



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 :

**Recherche des résidus des Betalactamines dans le
lait cru de citerne au niveau de la laiterie de Beni-
Tamou et impact économique**

Présenté par :

M^{elle} RAFA Naima

&

M^{elle} BENSADDEK Kenza

Devant le jury :

Mr AIT BELKACEM A, MAA, Université Saad DAHLEB, Blida

président

Mme ELFARRAN I, MCA, Université Saad DAHLEB, Blida

Examinatrice

M^{elle} TARZAALI Dalila, Docteur vétérinaire, Blida

Promotrice

*** Promotion 2010 / 2011 ***

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

1. Le lait

02

1.1. Définition

02

1.2. Caractéristiques physico-chimique du lait

02

1.3. Composition du lait

02

1.3.1. Composition chimique

02

1.3.2. Composition biologique

04

1.4. La qualité du lait

05

1.4.1. La qualité technologique

05

1.4.2. La qualité sanitaire

05

1.4.3. La qualité organoleptique

06

2. Les antibiotiques et leur mode d'action

07

2.1. Introduction

07

2.2. Classification et mode d'action

07

2.2.1. Classification

07

2.2.2 .Mode d'action	09
2.2.2.1. Inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne	09
2.2.2.2. Action sur la membrane cytoplasmique	09
2.2.2.3. Inhibiteurs de la synthèse protéique	10
2.2.2.4. Action sur la synthèse des acides nucléiques	10
2.2.2.5. Antibiotiques qui agissent par inhibition compétitive	10
2.3. Pharmacocinétique des antibiotiques	10
2.3.1. Absorption	10
2.3.2. Diffusion et élimination des antibiotiques administrés par voie parentérale et intra mammaire	11
3. Origines et conséquences de la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait cru	14
3.1. Les résidus d'antibiotiques dans le lait	14
3.1.1. Limite maximale résiduelle (LMR)	14
3.1.2. Le délai d'attente	14
3.2. Origine de la contamination du lait	15
3.2.1. La mauvaise utilisation du médicament	15
3.2.2. Le non respect du délai d'attente	15
3.2.3. L'absence d'identification des animaux	15
3.2.4. Défaut d'hygiène du matériel	16
3.3. Les conséquences liées à la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait	16
3.3.1. Conséquence sur la santé publique	16
3.3.2. Conséquences d'inhibition des ferments lactiques	17
4. Les méthodes de détection des résidus d'antibiotiques dans le lait	19
4.1. Introduction	19

4.2. Méthodes microbiologiques	19
4.2.1. Méthode officielle	19
4.2.2. Méthodes de détection rapides	20
4.3. Méthodes physico-chimiques	21
4.3.1. Méthodes enzymatiques	21
4.3.1.1. Test Panzym	21
4.3.2. Méthodes immuno-enzymatiques	21
4.3.2.1. Le Delvo-x press	22
4.3.2.2 .Le Snap test	22
4.3.2.3. Le Betastar	22
4.3.2.4. Charm Rosa-Milk MRL-3 Test	22
4.3.2.5. Le systeme charm II	22

PARTIE EXPERIMENTALE

1. Période et lieu de l'étude	23
2.1. Origine des échantillons	23
2.2. Les prélèvements de lait	23
2.3. Matériel et méthodes	23
2.4. Les résultats	28
2.5. Discussion	37
Conclusion	40
Recommandations	41
Références Bibliographiques	
Annexes	

REMERCIEMENTS

Nous tenons d'abord à remercier Dieu tout puissant de nous avoir aidé et donné l'espérance et la force pour parfaire ce modeste travail.

A **M^{elle} TARZAALI Dalila**, maître assistante à l'université Saad DAHLEB, Blida qui a encadré notre travail, pour la confiance et la patience dont vous avez eu preuve, ainsi que pour votre grande disponibilité, veuillez trouver ici l'expression de notre sincère gratitude et notre profonde reconnaissance.

A **Mr AIT BELKACEM A**, maître assistant à l'université Saad DAHLEB, Blida qui nous fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de mémoire. Hommages respectueux.

A **Mme ELFERRAN I**, maître de conférence à l'université Saad DAHLEB, Blida qui a bien voulu faire partie de notre jury de mémoire. Sincères remerciements.

A **Mr BERBER Ali** chef du département des sciences vétérinaires de l'université Saad DAHLEB, Blida ainsi que l'ensemble des enseignants pour leur aide et leurs précieux conseils. Que vous trouviez l'assurance de notre vive reconnaissance.

Nous remercions l'ensemble des responsables de la laiterie de Beni-Tamou en particulier **Mr AZEM** et **Mr AMMOURA**, pour nous avoir orienté et aidé dans toutes nos manipulations au sein du laboratoire.

Le mérite de ce travail revient à toutes les personnes qui, par leur participation, leur soutien, ont contribué à sa réalisation.

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail avec un grand plaisir, spécialement à ceux qui ont été mes anges gardiens et mes guides dans la vie :

A mes très chers parents. Qui ont le droit de recevoir mes chaleureux remerciements pour le courage et le sacrifice qu'ils ont consenti pendant la durée de mes études en leurs souhaitant une longue vie pleine de joie et de santé. **Que dieu vous protège.**

A ceux qui ont toujours su être présents pour moi, à vous mes chers frères : **Sofiane et Hocine.**

A mes adorables sœurs : **Nadjo, Souad et Hadjira**, espérant que l'on partage encore de merveilleux moments ensemble.

A ma binôme, amie et sœur : **Kenza** avec qui j'ai partagé les bons comme les mauvais moments et toute sa famille.

A mon grand-père et ma Grand-mère ainsi que mes tantes et mes oncles sans oublié ma petite chère **Hyam.**

Aux **Dr.ZIDOUD** et **Dr.IRID**, docteurs vétérinaire pour leurs soutiens et leurs aides.

A nos amis (es) en souvenir les plus agréables et les inoubliables moments passés ensemble.

A tous (tes) les enseignants (es) qui ont contribué à notre formation.

A toute la promotion vétérinaire **2010-2011.**

RAFA

DEDICACE

Je dédie ce Modeste travail :

A mes très chers parents de tous les sacrifices qu'ils ont consenti pour me permettre de suivre mes études dans les meilleures conditions possibles et m'avoir jamais cessé de m'encourager tout au long de mes années d'études.

A mon chère et unique frère **Mohamed**.

A mes agréables sœurs : **Lila, Souad, Nabila, Hamida, taous et Karima**. Recevez l'expression de mes sentiments fraternels.

A mes beaux frères : **Slimane, Karim et Belkacem**.

A mes belles nièces : **Lyza, Marya, Ourida et Rania**.

A mon adorable neveu **Nounou**.

A ma binôme sœur et chère **Naima** et sa famille.

A ma grand -mère que dieu lui accorde une longue vie.

Aux Dr.ZIDOUD et Dr.IRID, docteurs vétérinaire pour leurs soutiens et leurs aides

A mes amies : **Nawel, Mestapha, Samir, Rabeh, Kamel, Alaa-din, Farida, Hanane, Nedjma, Yasmina, Latifa**.

A tous ceux que j'aime.

BENSADEK

LISTE DES ABREVIATIONS

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché.

ANP : Matières azotées non protéiques.

C° : Degré celsius.

C.E.E : Communauté Européenne.

DA : Dinar Algérien.

DES : Dose Sans Effet.

DJA : Dose Journalière Admissible.

H : Heure.

IM : Intramusculaire.

Kg : kilogramme.

L : litre.

LMR : Limite Maximale Résiduelle.

µg : microgramme.

µl : microlitre.

mg : milligramme.

ml : millilitre.

mm : millimètre.

mn : minute.

ng : nanogramme.

NOVI : Nouvel observatoire Virbac des inhibiteurs.

PAB : L'acide Para-aminobenzoïque.

ppb : partie par billion

S : Sous-unité.

TB : Taux butyreux.

TP : Taux protéique.

UI : Unité International.

LISTE DES FIGURES

Figure 1: présentation du kit Delvo Xpress B II»	24
Figure 2: mettre 0,2ml de standard.	25
Figure 3: ajouter 0,2ml de l'échantillon.	25
Figure 4: déposer 0,2ml de Tracer.	25
Figure 5: placer les tubes dans la ligne A.	26
Figure 6: addition du developper.	26
Figure 7: mettre les tubes dans la ligne B.	26
Figure 8 : résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne de la wilaya de Blida.	29
Figure 9: résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne de la wilaya d'Ain-defla	29
Figure 10: résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne de la wilaya d'Alger.	30
Figure 11: résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne de la wilaya de Médéa.	31
Figure 12: résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne de la wilaya de Tipaza.	31
Figure 13: résultats confondus de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne des cinq wilayas.	32
Figure 14 : les résultats de la quantité du lait contaminé par les résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne des collecteurs.	34
Figure 15 : les résultats finaux de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne des vingt collecteurs confondus selon la quantité du lait.	34
Figure 16 : les pertes économiques pour les collecteurs qui présentent des laits contaminés.	36

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : valeur moyenne des différents minéraux du lait rapporté en Mg /100 ml	4
Tableau II : classification des antibiotiques	8
Tableau III : importance de l'excrétion diathélique de certains antibiotiques au cours des premières traites	12
Tableau IV : affinité de quelques antibiotiques pour le tissu mammaire	13
Tableau V : seuil de détection du Delvo X press B11	27
Tableau VI : les résultats du suivi des collecteurs confondus de la wilaya de Blida	28
Tableau VII : les résultats du suivi des collecteurs confondus de la wilaya d'Ain-defla	29
Tableau VIII : résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne de la wilaya d'Alger	30
Tableau IX : résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne de la wilaya de Médéa	30
Tableau X: résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne de la wilaya de Tipaza	31
Tableau XI : les résultats confondus des cinq wilayas	32
Tableau XII : les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne des collecteurs selon la quantité du lait	33
Tableau XIII : les pertes économiques des 20 collecteurs	35

RESUME

La présence des résidus d'antibiotiques dans le lait cru est essentiellement liée à l'utilisation inconsidérée des antibiotiques chez les bovins laitiers, soit pour guérir ou prévenir les affections.

Cependant, leur présence dans le lait cru peut gravement nuire à la santé du consommateur et l'industrie laitière sur le plan technologique et économique.

Notre étude a été effectuée sous forme d'un suivi de 20 collecteurs, durant 2 mois, au niveau de la laiterie de Beni-Tamou dans le but de rechercher les résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne au moyen de delvo X press B11 et d'apprécier l'impact économique engendré par ces derniers.

Les résultats de l'analyse des 782 échantillons de lait cru de collecte ont montré :

- La contamination de 10 citernes, soit un taux de 1,27%.
- La perte de 8037L de lait cru, soit 241110DA liée à la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne.

Mots clés : lait cru, citerne, résidus d'antibiotiques, delvo X press B11, perte économique.

SUMMARY

The presence of antibiotic residues in raw milk is primarily related to considered use of antibiotics at the dairy bovines for cure or to prevent the affections.

However, their presence in raw milk can seriously harm the health of consumer and the milk industry on the technological and economic level.

Our study was conducted as a follow-up of 20 collectors, during 2 months, at the dairy of Beni-Tamou in order to research the antibiotic residues in the raw milk of cistern by delvo X press B11 method and to appreciate the economic impact generated.

The results of the analysis of 782 collection raw milk samples (milk of cistern) showed:

- The contamination of 10 cisterns, a rate of 1, 27%.
- The loss of 8037L of raw milk, is a rate 241110DA related to the presence of the antibiotic residues in the cistern raw milk.

Key words: raw milk, cistern, residues of antibiotics, delvo X press B11, economic loss.

ملخص

وجود بقايا المضادات الحيوية في الحليب مرتبط بالاستعمال المفرط للمضادات الحيوية لدى الأبقار الحلوب، إما لأغراض علاجية أو وقائية، مع ذلك وجودهم في الحليب الطازج يستطيع ان يضر بصحة المستهلك و صناعة الحليب على المستوى التكنولوجي و اللاقتصادي .

دراستنا تمت على شكل متابعة لعشرين(20) جامع، في غضون شهرين، على مستوى ملبنة "بني تامو" بهدف البحث عن المضادات الحيوية في حليب الصهاريج بواسطة "ديلفو اكسبريس ب 11" و تقدير الاثر الاقتصادي الناتج من هذه الاخيرة.

نتائج تحاليل 782 عينة من الحليب الطازج المجمع اظهرت تلوث 10 صهاريج، أي بنسبة 1,27٪.

خسارة 8037 لتر، اي 24111 دج مرتبط بوجود المضادات الحيوية في الحليب الطازج من الخزان.

الكلمات المفتاحية: الحليب الطازج، خزان، المضادات الحيوية، ديلفواكسبريس ب 11، خسارة اقتصادية.

INTRODUCTION

Le lait est un aliment noble par excellence, il est synonyme de blancheur, donc de pureté, la place que détient cet aliment dans la préoccupation alimentaire s'affirme par la spécificité propre que lui agissent tout les nutritionnistes, le lait et les produits dérivés occupent, en raison de leur valeur nutritive, une place bien définie et bien à part dans les catégories d'aliment courant. C'est un produit largement consommé, d'une importance sociale particulièrement importante dans un pays d'élevage comme l'Algérie. Il représente une source d'énergie et de protéines bon marché d'un intérêt capital pour la population qui s'approvisionne sur le marché local en lait frais et produits laitiers fabriqués selon un mode artisanal ou industriel.

Les antibiotiques sont les résidus les plus fréquemment détectés dans le lait. Dans la plus part des cas, leur présence dans le lait est consécutive à un traitement mammaire et à la livraison accidentelle du lait d'animaux traités. De même, la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait peut non seulement représenter un danger d'ordre allergique, toxique ou microbien pour le consommateur, mais également être à l'origine de perturbations importantes des processus de fermentation et de maturation des produits laitiers de large consommation tels que yaourts, fromages et autres laits fermentés. Ces dangers peuvent être évités par une prescription des médicaments conformes aux A.M.M., le respect des temps d'attentes et l'identification systématique des animaux traités. Le risque commercial est aussi important car le lait cru de citerne subit une recherche systématique de résidus d'antibiotiques et peut être refoulé. L'importance implique que les industriels laitiers doivent mettre tout en œuvre pour limiter au maximum les « risques d'antibiotiques ».

Pour toutes ces raisons, il importe que les denrées d'origine animale, notamment le lait, soient exempts de toutes traces d'antibiotiques lors de leur mise sur le marché.

Dans ce contexte, Cette étude expérimentale a été réalisé au niveau de la laiterie de Beni-Tamou qui développe une image pure et saine de ces produits.

Ce travail s'articule sur deux objectifs :

- La recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru des citernes.
- L'évaluation de l'impact économique due à la présence de ces résidus d'antibiotiques dans

CHAPITRE 1 :
LE LAIT

1. LE LAIT

1.1. Définition :

Le lait est le produit intégral de la traite totale ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrit et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum [1]. Le lait est un édifice physico-chimique extrêmement complexe qui contient des trésors de richesses nutritionnelles articulés autour de quatre nutriments principaux qui sont : les protéines, les glucides, les lipides, les sels minéraux ainsi que d'autres éléments qui sont : les vitamines et les enzymes [2].

1.2. Caractéristiques physico-chimique du lait :

Le lait est un liquide opaque de couleur blanche, plus au moins jaunâtre selon la teneur en carotène de sa matière grasse, sa saveur douce et son odeur faible, mais identifiable. Le pH est légèrement acide [3].

Du point de vue physique, le lait est un milieu hétérogène dans lequel trois phases distinctes coexistent [4, 5] :

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

1.3. Composition du lait :

1.3.1. Composition chimique :

La composition moyenne du lait de vache est représentée par : l'eau, lactose, matière grasse, protéine et les constituants salins.

Cette composition variée selon différents facteurs, les principaux étant l'individualité, la race, la période de lactation, l'alimentation, la saison et l'âge [6, 7].

1.3.1.1. L'eau :

L'eau est le constituant le plus important du lait, en proportion. La présence d'un dipôle et de doublets d'électrons libres lui confère un caractère polaire. Ce caractère polaire est ce qui lui permet de former une solution vraie avec les substances polaires tel que les glucides, les minéraux, et une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles du sérum [7].

1.3.1.2. Les glucides :

Le lait contient des glucides essentiellement représentés par le lactose, son constituant le plus abondant après l'eau [8] et joue un rôle important en tant que substrat de fermentation et aussi en tant qu'élément nutritionnel dans les produits laitiers [9]. D'autres sucres sont également présents mais seulement à l'état de traces. Ceux sont notamment les polyacides contenant du glucose et des glucides azotés tel que la N-acétyl glucosamine [10] et le galactose qui proviendrait de l'hydrolyse du lactose [11].

1.3.1.3. Les lipides « matière grasse » :

Les matières grasses du lait sont composées à 97,5% de triacylglycérols, le reste étant constitué de phospholipides (0,6%), de diacylglycérols (0,36%), de cholestérol(0,31%), de monoacylglycerol (0,027%) et d'acides gras (0,027%*m/m*) [12, 13].

1.3.1.4. La matière azotée :

Les protéines du lait, dont la teneur moyenne varie de 2,8 à 4,5% sont constituées d'une fraction d'azote non protéique (ANP) et la matière azotée protéique ou protéine vraie [14].

1.3.1.4.1. L'azote non protéique :

Elle ne constitue malgré leur grand nombre qu'une partie peu abondante du lait environ 1,5g par litre [8]. L'ANP représente 3 à 7% de l'azote total dont 36 à 80 % d'urée [5]. Cette fraction joue un rôle important dans la croissance des bactéries [13]. Le reste étant constitué de petites molécules azotées dont des acides aminés libres, des peptides et des bases organiques [15, 16].

1.3.1.4.2. Les protéines :

C'est la fraction la plus importante (93 à 95%) qui se différencie de l'ANP par la grosseur de leurs molécules [14]. Les protéines peuvent être subdivisées en deux grandes catégories : les protéines solubles dite protéines du lactosérum et les caséines [13].

1.3.1.5. Les enzymes :

Les enzymes sont des protéines globulaires spécifiques produites par les cellules vivantes. Elles sont des biocatalyseurs, car elle accélère les réactions biochimiques [7]. Environ 60 enzymes ont été répertoriées dans le lait dont 20 sont des constituants natifs [17].

1.3.1.6. Matière minérale et saline :

Le lait contient des sels à l'état dissous (molécules et ions) et à l'état colloïdal. Ils sont essentiellement d'origine minérale. Le tableau n° I indique la composition du lait en minéraux.

Tableau I : valeur moyenne des différents minéraux du lait rapporté en Mg /100 ml [14].

K	Ca	Cl	P	Na	S	Mg
141	123	119	95	58	30	12

K: potassium, Ca: calcium, Cl: chlor, P: phosphore, Na: sodium, S: soufre, Mg: magnesium.

1.3.1.7. Les vitamines :

Le lait apporte un complément vitaminique important dans une ration alimentaire [18]. Elles jouent un rôle de coenzyme associée à une apoenzyme protéique [5, 8].

On distingue deux types de vitamines : les vitamines hydrosolubles (B, C) présents dans la phase aqueuse du lait (écrémé et le lactosérum) et les vitamines liposolubles (A, D, E) associées à la matière grasse (crème, beurre).

1.3.2. Composition biologique :

1.3.2.1. Les cellules :

Elles proviennent principalement du sang et du tissu mammaire. Celles-ci ne présentent par elle-même aucun pouvoir pathogène ou toxique, mais elles sont le signe d'un désordre dans la sécrétion lactée, lui-même pourvoyeur de produits indésirables [19]. La concentration d'un lait normal issue d'une vache non infectée, est inférieure à 100 000 cellules/ml et ne dépasse que rarement le seuil des 300 000 cellules [20]. De ce fait, les taux leucocytaires du lait servent au paiement du lait et au diagnostic du type d'infection mammaire [19].

1.3.2.2. Les micro-organismes :

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans les bonnes conditions, à partir d'un animal sain. Il S'agit essentiellement de germes Saprophytes du pis et des canaux galactophores : microcoques, *Streptocoques lactiques* et *lactobacilles* [21, 22].

D'autres microorganismes peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade : ils sont généralement pathogène et dangereux du point de vue sanitaire, il peut s'agir par exemple d'agent de mammites [23]: *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* (germes de réservoir mammaire) *E.coli*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* (germes d' environnement).

D'autre germes, responsables de maladies infectieuses, induisent également de temps à autre des troubles mammaires : *Brucella Mycobacterium tuberculosis*, *Brucellus anthracis*, virus de la leucose et de fièvre aphteuse [14].

1.4. La qualité du lait :

Le lait est un aliment équilibré et sain. Cependant, la qualité nutritionnelle, hygiénique et organoleptique du produit est l'affaire de toute une filière, la maîtrise de la qualité de lait est d'autant plus indispensable qu'elle conditionne, non seulement le prix perçu et la marge par litre de lait [24]. La plupart des modifications nécessaires à l'amélioration de la qualité hygiénique du lait passent par un changement des pratiques d'élevage comme l'hygiène et la technique de traite ou la conduite du tarissement [25]. Parmi les composantes de la qualité :

1.4.1. La qualité technologique :

Elle caractérise l'existence ou le risque d'altération du lait. Cette qualité dépend de la composition chimique (TP, TB), de la qualité bactériologique et de l'aptitude à la transformation [26].

1.4.2. La qualité sanitaire (hygiénique) :

Elle caractérise le risque pour la santé du consommateur. Cette qualité est jugé défailante si le produit contient une quantité de toxines ou de micro-organismes pathogènes suffisante pour rendre le produit dangereux à consommer ou s'il existe un risque suffisant pour qu'il en soit ainsi [27].

Les risques pour la santé humaine sont liés à l'existence de trois types de danger : les dangers physiques, biologiques et chimiques. La qualité sanitaire jugé défailante si le produit contient une quantité de toxine ou microorganismes pathogènes suffisantes pour rendre le produit dangereux à consommer [27].

1.4.2.1. Les dangers physiques :

L'utilisation de certains produits ou matériels peut être à l'origine de corps étrangers indésirables dans le lait et les produits transformés. Les spatules en bois, les fouets (avec un manche

en boit) sont utilisés dans les unités pour l'homogénéisation et le brassage du lait. Des débris de bois peuvent se retrouver dans le lait ou dans les produits transformés. Par ailleurs, si les pratiques à la traite sont défectueuses et que le lait n'est pas filtré, des grains de sable ou de poils, peuvent le polluer [28].

1.4.2.2. Les dangers biologiques :

C'est le danger majeur à maîtriser dans le cadre de la transformation laitière. Les agents infectieux présents dans les aliments peuvent provenir de plusieurs sources : les animaux, l'environnement et le matériel du personnel de l'unité de production [29].

1.4.2.3. Les dangers chimiques :

Ils sont plus variés et tendent à prendre une importance de plus en plus grande dans les pays à production intensive [27].

Ces dangers chimiques ont deux origines :

- Origine intrinsèque : Ceux sont des contaminants naturellement présents dans l'aliment comme les composés allergènes, ou les substances anti-vitaminiques.
- Origine extrinsèque : Ceux sont les polluants de l'environnement (métaux lourds, résidus de pesticides, contaminants industriels tel que la dioxine), les résidus de traitement vétérinaire, ou les composés issus d'un accident de transformation.

1.4.3. La qualité organoleptique :

La saveur normale d'un bon lait est douce, agréable et légèrement sucrée, ce qui est principalement due à la présence de matière grasse. Le goût et l'odeur du lait sont un indice important de sa qualité. La présence d'une mauvaise odeur dans le lait et un goût désagréable avec un rancissement, reflètent un problème dans la manipulation et la conservation du lait [7, 26].

CHAPITRE 2 :
LES ANTIBIOTIQUES
ET LEUR MODE
D'ACTION

2. LES ANTIBIOTIQUES ET LEUR MODE D'ACTION

2.1. Introduction :

Un antibiotique est un dérivé produit par le métabolisme de micro-organismes possédant une activité antibactérienne à faible concentration et n'ayant pas de toxicité pour l'hôte. Le mot même « antibiotique » fut créé en 1889 par Paul Vuillemin, qui proposa également le terme « antibioté » (tout principe actif d'un organisme vivant qui détruit la vie des autres pour protéger sa propre vie). Aujourd'hui on préfère définir un antibiotique comme un composé chimique élaboré par un organisme ou produit par synthèse et dont l'activité spécifique se manifeste à dose faible sur les micro-organismes. Cependant, l'usage fait que l'on nomme antibiotique, toute substance d'origine naturelle ou synthétique possédant une activité antibactérienne et qui n'est pas toxique pour l'hôte humain ou animal [29].

Les antibiotiques représentent, de très loin, la classe des médicaments la plus employée à l'heure actuelle. Les termes de « thérapeutique antibiotique » ou 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-chimiques essentiels et surtout de leurs propriétés biologiques dans l'organisme [30].

2.2. Classification et mode d'action des antibiotiques :

2.2.1. Classification :

Historiquement, la classification la plus courante des antibiotiques est basée sur leur structure chimique et leur mécanisme d'action (tableau n° II).

Accessoirement ils peuvent être également classés selon leur spectre d'activité (large ou étroit) ou selon leur capacité à inhiber la croissance des bactéries ou à les tuer (bactériostatique ou bactéricide).

Tableau II : classification des antibiotiques [31].

Famille	Site d'action /mode d'action	Origine
β-lactamine		
Pénicilline	Paroi/bactéricide	Penicillium
Céphalosporine	Paroi/bactéricide	semi-synthèse céphalosporium
Céphamycine	Paroi/bactéricide	semi-synthèse streptomyces semi-synthèse
Aminoside	ribosomes (30 S)/bactéricide	Streptomyces Micromonospora Semi-synthèse
Chloramphénicol	ribosome (50 S)/bactériostatique	Streptomyces synthèse
Tétracycline	ribosome (50 S)/bactériostatique	Streptomyces Semi-synthèse
Macrolides		
Lincosamines	Ribosome(50)/bactériostatique ou	Streptomyces
Streptogramines	Bactéricide	
Polypeptides	Membrane cytoplasmique/bactéricide	Bacillus nocardia
Quinolones	ADN gyrase/bactéricide	Synthèse
Sulfamide triméthoprimes	Métabolismes des folates/bactériostatique	Synthèse
Vancomycine		
Novobiocine		Streptomyces
Fosfomycine		Fusidium
Acide fusidique	Paroi/bactéricide	
Nitrofuranes	DNA/bactéricide	Synthèse

2.2.2. Mode d'action :

Les antibiotiques agissent essentiellement par inhibition de réactions de synthèse variées. Ils se fixent sur des sites moléculaires de la cellule bactérienne entraînant ainsi la perturbation de diverses réactions métaboliques, sans affecter la cellule de l'hôte. D'ou l'intérêt d'une connaissance de plus en plus précise des fonctions spécifiques vitales de la bactérie qui pourraient constituer des cibles potentielles. Ces dernières sont caractéristiques de chaque famille [32].

Le mécanisme d'action des antibiotiques antibactériens n'est pas toujours parfaitement élucidé mais on distingue cinq grands modes d'action:

- action sur la synthèse de la paroi bactérienne,
- action inhibitrice sur la membrane cytoplasmique,
- action sur la synthèse des acides nucléiques,
- action sur la synthèse des protéines,
- action par inhibition compétitive.

2.2.2.1. Inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne :

La paroi bactérienne sert au maintien de la forme de la cellule bactérienne et protège la membrane cytoplasmique des effets de la pression osmotique interne. Sa solidité repose avant tout sur la structure de la muréine (peptidoglycane), les antibiotiques interférant avec la biosynthèse du peptidoglycane n'auront aucune action sur les bactéries naturellement dépourvues de paroi (taxons placés dans l'ordre des Mycoplasmatales), sur les protoplastes, les sphéropastes et les formes. Il est évident que les bactéries en phase de croissance sont les plus touchées [33].

Les beta-lactamines ne sont actives que sur les bactéries dont la paroi est en cours de formation. Ce sont des antibiotiques bactéricides qui agissent sur les bactéries en multiplication ou en croissance [34].

2.2.2.2. Action sur la membrane cytoplasmique:

Les antibiotiques polypeptidiques cycliques (exemple : colistine et polymyxine B) sont exclusivement actifs sur les bactéries à Gram-. Ils pénètrent dans la cellule bactérienne et s'insèrent parmi les phospholipides de la paroi, perturbant ainsi la perméabilité membranaire. Ceci est à l'origine d'une fuite des composants cytoplasmiques vitaux et de la libération des enzymes lytiques

délétères. Leur action bactériostatique devient à des concentrations 3 à 5 fois plus élevées bactéricide [35].

2.2.2.3. Inhibiteurs de la synthèse protéique :

Plusieurs familles peuvent inhiber, la synthèse protéique par différents mécanismes [36]. Elles exercent une toxicité sélective en inhibant davantage la synthèse protéique dans les bactéries que dans les cellules de l'hôte, par suite d'une fixation spécifique sur la cible bactérienne. La grande majorité de ces antibiotiques est bactériostatiques, à l'exception des aminosides qui sont bactéricides [32].

2.2.2.4. Action sur la synthèse des acides nucléiques :

Certains antibiotiques agissent sur l'inhibition de la réplication tel que les quinolones qui inhibent l'activité de l'ADN gyrase bactérienne, enzyme responsable de l'enroulement en super hélice, de la coupure et du scellement de l'ADN bactérien [31]. Alors que d'autres agissent sur l'inhibition de la transcription tel que les rifamycines qui se fixent sous-unité de l'ARN polymérase et empêchent l'initiation de la synthèse des ARNp [37, 38].

2.2.2.5. Antibiotiques qui agissent par inhibition compétitive

L'acide tétrahydrofolique intervient dans de nombreuses voies métaboliques et notamment dans la synthèse des purines et des pyrimidines. Chez les bactéries, sa synthèse se fait en trois étapes dont la première nécessite de l'acide para-aminobenzoïque ou PAB [39]. Le mode d'action des sulfamides est lié à une inhibition de la dihydroptéroate synthétase en raison d'une analogie structurale avec le PAB. L'action des sulfamides est réversible et s'annule en présence d'un excès de PAB ou de certains métabolites terminaux dont la thymidine [40].

2.3. Pharmacocinétique des antibiotiques :

L'antibiotique doit être choisi en fonction de sa pharmacocinétique, qui régit le cheminement de ces substances dans l'organisme [30].

2.3.1. Absorption :

L'absorption d'une molécule c'est-à-dire son passage de site d'administration à la circulation sanguine est fonction à la fois des propriétés de la molécule et des modalités de son administration [41].

2.3.1.1. La voie orale :

Les antibiotiques administrés par voie orale doivent résister aux sucs digestifs, à l'acidité gastrique et aux bactériocines de la flore intestinale [42].

2.3.1.2. La voie parentérale :

Cette voie est largement plus utilisée. L'administration d'un antibiotique par voie parentérale en cas de pathologie mammaire se justifiera dans la mesure où cet antibiotique- ou son métabolite- sera excrété par la glande mammaire [43].

2.3.1.3. La voie galactophore :

Elle est de loin la voie la plus utilisée chez les vaches laitières dans le traitement et la prévention des mammites, pathologie la plus fréquente en élevage bovin laitier. Mais cette utilisation trop aisée entraîne un abus certain dans sa pratique, parfois même à un usage irraisonné, inapproprié et non contrôlable [43].

2.3.2. Diffusion des antibiotiques administrés par voie parentérale et intramammaire :

2.3.2.1. La voie parentérale

La diffusion des antibiotiques administrés par voie parentérale dépend essentiellement de la dose administrée, l'état d'ionisation de la molécule, la liposolubilité et de l'affinité de la molécule pour certains composants cellulaires. Ces facteurs permettent de distinguer les antibiotiques à bonne diffusion tissulaire (macrolides et fluoroquinolones) et qui diffusent le mieux dans le lait d'une mamelle saine, de ceux à diffusion moyenne (pénicillines et céphalosporines) ou faible (aminosides et polymyxines) [44, 42].

Il est également à relever que la diffusabilité de certains antibiotiques peut être modifiée selon l'état de la mamelle et la durée de l'excrétion. Une mammite par exemple peut favoriser le passage des pénicillines et sulfamides (acide faible) [45].

Par ailleurs, la forme sous laquelle le principe actif est administré (formule) ainsi que la durée du traitement jouent également un rôle prépondérant dans la durée de l'excrétion. La nature huileuse ou aqueuse de l'excipient peut modifier la durée de l'excrétion des résidus. La durée d'excrétion des chlortétracyclines est ainsi fortement augmentée lorsqu'elles sont associées à un excipient huileux par rapport à un excipient aqueux même à des posologies plus faibles [46].

Bien évidemment la répétition des doses journalières ne fait que déclarer d'autant la durée d'élimination des résidus. La quantité de résidus engendrés par un traitement est directement corrélée à la quantité de principe actif administré.

En fin, il est à noter que la variation individuelle dans les quantités de résidus excrétés est très importante [47].

2.3.2.2. Voie intra-mammaire :

Cette voie est quasi- systématiquement utilisée lors de mammites car elle permet une bonne diffusion dans le tissu mammaire. L'intérêt des seringues à usage mammaire réside dans l'adjonction à l'antibiotique d'un ou de plusieurs excipients lactomiscibles qui permettront une bonne diffusion dans le tissu mammaire sans biotransformation de la molécule active. La diffusion la plus large est théoriquement souhaitable mais en contrepartie, l'élimination doit se trouver accélérée. Le tableau ci-dessous, permet de constater la grande variation d'absorption du tissu mammaire.

Tableau III : importance de l'excrétion diathélique de certains antibiotiques au cours des premières traites [43].

Antibiotique	Fraction de dose retrouvée lors des deux premières traites
Pénicilline G	
Streptomycine	90% - 95%
Chloramphénicol	25% - 45%
Erythromycine	moins de 15%

La persistance des résidus dans le lait dépend aussi de l'affinité présentée par l'antibiotique pour les tissus mammaires. Cette affinité peut s'apprécier par mesure de pourcentage de liaison des antibiotiques au tissu mammaire. Le tableau ci-dessous rapporte l'affinité particulière de certains antibiotiques pour les tissus mammaires en relation avec la longue persistance de leurs résidus dans le lait [43].

Tableau IV: affinité de quelques antibiotiques pour le tissu mammaire [43].

Antibiotique	Liaison
Procaïne pénicilline G	moins de 25%
Dihydrostreptomycine	70%
Néomycine	95%
Spiramycine	90%

La résorption systémique des antibiotiques même si elle est mineure par rapport à l'élimination lactée conduit à leur diffusion dans tout l'organisme et en particulier dans les quartiers non traités. Par conséquent l'ensemble du lait produit par les quatre quartiers est susceptible de contenir des résidus antibiotiques et devrait être éliminé de la chaîne de consommation humaine.

2.3.3. Elimination

L'élimination des antibiotiques s'effectue essentiellement par l'urine. Cependant, les fèces jouent un rôle non négligeable en particulier pour les tétracéclines [43]. L'élimination des antibiotiques par la voie diathélique est également soumise à des variations selon :

- **La posologie :** la posologie utilisée exerce une influence relativement limitée, en particulier la répétition des traitements à intervalles réguliers n'entraîne pas de variation du délai d'attente après la dernière administration [48]. En revanche la quantité de résidus engendrés par un traitement est directement corrélée à la quantité de principe actif administrée [49]. L'augmentation de la dose semble entraîner un allongement systématique de la durée d'excrétion pour les antibiotiques injectés par voie parentérale [50].
- **L'excipient :** son influence sur la durée de la présence de résidu dans le lait est bien supérieure à celle de la dose d'antibiotiques administrée. Les éliminations les plus lentes sont obtenues par les excipients les plus visqueux et faiblement dispersibles dans l'eau [51].
- **Le niveau de production :** les niveaux résiduels sont plus élevés chez les vaches faibles productrices que chez les bonnes laitières en raison du phénomène de dilution et de l'augmentation de la vitesse d'élimination par des quantités de lait plus importantes [52].
- **L'état de la mamelle :** L'élimination des résidus serait souvent diminuée dans un quartier marmiteux à la production laitière souvent réduite. En contre partie les vitesses de diffusion, d'absorption et excrétion des antibiotiques sont augmentées par rapport au quartier sain [53, 54, 55].

CHAPITRE 3 :
ORIGINES ET
CONSEQUENCES DE
LA PRESENCE DES
RESIDUS
D'ANTIBIOTIQUES
DANS LE LAIT CRU

3. ORIGINES ET CONSEQUENCES DE LA PRESENCE DES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES DANS LE LAIT CRU.

3.1. Les résidus d'antibiotiques dans le lait :

Les résidus sont définis comme toute substance pharmacologiquement active, qu'il s'agit de principe actif, d'excipient ou de métabolite présent dans les liquides et tissus des animaux après administration des médicaments et susceptibles d'être retrouvés dans les denrées alimentaires produit par ces animaux [56].

Les réflexions sur les résidus et le souci de protéger la santé du consommateur ont abouti au développement de deux concepts :

- Les limites maximales de résidus, ou LMR.
- Le temps d'attente, ou TA.

3.1.1. Limite maximale résiduelle (LMR) :

Concentration maximale de résidus résultant de l'emploi d'un médicament vétérinaire (exprimé en mg/kg ou en µg/kg sur la base du poids frais) légalement permise ou estimée acceptable dans un aliment (règlement N° 2377/90/CEE). Selon puyt et sachot [56], sa détermination est basée sur la détermination de la :

***Dose sans effet (DES) :** c'est la quantité de résidus la plus élevée n'entraînant aucune incidence (pharmacologie ou toxicologie) pour le consommateur.

***Dose journalière admissible (DJA) :** elle est obtenue en appliquant à la DES un facteur de sécurité dépendant du profil toxicologique de la molécule

3.1.2. Le délai d'attente :

Il correspond au délai entre la dernière administration d'un médicament à des animaux, dans des conditions normales d'emploi et la production de denrées alimentaires issues de ces animaux, garantissant que ces denrées ne contiennent pas de résidus des médicaments en quantité supérieure à sa LMR (Directive 81/851/CEE). Le délai d'attente (pour le lait) correspond au premier temps de traite pour lequel la concentration en résidu est inférieure ou égale à la LMR [57].

3.2. Origine de la contamination du lait :

3.2.1. La mauvaise utilisation du médicament :

De nombreuses études sur l'origine de résidus dans le lait avaient déjà montré que les trois quarts de résidus retrouvés dans le lait des éleveurs pénalisés sont des antibiotiques et que leur présence est liée à une mauvaise utilisation du médicament [58]. Cette mauvaise utilisation se manifeste par les traitements inadaptés non conformes aux exigences de l'AMM [50] :

- Le non respect des protocoles de traitement des produits administrés par voie intramammaire est fréquemment mis en cause, dans 38% des cas selon l'enquête de FABRE et al [59].
- Le non respect de la dose est régulièrement constaté. Augmenter la dose lors d'une injection ou doubler une administration par voie intra-mammaire vont allonger systématiquement la durée d'élimination dans le lait [50].
- L'usage anormal et hors AMM des médicaments, comme l'administration par voie intramammaire de suspension destinée à la voie intramusculaire (IM) pour traiter des mammites en lactation, est également recensé [60].

3.2.2. Le non respect du délai d'attente :

Il est encore trop souvent constaté alors que dans la plupart des cas il est connu de l'éleveur [50]. Ceci peut être dû essentiellement à :

- Un acte volontaire de la part de l'éleveur par ignorance des risques réels d'un tel acte.
- Un défaut de communication entre le vétérinaire et l'éleveur.

Soit l'éleveur connaît le délai d'attente « normal » mais considère qu'en le réduisant « cela ne changera rien » ; soit il pense le connaître mais fait une erreur (suite à un changement de traitement par exemple) [61].

3.2.3. L'absence d'identification des animaux :

L'étude réalisée par le NOVI, concernant les problèmes d'identification des animaux en traitement, les principales anomalies rencontrées sont : les animaux traités ne sont jamais identifiés, les animaux traités sont identifiés mais l'animal perd son bracelet, l'animal était identifié mais le trayeur ne l'a pas vu. Les vaches qui viennent juste d'être tarées ou que l'on prépare au vêlage passent parfois à la traite à l'insu de l'éleveur. On pense bien connaître et reconnaître ses animaux, mais en l'absence de marquage ou d'identification, l'erreur d'inattention est très fréquente. [62].

D'après FORM [51], l'enquête NOVI réalisée en 2002 montre clairement qu'un déficit de communication est la principale source des accidents rencontrés dans 60% des élevages, des trayeurs différents intervient en fonction des traites, notamment durant les week-ends.

3.2.4. Défaut d'hygiène du matériel :

Malgré une bonne utilisation des médicaments et un respect des délais d'attentes, la contamination peut se faire suite à une mauvaise vidange et à une absence de rinçage de la griffe qui vient de traire une vache sous délais d'attente (une cuillère à soupe de lait d'une vache traitée à la pénicilline peut contaminer un tank) [58]. La pollution du tank par le lait résiduel dans la griffe semble une possibilité souvent négligée par les éleveurs [59]. Le principe de traire en dernier les animaux sous délai d'attente est rarement appliqué [51].

3.3. Les conséquences liées à la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait

3.3.1. Conséquences sur la santé publique :

Le lait indicateur de l'éventuelle contamination de la chaîne biologique alimentaire peut dans certaines conditions contenir des résidus de molécules à des taux qui pourraient générer des problèmes de santé publique [63]. Il peut être à l'origine d'accidents d'hypersensibilité, de risques toxique et de risques microbiens

3.3.1.1. Risques allergiques :

En médecine humaine, l'allergie est un effet secondaire reconnu des antibiotiques et en particuliers des bêta-lactames [64]. Cependant, compte tenu des très faibles taux de résidus présents dans l'organisme, comparé aux concentrations d'antibiotiques administrées à titre curatif ou prophylactique, il est très improbable qu'ils soient à l'origine d'une sensibilisation primaire de l'individu, ils ne pourraient par conséquent intervenir qu'en tant que facteur déclenchant [65]. D'autant plus que lorsque les antibiotiques sont administrés per os, ils subissent des modifications qui tendent à diminuer leur pouvoir allergène. Les résidus de pénicillines en particuliers forment des complexes avec certaines protéines (albumines) par liaisons covalentes. Ils sont alors masqués par la structure tertiaire de l'albumine et deviennent inaccessibles aux anticorps [66, 65, 67].

3.3.1.2. Risques toxiques

L'usage de certaines molécules comme le chloramphénicol est théoriquement interdit chez les animaux de rente, en raison de risque potentiel d'apparition d'effet secondaires tels que des formes idiosyncratiques d'anémie aplasique chez l'homme [68, 69]. D'autres antibiotiques tels que les

nitrofuranes sont soupçonnés de foetotoxicité [70]. Les sulfamides quant à eux se révèlent foetotoxiques à forte dose.

La consommation de produits contenant des résidus d'antibiotiques (cycline, sulfamicine) diminuant l'immunité naturelle préétablie, et peut entraîner une atteinte du système nerveux, des os, des dents (coloration des dents en jaune), du foie et du sang [71]. 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 [72].

3.3.1.3. Effet sur la microflore intestinale et sélection de souches bactériennes résistantes

La flore intestinale est un des principaux compartiments où des phénomènes de sélection de bactéries résistantes peuvent se dérouler. Les bactéries de la flore intestinale (essentiellement anaérobie) assurent un rôle de barrière en s'opposant à l'implantation et à la multiplication des micro-organismes d'origine exogène [73].

Dans le cas d'une prise orale régulière d'antibiotique, la fraction de la dose administrée qui est excrétée sous forme active par voie biliaire ou sécrétée par la muqueuse intestinale, à laquelle s'ajoute en cas d'administration orale la fraction non absorbée, peut suffire à altérer l'équilibre écologique microbien de la flore intestinale [74]. Les effets observés chez l'hôte peuvent être alors [75]:

- a) l'élimination des bactéries sensibles aux concentrations actives de l'antibiotique,
- b) la sélection et la prolifération de bactéries résistantes au sein de la flore endogène,
- c) la colonisation du tractus digestif par des micro-organismes exogènes résistants, en particulier ceux apportés par l'alimentation et la translocation bactérienne (passage de bactéries de la lumière intestinale aux ganglions mésentériques et éventuellement à d'autres organes). Ces microorganismes peuvent être responsables d'infections graves.

Il est à noter que la contribution des résidus dans la sélection de résistances aux antibiotiques chez l'homme apparaîtrait comme faible comparé à l'importance des contaminations bactériennes des aliments d'origine animale [75].

3.3.2. Conséquences de l'inhibition des ferments lactiques

La plupart des micro-organismes utilisés en technologie laitière sont plus ou moins sensibles à la majorité des antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire, susceptibles d'être à l'origine de résidus et en particulier aux bêta-lactamines. De très faibles concentrations de résidus

d'antibiotiques peuvent ainsi inhiber l'activité de ces micro-organismes. L'inhibition des ferments lactiques est totale à une concentration de 0,50 UI /ml [18].

L'industrie laitière se heurta à des difficultés techniques, surtout dans la fabrication des fromages affinés à pâte dure [76]. Ainsi, toutes les étapes de la transformation du lait en fromage peuvent être perturbées : il y a défaut de coagulation du lait et caillé ressort de mauvaise qualité, il y a une mauvaise maturation du fromage (consistance, couleur, odeur, goût modifié) [72, 77, 78].

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

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

4.1. Introduction :

La législation algérienne relative à la qualité du lait rend obligatoire la recherche des résidus d'antibiotiques dans les laits crus, les laits déshydratés conditionnés, et les laits déshydratés destinés aux industries alimentaire (**Journal Officiel de la République Algérienne N° 35 du 1 Safar 1419 correspondant au 25 mai 1998**). En revanche le législateur algérien ne fixe pas à notre connaissance les modalités de cette recherche.

Nous nous sommes appuyés par conséquent sur la législation européenne qui a codifié les différentes méthodes d'analyses et de test du lait et de ses dérivés (**Décision 91/180/CEE du février 1991**).

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

4.2. Méthodes microbiologiques :

La plupart des tests développés pour la recherche de résidus d'antibiotiques sont essentiellement basés sur la constatation d'un ralentissement ou d'une inhibition de la croissance d'une souche bactérienne sensible mise en présence de l'échantillon de lait à tester [80].

4.2.1. Méthode officielle :

Méthode biologique basée sur l'inhibition de bactéries lactiques sensibles en présence de résidus antimicrobiens inhibiteurs. Elle implique la réalisation de deux techniques successives :

4.2.1.1. Test d'acidification :

Il s'agit d'un test rapide et relativement simple. C'est un test de dépistage pour l'ensemble des résidus d'antibiotiques capables d'inhiber le développement de *Streptococcus thermophilus* dans le lait. En l'absence de résidus, ce germe transforme le lactose en acide lactique, ce qui traduit par une baisse du pH mise en évidence par un changement de couleur d'un indicateur ajouté au milieu [80].

En cas de résultat positif ou douteux avec ce test d'acidification, il est prévu la mise en œuvre de trois tests de confirmation par diffusion en gélose.

4.2.1.2. Epreuve de confirmation ou méthode de Galesloot-Hassing

Cette technique correspond concrètement à la réalisation d'une technique de diffusion en gélose : un disque de papier filtre imprégné du lait à tester est placé à la surface d'un milieu gélosé nutritif inoculé avec le microorganisme-test. Au cours de l'incubation les antibiotiques éventuellement présents dans le lait diffusent dans la gélose et inhibent la croissance de l'organisme test. Il en résulte la formation d'une zone transparente autour du disque [81]. En règle générale, le test est considéré positif en présence d'un diamètre d'inhibition supérieur à 10 mm [82].

4.2.2. Méthodes de détection rapides :

La méthode officielle ne permet pas de préciser la nature de la substance inhibitrice incriminée. Par ailleurs elle est longue à mettre en œuvre (16-18h pour les épreuves de confirmation). Les impératifs de fabrication en industrie amènent les laiteries à utiliser d'autres tests, non officielles, plus rapides, de façon à tester les laits de grand mélange et à pouvoir lancer rapidement la chaîne de fabrication [83]. Un certain nombre de tests sont à leur disposition, leurs seuils de détection peuvent être sensiblement différant de ceux de la méthode officielle, le choix sera déterminé par les impératifs techniques de la fabrication et les entreprises recherchant [50].

4.2.2.1. Le Delvotest :

C'est le kit de détection de résidu d'antibiotique le plus largement utilisé. Différentes déclinaisons simplifiées de ce test existent (Delvotest P®, Delvotest SP®...) mais elles reposent toutes sur le même principe d'inhibition de *Bacillus streathermophilus*. Ces tests se présentent sous la forme de kits normalisés contenant un nombre standardisé de spores de la bactérie dans un milieu gélosé [84].

Ces tests présentent un spectre de détection et une sensibilité vis-à-vis des pénicillines comparables à ceux de la méthode d'acidification officielle. Les résidus d'autres substances (tétracyclines, macrolides, aminoglycosides) sont également détectables dans le lait, mais pas au niveau de leurs LMR respectives [85]. Néanmoins ils ne permettent la détection de certaines molécules antibiotiques telles que le chloramphénicol ou les nitrofuranes. Par conséquent des tests complémentaires peuvent se révéler nécessaires [86, 87].

4.2.2.2. Le Copan Test P et S100 :

Les Copan Test P et Copan Test S100 kits sont des tests plus récents reposant sur le même principe que le Delvotest à la seule différence que la tablette nutritive est préalablement incorporée à la gélose, ce qui réduit la procédure d'une étape par rapport au Delvotest. Ils associent le principe

de diffusion en gélose avec la réduction d'un indicateur coloré. L'absence de substances antibiotiques inhibitrices est indiquée par un virement de l'indicateur. Le Copan Test serait du reste nettement moins sensible que le Delvotest SP [88].

4.2.2.3. Le Valvio-T101 :

C'est un test assez similaire du Delvotest dans sa méthode et son spectre de détection. Mais il est encore plus long dans sa réalisation ce qui en limite l'intérêt [86, 89].

4.2.2.4. Charm Farm Test :

Le Charm Farm Test est un test qui utilise une seule fiole en une seule étape, c'est un test qui permet de détecter cinq familles de produits vétérinaires : les bétalactamines, les sulfamides, les tétracyclines, les aminosides et les macrolides dans le lait cru de vache. Cependant, l'acquisition d'un matériel spécifique le « Charm Auto Farm » est nécessaire à la réalisation de ce test [90].

4.3. Méthodes physico-chimiques :

Ces techniques de recherche des antibiotiques se sont considérablement développées ces dernières années [91].

4.3.1. Methodes enzymatiques

4.3.1.1. Test Penzym :

Le principe du Penzym test repose sur l'inhibition par les béta-lactamines éventuellement présentes dans le lait à tester d'une enzyme : la DD carboxypeptidase. Cette inactivation se traduit par l'apparition d'une coloration jaunâtre au lieu de celle rosée ou orangée habituellement observée en l'absence de résidus de bétalactamines. Rapide (20 mn), bien qu'il ne soit pas approuvé comme test officiel, il est très largement utilisé en industrie laitière comme outil de screening des laits de grand mélange [92, 93].

4.3.2. Methodes immuno-enzymatiques

La plus part des méthodes immuno-enzymatiques reposent sur le même principe : le lait est incubé en même temps qu'un récepteur afin que les résidus d'antibiotiques (souvent des bétalactamines) éventuellement présentes puissent se lier au récepteur [94].

4.3.2.1. DelvoX Press :

C'est un test rapide, 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 [83].

Il consiste à faire réagir une quantité déterminée de lait avec une quantité précise d'une solution appelée traceur qui a pour fonction de complexer les bêtalactamines [95].

4.3.2.2. Le Snap Test :

Ils utilisent une méthode immuno-enzymatique, des récepteurs peuvent se lier soit à l'antibiotique contenu dans le lait testé soit aux antibiotiques (bêtalactamines ou tétracycline) fixés à la surface du test [83].

4.3.2.3. Le Betastar :

Le test Betastar est une méthode du type « Receptor Assay » basée sur l'emploi d'un récepteur spécifique lié à des particules d'or. Il permet la détection rapide, dans le lait, des résidus de pénicillines et de céphalosporines. Ce test très simple d'emploi est aussi très rapide [96].

4.3.2.4. Charm Rosa Milk MRL-3 Test:

Ceux sont des tests qui utilisent le principe de l'immuno-chromatographie sur bandelette qui contient des anticorps et un colorant marqué [83]. Ils sont rapides permettant de détecter, aux seuils LMR les bêta-lactamines (Charm MRL), les tétracyclines (Charm Rosa) ou les sulfamides (SASM Rosa) [88].

4.3.2.5. Système Charm II :

Cette méthode est subordonnée à l'utilisation d'un analyseur permettant de quantifier le produit d'une réaction d'immuno-compétition entre le résidu d'antibiotique éventuellement présent et une molécule marquée au carbone 14 ou au tritium. Cette technique permet de réaliser simultanément l'identification de la molécule et un dosage semi-quantitatif relativement précis. Elle couvre en outre l'ensemble des antibiotiques, y compris le chloramphénicol. Son usage reste néanmoins réservé aux laboratoires de contrôle en raison de l'investissement relativement lourd qui doit être consenti [97, 98].

PARTIE EXPERIMENTALE

1. Période et lieu de l'étude :

Notre étude a été réalisée durant la période s'étalant du 08 Avril au 30 Mai 2011 au niveau du laboratoire de contrôle de qualité se trouvant au sein de : la laiterie de Beni-Tamou (Blida).

Cette étude a pour objectif :

- l'étude de la qualité hygiénique du lait de collecte destiné à la transformation et ceci par la recherche des résidus d'antibiotiques dans le cru des citernes.
- l'appréciation de l'impact économique.

2. Recherche des résidus d'antibiotiques par le « Delvo x press B11 » au niveau de la laiterie de Beni-Tamou :

2.1. Origine des échantillons :

La recherche des résidus d'antibiotiques a été effectuée sur le lait cru de collecte parvenu au niveau de la laiterie par le biais des différents collecteurs provenant de quatre wilayas (Alger, Ain - defla, Blida, Tipaza).

Chaque collecteur ramasse quotidiennement le lait d'un certain nombre d'élevage bovin laitier agréé par les services vétérinaires, lequel sera mélangé dans un camion citerne pour être acheminé au niveau de la laiterie.

2.2. Les prélèvements de lait :

Nous avons prélevé le lait cru quotidiennement, sauf le deuxième jour à cause d'une journée de protestation, directement à partir des camions citernes dans des flacons stériles et identifiés portant la date de prélèvement et le collecteur correspondant, la détection des résidus d'antibiotiques par le Delvo X press β II a été réalisée le moment même.

2.3. Matériel et méthodes :

2.3.1. Matériel :

❖ Matériel de collecte :

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

❖ **Matériel de laboratoire :**

Le matériel employé dans ce test est le suivant :

- Micropipette réglable à 100 µl avec embouts à usage uniques (embouts jaunes).
- Multipette.
- Portoirs métalliques.
- Eau distillée stérile.
- Le Kit « Delvo X press B11 » :

Le « Delvo X press B11 » 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.

Le pack contient (figure 01):

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



Figure 01 : présentation du kit Delvo X press B 11»

2.3.2. La méthode de dosage par le Delvo X press B 11 :

❖ Choix de la méthode : Nous avons choisi cette méthode pour les raisons suivantes :

- Utilisable en routine dans la laiterie,
- La rapidité du test.
- Le coût est abordable.

❖ Principe :

Il est fondé sur le dosage de l'excès d'un réactif spécifique et l'interprétation est effectuée par une mesure colorimétrique, il détecte les résidus de bêtalactamines présents dans le lait en 10 min.

❖ La pratique :

Au cours de notre analyse, nous avons effectué les étapes 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 2).
- Ajouter 0.2 ml de chaque échantillon dans chaque tube concernant (figure 3).
- Déposer 0.2 ml de tracer dans chaque tube (figure 4).



Figure 2 : mettre 0,2ml de standard.



Figure 3 : ajouter 0,2ml de l'échantillon.



Figure 4 : déposer 0,2ml de Tracer.

- Placer tous les tubes dans la ligne A et lancer l'appareil réglé à 64 C°, pendant 03 mn jusqu'à ce que l'appareil signale (figure 5).



Figure 5 : placer les tubes dans la ligne A.

- Une fois l'appareil a signalé, prendre tous les tubes et les rincer 3 fois successives avec la solution de rinçage.
- Sécher tous les tubes de l'extérieur.
- Additionner 1 ml de devloper dans tous les tubes (figure 6).



Figure 6 : addition du devloper.

- Mettre les tubes dans la ligne B de l'appareil et laisser incuber pendant 03 mn (figure 7).



Figure 7 : mettre les tubes dans la ligne B .

❖ **La Lecture :**

La lecture est réalisée automatiquement juste après la 2^{ème} incubation :

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

❖ **Le seuil de sensibilité du Delvo X press B11**

Les seuils de sensibilités du test sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau V : seuil de détection du Delvo X press B11

Betalactamines	Détection ng/ml (ppb)
Pénicilline G	2-3
Ceftiofure	4-8
Cephapirin	4-8
Ampicilline	4-8
Amoxicilline	4-8
Cloxacilline	30-60

2.4. Les résultats :

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

Les résultats détaillés de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne, ainsi que la quantité du lait amenée par chaque collecteur sont présentés dans un tableau que nous avons mis dans l'annexe 1.

Les résultats des 782 échantillons de laits crus de citernes analysés provenant des cinq wilayas (Blida, Tipaza, Médéa, Alger et Ain-Defla) sont traités par wilaya :

- **Wilaya de Blida:**

Les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne de la wilaya de Blida sont présentés dans le tableau VI et la figure 8.

Tableau n°VI : les résultats du suivi des collecteurs de la wilaya de Blida

Numéro de collecteur	Nombre de prélèvement	Résultats			
		Positifs (+)	%	Négatifs (-)	%
1	224	0	0%	224	100%
2	116	2	1,72%	114	98,28%
3	18	0	0%	18	100%
4	64	1	1,56%	63	98,44%
5	46	2	4,34%	44	95,65%
6	30	0	0%	30	100%
7	46	0	0%	46	100%
8	15	0	0%	15	100%
9	26	1	3,84%	25	96,15%
10	5	0	0%	5	100%
11	5	0	0%	5	100%
12	12	1	8,33%	11	91,66%
13	3	0	0%	3	100%
14	4	0	0%	4	100%
15	2	0	0%	2	100%
Total	616	7	1,13%	609	98,87%

Les résultats indiquent que sur les 616 prélèvements analysés, 7 prélèvements sont positifs, soit 1,13%.

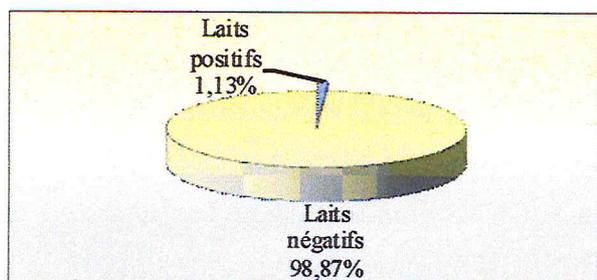


Figure 8 : résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne de la wilaya de Blida.

- **Wilaya d'Ain-Defla :**

Les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne de la wilaya d'Ain-defla sont illustrés dans le tableau VII et la figure 9.

Tableau n°VII : les résultats du suivi des collecteurs de la wilaya d'Ain-defla :

Numéro de collecteur	Nombre de prélèvement	Résultats			
		Positifs (+)	%	Négatifs (-)	%
1	25	0	0	25	100
2	47	1	2,12	46	97,88
Total	72	1	1,38	71	98,62

Les résultats indiquent que sur les 72 prélèvements analysés, 1 prélèvement est positif, soit 1,38%.

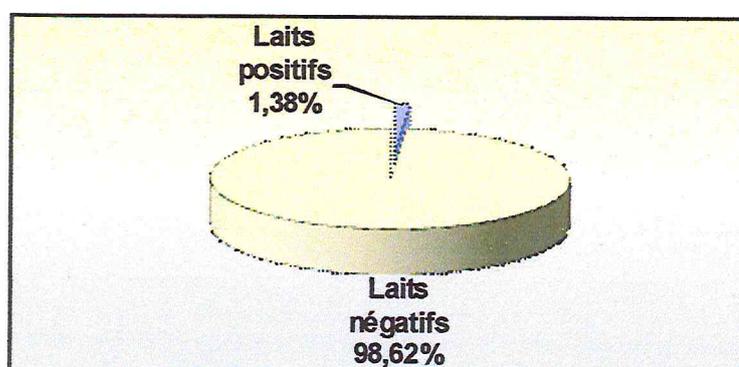


Figure 9 : résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne de la wilaya d'Ain-defla

- **Wilaya d'Alger :**

Les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne de la wilaya d'Alger sont illustrés dans le tableau VIII et la figure 10.

Tableau n°VIII : résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne de la wilaya d'Alger.

Numéro de citernes	Nombre de Prélèvement	Résultats			
		Positifs (+)	%	Négatifs (-)	%
1	28	0	00	28	100
Total	28	0	00	28	100

Les résultats indiquent que les 28 prélèvements sont négatifs, soit un taux de 100%.

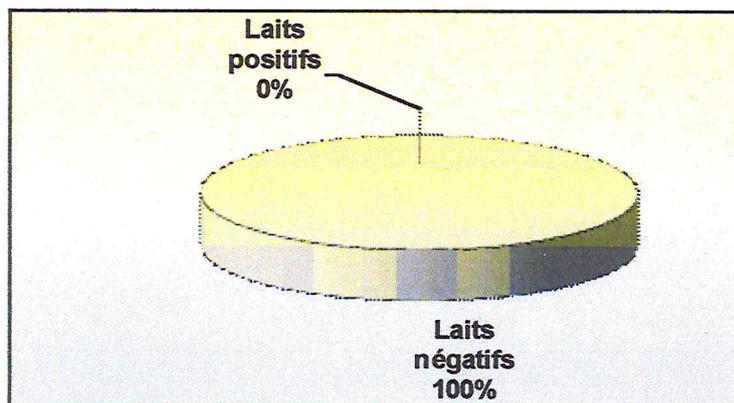


Figure 10 : résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne de la wilaya d'Alger.

- **Wilaya de Médéa :**

Les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne de la wilaya de Médéa sont illustrés dans le tableau IX et la figure 11.

Tableau n IX : résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne de la wilaya de Médéa.

Numéro de citernes	Nombre de prélèvement	Résultats			
		Positifs (+)	%	Négatifs (-)	%
1	55	2	3,63	53	96,36
2	4	0	00	4	100
Total	59	2	3,39	57	96,61

Les résultats indiquent que sur les 59 prélèvements analysés, 2 prélèvements sont positifs, soit 3,39%.

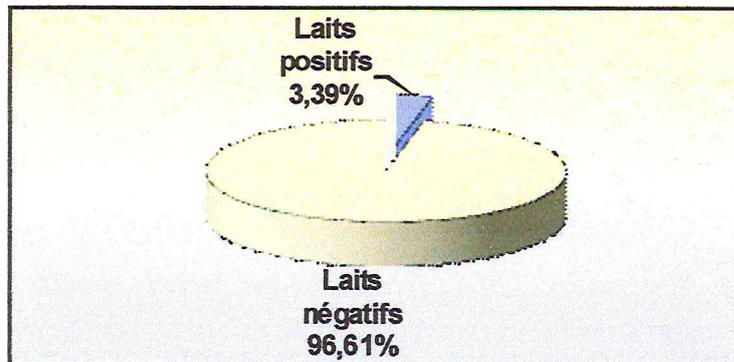


Figure 11 : résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne de la wilaya de Médéa.

- **Wilaya de Tipaza :**

Les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne de la wilaya d'Alger sont illustrés dans le tableau X et la figure 12.

Tableau n° X : résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne de la wilaya de Tipaza.

Numéro de citernes	Nombre de prélèvement	Résultats			
		Positifs (+)	%	Négatifs (-)	%
1	7	0	00	7	100
Total	7	0	00	7	100

Les résultats indiquent que les 7 prélèvements analysés sont négatifs, soit un taux de 100%.

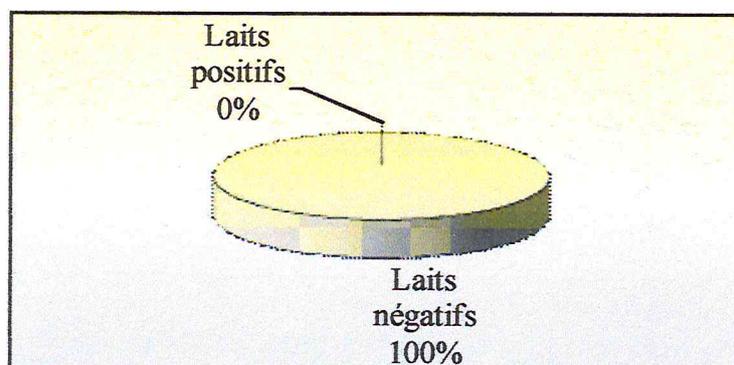


Figure 12 : résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne de la wilaya de Tipaza.

- **Les résultats confondus des cinq wilayas :**

Les résultats confondus de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne des cinq wilayas (Blida, Ain-Defla, Alger, Médéa, Tipaza) sont rapportés dans le tableau suivant :

Tableau XI : les résultats confondus des cinq wilayas.

Résultats	Wilaya de Blida		Wilaya d'Ain-defla		Wilaya d'Alger		Wilaya de Médéa		Wilaya de Tipaza		Les Cinq wilayas	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
Positifs	7	1,13	1	1,38	0	0	0	0	2	3,38	10	1,27
Négatifs	609	98,87	71	98,62	28	100	7	100	57	96,17	772	98,73
Totaux	616	100	72	100	28	100	7	100	59	100	782	100

Les résultats indiquent que sur les 782 prélèvements analysés, 10 prélèvements sont positifs, soit 1,27%.

La répartition des résultats des cinq wilayas confondues est illustrée dans la figure suivante :

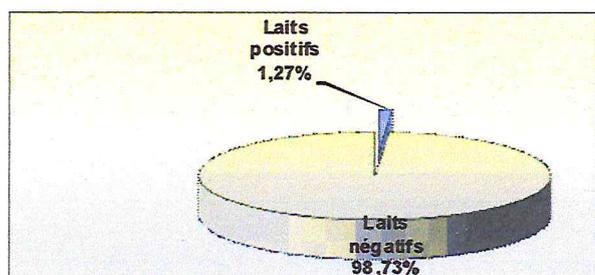


Figure 13 : résultats confondus de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne des cinq wilayas.

2.4.2. Les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne des collecteurs confondus selon la quantité du lait :

Les résultats obtenus selon la quantité du lait sont exposés dans le tableau XII.

Tableau XII : les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne des collecteurs selon la quantité du lait :

Collecteurs	Quantité (L)			%	
	Total	négatif (-)	Positif (+)	Négatif (-)	Positif (+)
C1	1164780	1164780	0000	100	00,00
C2	172633	169909	2724	98,43	1,57
C3	13371	13371	0000	100	00,00
C4	81540	80703	837	98,97	1,026
C5	22177	21419	758	96,59	3,41
C6	113602	113602	0000	100	00,00
C7	108780	108780	0000	100	00,00
C8	29127	29127	0000	100	00,00
C9	35329	34181	1148	96,76	3,24
C10	13498	13498	0000	100	00,00
C11	145277	144889	388	99,74	0,26
C12	8763	8763	0000	100	00,00
C13	15167	14642	525	96,54	3,46
C14	7953	9753	0000	100	00,00
C15	6662	6662	0000	100	00,00
C16	18660	17003	1657	91,12	8,88
C17	7228	7228	0000	100	00,00
C18	1826	1826	0000	100	00,00
C19	1244	1244	0000	100	00,00
C20	5497	5497	0000	100	00,00
Total (L)	1973114	1966877	8037	99,60	0,40

Pendant deux mois de suivi du lait des 20 collecteurs, nous avons constatés que sur un total de 1973114 l de lait cru :

- 8037 l de lait sont positifs, soit 0,40%.
- 1966877 l de lait sont négatifs, soit 99,60%.

Les figures 14 et 15 illustrent les résultats de la quantité du lait cru de citerne des collecteurs contaminé par les résidus d'antibiotiques.

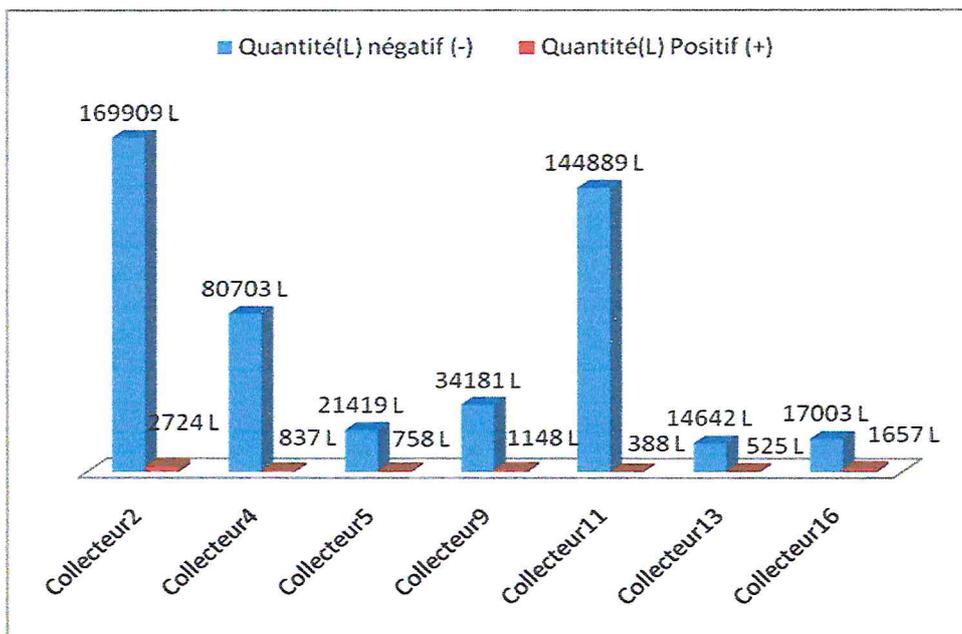


Figure 14 : les résultats de la quantité du lait contaminé par les résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne des collecteurs.

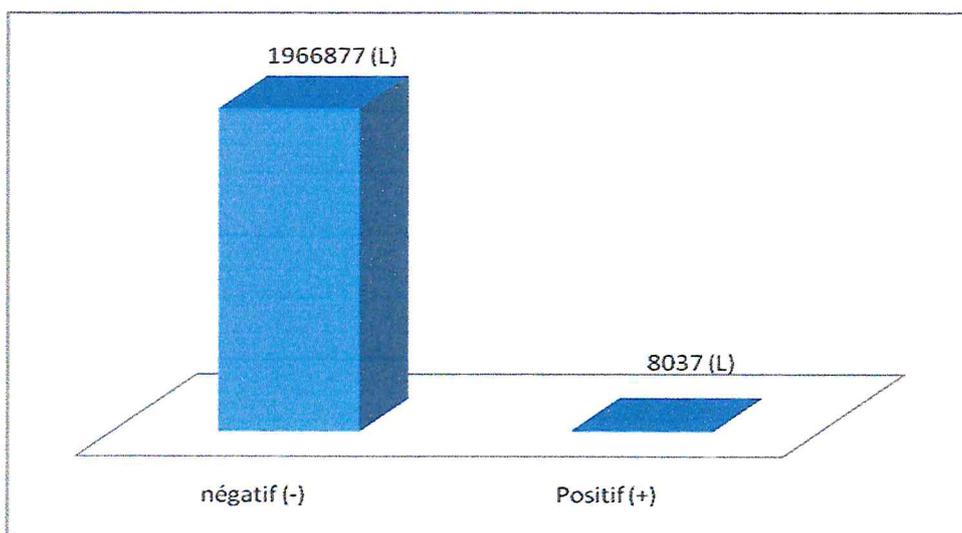


Figure 15 : les résultats finaux de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne des vingt collecteurs confondus selon la quantité du lait.

2.4.3. Les pertes économiques :

2.4.3.1. Estimation des pertes au niveau des collecteurs :

Les pertes économiques engendrées par la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait des 20 collecteurs sont représentées dans le tableau XIII et la figure 16, sachant que le lait cru coûte, pour chaque collecteur, 30 DA/litre.

Tableau n°XIII : les pertes économiques des 20 collecteurs.

Collecteurs	Quantité (l)		Pertes (30DA/l)
	Totale	+	
C1	1164780	0000	/
C2	172633	2724	81720
C3	13371	0000	/
C4	81540	837	25110
C5	22177	758	22740
C6	113602	0000	/
C7	108780	0000	/
C8	29127	0000	/
C9	35329	1148	34440
C10	13498	0000	/
C11	145277	388	11640
C12	8763	0000	/
C13	15167	525	15750
C14	7953	0000	/
C15	6662	0000	/
C16	18660	1657	49710
C17	7228	0000	/
C18	1826	0000	/
C19	1244	0000	/
C20	5497	0000	/
TOTAL	1973114	8037	241110

Les Résultats indiquent que les pertes financières sont classées dans l'ordre suivant :

❖ 241110 DA pour les 20 collecteurs confondus, avec :

- le collecteur 2 : 81720 DA,
- le collecteur 4 : 25110 DA,
- le collecteur 5 : 22740 DA,
- le collecteur 9 : 34440 DA,
- le collecteur 11 : 11640 DA,
- le collecteur 13 : 15750 DA,
- le collecteur 16 : 49710 DA.

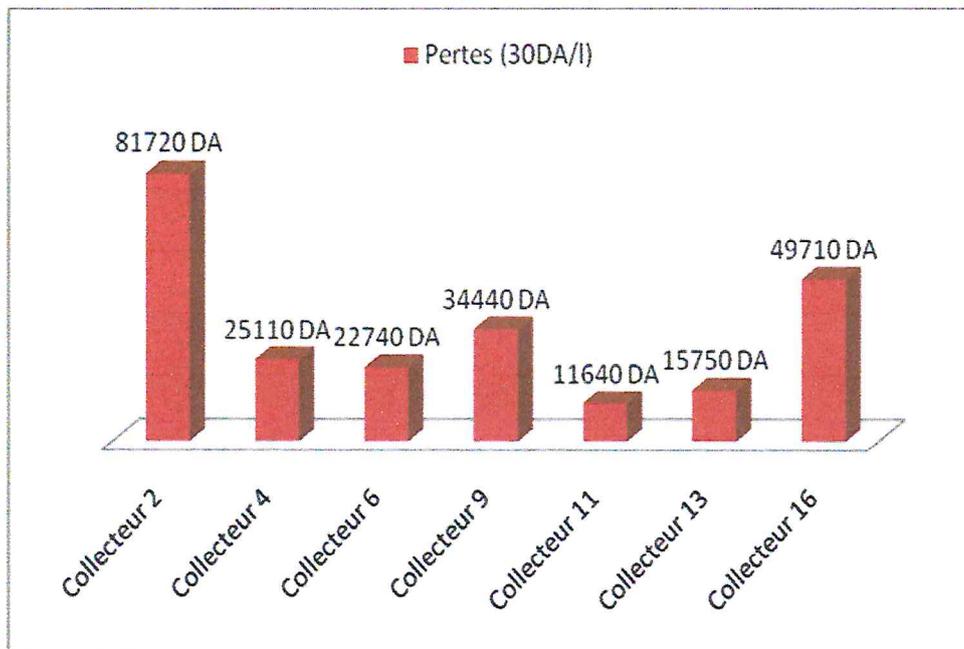


Figure 16 : les pertes économiques pour les collecteurs qui présentent des laits contaminés.

2.4.3.2. Estimation des coûts des analyses effectuées au Delvo X press B 11 sur les laits crus de citernes :

Le test employé pour ce contrôle est un test sous la forme d'ampoule unitaire et utilisable avec un incubateur particulier. Le cout de ce matériel est le suivant :

- Incubateur ampoules : 680000 DA.
- Coffret de 96 ampoules « Le Kit »: 12000 DA.

Ce qui revient à un prix unitaire de 125 DA par analyse effectuée.

Pour l'ensemble des 782 échantillons de laits analysés, les frais d'analyses s'élèvent à 97750 DA.

- Sur les 10 citernes positives les frais sont estimés à 1250 DA
- Sur les les 772 citernes négatives les frais sont estimés à 96500 DA.

Le coût des analyses des laits de citernes estimé à **97750 DA** est négligeable comparé aux pertes de **241110 DA** de lait cru contaminé et connaissant les conséquences des antibiotiques sur les transformations laitières.

2.5. DISCUSSION :

2.5.1. La recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait de citerne :

A l'issue de notre partie expérimentale, basé sur la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne des vingt collecteurs provenant des cinq wilayas (Blida, Ain-defla, Alger, Médéa, Tipaza) et qui alimentent la laiterie de Beni-Tamou, nous avons constaté que sur un total de 782 échantillons de laits crus de citernes analysés, seulement 10 échantillons sont considérés comme positifs, soit 1,27%.

Nos résultats sont inférieurs par rapport à ceux rapportés dans les différentes études au niveau de la même laiterie :

- L'étude d'OUSSER [99] réalisée 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 [100], ont montrés un taux de 65,46% de positivité de bétalactamine pour le lait de collecte dont l'analyse est réalisée au moyen de Rosa Test.
- BENCHALABI et CHERGUI [101], ont rapportées un taux de contamination par les bétalactamines de 27,72%, détecté par le TWINE SENSOR.
- L'étude faite par KHEROUBI et MAHIEDDINE [102], rapporte un taux de contamination de 5,92 % par les bétalactamines sur les 135 échantillons de laits crus de citernes analysés par le Delvo X press B11.

Nos résultats sont similaires comparé à ceux de :

- GAUDIN [103] en France, qui a obtenu un taux de contamination des citernes vont de 0,76% pour le site Y1, 0,44% pour le site Z1, et 1,46% pour le site X1 à 1,88% pour le site X2 en 1993.
- RIETER [104], l'étude faite au Canada rapporte un taux de contamination de 4% par les bétalactamines.

La présence des résidus d'antibiotiques dans les laits crus de citernes, détectées par le Delvo X press B11 reflète l'utilisation abusive des antibiotiques dans les fermes, l'enquêtes réalisées par TARZAALI [105] et par BOUAISSA ET YAMNAINE [100] ont révélé que le non respect du délai d'attente par les éleveurs et de la dose prescrite dans la notice par certains vétérinaires était l'une des causes de la contamination du lait par les résidus d'antibiotiques, 41% des origines des résidus d'antibiotiques sont dues à des traitements de mammites en lactation et 29% en tarissement (enquête présenté par NOVI) , donc le traitement antibiotique des mammites représentant la principale cause de contamination du lait par ces résidus d'antibiotiques et l'administration des

antibiotiques par voie diathélique semble présenter le plus de risque [59, 106]. Cette contamination est aussi due au non respect des règles d'identification des animaux à l'origine d'un passage accidentel à la traite d'une vache dont le lait n'aurait pas du être livré [60].

La pollution d'une grande quantité de lait nécessite une quantité d'antibiotique importante, d'autant plus grande que la LMR est élevée. Convenablement en présence d'un phénomène de dilution, donc la citerne a de faible chance d'être positive. Le lait collecté, provenant des vaches traitées mélangé à celui des vaches non traitées et impropre à la consommation. Seul un respect strict des modalités d'administration des antibiotiques en élevage laitier et ainsi qu'une observance rigoureuse des délais d'attentes constitueraient une solution acceptable actuellement. En effet, tous les laits analysés dans le cadre de cette étude, certifié exempt des résidus et provenant uniquement des vaches n'ayant subi aucun traitement antibiotique depuis au moins 1 semaine, sont destinés à la consommation humaine.

La mise en place d'un contrôle et/ou dépistage des résidus d'antibiotiques dans le lait devient donc un impératif pressant dans notre pays. Ainsi, la mise en place d'un contrôle systématique permettrait l'évolution des pratiques vers un usage plus raisonné des antibiotiques et une plus grande rigueur de la prescription un renforcement de l'information et de la formation des éleveurs et idéalement la suppression de l'automédication.

Les responsables de laboratoire des analyses, surtout depuis que la laiterie a été privatisée, ont choisi la mise en place d'un système de contrôle régulier pour ne pas dire systématique du lait destiné à la transformation devient dès lors nécessaire pour cette filière fortement encouragée par les pouvoirs publics actuellement et appelée à connaître un essor croissant dans les prochaines décennies. Pour cela, ils ont choisi une méthode d'analyse très rapide, moins chère et utilisable en routine dans l'industrie, qui est le delvo X press. C'est un test spécifique qu'au Bétalactamine, leur principal inconvénient réside dans le manque de sensibilité à la majorité des antibiotiques (risque de faux négatifs) et aussi il ne permet pas de mettre en évidence la totalité des molécules d'antibiotiques utilisées en élevage bovin laitier. Contrairement, le delvotest SP qui est utilisé pour la confirmation des résultats négatifs possède un large spectre de détection mais une durée d'analyse plus longue (2h 45mn). Après plusieurs épreuves et pour cette cause, la laiterie a gardé seulement le delvo X press.

Ainsi, pour la plupart des laiteries, la recherche des résidus d'antibiotiques est devenue un enjeu primordial pour plusieurs raisons (garantir la sécurité des produits, respecter les limites maximales de résidus fixées par la réglementation et disposer d'un lait apte à la transformation) ce qui nécessite l'étude des moyens permettant de répondre à ces 3 objectifs.

La négativité des échantillons de lait prélevés ne permet pas pour autant de conclure avec certitude que le lait prélevé est exempt de résidu d'antibiotique. Le risque de faux négatif avec des laits à concentration en résidus d'antibiotiques très faible proche des LMR est limité. L'épreuve de confirmation quant à elle montre une grande spécificité [105].

La législation algérienne relative à la qualité du lait rend obligatoire la recherche de résidus d'antibiotiques dans les laits crus. Les résultats de cette recherche se doivent d'être négatifs, soit « absence » d'antibiotiques dans les laits cités précédemment (**JORA N°35 du Safar -1419 correspondant au 25 mai 1998**) (annexe 2).

2.5.2. L'impact économique :

L'étude est basée sur l'estimation du coût réel des analyses effectuées et des pertes causées par l'élimination du lait contaminé du circuit formel.

Nous avons constaté que la laiterie a perdu environ 97750 DA, coût des analyses des laits crus de citernes ce qui est négligeable comparé aux pertes de 241110 DA liées à la contamination du lait cru de citerne. Cependant, l'écartement du lait contaminé a permis de préserver 1966877 litres de laits exempt de résidus d'antibiotiques.

L'étude faite par KHEROUBI et MAHIEDDINE en 2010 dans la même laiterie a montré que les pertes financières ont été estimées de 279000 DA liées à la contamination de 166547 litres de lait, suivie de cinq collecteurs. L'étude faite par GAUDIN [102], a montré que les pertes passées de 286 295 francs à 183 433 francs en trois ans pour la laiterie Y, de 1786 francs en 1991 à 2515 francs en 1993 pour l'entreprise Z et de 2262 francs en 1991 à 2300 francs en 1993 pour l'entreprise X.

Dans certaines laiteries, le lait impropre est orienté vers le circuit informel (crémeries), ou il sera commercialisé sous forme de lait cru ou de petit lait (leben), ce qui mettra la santé du consommateur en danger. Dans les pays européens, quand un volume de lait (citerne, tank) est connu étant positif en antibiotiques, il est envoyé vers la tour pour fabriquer de la poudre à destination de la consommation animale ou subir un usage non alimentaire (plasturgie).

Différentes méthodes permettent d'assainir le lait en éliminant les résidus mais elles sont onéreuses, pas toujours très fiables, et sont rarement mises en œuvre par les industries du lait. Il apparaît nettement que dans l'état actuel des technologies du lait, aucun traitement ne peut être valablement utilisé pour assainir un lait des résidus qu'il contient. La solution de ce problème passe donc exclusivement par des mesures de prévention : respect des règles de bon emploi du médicament vétérinaire en élevage et systématisation de tests de détection des résidus d'antibiotiques, à la meilleure sensibilité possible.

CONCLUSION

La présente étude a montré que les résidus d'antibiotiques sont bien présent dans le lait cru, produit de large consommation, ce qui constitue un risque non négligeable chez l'industriel et le consommateur et dont l'incidence économique est considérable. Pour cette raison, ils sont régulièrement recherchés dans le lait cru par les laboratoires de laiteries.

La mauvaise utilisation des antibiotiques et le non respect du délai d'attente, révèlent de la responsabilité de l'éleveur et le vétérinaire. La cohérence et la coordination entre éleveurs et vétérinaires doit permettre de rapprocher, dans le sens, pratique et réglementation.

Aujourd'hui, les entreprises laitières arrivent à contrôler l'aptitude technologique à la transformation du lait collecté au prix de nombreux tests, le choix de ces tests doit être bien raisonné : tests fiables, sensibles et spécifiques. Leur utilisation doit s'intégrer dans un protocole défini par la laiterie.

Une recherche des résidus d'antibiotiques n'aurait une valeur sure que si son application devient systématique sur toutes les citernes ou mieux encore sur tous les élevages afin de pouvoir écarter les positifs du circuit de collecte évitant ainsi la contamination de la citerne.

RECOMMANDATIONS :

A l'issue de la présente étude, pour minimiser la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait avec tous les problèmes qui en découlent, nous recommanderons certaines notions faciles à appliquer à différents niveaux si elles sont bien respectées :

Au niveau des élevages :

- Conserver les ordonnances et enregistrer les traitements :
 - sur un tableau placé dans la salle de traite pour les vaches dont le traitement est en cours.
 - Dans un classeur d'enregistrement des traitements pour le suivi sanitaire des animaux de l'élevage.
- Eliminer le lait provenant de tous les quartiers des vaches traitées.
- Eliminer, pour toute la période recommandée, le lait provenant de vaches venant de vêler si on a administré un traitement au tarissement.

Au niveau des laiteries :

- Faire systématiquement une recherche des résidus d'antibiotiques de toutes les citernes.
- Attendre le résultat du test pour soumettre le lait à la transformation.
- Instaurer le paiement du lait à la qualité tout en pénalisant les éleveurs réfractaires aux recommandations.

Au niveau des vétérinaires :

- Un respect strict des modalités d'administration des antibiotiques en élevage laitier et ainsi qu'une observance rigoureuse des délais d'attentes constitueraient une solution acceptable actuellement.
- Le vétérinaire doit, dans son exercice quotidien, rappeler à l'éleveur l'importance de l'identification systématique des animaux traités et de la séparation des animaux taris du reste du troupeau.
- Il doit signaler l'importance du respect des délais d'attentes (lait des quatre quartiers), de la posologie et de la voie d'administration.
- Le vétérinaire doit sensibiliser les éleveurs sur les dangers de l'utilisation des antimicrobiens sans prescription vétérinaire.
- Le vétérinaire doit convaincre les éleveurs d'éliminer systématiquement « le produit intégral » de la traite du quartier traité et celui des autres quartiers.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Mahaut M., Jeantet R., Brule g, et Schuch P., (2000).** « Les produits industriels laitiers », Edit Lavoisier, Tech &Doc, Paris, 178.
2. **Pacculin J, et Galantier M., (1986).** « Valeur nutritionnelle du lait et des produits laitiers » In : J. KEILLING, R. DE WILD, « Lait et produits laitiers vache, brebie, chevre », Lavoisier TEC& DOC, a pria, 93-122.
3. **FAO., (1995).** « Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine », Internet Explorateur.
4. **Lupien J., (1995).** « Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine organisation des unies pour l'alimentation et l'agriculture », Rome, 272p.
5. **Pougheon S, et Goursaud J., (2001).** « Le lait et ses constituants : caractéristiques physico-chimiques », in : Debry G., « Lait, Nutrition et Santé », Edit Lavoisier, Tech &Doc, Paris, 3-42.
6. **Dosogne H., Arendt J., Gabriel A, et Burvenich C., (2000).** « Aspects physiologiques de la sécrétion laitière par la mamelle bovine », Ann.Méd.Vét., 144, 357-382.
7. **Amiot J., Fournier., Lebeuf Y., Paquin P, et Simpson R., (2002).** « Composition, propriétés physico-chimique, valeur nutritive, qualité technologiques du lait » in :Vingola C.L., « Science et technologie du lait : transformation du lait », Ecole polytechnique de Montréal, 1-73.
8. **Mathieu J., (1998).** « Initiation à la physico-chimie du lait », Edit Lavoisier, Tech &Doc, Paris, 220 p.
9. **Cheftel J.C, et Cheftel H., (1997).** « Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments », Tome I, Edit Lavoisier, Tech &Doc, Paris, 35-62.
10. **Veisseyre R., (1975).** « Technologie du lait, constitution, récolte, traitement et transformation du lait », 3eme édition, la maison rustique, Paris, 714.
11. **CaroleL.V., (2002).** « Sciences et technologie du lait » ,149p .
12. **Christie W.W., (1983).** « The composition and structure of milk lipids », In : Fox, PF., « Devloppment in dairy chemistry », Vol 2, Applied sciences publishers, London, 1-35.
13. **Cayot P.H, et Lorient D., (1998).** « Structures et technofonctions des protéines du lait », Edit Lavoisier, Tech &Doc, Paris, 363 p.
14. **Hanzen C.H., (2000).** « Preupédentique et pathologie de la reproduction male et femelle biotechnologie de la reproduction pathologie de la glande mammaire », 3éme et 4éme Edit université de liége.
15. **Hanzen C.H., (1999).** « Pathologie de la glande mammaire de la vache laitière : Aspects individuels et d'élevage », 4éme Edition Université de liége.
16. **Pernoud S., Scheid N., Agentte V., Breton S., Faurie J.M., Marchal L., Obis D., Ondelot E., Paquet D, et Robinson T., (2005).** « Les bactéries lactiques et probiotiques », Edit Lavoisier, Tech &Doc, Paris, 305p.
17. **Blanc X., (1982).** « Les proteines du lait à activité enzymatique et hormonale », Le lait, 62, 350-395.

18. **Luquet F.M., (1985).** « Lait et produits laitiers : Vache-brebie-chèvre, Tome I : Les laits de la mamelle à la laiterie », Edit Lavoisier, Tech &Doc, Paris, 397p.
19. **Badinand F., (1994).** « Maitrise du taux cellulaire du lait », Rec.Rech.Vét., 170 (6/7), 419-427.
20. **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.
21. **Hermier J., Lenois J, et Weber F., (1992).** « Les groupes microbiens d'intérêt laitier », Cepil, Paris.
22. **Larpent J.P., (1991).** «Les ferments microbiens dans les industries agro-alimentaires: produits laitiers et carnes», APRIA, Paris.
23. **Larpent J.P., (1996).** « Lait et produits laitiers non fermentés » in Bourgeois, C.M., Mescle, J.F. et Zucca J., « Microbiologie alimentaire : Aspect microbiologie de la sécurité et de la qualité des aliments », Tome I, Edit Lavoisier Tech&Doc. Paris, 671p.
24. **Grimard B, et Seegers H., (1994).** « Qualité du lait », Res.Méd.Vét., n° 6/7, Tome 170, 331.
25. **Guattéo R., (2001).** « Maitrise de la concentration en cellules somatiques du lait en troupeaux bovins laitiers : efficacité d' une démarche de correction des points de maitrise identifiés par un audit spécifique : la démarche Querellait », Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de médecine, Nantes, 103p.
26. **Cauty I, et Pereau J.M., (2005).** « La conduite du troupeau laitier : la qualité du lait », 1^{er} Edition France agricoles, 55-57.
27. **Bourgeois C.M, et Leveau J.Y., (1980).** « Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro alimentaires », Tome III, édition Science, Tech &Doc, Paris, 331 p.
28. **Broutin C., Diedhiou Y, et Dieng M., (2005).** « Maitrise de la qualité dans la transformation laitière », Guide de bonnes pratiques d'hygiène, Sénégal, 19-31.
29. **Bryskier A., (1999).** « Antibiotiques agents antibactérien et antifongiques », Ellipses édition, 1216p.
30. **Fontaine M., (1993).** « Vade-mecum du vétérinaire », Formulaire vétérinaire de pharmacologie, de thérapeutique et d'hygiène, 15^{ème} édition, Volume 1, Alger : Office des publications Universitaires, 560p.
31. **Larpent J.P, et Sanglier J.J., (1989).** « Biotechnologie des antibiotiques », Masson, Paris, 481p.
32. **Le Page C.P., Curtis M.J., Sutter M.J., Walker M.C,et Hoffman B.B., (1999).** « Traduction de la 1^{er} édition anglaise par Cheymol G., Pharmacologie intégrée », Edition de Boeck, Paris, 419-460 606.
33. **Neal M., (2003).** « Pharmacologie médicale », DE BOECK, Paris, 105p.
34. **Greenwood D., (1995).** « Inhibitors of bacterial cell wall synthesis Ind », Greenwood (Ed), Antimicrobial chemotherapy. Third ed. Oxford university press, New York.

35. **Moulin M, et Coquerel A., (2002).** « pharmacologie Connaissance et Pratique », 2^e édition, Paris :Masson, 845p
36. **Nauciel C., (2000).** « Bactériologie médicale », Paris :Edition Masson, 275p.
37. **Tankovic J., Mahjoubi F., Courvalin P., Duval J, et Leclerc R., (1996).** « Development of fluoroquinolone resistance in *Enterococcus faecalis* and role mutations in the DNA gyrase *gyrA* gene », *Antimicrob Agents Chemother*, 40(11) :2558-61.
38. **Auckenthaler R., Michéa-Hamzehpour M, et Pechère J.C., (1986) .** « In-vitro activity of newer quinolones against aerobic bacteria », *J Antimicrob Chemother. Suppl B*:29-39.
39. **Prescot L.M., Harley J.P, et Klein D.A., 2^eme Edition française, Traduction de la 5^eme Edition américaine par Bacq-Calberg CL, et Dusart J., (2003).** « Microbiologie », édition de Boeck, 805-825.
40. **Euzeby J.P., (2007).** « Dictionnaire de bactériologie vétérinaire », 2 AVRIL 2001. 7MAI 2007. Ecole nationale vétérinaire de Toulouse.
41. **Agence Française de sécurité sanitaire des Aliments(AFSSA), (2006).** « Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquence pour la santé humaine », 214 p. Consulté en mars 2008.
42. **Benslimani A., Ammari H, et Yala D., (2001).** « Action des antibiotiques in vivo », *Médecine du Maghreb*, N°91,16.
43. **Duflocq F., (1982).** « Les résidus d'antibiotiques dans le lait après un traitement par voie intra-mammaire », Thèse pour doctorat vétérinaire, ENV d'Alfort,97p.
44. **Aumont G., (1987).** « Milk iodine residues after a post-milking iodophor teap-dipping », *Ann.Méd.Vét*, N°18, 375-378.
45. **Gehring R, et Smith G.W., (2006).** « An overview of factors affecting the disposition of intramammary preparations used to treat bovine mastitis », *J Vet Pharmacol Ther*, Aug ;29(4) :237-41.
46. **Schifferli D., Galeazzi R.L., Nicolet J, et Wanner M., (1982).** « Pharmacokinetics of oxytetracycline and therapeutic implications in veal calves », *J V et Pharmacol Ther*.
47. **Petit S., (2005).** « Dictionnaire des médicaments vétérinaires et des produits de santé animale commercialisés en France », Edition du point vétérinaire.
48. **Moretain J.P, et Roudaud B., (1986).** « Etude de l'élimination des résidus d'antibiotiques dans le lait », Publication de la FNLP. Etude n° 1 07/81, étude n°3 09/85, étude n° 4 12/86.
49. **Vandaele E, et Veillet F., (2001).** « Dictionnaire des médicaments vétérinaires », Edit du point vétérinaire, maisons Alfort.
50. **Brouillet P., (1994).** « Maitrise de la présence d'inhibiteurs dans le lait », *Rec.Méd.Vét*, n°170 (6/7), 445-455.
51. **Form G., (2003).** « Les résidus inhibiteurs dans le lait » Evolution des méthodes de détection : Facteurs de risques en région Rhone-alpes. Thèse Méd. Vét. Ecol National vétérinaire de lyon. 102 p.

52. **Siddique I.H., Loken K.I, et Hoyt H.H.,(1965).** « Concentration of neomycin, dihydrostreptomycin and polymyxin in milk after intramuscular or intramammary administration », *J.A.V.M.A.*, 146,594-599.
53. **Brouillet P., (1992).** « Les résidus inhibiteurs dans le lait de la vache à la production », Mémoire de CES d'hygiène dans les industries agro-alimentaires, Toulouse.
54. **Gehring R, et Smith G.W., (2006).** An overview of factors affecting the disposition of intramammary preparation used to treat bovine mastitis. *JV et Pharmacol Ther.* Aug;29(4):237-41.
55. **Jacobs J., Klasens M, et Pennings A., (1971).** « Excretion of penicillin from normal mastitis quarters after intramammary treatment », *TIJDSCHER, Diergeneek*, 96,721-730.
56. **Laurentie et Sanders.,(2002).** « Résidus de médicaments vétérinaires et temps d'attente dans le lait », *Revue : Bulletin GVT,n°15, Avril-Mai-Juin 2002*, p51-55.
57. **Puyt J.D, et Sachot E., (2001).** « Résidus médicamenteux: les différents calculs du temps d'attente », *Le point Vétérinaire N°212(32)* 48-51.
58. **Le Poutre D, et Petit C., (2000).** « Maitrise des résidus dans le lait : le role du vétérinaire praticien », *Bull.Group.Tech.Vét.,n°8*, 199-203.
59. **Fabre J.M., Moretain J.P., Ascher F., Brouillet P, et Berthelot X., (1996).** « Les principales causes d'inhibiteurs dans le lait », Résultats d'une enquete dans un millier d'élevages français. *Bull. Group. Tech. Vet., -3-B.-522*, 27-31.
60. **Faroult B., Lepoutre D., Brouillet P, et Le Page P., (2004).** « Mammites des bovins (cliniques et subcliniques) : démarches diagnostiques et thérapeutiques ». *La Dépeche technique, supplément technique n°87 à La Dépeche du 20 décembre 2003 au 2 janvier 2004*, 39p.
61. **Roussel P., Bendali F., David V., Gentillhomme A, et Serment A., (2006).** « Les substances inhibitrices en élevage laitier », *Causes de la présence de molécules inhibitrices dans le lait*,32-35.
62. **CNIEL : Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière., (2008).** « la maison du lait ».
63. **Rico, AG** « Médicaments vétérinaire et sécurité alimentaire : approche toxicologique », in *GenGoux, P., « Pharmacodynamie générale et thérapeutique vétérinaire », 2eme edit, J. DUCULOT, Gembloux, (1971)*, 185-195.
64. **Dewdney J.M, et Edwards R.G., (1984).** « Penicillin hypersensitivity- is milk significant hazard ? A review » , *Journal of the Royal Society of Medecine*, 77, 866-877.
65. **Dewdney J.M., Maes L., Raynaud J.P., Blanc F., Scheid J.P., Jackson T., Lens S, et Verschueren C., (1991).** « Risk assessment of antibiotic residues of beta-lactams and macrolides in food products with regard to their immuno-allergic potentiel », *Food Chem, Toxic*, 29, 477-483.
66. **Corran P.H, et Waley S.G., (1975).** « The reaction of penicillin with proteins », *Biochem J. Aug*, 149(2),357-64.
67. **Wal J.M., (1979).** « Evolution of the concept of residues in the products of animals raised with the use of antibiotics. *Ann Nutr Aliment.* 33(3) :325-41.

68. **Keck G., (1981).** « Chloramphénicol : antibiotique à risque ? », *Rec.Méd.Vét.*, 157(6), 507-513.
69. **Schmid A.,(1983).** « Chloramphenicol residues in foods of animal origin as a potential cause of aplastic anemia in man », *Fortschr Med. Nov.* 10 ; 101(42) : 1913-20.
70. **Perry J.E., Toney J.D, et Leblanc A.L., (1967).** « Effect of nitrofurantion on the human fetus », *Tex Rep Biol Med.* 1967 25(2):270-2.
71. **Berche P., Louis J, et Simonet M., (1991).** « Bacteriologie : les bactéries des infections humaines », Ed. Medecine Sciences, Flammarion, Paris. 2007-2008.
72. **Labie C.H., (1981).** « Dispositions législatives destinées à éviter la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait », *Rec.Méd.Vét.*,157(2), 161-167.
73. **Sperandio V., Torres A.G., Jarvis B., Nataro J.P, et Kaper J.B., (2003).** « Bacteria-host communication: the language of hormones », *Porc Natl Acad Sci U S A*, Jul 22; 100(15):8951-6.
74. **Danmap., (2001).** « Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, food and humans in Denmark ».The Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme, Danish Veterinary Institutue, Copenhagen, Denmark.
75. **Corpet D.E., (1993).** « An evaluation of methods to assess the effect of antimicrobial residues on the human gut flora », *Vet Microbiol.* Jun; 35(3-4),199-212.
76. **Abdussalam M., Stotvast D.I, et Acharya R., (1966).** «Hygiène du lait » O.N.V.A et OMS.
77. **Gaudin P., (1999).** « Origines et conséquences des substances dites inhibitrices dans la filière lait-étude au niveau d'un groupe laitier- », Thèse Méd. Vét., Nantes.
78. **Guerin A., (2003).** « Mise en place d'une démarche de rationalisation du traitement des mammites des vaches laitières. Description des pratiques des éleveurs et des vétérinaire à la mise en place de l'action GTV partenaire en région Rhone-alpes », Thèse Méd. Vét., Nantes.
79. **Guiraud J. P., (1998).** « Microbiologie alimentaire », Edition Dunod, 652p.
80. **Jacquet J, et Mme Steeg., (1953).** « Méthode microbiologique de diagnose et de titrage des antibiotiques dans le lait et les produits laitiers », *Ann. Fals. Fraudes*, 46,5-14.
81. **CNERNA., 1981.** « La qualité bacteriologique du lait », Détection des antibiotiques et des sulfamides.92-97.
82. **Galesloot Tr.E, et Hassing F., (1962).** « A rapid and sensitive paper disc method for the detectio for penicillin in milk », *Neth, Milk Dairy J*, 16, 89-95.
83. **Brouillet P., (2002).** « Les tests rapide de détection des antibiotiques dans le lait », *Bull des Group. Tech. Vét.* n°15, 183-189.
84. **Sischo W.M., (1996).** « Quality Milk and Tests for Antibiotic Residues », *Journal of Dairy Science*, 79, 1065-1073.

85. **Rico A.G., (1971).** « Médicaments vétérinaires et sécurité alimentaire : approche Toxicologique », in GenGoux P. « Pharmacodynamie générale et thérapeutique vétérinaire », 2ème Edit, J.DUCULOT, Gembloux, 185-195.
86. **Mitchell J.M., Griffiths M.W., McEwen S.A., McNab W.B, et Yee A.J., (1998).** « Atimicrobiol drug residues in milk and meat : Causes, Concerns, prevalence, regulation, tests and test performance », Journal of Food Protection. 6 : 742-756.
87. **DSM food specialties., (2007).** Présentation générale du Delvotest.
88. **Reybroeck W., (2003).** « Les résidus antibiotiques dans le lait : utilisation des kits de dépistages des inhibiteurs », Le point Vétérinaire, n° 242, 52-57.
89. **Verhnes R, et Vandaele E., (2002).** « Détection rapide des inhibiteurs dans le lait » Point Vét., 2002, 33 (227), 16-17.
90. **Anonyme ., (2002).** « Rapide test kits for the detection of antibiotics and sulphonamides in milk ».
91. **Mouillet L., (1991).** « Dosage des antibiotiques » in Multon., J.L. « Technique d'analyse des constituants alimentaire », Tome IV, 2 eme édit, Lavoisier, Tech & Doc, Paris, APRIA, 319-332.
92. **Frère J.M., Klein D, et Ghuysen J.M., (1980).** « Enzymatic method for rapid and sensitive determination of B-lactam antibiotics », Antimicrobial agents and chemotherapy, 18, 506-510.
93. **Jones G.M., Erin H, et Seymour., (1988).** « Cowside antibiotics residue testing, journal of dairy science », Vol 71, N°6, 1691-1699.
94. **Sischo W.M., (1996).** « Quality Milk and Tests for Antibiotic Residues », Journal of Dairy Science, 79, 1065-1073.
95. **Larpent J.P., (1997).** « Microbiologie alimentaire : Technique de laboratoire », Edit Lavoisier, Tech & Doc, Paris, 1073p.
96. **Scippo M.L, et Maghuin-Rogister G., (2006).** « Résidus et contaminants des denrées alimentaires : 25 ans de progrès dans l'analyse », Ann.Méd.Vét.,150,125-130.
97. **Korsrud G.O., Salisbury C.D., Fesser A.C., et MacNeil J.D., (1994).** « Investigation of Charm Test II receptor assays for the detection of antimicrobial residus in suspect meat samples », Analyst. 119(12) : 2737-41.
98. **Ferrini A.M., Mannoni V, et Aureli P., (1997).** « The combined platesmicrobial assay (CPMA) for the detection of B-lactam, sulfonamide, streptomycin and tetracycline residues in meat », Arch, Lebensmittelhg, 48, 133-135.
99. **Ousser N., (2006).** « Recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru par le Delvotest SP », Mémoire pour le diplôme d'ingénieur d'état en biologie, Université de Blida. P75.
100. **Bouaissa K, et Yamnaine N.,(2007).** « Recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru par le Rosa test », Mémoire pour le diplôme de docteur vétérinaire, Université de Blida. P 81
101. **Benchalabi K et Chergui D., (2008).** « Recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru par le Delvotest SP et le Twinsostor BT », mémoire pour obtenir le diplôme de docteur vétérinaire, université de Blida. P57.

102. **Mahieddine K, et Kherroubi I.,(2010).** « Recherche des résidus d'antibiotiques et les résidus des désinfectants et détergents dans le lait cru », Mémoire pour le diplôme de docteur vétérinaire, Université de Blida. p 62.

103. **Gaudin P., (1999).** « Origines et conséquences des substances dites inhibitrices dans la filiere lait-Etude au niveau d'un groupe laitier », These N°37 pour le diplôme d'état de docteur vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes.

104. **Rieter B.,(1985).** « Protective proteins in milk », Biological significance and exploitation, International Dairy Federation, Bulletin 191, Bruxelles, Belgique.

105. **Tarzaali D., (2009).** « Recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru », mémoire pour le diplôme de magister, Université de Blida.

106. **Faroult B.,(1998).** « Stratégie de traitement des mammites cliniques ». Bull. Group. Tech. Vet., 599, 27-33.

107. **Fabre J.M., Moretain J.P., Berthelot X., (2002).** Evolution de la méthode interprofessionnelle de recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait. Bull. Group. Tech. Vet., (15), 172-178.

TABLEAU II : Résultats finaux de suivi des vingt collecteurs pour la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait de citerne le mois de mai :

	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12	C13	C14	C15	C16	C17	C18	C19	C20
J1	28936L-	2937L +		1148L-	1400L +			383L-	583L-			175L-		1476L-		1223L-				875L-
J2	21812L-	7231L-	951L-	3267L-	466L-		2954L-	642L-	583L-		7101L-		525L-			3736L-				
J3	30045L-	2606L-			620L-				543L-	525L-				1322L-		1614L-	4915L-		603L-	
J4	20986L-	9004L-	854L-	3070L-				622L-	582L-	525L-		797L-	350L-			1612L-	2313L-			
J5	20830L-	6862L-			486L-	5253L-	1749L-	622L-	603L-							3253L-				
J6	19739L-	1206L-		2236L-		4940L-	1709L-		583L-		893L-	758L-				1187L-				
J7	19860L-	2937L-	291L-	1497L-	1126L-		4816L-	1206L-	603L+				447L-			1657L +				719L-
J8	21798L-	555L-		3228L-	1107L-	1059L-	9570L-	603L-		544L-						4378L-				
J9	30337L-	4722L-		2002L-	369L+		1674L-	583L-	534L-	525L-	6783L-									
J10	24661L-	2272L-		1537L-				621L-			2021L-									
J11	21745L-	2625L-		837L+	17025 L-			603L-	545L-											
J12	22876L-	3267L-		1535L-					543L-	545L-	5426L-	855L-	544L-		1614L-				622L-	
J13	21626L-	3462L-		1050L-					544L-	525L-	3952L +									
J14	17718L-	5486L-		3247L-	1284L-			1167L-	1108L-		7731L-		1070L-	1284L-						836L-
J15	32594L-	603L-		1729L-				603L-	543L-		13154L .									
J16	27633L-	5387L-		3013L-				584L-	1146L-	525L-	8430L-	856L-	564L-							
J17	28782L-	2742L-							1205L-	545L-	7295L-				1419L-					
J18	24197L-	6029L-		1498L-				622L-	1107L-	545L-	10783-		525L-							

ANNEXE 2

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

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.