; soit à celles fixées à la surface du test [43]. Ce sont des tests rapides permettant de détecter, aux seuils LMR les bêtalactamines ou les tétracyclines après une incubation de 8 mn à 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 [42].

- **MRL test :**

Les tests CHARM MRL sont deux tests rapides permettant de détecter aux seuils LMR les bêtalactamines ou tétracycline après l'incubation de 8 min a 55 °C. Sont des tests utilisant le principe de l'immunochromatographie sur bandelette qui contient des anticorps et un colorant marque [42].

2.8.1.2.3. Méthodes physico-chimique :

Ces techniques de recherche des antibiotiques se sont considérablement développées ces dernières années. Qui sont [44]: Dosages radio-enzymatiques, dosages radio-immunologiques, dosages immuno-enzymatiques, dosages par fluorimétrie, dosages par bioluminescence, spectrophotométrie, techniques chromatographiques.

CHAPITRE 3

LES CELLULES SOMATIQUES

3.1. Introduction :

On désigne par le terme «cellules somatiques du lait» (du grec soma =corps), les cellules du corps qui sont présentes dans le lait [45]. Selon RUPP (2000) [46], le lait comme tout liquide biologique, même normal, contient des cellules somatiques. Elles sont de nature hétérogène, outre les cellules d'origine sanguine polymorphonucléaires neutrophiles, macrophages et les lymphocytes impliquées essentiellement dans les défenses immunitaires de la mamelle.

L'infection intra-mammaire se traduit toujours par la présence dans le lait, des cellules somatiques dont le nombre (CCS) dépend principalement du statut infectieux de la glande mammaire.

3.2. La nature des cellules somatiques présentes dans le lait :

Les cellules du lait normal sont les neutrophiles, les macrophages, les lymphocytes et les cellules épithéliales (provenant de la desquamation du tissu sécrétoire et galactophore).

3.2.1. Les macrophages :

Ils sont classés généralement en grandes sous-populations caractérisées par leur taille, les petits (7 à 8 μm), les moyens (12 à 15 μm) et les grands (15 à 20 μm) [47]. Ils contiennent un appareil enzymatique très développé, leur pouvoir phagocytaires vis-à-vis des globules gras, des débris cellulaires et des bactéries est intense bien que moins efficace que celui des leucocytes [48].

3.2.2. Les lymphocytes :

On peut retrouver dans le lait des lymphocytes B et T, ils ont une morphologie similaire à celle observée dans le sang et pourraient intervenir dans la mobilisation des polymorphonucléaires neutrophiles [14] qui participent aux réactions immunitaires et à la production d'anticorps, en absence d'infection bactérienne, ils représentent de 10 à 27% des cellules du lait [48].

3.2.3. Les cellules épithéliales :

Elles sont souvent en amas et proviennent de la desquamation des différents épithéliums du tissu mammaire [47], leur taille, leur morphologie, leur noyau et leur contenu de leur cytoplasme souvent confondre avec les macrophages [48].

3.2.4. Les cellules leucocytaires :

Il s'agit de cellules présentant un noyau multilobé et un cytoplasme contenant des granules; on classe ces polynucléaires selon le caractère tinctorial de ces granules, en polynucléaires neutrophiles, éosinophiles et basophiles [47]. Dans un lait sain, ils représentent de 0 à 11% des cellules (environ 2%) [49]. Lors d'infection d'un quartier (les mammites sont considérées comme d'origine infectieuse dans la grande majorité des cas), il y a un appel leucocytaire important, si bien que les leucocytes polynucléaires neutrophiles deviennent très nombreux, représentant 40 à 50% des cellules dans le lait [50].

3.3. Répartition et variation de nombre des cellules somatiques :

Chez la vache, la répartition des cellules varie en fonction du stade physiologique de la lactation et également du statut infectieux de la mamelle et l'âge [51,14].

a. Hors infection :

Les vaches d'un troupeau par analyses bactériologiques et cytologiques. On constate qu'en dehors d'infection le nombre de cellules par millilitre de lait varie en fonction de l'âge ou le numéro du lactation mais reste toujours très faible, le nombre moyen est de 39000. L'augmentation de taux cellulaire du lait avec l'âge est due à l'augmentation du nombre d'infection au cours des lactations successives. Donc, une mamelle saine a toujours un lait contenant peu de cellules somatiques de l'ordre de 30000 à 70000, inférieur à 100 000.

Les cellules du lait normal sont les neutrophiles, les macrophages, les lymphocytes, et les cellules épithéliales. Dans les quartiers exempts d'infection, les macrophages sont le type cellulaire dominant (68 à 88%), suivie par les lymphocytes (10 à 27%), les PNN (0 à 11%) et les cellules épithéliales (0 à 7%). A cause de la présence de cellules épithéliales, l'expression cellules somatiques du lait est utilisée en référence aux cellules du lait. Au début et en fin de lactation, les pourcentages de PMN tendent à augmenter tandis que les pourcentages de lymphocytes décroissent [52].

b. Lors d'infection :

Il est courant de distinguer deux types d'agents pathogènes pour la mamelle de la vache ; les majeurs et les mineurs. Les premiers sont responsables le plus souvent de forme cliniques et leur présence s'accompagne d'une forte réaction de l'organisme il s'agit de staphylococcus aureus, des streptocoques. Les pathogènes mineures entraînent le plus souvent une réaction modère de la mamelle et le taux d'un quartier infecté par un pathogène mineur est toujours supérieur à celui d'une vache saine [49].

Dans les glandes mammaires infectées le pourcentage de neutrophiles peut approcher 100%. Le nombre total de cellules somatiques (CCS) des quartiers non infectées est bas, en moyenne 500 000 par ml et les vaches atteintes d'infection intra mammaire sub-clinique excèdent ce niveau.

Lors d'infection, les lésions du tissu sécrétoire provoquent l'afflux massif de polynucléaires neutrophiles sanguins dans la glande par diapédèse. Ces derniers deviennent alors le type de cellule majoritaire dans le lait. Ils représentent de 50% des cellules lors d'une infection modérée, à 90% lors de mammite aiguë.

L'afflux massif de polynucléaires modifie profondément la qualité de la sécrétion : le lait contient des caillots de fibrine et des grumeaux [52].

3.4. Les méthodes de la numération cellulaire :

Le comptage cellulaire du lait reste le critère de référence caractéristique de l'état d'inflammation locale, aussi bien pour une vache isolée que pour la totalité du troupeau [53].

La numération des cellules somatiques du lait peut s'appliquer indifféremment à des échantillons de lait de quartier, de lait individuel (mélange des laits des quatre quartiers) ou de lait de troupeau (mélange des laits dans le tank). Le prélèvement n'a pas besoin d'être réalisé dans des conditions d'asepsie comme pour la bactériologie, mais nécessite une conservation au froid et d'être agité avant analyse [54].

3.4.1. Les méthodes directes :

3.4.1.1. Le counter coulter :

Le coulter-counter totalise les impulsions électriques qui résultent du passage de particules à travers un orifice situé entre deux électrodes. Quand une particule passe par l'ouverture, la résistance entre les 2 électrodes est modifiée, produisant une impulsion électrique proportionnelle au volume de la particule. Avant de réaliser le comptage, il est nécessaire de disperser les globules gras ayant un volume comparable à celui des cellules; un conservateur à base de formol agissant 16 à 26 heures permet de rendre les cellules résistantes à l'action d'un mélange tensio-actif qui dissout la matière grasse à chaud. L'appareil est calibré de telle façon que les particules (bactéries, particules diverses) d'un diamètre inférieur à celui des cellules (seuil de 4 à 4,5 microns) ne soient pas comptées [52].

3.4.1.2. le fossomatic :

Le fossomatic peut être défini comme un microscope automatique à fluorescence, les noyaux des cellules du lait sont rendus fluorescents par un colorant, le bromure d'éthidium, qui se fixe sur l'ADN. Après cette coloration, le lait est étalé sous forme d'un film très fin de 10 microns d'épaisseur sur le pourtour d'un disque rotatif qui sert de porte objet pour le microscope. Chaque noyau, excité par la lumière d'une arc à xénon, renvoie une lumière rouge qui est captée par le microscope lorsque le noyau passe sous l'objectif. Ces émissions de lumières sont transformées en signaux électriques qui sont comptabilisés, les bactéries ont un ADN plus diffus qui émet une lumière moins intense, et l'appareil est calibré pour que ces signaux de faible intensité ne soient pas comptés [52].

3.4.1.3. Les méthodes microscopiques :

C'est la méthode de référence ou de Prescott et Breed [55]. qui consiste en le dénombrement des cellules somatiques du lait, cellules dont le noyau est distinctement coloré par le bleu de méthylène (toutes les cellules leucocytaires et les cellules épithéliales). Elle utilise le comptage visuel sur une lame spéciale appelée lame de BREED. Suite à la difficulté de mise en oeuvre, elle a été délaissée au profit du comptage électronique, plus rapide [49].

3.4.2. Les méthodes indirectes :

3.4.2.1. Le californian mastitis test (CMT) ou test au teepol :

C'est une méthode semi-quantitative qui peut être appliquée par l'éleveur directement en salle de traite.

Pendant la préparation de la mamelle à la traite, après lavage, essuyage du trayon et élimination des premiers jets, 2 ml de lait de chaque quartier sont tirés dans une coupelle correspondant à chaque quartier, puis mélangés avec 2 ml de Teepol® (alkyl-aryl-sulfonate de Na) à 10%, un détergent qui va provoquer la lyse des cellules du lait. On agite doucement pour mélanger pendant quelques secondes avant d'observer la consistance du mélange. En lysant les membranes cellulaires, le détergent libère l'ADN des cellules qui forme alors un gel dont la viscosité est proportionnelle au nombre de cellules dans le lait (voir tableau n° II)

Tableau n°II: Règle d'interprétation des résultats du CMT [56]:

Aspect	Résultat	Cellules par MI	Interprétation
Aucun flocculat	-	<500 000	Pas d'infection sub-clinique
Flocculat léger Persistant	+	500 000 à 1 000 000	Infection sub-clinique légère
Flocculat épais adhérent	++	1 000 000 à 5 000 000	Infection sub-clinique nette
Gel épais « blanc d'oeuf »	+++	>5 000 000	Infection sub-clinique à clinique

3.4.2.2. Méthode ELISA :

Cette méthode permet de mesurer les taux élevés d'antigènes des granulocytes polynucléaires, fournissant une estimation du taux cellulaire dans le lait, même à des valeurs inférieures à 100×10^3 cellules par millilitre de lait. L'exactitude de cette méthode fait d'elle un excellent moyen de détection des mammites [57].

3.4.2.3. Mesure de l'activité NAGasique dans le lait :

Le principe de ce test est basé sur la mesure de l'activité enzymatique de la N-acétyl-glucosaminidase dans le lait. Cette activité enzymatique est directement proportionnelle au nombre de cellules du lait. En effet, une forte activité dans le lait indique un taux cellulaire élevé. Ce test s'effectue sur un lait frais et le résultat s'obtient le jour même [57].

3.6. La conséquence de la concentration en cellules somatiques :

La concentration cellulaire d'un lait normale, issu d'une vache non infectée, est inférieure à 100 000 cellule somatique par millilitre et ne dépasse rarement le seuil des 300 000 cellule [52]. Néanmoins, des modifications de la production laitière et de la composition du lait, apparaissent dès que le taux cellulaire atteint 60 000 à 80 000 cellules par ml, taux considéré habituellement comme très faible [49]. Elle sont importantes lorsqu'on passe de 100 000 à 200 000 cellules par ml encore de 200 000 à 400 000 cellule par ml et plus [52].

3.6.1. La conséquence sur la production laitière :

Il semble que l'épithélium sécrétoire de la glande mammaire soit dégradé par la migration des polymorphonucléaire (PMN) du sang vers le lait que par les substances toxiques et les enzymes qu'elles libèrent [58], il résulte une baisse de synthèse de la gland mammaire, d'autant plus prononcé que l'inflammation est importante et durable [59]. Ces pertes, en quantité, peuvent varier de 6 à 25% respectivement pour des concentrations cellulaires de 150 000 à 400 000 cellule / ml et au delà de 2 000 000 cellule /ml [57].

3.6.2. La conséquences sur la composition du lait :

D'une façon générale, l'infection des mamelles entraîne une perturbation de la glande ; on constate une diminution des éléments produits par les cellules de l'épithélium sécrétoire (matière grasse, caséine, lactose) et une augmentation des éléments provenant du flux sanguin par augmentation de la perméabilité des tissus malades (sels minéraux, protéine solubles) [59].

3.7. Importance des concentrations cellulaires du lait :

La présence des cellules somatique ne présente, elle-même, aucun pouvoir pathogène ou toxique mais elle est le signe révélateur d'existence de germes ou de produits indésirables [49].

Leur numération est un élément précieux pour :

- Le paiement et contrôle de l'hygiène du lait.
- Le diagnostic du type épidémiologique d'infection touchant les animaux atteints de mammites dans un troupeau.
- La gestion du troupeau laitier.

CHAPITRE 4

BACTERIOLOGIE DU LAIT

4.1. Introduction :

Le lait est un milieu de culture et de protection pour plusieurs microorganismes, y compris les microorganismes pathogènes pour l'humain [40].

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 [60, 61]. 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 [62].

4.2. Les germes du lait :

Les bactéries rencontrées dans le lait peuvent être classées [63] :

- Selon la classification classique des bactéries : gram +, gram-, coques et bacilles.
- Selon leur comportement les effets qu'elles génèrent et il possible, dès lors, de distinguer six groupes.

4.2.1. Flore lactique :

Cette flore transforme le lactose en acide lactique et génère, par là même, une chute de pH inhibant le développement d'autres germes, tels les psychrotrophes, les coliformes, les salmonelles, les streptocoques [63].

4.2.2. Flore thermorésistante :

C'est la flore de contamination banale, provenant le plus souvent de la machine à traire et du tank, non détruite par la réfrigération, composée de *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Lactobacillus*, *Microbacterium* et aussi de formes sporulées de *Bacillus* ou *Clostridium* pouvant se développer dans des laits stérilisés [63].

4.2.3. Flore coliforme :

En microbiologie alimentaire, le terme « coliforme » regroupe les entérobactéries fermentant le lactose avec production de gaz à 30°C. Il s'agit d'un groupe disparate issu de plusieurs tribus qui comprend les germes suivants : *Esherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* et *klebsiella* [64].

Son développement est optimum à une température de 37°C, possible entre 10 et 45°C et stoppé à une température inférieure à 4°C (au moins pendant 2 jours). Cette croissance est, d'autre part, impossible à un pH ≤ 4,5 et les germes coliformes sont détruits par pasteurisations [63].

4.2.4. Flore psychotrophe :

Elle est composée de germes gram-, aérobies, non pathogènes d'où l'on peut détacher les *Pseudomonas*, fortement psychotrophe (il se multiplie par 100 en 48 heures à 4°C) et le *Bacillus* qui, contrairement aux autres composants de cette flore, est certes psychotrophe mais également thermorésistant sporulé [63].

4.2.5. Flore butyrique :

Elle fait partie intégrante de la flore totale du lait cru ; son origine, son incidence et sa maîtrise seront développées dans le chapitre consacré à la contamination du lait par les spores butyriques [63].

4.2.6. Flore pathogène :

Les pathogènes pour l'homme sont également les micro-organismes suivants [2]:

Mycobacterium bovis, *Mycobacterium tuberculosis*, *Brucella*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Leptospira*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Pasteurella multocida*, *Clostridium perfringens*, *Coxiella burnetii*, *Compylobacter*, *Yersinia*.

4.3. L'origine de la flore du lait :

4.3.1. La flore originale :

Le lait contient peu de micro-organisme lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 10³ germes /ml). Il s'agit essentiellement des germes saprophytes du pis et des canaux galactophores : microcoques mais aussi streptocoques lactiques (*Lactococcus*) et lactobacilles.

D'autres micro-organismes peuvent se trouver dans le lait d'un animal malade : ils sont généralement pathogènes et dangereux au point de vue sanitaire. Il peut s'agir d'agents de mammites, c'est-à-dire d'infection du pis : streptocoques pyogène, Corynébactéries pyogènes, Staphylocoques. Il peut s'agir aussi de germes d'infection générale qui peuvent passer dans le lait en absence d'anomalie du pis : *Salmonella* ; *Brucella*, agent de la fièvre de malte, et exceptionnellement *Listeria monocytogenes*, agent de listériose *Mycobacterium*, agent de

tuberculose ; *Bacillus anthracis*, agent du charbon ; *Coxiella burnetti*, agent de la fièvre Q et quelques virus [64].

4.3.2. La flore de contamination :

Le lait au cours de la traite, du transport et du stockage à la ferme ou à l'usine, est contaminé par une grande variété de micro-organismes. Une partie seulement d'entre eux peut se multiplier dans le lait si la température leur est favorable et le milieu propice. Il en résulte que la nature de la flore microbienne du lait cru est à la fois complexe et variable d'un échantillon à l'autre et suivant l'âge du lait. Les principales sources de contamination sont les suivant [2] (Larpent, 1997):

- fèces et téguments de l'animale : Coliformes, *Bacillus*, *Clostridium*, *Salmonella* ;
- sol : *Streptomyces*, bactéries sporulées, spores de champignons ;
- litières et aliments : flores banales, lactobacilles, *Clostridia* butyriques (ensilage) ;
- air et l'eau : flores diverses ;
- équipements de traite et de stockage du lait : flore lactique, microcoques, lactobacilles, *Chromobacterium*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, levures ;
- manipulateurs : staphylocoques des mains, germes d'expectoration et de contamination fécale ;
- vecteurs divers : insectes en particulier.

4.4. Maîtrise de la teneur en germes mésophiles totaux du lait :

La maîtrise de la teneur en germes mésophiles totaux du lait de vache à la production peut paraître globalement assurée.

Néanmoins, une meilleure analyse semble nécessaire pour mieux appréhender la composition de cette flore et affiner le diagnostic de la pollution microbienne souvent reliée à une cause dominante.

Ainsi, après l'étude des nouvelles contraintes légales, de la qualité et de l'origine de cette flore, des méthodes permettant de mieux déterminer les sources de contamination, les différentes mesures aptes à minimiser l'apport microbien dans le lait sont énumérées et actualisées. L'amélioration de l'hygiène globale, de la préparation à la traite, de conformité de l'installation de traite et de son entretien, le bon fonctionnement de la cuve de réfrigération sont successivement évoqués [63].

4.5. Classification bactériologique du lait :

Le nombre des germes « totaux » pourra donner une indication de l'état de fraîcheur ou de décomposition du produit : il peut aussi dans certains cas constituer un indicateur de la qualité sanitaire [64].

En Algérie la réglementation classe les laits crus en trois catégories: (voir annexe A) :

- 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.

4.6. Evolution bactériologique du lait :

L'activité microbienne du lait cru aboutie à la dégradation de ses constituants. On distingue la succession de quatre phases selon le degré de dégradation [65]:

1. Phase bactériostatique :

Correspond à la phase de latence, elle varie entre 2 h et 24 h selon la température.

2. Phase d'acidification :

La fermentation de lactose se traduit par la production de l'acide lactique, elle se poursuit jusqu'à la coagulation du lait à pH = 4,6.

3. Phase de neutralisation :

Utilisation par les levures et moisissures de l'acide lactique produit précédemment provoque l'augmentation du pH qui tend vers la neutralité (pH≈7).

4. Phase de putréfaction (alcalisation) :

Phase de production d'hydrogène sulfuré qui résulte de la dégradation des protéines du lait.

4.7. Impacts économique et sanitaires de la qualité du lait :

4.7.1. Impacts sanitaires :

Selon DRACHE (1986) [17], les aliments peuvent être les vecteurs de bactéries capables de provoquer diverses affections chez le consommateur. Sur le plan de l'étiopathogénie, classiquement ces maladies se répartissent en :

- ❖ Infections (brucelloses, fièvres thyphoïdes, parathyphoïdes, shigelloses, etc...) qui sont secondaires à l'ingestion d'un nombre relativement spécifique,
- ❖ Toxi-infections, provoquées par l'absorption massive de bactéries et de substances toxiques, produits de leurs métabolismes qui se sont multipliées dans l'aliment,
- ❖ Intoxinations, où le seul agent étiologique est une toxine élaborée par des micro-organismes ayant colonisé l'aliment.

4.7.2. Impacts économiques :

Selon SEEGERS et *al* (1994) [66], « le manque à gagner » qui correspond aux :

- ❖ Pénalités ou pertes de prime de qualité du lait.
- ❖ Effets économiques de la moindre productivité des vaches en qualité.
- ❖ Effets associés aux mortalités et réformes supplémentaires ainsi qu'éventuellement au progrès génétique.
- ❖ Coûts de production d'un volume de lait non commercialisable.

Des lipases sont sécrétées par les bactéries psychotrophes, flore capable de se développer dans le lait conservé à basse température. Elles sont responsables de la lipolyse microbienne. Leur activité se déploie après un temps de latence de l'ordre de trois à quatre jours après la traite correspondant à la fin de la phase de multiplication des psychotrophes. Mais contrairement à la lipase naturelle, ces lipases sont en général thermorésistantes ; certaines résistent à la pasteurisation et aux traitements UHT. Elles peuvent subsister dans les produits après leur fabrication, et y agir à long terme pendant toute la durée de la conservation [67].

PARTIE
EXPERIMENTALE

LA PARTIE EXPERIMENTALE :

1.1. Période et lieu de l'étude :

Cette étude a pour but l'étude de la qualité hygiénique du lait de collecte destiné à la transformation ; pour cela nous avons visé les objectifs suivants :

- La recherche des résidus des antibiotiques dans le lait cru de citerne
- Le dénombrement des germes totaux présents dans le lait cru de citernes.
- La numération cellulaire.

Ce travail a été réalisé durant la période s'étalant du 22 janvier jusqu'au 09 février au niveau du:

- Laboratoire de la laiterie de Beni-Tamou (Blida).
- Laboratoire de la Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires et biologique de l'université Saad DAHLAB de Blida.

1.2. Origine des échantillons ;

Nous avons prélevé les échantillons de lait cru directement des camions citernes provenant des élevages bovins laitiers de la wilaya de Blida, Tipaza, Médéa et Aïn Defla, dans des flacons stériles et identifiés portants la date de prélèvement et le collecteur correspondant (collecteurs de la LBT et collecteurs conventionnés).

Nous avons suivi le protocole suivant:

- Deux prélèvements quotidiens de lait cru de chaque citerne, l'un pour la détection des résidus d'antibiotiques analysés par le Delvo x press β II et l'autre stockés dans des glacières à + 4°C, acheminés le même jour vers le laboratoire de la Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires et biologique de l'université Saad DHLAB de Blida pour la numération cellulaire.
- Un prélèvement de lait cru de chaque citerne, 2 à 3 fois par semaines pour le dénombrement des germes totaux.

Pour tous les collecteurs nous avons un total de :

- 105 échantillons pour la détection des résidus d'antibiotiques.
- 105 échantillons pour la numération cellulaire.
- 56 échantillons pour le dénombrement des germes totaux.

1.3. Matériel et méthodes :

1.3.1. Le matériel :

1.3.1.1. Matériel de collecte :

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

1.3.1.2. Matériel et appareillage de laboratoire :

1.3.1.2.1. Recherche des résidus d'antibiotiques:

- Tube en verre à vis stériles de 20ml.
- Micropipette réglable à 100 μ l.
- Embouts à usage unique (embouts jaunes).
- Portoirs métalliques.
- Réfrigérateur.
- Le Kit «Delvo x press β II» :

Le « Delvo x press β II » est un test immuno-enzymatique rapide, qui détecte les résidus de bêtalactamines présents dans le lait, en 10 min. Ce test est fondé sur le dosage de l'excès d'un réactif spécifique et l'interprétation est effectuée par une mesure colorimétrique (Voir figure n °2).

Le pack contient :

- Tubes stériles en plastique à usage unique.
- Lait standard.
- Tracer.
- Développer.
- Solution de rinçage.

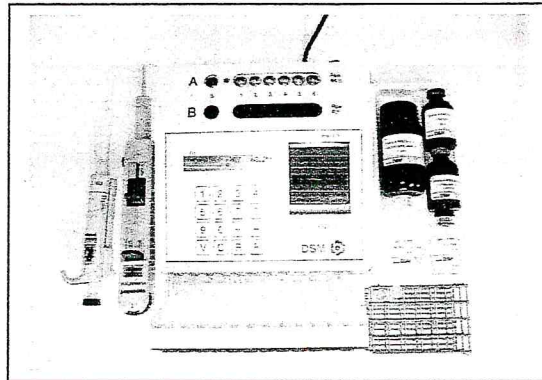


Figure n° 2: Le Kit «Delvo x press β II»

1.3.1.2.2 Recherche des germes totaux :

Le matériel utilisé est le suivant (voir figure n° 3) :

- Pipette en verre gradué de 10 ml.
- Tube à essai de 25 ml.
- Boîte de pétri.
- Etuve.
- Bain marie.
- Bec bunsen.
- Autoclave.
- Gélose de PCA (PLAT COUNT AGAR).
- Milieu de TSE.

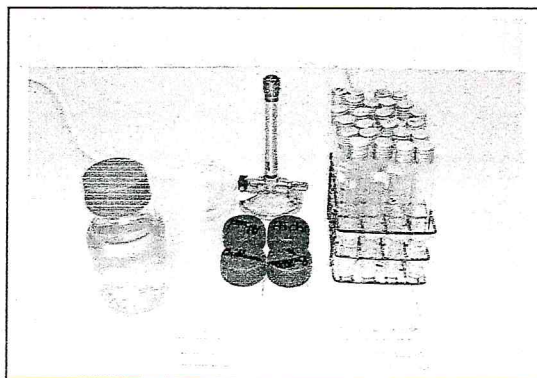


Figure n° 3 : matériel utilisé pour les germes totaux

1.3.1.2.3. La numération cellulaire:

Pour cette recherche nous avons utilisé le matériel suivant :

- Pipette Pasteur.
- Bleu de méthylène.
- La lame de Malassez.
- le Microscope optique.

1.3.2. Méthodes:

1.3.2.1. La recherche des résidus d'antibiotiques par le Delvo x press B II :

❖ Les critères de choix de cette méthode :

Cette méthode a été choisie pour les raisons suivantes :

- la rapidité du test.
- le coût.

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

- Identification des tubes contenus dans le pack, un pour le standard et les autres selon le nombre des échantillons.
- Mettre 0,2 ml de standard dans le tube concernant (Figure n° 4).

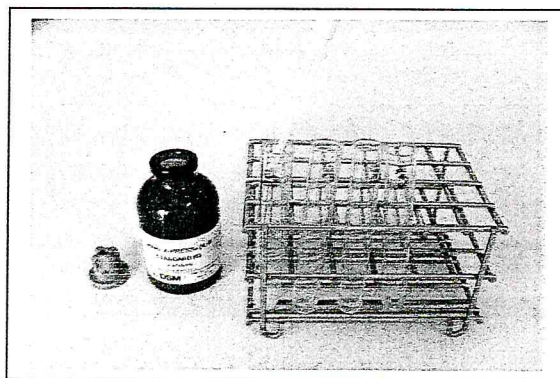


Figure n° 4 : Mettre 0,2 ml de standard

- Mettre 0,2 ml de chaque échantillon dans chaque tube concerné (Figure n° 5).

- Ajouter 0,2 ml de tracer dans chaque tube (Figure n° 6).

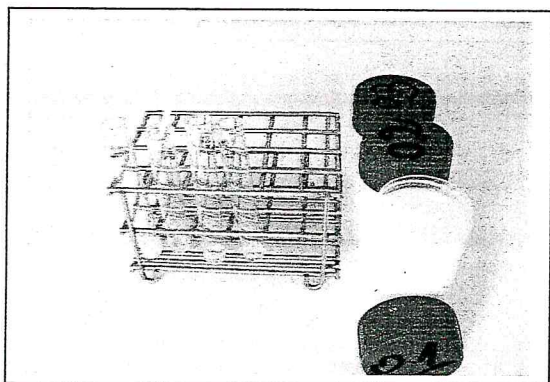


Figure n° 05: mettre 0,2 ml de l'échantillon.

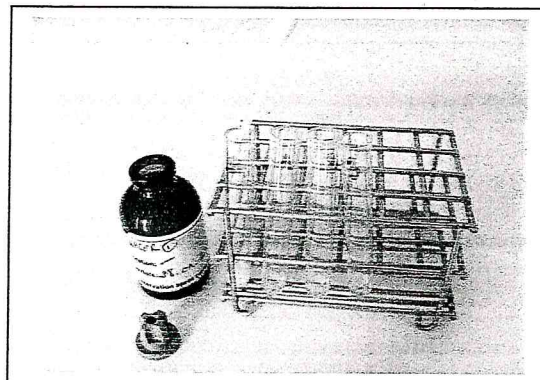


Figure n° 06: addition 0,2 ml de tracer.

- Mettre tous les tubes dans la ligne A et lancer l'appareil, laisser pendant 03 mn jusqu'à ce que l'appareil signale (voir Figure n°07).
- Une fois l'appareil a signalé, prendre tous les tubes et les rincer 3 fois successives avec la solution de rinçage (Figure n° 08).

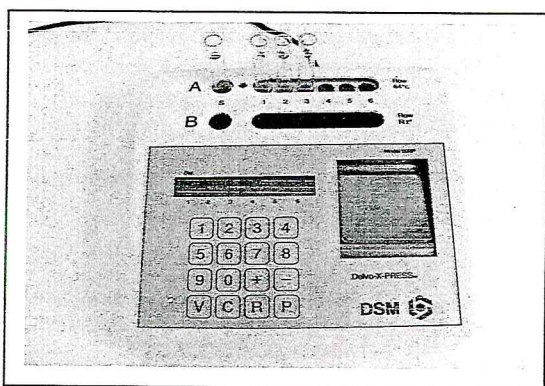


Figure n° 07: mettre les tubes dans la ligne A

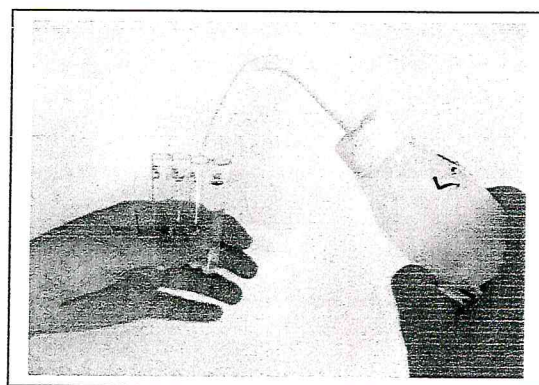


Figure n° 08: rincer les tubes 3 fois.

- Ajouter 1 ml de développer dans tous les tubes (figure n° 09).
- Mettre les tubes dans la ligne B de l'appareil et laisser incuber pendant 03 mn (Figure n° 10).

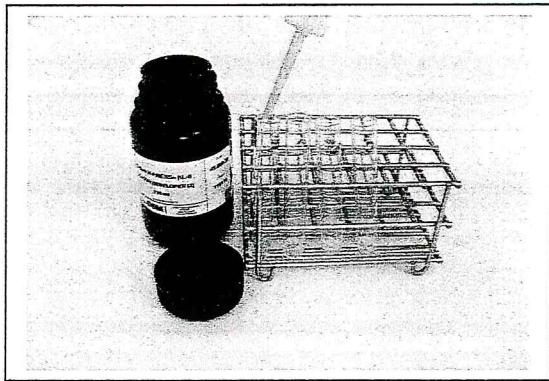


Figure n° 09: addition de 1ml de developper.

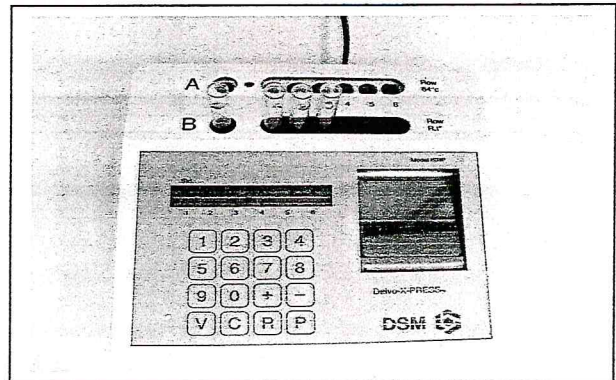


Figure n° 10: mettre les tubes dans la ligne B.

❖ La Lecture :

La lecture automatiquement après 3 minutes :

- Echantillon positif : valeur positive sur le lecteur.
- Echantillon négatif : valeur négative sur le lecteur.

1.3.2.2. Le dénombrement des germes totaux :

La recherche des germes totaux se fait selon les étapes suivantes :

- Identifier les boites de pétri.
- Préparer des dilutions décimales allant de 10^{-6} à 10^{-1} . (voir Figure n°11)

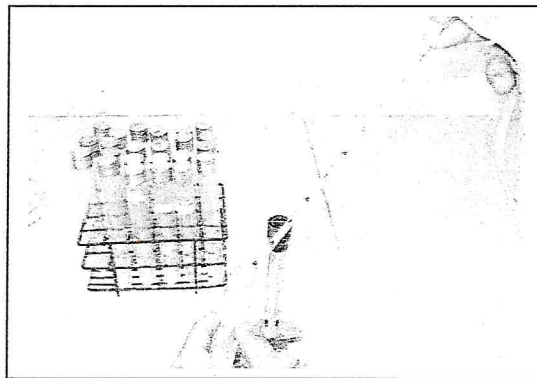


Figure n° 11: préparation des dilutions

- Porter aseptiquement 1ml dans une boite de pétri vide et stérile préparé à cet usage et numéroté (voir Figure n°12).

- Compléter ensuite avec 15ml de la gélose PCA fondue, refroidie à 45 °C (voir Figure 13).
(le temps entre l'écoulement de l'inoculum dans la boîte de pétri et celui du milieu ne doit pas excéder 15 minutes).

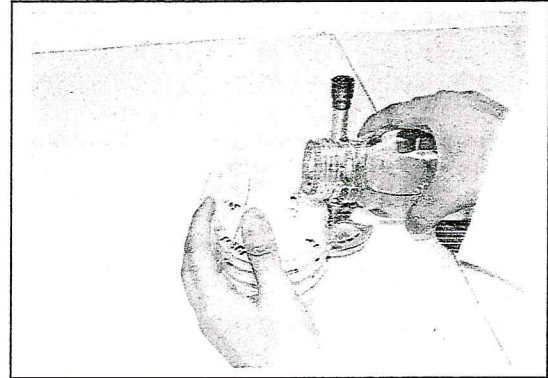
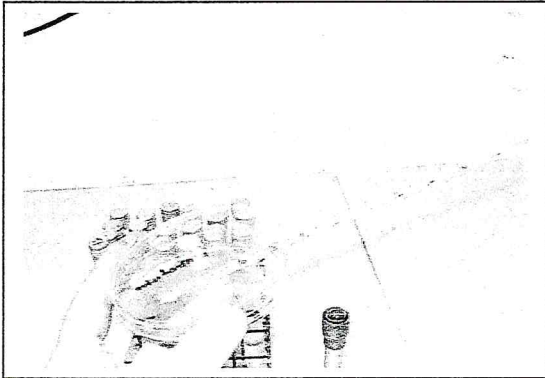


Figure n° 12: mettre 1ml de dilution dans la boîte pétri Figure n°13: ajouter 15 ml de la gélose

- Faire ensuite des mouvements circulaires en forme de huit « 8 » pour permettre à l'inoculum de se mélanger avec la gélose.
- Laisser solidifier sur la pailleasse (voir Figure n°14).

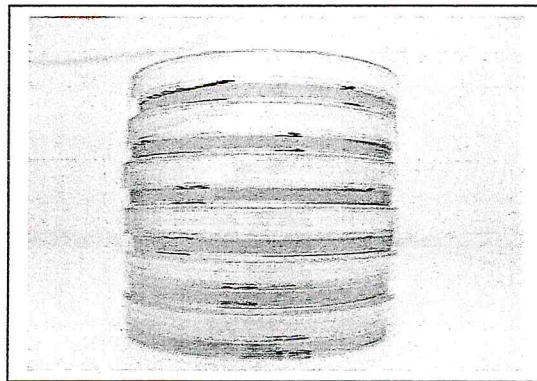


Figure n°14: laisser la boîte solidifier

- Incuber les boîtes à 30 °C pendant 72h.
- Faire une lecture chaque 24h.

❖ **la lecture :**

Pour qu'un résultat soit valable, on estime en général qu'il est nécessaire de compter les colonies sur au moins une boîte contenant au minimum 10. Les résultats sont exprimés en nombre de germes par « ml ».

Calcul du nombre N de micro-organismes présents dans l'échantillon à partir de 2 dilutions successives :

$$N = \sum C/V.1,1.d$$

$\sum C$: est la somme des colonies comptées sur les 2 boîtes retenues de deux dilutions successives et dont au moins une colonie 10 colonies.

V : est le volume de l'inoculum appliqué a chaque boîte en millilitres.

d : est le taux de dilution correspondant a la première dilution retenue.

1.3.2.3. La numération cellulaire :

❖ Les critères de choix de cette méthode :

Notre choix c'est porté sur l'emploi d'une méthode microscopique pour la numération cellulaire utilisant la cellule de malassez.

Le microscope a été choisi comme la méthode de référence selon la Norme FIL. Il s'agit d'une méthode quantitative d'évaluation de la concentration en cellules somatiques du lait.

La numération cellulaire est réalisée selon les étapes suivantes :

- Préparer deux dilutions successives (la première au 1/10 et la deuxième au 1/100), À partir du lait cru analysé (voir Figure n°15).
- Ajouter une goutte de bleu de méthylène dans chaque tube (voir Figure n°16).

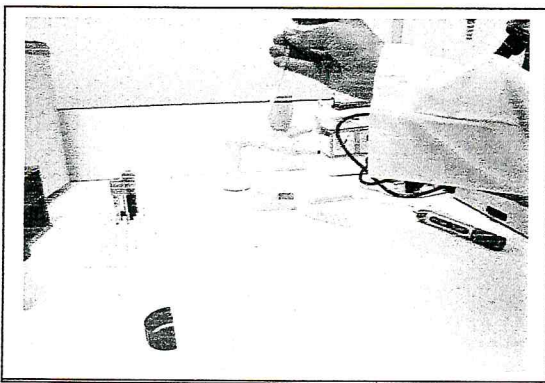


Figure n°15 : préparation des dilutions

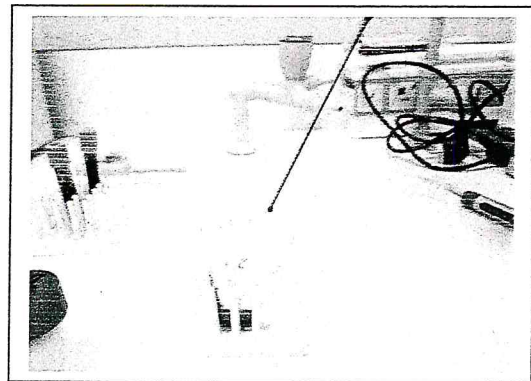


Figure n°16 : ajouter le bleu de méthylène

Et pour appliquer la dilution sur la lame de malassez il faut :

- Humecter les berges de la cellule avec un peu de salive et glisser la lamelle sur ces berges en assurant son adhérence par pression des deux pouces.
- Homogénéiser le prélèvement à l'aide d'une pipette pasteur, puis prélever une petite quantité.
- Amener l'extrémité de la pipette inclinée au niveau de l'espace situé entre la plate-forme et la lamelle planée : l'hématimètre se remplit immédiatement par capillarité (voir Figure n°17).

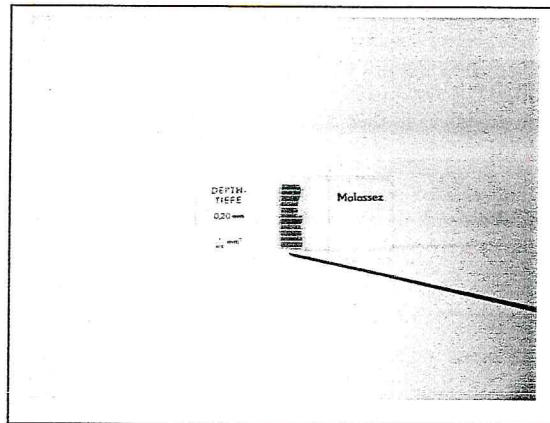


Figure n°17 : remplissage de la lame

- Laisser sédimenter horizontalement pendant 10 minutes sur un plan bien horizontal, puis compter les cellules (voir Figure n°18).

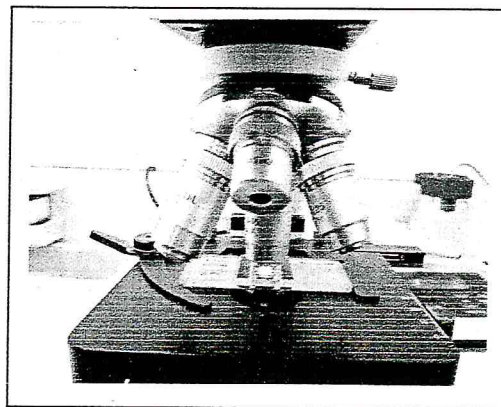


Figure n°18 : observation sous le microscope

❖ La lecture :

La cellule complète mesure 1 mm^3 , qui contient 05 bandes horizontales de 04 lignes chacune et 5 bandes verticales de 5 lignes chacune. Après le réglage du microscope à l'objectif 40 nous comptons une bande, voire la cellule entière selon la quantité de cellules trouvées. Mais les éléments situés entre deux bandes, nous ne comptons que ceux qui sont à cheval sur deux lisières, en général celle du haut et celle de droite.

❖ Expression des résultats :

Nous multiplions le nombre de cellules somatiques dénombré par le coefficient de travail afin d'obtenir la numération par ml de lait (voir le tableau III).

Tableau n° III : coefficient de travail pour la numération cellulaire

La dilution	Coefficient de travail
1/10	100000
1/100	1000000

Remarque : pour obtenir le coefficient de travail, nous multiplions le facteur de dilution par le nombre de bande de la cellule (10 bandes) et par l'inverse du volume de la cellule de Malassez.

1.4. Les résultats :

Les résultats détaillés du contrôle de la qualité hygiénique du lait cru de citerne de la laiterie de BENI-TAMOU sont représentés en ANNEXE B.

1.4.1. Les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne de chaque collecteur:

Les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne ont été traités par rapport aux collecteurs.

• Les collecteurs conventionnés :

Les résultats montrent que sur les 81 passages;

- 80 échantillons sont négatifs, soit 98,77%.
- 01 échantillon est positif, soit 01,23%.

Les résultats de l'analyse du lait cru de citerne des collecteurs conventionnés avec la laiterie sont illustrés dans la figure ci-dessous.

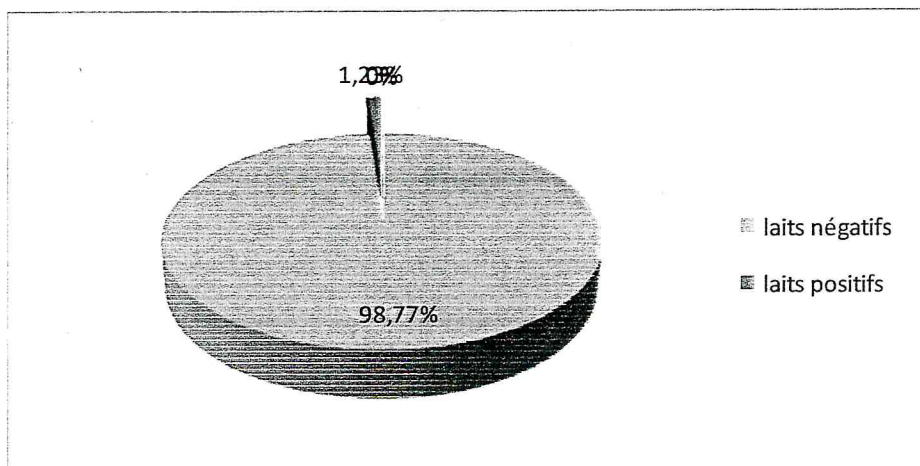


Figure n° 19: les résultats de la recherche des résidus d'antibiotique du lait cru de citerne des collecteurs conventionnés.

- **Les collecteurs de la LBT :**

Les résultats montrent que sur les 24 passages;

- 24 échantillons sont négatifs, soit 100%.
- Aucun échantillon n'a été détecté positif, soit 0%.

Les résultats de l'analyse du lait cru de citerne des collecteurs de la laiterie sont illustrés dans la figure suivante:

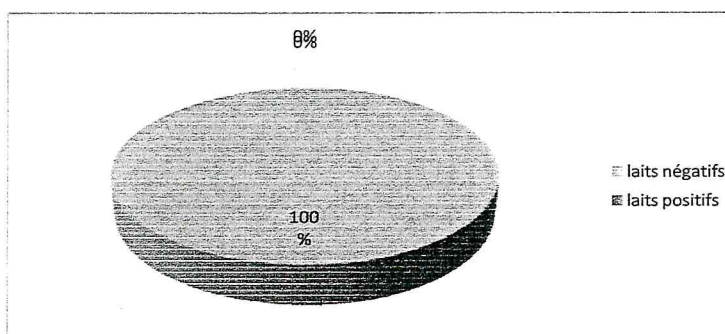


Figure n°20: les résultats de la recherche des résidus d'antibiotique du lait cru de citerne des collecteurs de LBT.

- **Les collecteurs confondus :**

Les résultats montrent que sur les 105 passages;

- 104 échantillons sont négatifs, soit 99,04%.
- 01 échantillon est positif, soit 0,95%.

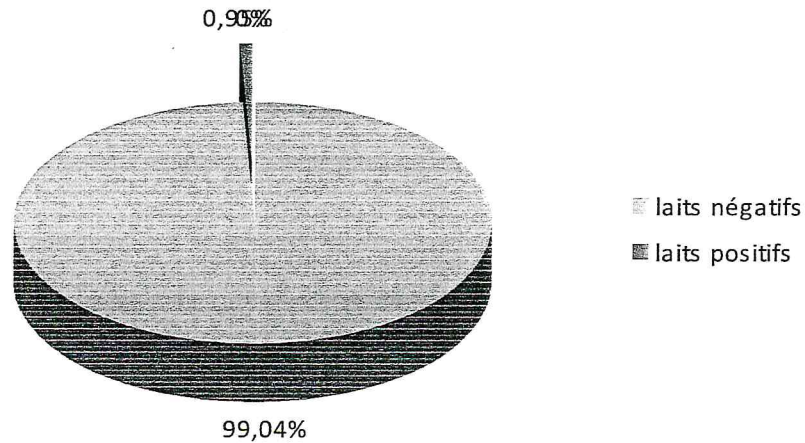


Figure n°21: les résultats de la recherche des résidus d'antibiotique des collecteurs confondus.

1.4. 2. Résultats du comptage cellulaire dans les laits crus de citernes:

Les résultats du comptage cellulaire des laits crus de citernes ont été traités par rapport aux collecteurs.

- **Les collecteurs conventionnés**

Les résultats du comptage cellulaire des laits crus de citernes analysés des collecteurs conventionnés sont présentés dans le tableau n° IV.

Tableau n° IV : Les résultats du comptage cellulaires du lait cru des collecteurs conventionnés.

N° d'ordre	Le nombre cellules/ml	n° d'ordre	Le nombre cellules/ml	n° d'ordre	Le nombre cellules/ml	n° d'ordre	Le nombre cellules/ml
01	600 000	22	200 000	43	100 000	64	300 000
02	700 000	23	300 000	44	2 200 000	65	500 000
03	500 000	24	200 000	45	300 000	66	200 000
04	600 000	25	400 000	46	1 000 000	67	100 000
05	200 000	26	300 000	47	400 000	68	100 000
06	400 000	27	200 000	48	600 000	69	300 000
07	400 000	28	200 000	49	400 000	70	100 000
08	800 000	29	100 000	50	300 000	71	100 000
09	500 000	30	200 000	51	400 000	72	400 000
10	300 000	31	500 000	52	100 000	73	100 000
11	400 000	32	700 000	53	100 000	74	100 000
12	500 000	33	800 000	54	200 000	75	100 000
13	500 000	34	500 000	55	600 000	76	1 000 000
14	200 000	35	300 000	56	600 000	77	100 000
15	300 000	36	300 000	57	500 000	78	100 000
16	300 000	37	400 000	58	700 000	79	500 000
17	200 000	38	200 000	59	400 000	80	500 000
18	100 000	39	600 000	60	100 000	81	500 000
19	200 000	40	300 000	61	100 000	/	/
20	400 000	41	100 000	62	500 000	/	/
21	200 000	42	300 000	63	300 000	/	/

Les résultats montrent que le nombre des cellules somatiques varie de 100 000 cell/ml à 2 200 000 cell/ml, avec une moyenne de 375308,642 cell/ml.

Selon l'union européenne les seuils de qualité du lait ont été fixés en fonction des seuils de prévalence moyenne des infections mammaires : 400 000 Cell /ml [68].

En fonction de cette valeur, nous pouvons classer les laits crus de citernes comme suit :

- Ceux présentant une NCT < à 400 000 cellules/ml, c'est-à-dire 45 citernes, soit 55.55%
- Ceux présentant une NCT > à 400 000 cellules/ml, c'est à dire 36 citernes, soit 44.44%

La distribution des citernes des collecteurs conventionnés, en fonction des NCT est rapportée dans le tableau n° V.

Tableau n°V: Distribution des laits crus de citernes des collecteurs conventionnés en fonction des NCT.

Nombre de cellules par ml de lait de tank	Le nombre des prélèvements	Pourcentage
<400 000	45	55.55%
>400 000	36	44.44%

- **Les collecteurs de LBT.**

Les résultats du comptage cellulaire des laits crus de citernes analysés des collecteurs de la LBT sont présentés dans le tableau n°VI.

Tableau n° VI : Les résultats du comptage cellulaires du lait cru des collecteurs de la LBT.

n° d'ordre	Le nombre cellules/ml	n° d'ordre	Le nombre cellules/ml	n° d'ordre	Le nombre cellules/ml	n° d'ordre	Le nombre cellules/ml
01	500 000	07	400 000	13	300 000	19	400 000
02	500 000	08	200 000	14	100 000	20	2 000 000
03	400 000	09	300 000	15	2 000 000	21	300 000
04	100 000	10	100 000	16	200 000	22	500 000
05	200 000	11	2 300 000	17	900 000	23	600 000
06	500 000	12	100 000	18	900 000	24	500 000

Les résultats montrent que le nombre des cellules somatiques varie de 100 000 cell/ml à 2 300 000 cell/ml, avec une moyenne de 595 833,3333 cell/ml.

En fonction du seuil déterminé par l'union européenne, nous pouvons classer les laits crus de citernes de laiterie de BENI-TAMOU comme suit :

- Ceux présentant une NCT < à 400 000 cellules/ml, c'est-à-dire 10 citernes, soit 41,66%.
- Ceux présentant une NCT > à 400 000 cellules/ml, c'est à dire 14 citernes, soit 58,33%.

La distribution des citernes de la LBT en fonction des NCT est rapportée dans le tableau n°VII.

Tableau n°VII: Distribution des laits crus de citernes de la LBT en fonction des NCT.

Nombre de cellules par ml de lait de tank	Le nombre des prélèvements	Pourcentage
<400 000	10	41,66%
>400 000	14	58,33%

- **Les collecteurs confondus.**

Les résultats du comptage cellulaire des laits crus de citernes analysés, de tous les collecteurs de la laiterie sont présentés dans l'annexe B

Les résultats montrent que le nombre des cellules somatiques varie de 100 000 cell/ml à 2 300 000 cell/ml, avec une moyenne de 425 714,286 cell/ml.

En fonction du seuil déterminé par l'union européenne, nous pouvons classer les laits crus de citernes de la laiterie de BENI-TAMOU comme suit :

- Ceux présentant une NCT < à 400 000 cell/ml, c'est-à-dire 55 citernes, soit 52,38%.
- Ceux présentant une NCT > à 400 000 cell/ml, c'est à dire 50 citernes, soit 47,61%.

La distribution de toutes les citernes de la laiterie, en fonction des NCT est rapportée dans le tableau n°VIII.

Tableau n°VIII: Distribution des laits crus de toutes les citernes de la laiterie en fonction des NCT.

Nombre de cellules par ml de lait de tank	Le nombre des prélèvements	Pourcentage
<400 000	55	52,38 %
>400 000	50	47,61%

1.4.3. Résultats du dénombrement des germes totaux dans les laits crus de citernes:

Les résultats du dénombrement des germes totaux des laits crus de citernes ont été traités par rapport aux collecteurs.

- **Les collecteurs conventionnés :**

Les résultats du dénombrement des germes totaux des laits crus de citernes analysés des collecteurs conventionnés sont présentés dans le tableau n° IX.

Tableau n° IX: Les résultats du dénombrement des germes totaux des échantillons de lait analysés des collecteurs conventionnés.

n° d'ordre	Le taux des germes	n° d'ordre	Le taux des germes	n° d'ordre	Le taux des germes	n° d'ordre	Le taux des germes
01	13.10 ⁶	11	>>300.10 ⁶	21	>300.10 ⁶	31	>>300.10 ⁶
02	>>300.10 ⁶	12	>>300.10 ⁶	22	>>300.10 ⁶	32	>300.10 ⁶
03	>>300.10 ⁶	13	9.10 ⁶	23	>>300.10 ⁶	33	>>300.10 ⁶
04	>>300.10 ⁶	14	184.10 ⁶	24	>300.10 ⁶	34	>>300.10 ⁶
05	>300.10 ⁶	15	3.10 ⁶	25	>300.10 ⁶	35	>300.10 ⁶
06	200.10 ⁶	16	>>300.10 ⁶	26	>>300.10 ⁶	36	300.10 ⁶
07	>>300.10 ⁶	17	>>300.10 ⁶	27	9.10 ⁶	37	>300.10 ⁶
08	>>300.10 ⁶	18	8.10 ⁶	28	>300.10 ⁶	38	>300.10 ⁶
09	>300.10 ⁶	19	>300.10 ⁶	29	>300.10 ⁶	39	>300.10 ⁶
10	>>300.10 ⁶	20	300.10 ⁶	30	>300.10 ⁶		

Les résultats montrent que le nombre des germes totaux dans le lait cru de citerne des collecteurs conventionnés présente une moyenne de 257 076 10⁶ germes/ml.

Selon la réglementation algérienne, les classes fixées du lait par rapport aux germes totaux dans le lait cru sont de trois catégories (voir annexe n°1) :

- 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.

En fonction de ces valeurs, nous pouvons classer les laits crus des citernes conventionnés comme suit :

- Ceux présentant un taux $< 100\ 000$ germe/ml, c'est-à-dire 0 citernes, soit 0%.
- Ceux présentant un taux compris entre 100 000 et 500 000 cell/ml, c'est à dire 0 citernes, soit 0%.
- Ceux présentant un taux compris entre 500 000 et 2 000 000 cell/ml, c'est à dire 0 citernes, soit 0%.
 - ❖ Tous les résultats obtenus des collecteurs conventionnés sont hors catégorie par rapport à la réglementation. C'est-à-dire plus que les normes déterminées

La distribution des citernes des collecteurs conventionnés, en fonction du dénombrement des germes totaux est rapportée dans le tableau n°X.

Tableau n°X : Distribution des laits crus de citernes des collecteurs conventionnés en fonction du dénombrement des germes totaux

Les catégories	Le nombre des échantillons	Le pourcentage
Catégorie A	0	0
Catégorie B	0	0
Catégorie C	0	0
Hors catégorie	39	100

- **Les collecteurs de LBT :**

Les résultats du dénombrement des germes totaux des laits crus de citernes pour les collecteurs de LBT sont présentés dans le tableau n° XI.

Tableau n° XI: Les résultats de la numération cellulaires des échantillons de lait analysés des collecteurs de la LBT.

n° d'ordre	Le taux des germes	n° d'ordre	Le taux des germes	n° d'ordre	Le taux des germes	n° d'ordre	Le taux des germes
01	4.10^6	06	$>300.10^6$	11	$>300.10^6$	16	$>300.10^6$
02	$>300.10^6$	07	$>300.10^6$	12	$>300.10^6$	17	$>300.10^6$
03	$>>300.10^6$	08	$>300.10^6$	13	$>300.10^6$		
04	$>300.10^6$	09	$>>300.10^6$	14	$>300.10^6$		
05	$>>300.10^6$	10	$>300.10^6$	15	$>300.10^6$		

Les résultats montrent que le nombre des germes totaux dans le lait cru de citerne des collecteurs de la LBT présente une moyenne de $272\ 588. 10^6$ germes/ml.

En fonction des valeurs fixées par la réglementation Algérienne, nous pouvons classer les laits crus des citernes de la LBT comme suit :

- Ceux présentant un taux $< 100\ 000$ germe/ml, c'est-à-dire 0 citernes, soit 0%.
- Ceux présentant un taux compris entre $100\ 000$ et $500\ 000$ cell/ml, c'est à dire 0 citernes, soit 0%.
- Ceux présentant un taux compris entre $500\ 000$ et $2\ 000\ 000$ cell/ml, c'est à dire 0 citernes, soit 0%.
 - ❖ Tous les résultats obtenus des collecteurs de la LBT sont hors catégorie par rapport à la réglementation. C'est-à-dire plus que les normes déterminées

La distribution des citernes des collecteurs de la LBT, en fonction du dénombrement des germes totaux est rapportée dans le tableau n° XII.

Tableau n°XII : Distribution des laits crus de citernes des collecteurs de la LBT, en fonction du dénombrement des germes totaux.

Les catégories	Le nombre des échantillons	Le pourcentage
Catégorie A	0	0
Catégorie B	0	0
Catégorie C	0	0
Hors catégorie	17	100

- **Les collecteurs confondus :**

Les résultats du dénombrement des germes totaux des laits crus de citernes de tous les collecteurs de la laiterie analysés et présentés dans l'annexe B, ont une moyenne de $261\,785 \cdot 10^6$ germes/ml.

En fonction du seuil déterminé par la réglementation Algérienne, nous pouvons classer les laits crus de citernes de la laiterie comme suit :

- Ceux présentant un taux $< 100\,000$ germe/ml, c'est-à-dire 0 citernes, soit 0%.
- Ceux présentant un taux compris entre $100\,000$ et $500\,000$ cell/ml, c'est à dire 0 citernes, soit 0%.
- Ceux présentant un taux compris entre $500\,000$ et $2\,000\,000$ cell/ml, c'est à dire 0 citernes, soit 0%.
 - ❖ Tous les résultats obtenus de tous les collecteurs dépistés sont hors catégorie par rapport à la réglementation. C'est-à-dire plus que les normes déterminées.

La distribution des citernes de tous les collecteurs de la laiterie, analysées en fonction du dénombrement des germes totaux, est rapportée dans le tableau n° XIII.

Tableau n°XIII : Distribution des laits crus de citernes de tous les collecteurs de la laiterie analysés, en fonction du dénombrement des germes totaux

Les catégories	Le nombre des échantillons	Le pourcentage
Catégorie A	0	0
Catégorie B	0	0
Catégorie C	0	0
Hors catégorie	56	100

1. 5. Discussion :

1. 5.1. La recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citernes :

A l'issu de cette partie expérimentale portée sur la recherche des résidus d'antibiotiques, essentiellement les bêtalactamines, dans le lait cru des citernes au moyen du Delvotest Xpress, il a été révélé que sur 81 échantillons de laits crus de citernes; un seul a été contaminé, soit 01,23% chez les collecteurs conventionnés et aucun d'eux ne l'a été chez les collecteurs de la LBT, soit 0%, avec un total d'une citerne contaminée sur les 105 analysés, soit 0,95%

Nos résultats sont inférieurs par rapport à ceux rapporté par d'autres études :

- L'étude d'OUSSER [69] réalisé sur 50 échantillons de lait cru de citerne à l'aide de delvotest SP rapporte la contamination de 12% des laits analysés.
- BOUAISSA ET YAMNAINE [70], ont montrés un taux de 65,46% de positivité de bêtalactamine pour le lait de collecte dont l'analyse est réalisée au moyen de Rosa Test.
- BENCHALABI et CHERGUI [71], ont rapportées un taux de contamination par les bêtalactamines de 27,72%, détectés par le TWINE SENSOR.
- L'étude faite par KHEROUBI et MAHIEDDINE [72], rapporte un taux de contamination de 5,92 % par les bêtalactamines sur les 135 échantillons de laits crus de citernes analysés par le Delvo X press B11.
- sur un total de 782 échantillons de laits crus de citernes analysées par le Delvo X press B11, réalisés par RAFA et BENSADDEK [73], seulement 10 échantillons été considérés comme positifs, soit 1,27%.

La contamination du lait cru par les résidus d'antibiotiques peut être probablement expliqués par plusieurs hypothèses :

Le non-respect des délais d'attentes (l'éleveur ne connaît pas ou ne respecte pas les règles d'utilisation des médicaments).

La mauvaise vidange et l'absence de rinçage de la griffe.

Le non respect des conditions d'hygiènes au cours de la traite.

L'utilisation des antibiotiques à titre curatifs dont l'objectif majeur est d'éradiquer l'infection, d'obtenir la guérison des animaux cliniquement malades, d'éviter leur mortalité et de restaurer leur production.

Le test que nous avons utilisé pour la détection des résidus d'antibiotiques (Delvo-x-press) pourrait avoir une influence sur les résultats obtenus (faux négatif), car il permet une détection limitée qu'aux bêtalactamines seulement, alors que le lait peut être contaminé par d'autres antibiotiques non détectés par ce test, ce qui explique le taux très bas de la contamination du lait par les résidus d'antibiotiques détectés par le Delvotest X press11.

1.5.2. La numération cellulaire du lait cru de citernes:

Cette partie expérimentale basée sur la numération cellulaire dans le lait cru de citerne des collecteurs provenant des wilayas de Blida, Ain-defla, Alger, Médéa et Tipaza et qui alimentent la laiterie de Beni_Tamou, nous avons constaté que sur un total de 81 échantillons de laits crus de citernes analysés, provenant des collecteurs conventionnés avec la laiterie, un taux cellulaire moyen de 371604,93 cell/ml et que sur un total de 24 échantillons de lait cru de citernes provenant des collecteurs de la LBT, un taux cellulaire moyen de 595833,33 cell/ml, avec un taux cellulaire moyen de 425 714,286 cell/ml pour toutes les citernes analysées.

Des études similaires ont rapporté les résultats suivants :

- MTAALLAH ET AL en 2000 [74] ont rapporté une concentration moyenne de 642 317 cell/ml,

Le taux cellulaire moyen du lait de tank permet d'estimer le niveau d'infection ou le nombre de quartiers atteints dans un troupeau à un moment donné.

La valeur moyenne inférieure de la numération cellulaire que nous avons trouvée peut s'expliquer par un niveau moins élevé d'infection mammaire dans les élevages d'où provenait le lait.

Les facteurs responsables des variations du taux cellulaire du lait cru de tank sont nombreux, le contrôle des conditions d'hygiène des élevages ainsi que le renouvellement des élevages laitiers par des jeunes femelles peuvent diminuer les risques pour avoir une infection mammaire.

1.5.3. Le dénombrement des germes totaux :

Cette partie expérimentale portée sur le dénombrement des germes totaux dans le lait cru des citernes a révélée que les 39 échantillons de laits crus appartenant aux collecteurs conventionnés avec la laiterie présentent une moyenne de $257\,076 \cdot 10^6$ germes/ml et que les 17 échantillons de laits crus de laits appartenant aux collecteurs de la LBT présentent une moyenne de $272\,588 \cdot 10^6$ germes/ml, avec une moyenne de $261\,785 \cdot 10^6$ germes/ml pour toutes les citernes de la laiterie analysées.

Nos résultats sont supérieurs par rapport à ceux rapporté par d'autres études :

- OUMEZZAOUCHE ET TIRAOUI [75] rapportent une moyenne de $20 \cdot 10^2$ de germes/ml sur 6 échantillons.
- BRAHIMI ET GHRIB [76] rapportent des taux qui varient de $79 \cdot 10^2$ à $42 \cdot 10^6$ de germes/ml sur 5 échantillons.
- HAMOULLI ET EL FOUJIL [77] rapportent des taux qui varient de $14,13 \cdot 10^3$ à $326 \cdot 10^3$ de germes/ml sur 8 échantillons.

Le taux élevé de germes totaux peut expliquer par :

Une mauvaise pratique d'hygiène lors la traite et au niveau de la ferme : en effet l'atmosphère des étables est souvent chargé de germes provenant des excréments.de la paille et des aliments.

Le non respect de la chaîne du froid lors du transport du lait cru.

Contamination lors de la manipulation du lait.

LA CONCLUSION :

Le lait cru constitue une matière première principale pour les industries laitières, c'est pour ce la, nous nous sommes intéressées dans le cadre de notre travail à l'estimation de la qualité de ce produit.

Les résultats de cette étude ont permis de mettre en évidence une contamination faible des résidus d'antibiotiques et un taux bas de cellules somatiques dans le lait, qui sont un critère majeur de bonne qualité. En ce qui concerne l'analyse bactériologique, elle a révélé la présence des germes totaux dans la totalité des échantillons à des taux très élevés, ce qui reflète une forte contamination du lait cru.

La présence des résidus d'antibiotiques dans le lait engendrent des risques essentiellement pour l'industrie laitière et la santé publique et les enquêtes réalisées sur terrain ont montrées la responsabilité des producteurs, liée au non respect de délai d'attente et celle du vétérinaire dans le non respect de la dose prescrite.

La présence d'un taux élevé de germes totaux est un indice d'une qualité bactériologique non satisfaisante du lait cru de citernes de la laiterie.

La présence des cellules somatiques à des taux bas, indique un taux bas d'infection mammaire dans les troupeaux d'où provient le lait cru.

A notre niveau, notre échantillonnage n'est pas suffisant, ce qui ne nous permet pas de conclure définitivement sur la qualité réelle du lait cru de citerne de la laiterie, car il faudrait sans doute effectuer des analyses sur un nombre d'échantillons beaucoup plus important avec une durée de stage plus longue.

RECOMMANDATION

A l'issus de notre étude, pour minimiser les problèmes de la qualité hygiénique et sanitaire du lait cru de citerne, nous recommandons les mesures suivantes :

❖ **Les résidus d'antibiotiques :**

- Mettre en place de bonnes pratiques d'élevage avec une utilisation des antibiotiques vétérinaires adéquate.
- Informer l'éleveur de respecter le délai d'attente des antibiotiques pour éviter tout problème de résidus dans le lait.
- Sensibiliser les éleveurs sur les dangers de l'utilisation des antimicrobiens sans prescription vétérinaire.
- Faire périodiquement des tests de contrôle aux niveaux des élevages.
- Utiliser surtout d'autres méthodes plus sensibles pour la détection des résidus d'antibiotiques au niveau de la laiterie.

❖ **Les germes totaux :**

- Respecter la propreté et l'hygiène du cheptel liées aux conditions de logement et de stabulation.
- Eviter l'introduction dans le troupeau d'animaux infectés.
- Séparer les animaux infectés jusqu'à leur guérison ou leur élimination.
- Respecter l'hygiène de la mamelle et de la traite.
- Après chaque traite, les équipements de traite et l'installation de transfert doivent subir un bon nettoyage et désinfection.
- Refroidir le lait cru dans des cuves à 4 °C après la traite.
- Respecter les mesures hygiéniques au moment de la collecte et du transport du lait par les collecteurs pour éviter la contamination exogène.

❖ **Les cellules somatiques :**

- Surveillance systématique de l'état sanitaire des troupeaux par des mesures mensuelles de la concentration cellulaire individuelle des vaches et du lait de tank.
- Traiter les mammites cliniques et sub cliniques en vue de guérir l'infection.
- Etudier les facteurs influençant l'augmentation du taux cellulaire dans le lait cru.
- Utiliser une méthode de la numération cellulaire au niveau de la laiterie.

LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. CAUTY, I. et PEREAU, J. M., (2005). « La conduite du troupeau laitier : La qualité du lait », 1er Edition France agricoles, p55-57.
2. LARPENT, J.P., (1997). « Microbiologie alimentaire. Techniques de laboratoire. Paris : Technique et documentation », p1073.
3. HANZEN, CH. (2000). «Preupédentique et pathologies de la reproduction male et femelle biotechnologie de la reproduction pathologie de la glande mammair». 3^{ème} et 4^{ème} Edit université de Liège.
4. ANONYME ,(2000). « manuel de transformation du lait ».
5. RIBADEAU-DUMAS, B et GRAPPIN, (1989). « Milk protein analysis » Lait, 96, p357-416.
6. CAROLE.L et VIGNOLA(2002). «science et technologie du lait , transformation du lait. Ecole polytechnique de montréal, p279
7. LUQUET, F.M. (1985). «Lait et produits laitiers : vache, brebis, chèvre». 3 volumes, Paris, Technique et documentation, Lavoisier.
8. MATHIEU, J, (1998). «Initiation à la physico-chimie du lait». Edition Lavoisier, Technique et documentation, paris, p220.
9. DEBRY, G., (2001). « Lait, nutrition et santé». Paris : Technique et documentation.
10. LUQUET, F.M. (1986). « Lait et produits laitiers : vache, brebis, chèvre » Tome III, Edit Lavoisier, Tech Doc, Paris.
11. POUGHEON, S. et GOURSAUD, J. (2001). «Le lait et ses constituants caractéristiques physicochimiques», In : DEBRY, G. Lait, nutrition et santé, Tec & Doc, Paris, 3-42.
12. HANZEN, CH, (1999). Pathologie de la glande mammaire de la vache laitière: Aspects individuels et d'élevage. 4^{ème} Edition Université de Liège.
13. VEISSEYRE, R, (1975). Technologie du lait. 3ème édition, Paris, La maison rustique, 714p.
14. LE PAGE, P.H, (1999). Les cellules du lait et de la mamelle. Journées nationales GTV INRA. Nantes. Session : les cellules somatiques du lait, 7-13.
15. VEISSEYRE, R, (1979). « Technologie du lait : constitution, récolte, traitement et transformation du lait » Edition la maison Rustique, parisp., 584

16. **BERTHELOT, X., LEBRET, P., PETIT, C, (1987).** «Les infections mammaires de la vache laitière». Ecole nationale vétérinaire de Toulouse, p192 .
17. **DERACHE, R, (1986).** « toxicologie et sécurité des aliments », Edition Lavoisier, technique et documentation, paris.
18. **MONOSALLIER, A, (1994).** « La prévention des infections intra-mammaires par l'hygiène. Séminaire de la fédération internationale des laiteries», p29-34.
19. **FONTAINE, M, (1993).** « vade-mecum de vétérinaire. formulaire vétérinaire de pharmacologie, de thérapeutique et hygiène ». Tome I, 15^{ème} édition. office des publications universitaires. Alger. p 560.
20. **BRYSKIER.A, (1999).** « antibiotiques agents antibactériennes et antifongiques » ,Paris, ellipses édition marketing ,p1216.
21. **BOURIN, M. et JOLLIET. P., (1999).** « Pharmacologie générale et pratique », 3èmeédition, Ellipses/édition marketing. S. A. Paris, p24-34.
22. **MAUR-NEUMAN, (1995)** «vade-mecum des antibiotiques et agents chimiothérapeutiques, anti- infectieux». 4^{ème} edition , maloine, paris .p13.
23. **PUYT, J. D, (2002).** « médicament anti-infectieux en médecine vétérinaire: base des antibiothérapies ». ENV Nantes, p201.
24. **LARPENT, J.P ET SANGLIER. J.J, (1989).** « biotechnologie des antibiotiques », paris, masson 1989. p481.
25. **BOURIN, M, MICHEL, L et ALLAIN, H, (1994).** « Médicaments –Antibiotiques. Traité de Chimie Thérapeutique » Vol 2. Cours de Pharmacologie 3ème Edition.
26. **DUVAL, J et SOUSSY C, J, (1985).** « Abrégés d'antibiothérapie », masson, paris, 180p.
27. **MAUR-NEUMAN, (1990).** « vade-mecum des antibiotiques et agents chimiothérapeutiques, anti- infectieux », 5^{ème} edition, maloine, paris .p13.
28. **CHASLUS-DANCLA, E, (1999).** Mécanismes de résistance aux antibiotiques. In : Journées Nationales GTV-INRA. Nantes, 26-28 Mai 1999, Groupements Techniques Vétérinaires. 133-137.
29. **LEBRES, E et MOUFFOK, F , (1989).** « Recherche d'antibiotiques et de résidus d'antibiotiques dans les laits». Maghreb vétérinaire. Vol 4. 17: 5 – 7.

30. **ANONYME, (1995).** «A propos de la contamination physique et chimique du lait, l'iode. Institut de l'Elevage».
31. **MARIANI, S, (2004).** « effets des infections bactériennes de la mamelle en début de lactation sur les comptages cellulaires somatiques et sur la production laitière en fonction de rang de lactation », Thèse n°12, Ecole Nationale Vétérinaire Lyon.
32. **FRISON, D, (1991).** « Les inhibiteurs dans le lait, importance au niveau de la coopérative ORLAC». Rapport de stage ISARA de Lyon.
33. **LABIE, CH, (1981).** «Dispositions législatives destinées à éviter la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait». Rec. Méd. Vét., 157, 161-167.
34. **BERCHE, P, LOUIS, J et SIMONET, M, (1991).** « Bactériologie : les bactéries des infections humaines», Éd. Médecine Sciences, Flammarion, Paris.
35. **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.
36. **DEWDNEY, J.M. ET EDWARDS, R.G., (1984),** « Penicillin hypersensitivity in milk a significant hazard », J.Roy.Sac.Med., 77,866-877.
37. **ECCKHOUTTE, M, (1978),** « Antibiotiques et alimentation humaine », Revue de Méd.Vét, 125, (5), 717-740.
38. **MAUBRAS, L, (2004).** « Dépistage des antibiotiques dans le lait "matière première de l'industrie laitière"», THESE: 2004- TOU3- 4071, Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse.
39. **BROUILLET, P, (1994).** « maîtrise de la présence d'inhibiteurs dans le lait». Recueil de médecine vétérinaire, p 443-455.
40. **LAMONTAGNE, M., CLAUDE, P., CHAMPAGNE., JOELLE, R., MOINEAU S., GARDNER, N., LAMOUTEUX, M., JEAN, J et FLISS, I, (2002).** Science et technologie du lait "transformation du lait", chapitre II, p 74-145.
41. **VERHNES, R et VANDAELE, E, (2002).** «Détection rapide des inhibiteurs dans le lait». *Point Vét.*, 33 (227), 16-17.
42. **BROUILLET, P, (2002).** Les tests rapides de détection des antibiotiques dans le lait. Bulletin des GTV. 15. Avril – Mai – Juin : 183 – 189.
43. **PASCAL, G, (1999).** «Comment garantir la sécurité du consommateur: Rôle de la réglementation alimentaire», Cahier Agriculture, 326-330.

44. **DEYMIE, P., L.J.MULTON et SIMON, D.** «Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires ».lavoisier .paris. p400.
45. **SCHALMS et LASMANI J (1968).** «The leucocysts: origin and function mastitis». JA.VM.A. 153: 1688-1694.
46. **RUPP, R., (2000).** «Analyse génétique de la résistance aux mammites chez les ruminants laitiers», Thèse de doctorat de l'institut National Agronomique, Paris, Grinon.
47. **PERRIN, G.G, BAUDRY, C., (1993).** «Qualité hygiénique du lait de chèvre: Numération cellulaires du lait de chèvre», p 491.
48. **LEE.C.S et WOODING .F.B.P et KEMP.P., (1980).** «Identification ,properties and differential counts of all population using microscopy of dry cows secretion ,colostrum and milk from normal cows». P49.39.
49. **BADINAND, F., (1994).** « maitrise de la présence d'inhibiteurs dans le lait». Recueil de médecine vétérinaire, p 419-427.
50. **SCHALM ,O.W , CARROLL, E et JAIN, N.C., .(1971).** « bovin mastitis . lea et febiger , philadelphie chapitre 6 . number and type of somatic cells in normal and mastic milk». p 94.157.
51. **BERGONIER, D., LAGRIFFOUL, G., BERTH, lot X et BARILLET, F., (1994).** «Facteurs de variation non infectieux des comptages de cellules somatiques chez les ovins et caprins laitiers». Proc Int Symp A Somatic cells and milk of small Ruminants, Bella, Italy.
52. **SERIEYS, F., (1985).** « Concentration cellulaire du lait individuel de la vache: influence de l'état d'infection mammaire, du numéro de lactation, du stade de lactation et de la production laitière». Ann.Rech.Vét., 16, 255-261.
53. **RENAUD, (2002).** « méthodes de diagnostic des mammites, l'action vétérinaire ». p21-25.
54. **NOIRETERRE PHILIPPE.** « suivis de comptages cellulaires et d'examens bactériologiques lors de mammites cliniques chez la vache laitière étude expérimentale au centre d'élevage Lucien bizet de poisay ».
55. **PRESCOLT et BREED, (1910).** « The determination of number of body cells in milk bay a direct method». J. inf.dis, p632-640.

56. **BERTHELOTX ; LEBERT, P et PETIT, C (1987).** « Les infections mammaires de la vache laitière ».Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse 192p.
57. **RADOSTITS O. M., BLOOD D C et GAY C.C., (1997).** « Text book of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses veterinary medicine». Eighth edition Saunders, p 576.
58. **PAAPE, M.J., VAN OOSTVELD et MEYER, E., (1999).** « phagocytic defence of the bovine mammary gland », journées nationales G.T.V, I.N.R.A, session les cellules somatiques du lait Nantes, p23-28.
59. **SERIEYS, F., AUCLAER., J, et POUTREL, B., (1987).** « influence des infections mammaires sur la composition chimique de lait in : le lait, matière première de l'industrie laitier », p161-170.
60. **JAY, J.M. (1986).** Modern food microbiology. 3th Ed, Van Nostrand Reinhold Cy.
61. **ROBINSON, R.K. (1981).** Dairy microbiology. Vol 1: The microbiology of milk. London: Appl. Sci. Publ.
62. **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, p 671.
63. **MONOSALLIER, G., (1994)** «maitrise de la teneur en germes mésophiles totaux du lait à la production » .recueil de médecine vétérinaire. p411-418.
64. **GUIRAUD, (1998).** « Microbiologie alimentaire », DUNOD, Paris, p652.
65. **PETRANSXIENE et LAPIED, (1981).** « Qualité bactériologique du lait et des produits laitiers », édition, technique et documentation, p92-95.
66. **SEEGERS, H., FOURICHON, C., MALHER, X.,L'HOSTIS,M., (1994).** « A frame work for animal health management », Veterinary Resarch, p165-173.
67. **MEFFE, N., (1994).** «La lipolyse dans le lait de vache : bien en comprendre les mécanismes et les causes pour mieux la prévenir». Recueil de médecine vétérinaire, p 399-410.
68. **EEC, (1992).** «EUROPEAN ECONOMIC COMMUNITY». Council directive 92/46/EEC. Commission Document 39L0046. EEC, Brussels, Belgium. June 1992.
69. **OUSSER, N., (2006).** « recherche des résidus d'antibiotique dans le lait cru par le delvotest-sp. Mémoire pour obtenir le diplôme de docteur vétérinaire . p 52.

70. **BOUAISSA, K et YAMNAINE, N., (2007).** « recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru par le ROSA test » . Mémoire pour obtenir le diplôme de docteur vétérinaire, Université Saad Dahlab , Blida .p81.
71. **BENCHALABI, K et CHERGUI, D., (2008).** recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru par le delvo- test-sp et twine sensor , Mémoire pour obtenir le diplôme de docteur vétérinaire, Université Saad Dahlab ,Blida .p57
72. **KHERROUBI, I et MAHIEDDINE, K., (2010).** « recherche des résidus d'antibiotiques par le delvo-x-press et le delvotest sp et les résidus des désinfectants et détergents par le dosage des ions NA et K au moyen de la spectrophotométrie a flamme dans le lait cru », mémoire fin d'étude .université Saad Dahlab .Blida .p53.
73. **RAFA, N et BENSADK, K., (2011).** « recherche des résidus des bêtalactamines dans le lait cru de citerne au niveau de la laiterie de Beni Tamou et impact économique », mémoire fin d'étude .université Saad dahlab .Blida. p47.
74. **MTAALLAH, B et OULE .Z, TAHRLM., (2000).** « taux cellulaire de tank et ses facteurs de risques en élevage bovin laitier intensif colloque: lait, qualité et sante ». p25-31.
75. **OUMEZZAOUCHE, K et TIRAOU, A., (2008).** « contrôle microbiologique et physicochimique d'un lait cru de vache de la traite jusqu'à sa mise en citernes de collecte » , mémoire fin d'étude , pour obtenir le diplôme d'ingénieur d'état en biologie université Saad dahlab. Blida .p46.
76. **BRAHIMI, F et GHRIB, A., (2010).** « contrôle de la qualité bactériologique et physico-chimique du lait cru provenant des élevages de la wilaya de Blida ». Mémoire pour obtenir le diplomole d'ingénieur d'état en biologie, Université Saad dahlab .Blida. p46.
77. **HAMOULLI, L et EL FAUDIL, M., (2005).** «étude de la qualité microbiologique et physico-chimique de lait cru provenant des élevages de la wilaya d'Alger », mémoire fin d'étude, pour obtenir le diplôme d'ingénieur d'état en biologie université Saad dahlab Blida .p37.

ANNEXES

ANNEXE 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.

ANNEXE B

Tableau I : Les résultats confondus de l'analyse du lait cru des citernes conventionnés

Nom de collecteurs	Region	Résultat ATB	BACTERIOLOGIE	CELLULES SOMATIQUES
Ghalem	MEDEA	-	9.10 ⁶	800000
Abed	BLIDA	-		600000
Chaabane	BLIDA	-	3. 10 ⁶	600000
Ramdhane	BLIDA	-	8. 10 ⁶	2200000
El-Aïchi	BLIDA	-		600000
Guelmi	BLIDA	-		500000
Abed	BLIDA	-	13. 10 ⁶	700000
Abed	BLIDA	-		500000
Benzire	BLIDA	-		500000
Abed	BLIDA	-	>>300. 10 ⁶	600000
Abed	BLIDA	-		200000
El-Aïchi	BLIDA	-	>>300. 10 ⁶	400000
Guelmi	BLIDA	-		700000
Abed	BLIDA	-		400000
Boukherchouf	MEDEA	-		200000
Chikhaoui	MEDEA	-		300000
Abed	BLIDA	+		400000
Hamadi	MEDEA	-		400000
Hasnaoui	BLIDA	-		1000000
Abed	BLIDA	-		800000
Abed	BLIDA	-		500000
El-Aïchi	BLIDA	-		300000
Guelmi	BLIDA	-	9. 10 ⁶	400000
El-Aïchi	BLIDA	-		400000
Ghalem	MEDEA	-		500000
Abed	BLIDA	-		300000
Ben Achenhou	BLIDA	-		500000

Abed	BLIDA	-		400000
Abed	BLIDA	-		700000
Abed	BLIDA	-	$\gg 300. 10^6$	500000
Ramdhane	BLIDA	-	$> 300. 10^6$	300000
El-Aïchi	BLIDA	-	$\gg 300. 10^6$	100000
Guelmi	BLIDA	-		100000
Chaabane	BLIDA	-	$\gg 300. 10^6$	300000
Boudisse	TIPAZA	-	$> 300. 10^6$	500000
Boukherchouf	MEDEA	-	$> 300. 10^6$	100000
Abed	BLIDA	-	$\gg 300. 10^6$	500000
Ghalem	MEDEA	-		300000
Abed	BLIDA	-		200000
Abed	BLIDA	-		300000
Chikhaoui	MEDEA	-	$> 300. 10^6$	100000
Hamadi	MEDEA	-	$\gg 300. 10^6$	100000
Abed	BLIDA	-	$> 300. 10^6$	300000
Abed	BLIDA	-	$200. 10^6$	200000
Chaabane	BLIDA	-	$\gg 300. 10^6$	100000
El-Aïchi	BLIDA	-	$> 300. 10^6$	100000
Guelmi	BLIDA	-		100000
Abed	BLIDA	-	$\gg 300. 10^6$	100000
Abed	BLIDA	-		200000
Abed	BLIDA	-		400000
Abed	BLIDA	-		200000
Ghalem	MEDEA	-		300000
Abed	BLIDA	-	$\gg 300. 10^6$	200000
El-Aïchi	BLIDA	-	$> 300. 10^6$	200000
Chaabane	BLIDA	-		300000
Ghalm	MEDEA	-	$> 300. 10^6$	500000
Ramdhane	BLIDA	-	$> 300. 10^6$	100000
Abed	BLIDA	-	$\gg 300. 10^6$	300000
Boukherchouf	MEDEA	-	$\gg 300. 10^6$	100000
Ramdhane	BLIDA	-	$> 300. 10^6$	400000

Ghalem	BLIDA	-	184. 10 ⁶	400000
Ben Achenhou	BLIDA	-	>300. 10 ⁶	500000
Abed	BLIDA	-		200000
Abed	BLIDA	-		400000
Hamadi	MEDEA	-	>300. 10 ⁶	100000
Abed	BLIDA	-	>>300. 10 ⁶	300000
Abed	BLIDA	-	>>300. 10 ⁶	200000
Guelmi	BLIDA	-	>>300. 10 ⁶	300000
El-Aïchi	BLIDA	-		600000
Abed	BLIDA	-	>>300. 10 ⁶	200000
Hasnaoui	BLIDA	-	200. 10 ⁶	100000
Abed	BLIDA	-		100000
Hamadi	MEDEA	-	>>300. 10 ⁶	100000
Abed	BLIDA	-		200000
Chikhaoui	MEDEA	-	>>300. 10 ⁶	100000
Chaabane	BLIDA	-		100000
Guelmi	BLIDA	-		300000
El-Aïchi	BLIDA	-	>>300. 10 ⁶	600000
Abed	BLIDA	-		500000
Hsnaoui	BLIDA	-		100000
Ghalem	MEDEA			200000

Tableau II : Les résultats confondus de l'analyse du lait cru des citernes de la LBT

Nom du collecteur	Region	Résultat ATB	Bactériologie	Cellules somatiques
Nechadi	BLIDA	–	4. 10 ⁶	500000
Fredj	AÏN DEFLA	–	>>300. 10 ⁶	900000
Bellala	BLIDA	–		300000
Bellala	BLIDA	–		100000
Hassan	BLIDA	–	130. 10 ⁶	600000
Bellala	BLIDA	–	>300. 10 ⁶	2300000
Nechadi	BLIDA	–		500000
Nechadi	BLIDA	–		400000
Nechadi	BLIDA	–	>300. 10 ⁶	100000
Bellalla	BLIDA	–	>300. 10 ⁶	100000
Nechadi	BLIDA	–	>>300. 10 ⁶	200000
Fredj	AÏN DEFLA	–	>300. 10 ⁶	400000
Bellala	BLIDA	–	>>300. 10 ⁶	900000
Bellala	BLIDA	–		300000
Nechadi	BLIDA	–	>300. 10 ⁶	500000
Bellalla	BLIDA	–	>>300. 10 ⁶	100000
Fredj	AÏN DEFLA	–	>300. 10 ⁶	200000
Bellala	BLIDA	–		200000
Fredj	BLIDA	–	>300. 10 ⁶	300000
Nechadi	BLIDA	–	>300. 10 ⁶	400000
Hassan	BLIDA	–	>300. 10 ⁶	400000
Fredj	BLIDA	–	>300. 10 ⁶	500000
Bellala	BLIDA	–	>>300. 10 ⁶	200000
Nechadi	BLIDA	–		200000