



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 d'antibiotiques et les
résidus des désinfectants et détergents dans le lait
cru de citerne.*

Présenté par :

M^{elle} MAHIEDDINE Khadidja

&

M^{elle} KHERROUBI Imane

Devant le jury :

Mr BERBER Ali, MCA , Université Saad Dahlab, Blida

Président

Mr KEBBAL Seddik, MAA, Université Saad Dahlab, Blida

Examineur

Mr MERDJA Salah Eddine, MAB, Université Saad Dahlab, Blida

Examineur

M^{elle} TARZAALI Dalila, MAT, Université Saad Dahlab, Blida

Promotrice

*** Promotion 2009 / 2010 ***

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier notre promotrice M^{lle} **TARZAALI Dalila**, maître assistante à l'université Saad DAHLEB de Blida pour l'encadrement qu'elle nous a donné et de nous avoir guidés dans la réalisation de ce travail, pour sa patience et sa disponibilité.

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

A Mr **BERBER Ali**, maître de conférences à l'université Saad DAHLEB de Blida, qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de mémoire. Hommage respectueux.

A Mr **KEBBAL Seddik**, maître de conférences à l'université Saad DAHLEB de Blida et Mr **MERDJA Salah Eddine**, maître assistant à l'université Saad DAHLEB de Blida pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos sincères remerciements vont à Mr **BOUKHCHEM**, maître assistant à l'université Saad DAHLEB de Blida ; à Mme **DJAZZAR Djawida**, chef de département de laboratoire de L'A.D.E (Médéa) ; à Mr **SI MOUSSA Mohamed**, responsable de laboratoire de L'A.D.E (Médéa) ; à Mr **AMARA Mahieddine**, responsable du service de qualité du lait de la laiterie de Beni-Tamou, pour leur aide précieuse.

A tous ceux qui ont participé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

Dédicace

À ces yeux qui illuminent mes pensées, à toi ma Maman chérie.

*À celui qui s'est donné corps et âme pour ma réussite, pour mon bonheur,
à toi mon Papa adoré.*

*À ceux qui ont toujours su être présents pour moi, à vous mes chers
frères : Abdelkader, Ali, Ahmed, Housseem.*

*À celle qui donne un rayon de bonheur à ma vie, à toi ma chère et unique
sœur : Ahlem.*

À mon ange Aymen et sa mamam soraya.

À mes amies : Hanane, Khadidja, Janyla et Louisa.

À mes instituteurs : Mme Fouzia Mr Laïssaoui et Mr Bensaid,

*À ma binôme avec qui j'ai partagé les ahas de ce travail; les bons comme
les mauvais moments: Imane.*

À : Lasmène, Fatima, Nawel, Samra, Soumia, Nabila.

À tout ceux qui m'aiment.

KHADIDJA

Dédicace

A Mes très chers parents qui ont toujours été la pour moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.

A mes chers frères : KAMEL ; ABDELHAK ; BRAHIM

A ma chère et unique sœur : MARWA.

A ma Binôme et amie et sœur : KHADIDJA

A ma promotrice M^{elle} : Tarzaali Dalila

A Toutes les Familles : KHERROUBI ; DOUGDEG ; MAHAIEDDINE.

A ma copine qui nous a aidés dans ce travail : Jimmy.

A toutes mes amies : Hadjer ; Wissem ; Rabeb ; Lamia ; Hanane ; Khadidja ; Fatima ; Karima ; Nawel.

A ma chère sœur qui nous a aidés : Louisa.

A Toutes la promo vétérinaire : 2009-2010

A Tout ceux que j'aime.

A Tous ceux que J'ai oubliés.

IMENE

RESUME

Notre étude a été réalisée sous forme d'un suivi de cinq collecteurs pendant un mois, au niveau de la laiterie de Beni-Tamou, dans le but d'apprécier la présence des résidus d'inhibiteurs dans le lait cru, notamment les résidus d'antibiotiques et les résidus de désinfectants et de détergents d'une part et d'autre part d'évaluer les pertes économiques.

Un total de 135 échantillons de lait cru, prélevés dans la région de Blida, ont été analysés pour la détection des résidus d'antibiotiques par le Delvo X press et le Delvotest SP au niveau de la laiterie de Beni-Tamou parmi eux 25 échantillons ont été analysés pour la détection des résidus de désinfectants et de détergents et ceci par la mesure de la concentration des ions de Na et K au moyen de la spectrophotométrie à flamme au niveau de l'algérienne des eaux (A.D.E) de Médéa, les même 25 échantillons ont subi un contage cellulaire, afin de voir l'influence de l'infection mammaire sur ces concentrations.

Les résultats ont révélé :

- L'existence d'une contamination du lait cru par les résidus d'antibiotiques, notamment les Bétalactamines, soit de 5,92%.
- Une diminution de la concentration du K^+ pour les 5 collecteurs, et une augmentation de la concentration de Na^+ pour 4 collecteurs. Ainsi que l'existence d'une éventuelle relation avec l'inféction mammaire.
- La perte de 166547l de lait cru, soit 279000 DA, liée à la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait cru.

Mots clés : lait cru, citerne, résidus d'antibiotiques, résidus des désinfectants et des détergents, perte économique, Delvo X press, Delvotest SP, spectrophotométrie à flamme.

Summary

Our study was conducted as a follow-up of five collectors during a month, at the Dairy of Beni-Tamou in order to assess the presence of residual inhibitors in raw milk, including antibiotic residues and disinfectants and detergents on the one hand and secondly to assess the economic losses.

A total of 135 raw milk samples, collected from the regions of Blida, was analyzed for the detection of antibiotic residues by the press and Delvo X Delvotest SP at the dairy of Beni Tamou between them 25 samples has been analyzed for the detection of residual disinfectants and detergents and this is by the measure of the focus of Na and K ions' through the flame spectrophotometer at Algerian For Waters (A.D.E) Médea. The same 25 samples has been compelled of cell contagion, to see the influence of breast infection on these concentrations.

The results showed:

- The existence of contamination of raw milk for antibiotic residues including Bêtalactamines; granted 5,92%.
- A decrease of the concentration of K^+ for the 5 collectors and an increase in Na^+ concentration for 4 collectors, the existence of a possible relationship with breast infections.
- Loss of Gallons of Raw Milk 1665471 liter granted 279000 Algerian Dinars, due to the presence of antibiotics residues in raw milk.

Keywords: Raw milk, tank, antibiotic residues, residues of disinfectants and detergents, economic losses, Delvo X Press, Delvotest SP, spectrophotometry with fire.

ملخص

تمت دراستنا على شكل متابعة لخمس جامعي حليب في مدة شهر على مستوى ملبنة بني تامو بهدف البحث عن رواسب مثبتات في الحليب الطازج، بما فيهم رواسب المضادات الحيوية و رواسب المنظفات و المعقمات من جهة و من جهة أخرى تقدير الخسائر الاقتصادية.

135 عينة حليب طازج مأخوذة على مستوى منطقة البلدية فحصت من أجل البحث عن بقايا المضادات الحيوية باستعمال دالفواكس براس و دالفوتاست س ب و هذا على مستوى ملبنة بني تامو ، من بينهم 25 عينة فحصت بغرض البحث عن بقايا المنظفات و المطهرات و ذلك بقياس تركيز الصوديوم و البوتاسيوم باستعمال سباكنخوفوتو ميتخي أفلام على مستوى الجزائرية للمياه . نفس 25 عينة خضعت لتعداد الخلايا الجسمية بهدف معرفة تأثير التهاب الضرع على هذه التراكيذ .

نتائجنا كانت على النحو التالي :

- تلوث الحليب الطازج ببقايا المضادات الحيوية بنسبة 5.92% خاصة بسبب وجود بيتالاکتامين .
- انخفاض تركيز البوتاسيوم و ذلك بالنسبة للجامعين الخمس و ارتفاع تركيز الصوديوم في حليب أربع جامعين مع وجود تأثير لالتهابات الضرع على هذه التراكيذ .
- الخسارة الاقتصادية كانت 166547ل من الحليب الطازج أي 279000 دج مرتبطة بوجود بقايا المضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية: حليب طازج، صهريج، بقايا المضادات الحيوية ، بقايا المطهرات و المنظفات ، الخسائر الاقتصادية ، دالفواكس براس ، دالفوتاست س. ب، سباكنخوفوتومتخي أ. فلام.

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

CAPITRE 1 : LE LAIT.

1.1. Définition.....	02
1.2. Caractéristiques physico-chimiques du lait.....	02
1.3. Composition du lait de vache.....	03
1.3.1 Composition chimique.....	03
1.3.1.1. L'eau.....	03
1.3.1.2. Les glucides.....	03
1.3.1.3. Les lipides « matière grasse ».....	03
1.3.1.4. La matière azotée.....	03
1.3.1.5. Les enzymes.....	04
1.3.1.6. Matière minérale et saline.....	04
1.3.1.7 Les vitamines.....	05
1.3.2 Composition biologique.....	06
1.3.2.1 Les cellules.....	06
1.3.2.2. Les micro-organismes.....	06
1.4. La qualité du lait.....	07
1.4.1 La qualité technologique.....	07
1.4.2 La qualité sanitaire (hygiénique).....	07
1.4.2.1 Les dangers physiques.....	07
1.4.2.2 Les dangers biologiques.....	07

1.4.2.3 Les dangers chimiques.....	07
1.4.3 La qualité organoleptique.....	08

CHAPITRE 2 : LES RÉSIDUS D'ANTIBIOTIQUES DANS LE LAIT CRU.

2.1. Définition.....	09
2.2. Classification et mode d'action des antibiotiques.....	09
2.3. Utilisation des antibiotiques en élevage bovin.....	17
2.4. Les causes de la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait.....	17
2.5. L'impact des résidus d'antibiotiques.....	18
2.5.1. Les risques pour la santé du consommateur.....	19
2.5.1.1. Le risque toxicologique.....	19
2.5.1.2. Le risque allergique.....	19
2.5.1.3. Le risque bactériologique.....	20
2.5.2. Conséquences pour la fabrication de produits fermentés.....	20

CHAPITRE 3 : LES RESIDUS DES DETERGENTS ET DES DESINFECTANTS DANS LE LAIT CRU.

3.1. Définition.....	24
3.2. Intérêt du nettoyage et la désinfection.....	24
3.3. Agent de nettoyage et de désinfection.....	24
3.3.1. Agent de nettoyage.....	24
3.3.1.1Détergents alcalins.....	24
3.3.1.1.1. La soude caustique ou hydroxyde de sodium (NaOH)	24
3.3.1.1.2. La potasse.....	25
3.3.1.1.3. Les phosphates alcalins.....	25
3.3.1.1.4. Le carbonate de sodium (CO ₃ Na ₂).....	25
3.3.1.1.5. Les silicates.....	25
3.3.1.2. Les détergents acides.....	25
3.3.1.2.2. L'acide sulfurique (H ₂ SO ₄)	25
3.3.1.2.3. L'acide chlorhydrique (HCl).....	25

3.3.1.2.4. L'acide phosphorique (H ₃ PO ₄).....	25
3.3.1.2.5. L'acide sulfamique ou acide amido-sulfonique (NH ₂ -SO ₃ H).....	25
3.3.1.2.6. Acide peracétique.....	25
3.3.2 Agent de désinfection.....	26
3.3.2 1. Les composés chlorés.....	26
3.3.2 2. L'iode.....	26
3.3.2 3. les iodophores.....	26
3.3.2 4. Les agents oxydants non halogènes.....	26
3.3.2 5. L'aldéhydes.....	27
3.3.2 6. Les composés d'ammoniums quaternaires.....	27
3.3.2 7. Les savons ampholytes.....	27
3.4. Procédures de nettoyage.....	27
3.4.1. Nettoyage manuel.....	27
3.4.1.1. Pré-rinçage.....	27
3.4.1.2. Lavage-brossage.....	28
3.4.1.3. Rinçage.....	28
3.4.1.4. Séchage.....	28
3.5. L'impact des résidus provenant des désinfectants et des détergents sur la technologielaitière.....	31
3.6. Les facteurs influençant la variation de concentration minérale dans le lait.....	34

PARTIE EXPERIMENTALE

1. Période et lieu de l'étude.....	35
2. Matériel et Méthodes.....	35
3. Les résultats.....	44
4. Discussion.....	56
Conclusion.....	61
Recommandation.....	62
Références bibliographiques	
Appendices	

La liste des abréviations

- ADE : Algérienne des eaux.
- AMM : Autorisation de Mise sur le Marché.
- ANP : Matières azotées non protéiques.
- °C : Degré Celsius.
- Ca (OH)² : L'hydroxyde de calcium.
- CEE : communauté européenne
- CIP : Cleaning In Place.
- Cl⁻ : Chlorure.
- CMB : Concentration Minimale Bactéricide.
- CMI : Concentration Minimale Inhibitrice
- CO₃ Na₂ : Le carbonate de sodium.
- °D : Degré Dornic.
- D.A.O.A : Denrée alimentaire d'origine animale.
- DAG : Diacylglycérol.
- g/L : Gramme par litre.
- H₂O : l'Eau.
- H₂SO₄ : L'acide sulfurique.
- H₃PO₄ : L'acide phosphorique.
- HCl : L'acide chlorhydrique.
- HClO: l'acide Hypochloreux.
- HNO₃ : L'acide nitrique.
- IM : Intramusculaire.
- K⁺: Potassium.
- Kcal : Kilocalorie.
- KCl : Chlorure de Potassium.
- KOH : L'hydroxyde de potassium.
- LMR : Limites maximales de résidus.
- MAG : Monoacylglycérol.
- µg : microgramme.
- ml: Millilitre.
- mM : milliMol.
- Na₂O₂Cl : Les hypochlorites de sodium ou l'eau de Javel
- Na⁺ : Sodium.
- Na₂O : Oxyde sodium.
- NaCl : Chlorure de Sodium.
- NaOH : La soude caustique ou hydroxyde de sodium.
- NEP : Nettoyage En Place.
- NCC : Numération cellulaire de citerne.
- ng : nanogramme.
- NH₂-SO₃H : L'acide sulfamique ou acide amido-sulfonique.
- NOVI : Nouvel observatoire Virbac des inhibiteurs.
- PMN : Poly.morpho.nucléaire.
- Subs : Substance.
- TA : Temps d'attente.
- TAG : Triacylglycérol.
- TB : Taux butyreux.
- TP : Taux protéiques.
- UHI : Ultra Haute Température.

La liste des figures

Figure 1 : Protocole de prélèvement.....	36
Figure 2 : Présentation du kit Delvo Xpress B II.....	37
Figure 3 : La photométrie à flamme Modèle 410.....	38
Figure 4 : Mettre 0,2 ml de standard.....	38
Figure 5 : Mettre 0,2 ml de l'échantillon.....	38
Figure 6 : Addition de 0,2 ml de tracer.....	39
Figure 7 : Mettre les tubes dans la ligne A.....	39
Figure 8 : Addition de 1ml de developper.....	39
Figure 9 : Mettre les tubes dans la ligne B.....	39
Figure 10 : Préparation des étalons de sodium ou de potassium.....	40
Figure 11 : l'ajout de l'acide acétique glacial jusqu'à l'obtention d'un pH 4,6.....	41
Figure 12 : Filtration de filtrat de defecation obtenu avec des filtres stériles.....	41
Figure 13 : Prélèvement de 0,1 ml de filtrat de defecation.....	42
Figure 14 : Ajustement à 10 ml avec de l'eau distillée.....	42
Figure 15 : Prélèvement de 0,1 ml de filtrat de defecation.....	42
Figure 16 : Ajustement à 200 ml avec de l'eau distillé.....	42
Figure 17 : Passage de la gamme des étalons de Na ⁺ ou de K ⁺	43
Figure 18 : passage des dilutions A et B dans la photométrie à flamme.....	43
Figure 19 : les résultats du suivi de collecteur 1 pour la recherche des résidus d'antibiotique.....	44
Figure 20 : les résultats du suivi de collecteur 2 pour la recherche des résidus d'antibiotique.....	45
Figure 21 : les résultats du suivi de collecteur 3 pour la recherche des résidus d'antibiotique.....	45
Figure 22 : les résultats du suivi de collecteur 4 pour la recherche des résidus d'antibiotique.....	46
Figure 23 : les résultats du suivi de collecteur 5 pour la recherche des résidus d'antibiotique.....	46
Figure 24 : les résultats du suivi des 5 collecteurs confondus.....	48
Figure 25 : Les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne pour chaque collecteur selon la quantité du lait.....	49

Figure 26: Les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne des cinq collecteurs confondus selon la quantité du lait.....	49
Figure 27 : dosage de Na^+ , K^+ au cours du suivi pour le collecteur 1.....	50
Figure 28 : l'évolution de NCC au Cours du suivi collecteur 1.....	50
Figure 29 : dosage de Na^+ , K^+ au cours du suivi collecteur 2.....	51
Figure 30: l'évolution de NCC au Cours du suivi collecteur 2.....	51
Figure 31: dosage de Na^+ , K^+ au cours du suivi collecteur 3.....	52
Figure 32: l'évolution de NCC au Cours du suivi collecteur 3.....	52
Figure 33 : dosage de Na^+ , K^+ au cours du suivi collecteur 4.....	53
Figure 34 : l'évolution de NCC au Cours du suivi collecteur 4.....	53
Figure 35: dosage de Na^+ , K^+ au cours du suivi collecteur 5.....	54
Figure 36: l'évolution de NCC au Cours du suivi collecteur 5.....	54
Figure 37 : Les pertes économiques pour les trois collecteurs.....	55

La liste des tableaux

Tableau 1 : les principales constantes physiques du lait.....	02
Tableau 2: constituants majeurs des matières salines du lait de vache (g/litre).....	05
Tableau 3 : teneur en oligo-élément du lait de vache ($\mu\text{g/l}$).....	05
Tableau 4 : les anti-infectieux.....	10
Tableau 5 : (suite) les anti-infectieux.....	11
Tableau 6: (suite) les anti-infectieux.....	12
Tableau 7: (suite) les anti-infectieux.....	13
Tableau 8: (suite) les anti-infectieux.....	14
Tableau 9 : (suite) les anti-infectieux	15
Tableau 10 : (suite) les anti-infectieux.....	16
Tableau 11: l'impact des résidus d'antibiotiques sur la transformation du lait.....	21
Tableau 12 : (suite) l'impact des résidus d'antibiotiques sur la fabrication laitière.....	22
Tableau 13 : (suite) l'impact des résidus d'antibiotiques sur la fabrication laitière.....	23
Tableau 14 : Les désinfectants.....	29
Tableau 15 : Les détergents.....	30
Tableau 16: l'impact des résidus provenant des désinfectants sur la qualité du lait.....	32
Tableau 17: l'impact des résidus provenant des détergents sur la qualité du lait.....	33
Tableau 18 : Résultats de recherche des résidus d'antibiotiques des cinq collecteurs confondus.....	47
Tableau 19 : les résultats confondus des 5 collecteurs selon la quantité.....	48
Tableau 20 : les résultats de dosages de Na^+ , K^+ , NCC, dans le lait pour le collecteur 1.....	50
Tableau 21 : les résultats de dosages de Na^+ , K^+ , NCC, dans le lait pour le collecteur 2.....	51
Tableau 22 : les résultats de dosages de Na^+ , K^+ , NCC, dans le lait pour le collecteur 3.....	51
Tableau 23 : les résultats de dosages de Na^+ , K^+ , NCC, dans le lait pour le collecteur 4.....	52
Tableau 24 : les résultats de dosages de Na^+ , K^+ , NCC, dans le lait pour le collecteur 5.....	53
Tableau 25: les pertes économiques des cinq collecteurs.....	54

INTRODUCTION

Le lait est un aliment de base dans le régime alimentaire de l'humain, il doit satisfaire des exigences qualitatives pour le consommateur et pour l'industrie de transformation, ainsi que des exigences quantitatives pour l'éleveur. La présence des inhibiteurs quelconques soient leurs origines constitue le principal frein pour atteindre ces objectifs.

Ces inhibiteurs sont représentés essentiellement par :

- Les résidus des antibiotiques qui représentent la principale source de contamination du lait et en particulier lors du traitement des mammites des vaches laitières.
- Arrive au second plan les résidus des désinfectants et des détergents qui posent des problèmes analogues à ceux qui concernent les antibiotiques :

D'une part sur la santé du consommateur (manifestations cliniques, toxicologiques et allergiques). D'autre part sur le plan technologique, au niveau de certaines opérations de transformation industrielle (inhibition des ferments lactiques dans l'industrie laitière).

L'Algérie est un pays encore tout jeunes dans la filière lait et des programmes nationaux tel que « le programme de la réhabilitation de la production laitière » ont été établis dans le but d'encourager et d'améliorer la production laitière pour atteindre l'autosuffisance.

Actuellement, la qualité du produit préoccupe de plus en plus les responsables qui se dirigent inévitablement vers une politique de paiement du lait à la qualité; dès lors, les producteurs possèdent une place privilégiée dans cette chaîne de qualité qui s'est établie dans la filière.

Les normes qualitatives et législatives des produits laitiers industriels ou de consommation courante sont très exigeantes. En Algérie, L'arrêté interministériel du 29 Safar 1414 correspondant au 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation, précise qu'un lait contenant des antibiotiques ou des antiseptiques est impropre à la consommation humaine (appendice A).

Dans ce contexte, nous avons réalisé notre étude expérimentale au niveau de la laiterie de Beni-Tamou qui se préoccupe de la qualité aussi bien hygiénique que sanitaire de ses produits.

Nôtre étude a pour objectifs :

- La recherche des résidus des antibiotiques réalisée par la laiterie pour la première fois par la méthode du Delvo X press.
- La recherche des résidus des détergents et des désinfectants par le dosage de Na^+ et K^+ , étant d'une part les principaux éléments chimiques retrouvés dans les produits les plus utilisés dans le nettoyage et l'entretien du matériel des laiteries, et d'autre part l'importante influence de leurs concentrations sur la transformation laitière. Ce dosage qui est une première, a été effectué au sein de l'A.D.E de Médéa par la spectrophotométrie à flamme.
- L'évaluation de l'impact économique dû à la présence de ces résidus d'antibiotiques dans le lait.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 LE LAIT

1.1. DÉFINITION:

Physiologiquement, le lait est une réponse physiologique à la mise au monde d'un jeune mammifère, il correspond à une alimentation parfaitement adaptée aux besoins du nouveau-né [1].

Le lait destiné à l'alimentation humaine a été défini en 1909 par le congrès international de la répression des fraudes comme suit: « Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie, non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum» [2].

Le lait est un mélange liquide de nombreuses substances dont la plus abondante est l'eau, il est sécrété par les glandes mammaires des femelles mammifères [3].

1.2. CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DU LAIT:

Le lait est un liquide opaque de couleur blanche, plus ou moins jaunâtre selon la teneur en carotène de sa matière grasse. Sa saveur est douce et son odeur est faible mais identifiable. Le pH est légèrement acide [4]. Les principales constantes physiques du lait sont reprises dans le tableau 1.

Tableau 1 : les principales constantes physiques du lait [5]

Constantes	Moyennes	Valeurs Extrêmes
Kcal /litre	701	587-876
Densité du lait entier à 20°C	1,031	1,028-1,033
Densité de la matière grasse	-	0,94-0,96
pH à 20°C	6,6	6,6-6,8
Acidité titrable (°Dornic) ^a	16	15-17
Point de congélation (°C)	-	-0,520 -0,550
Chaleur spécifique du lait entier à 15°C	0,940	-
Tension superficielle du lait entier à 15°C (dynes /cm)	50	47-53
Viscosité du lait entier à 25°C (centipoises)	1,8	1,6-2,1
Conductivité électrique à 25°C (siemens) ^b	45x10 ⁻⁴	40-50x10 ⁻⁴
Point d'ébullition (°C)	-	100,17-100,15
Potentiel d'oxydoréduction	0,25V	+0,20- +30
Point de fusion des graisses (°C)	36	26-42

A : 1°D=0,1gr d'acide lactique /Litre

b : autre fois mhos

Du point de vue physique, le lait est un milieu hétérogène dans lequel trois phases distinctes coexistent [6,7] :

- La phase aqueuse, qui contient l'eau (87% du lait) et les produits solubles pouvant donner naissance au lactosérum (lactose, sels, protéines solubles, composés azotés non protéiques, biocatalyseurs tels que vitamines hydrosolubles ou enzymes).

- La suspension colloïdale micellaire (2,6%), qui peut donner naissance au caillé obtenu par la coagulation des caséines suite à l'action de microorganisme 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 gravitation.

1.3. COMPOSITION DU LAIT DE VACHE :

1.3.1 Composition chimique :

L'eau, les protéines, les graisses et les hydrates de carbone constituent les éléments essentiels du lait. On retrouve encore dans le lait quelques bactéries et des cellules ainsi que divers produits témoins de leurs métabolismes y compris la lactoferrine et des enzymes. Parfois, la présence de polluants ou de contaminants rend ce lait non conforme voire impropre à la consommation [8].

La composition du lait varie selon différents facteurs liés aux animaux, les principaux étant l'individualité, la race, la période de lactation, l'alimentation, la saison et l'âge [9].

1.3.1.1. L'eau :

La valeur nutritive du lait est particulièrement élevée grâce à l'équilibre entre les nutriments qu'il contient. L'eau apparaît comme l'élément le plus important du lait. Selon POUGHEON et GOURSAUD [10]. Il forme une solution vraie avec les glucides, les minéraux et une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles du sérum [9,10, 11].

1.3.1.2. Les glucides :

Les glucides sont essentiellement représentés dans le lait par le lactose [1]. Il intervient comme élément de fermentescibilité [4,10].

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 [12] et le galactose qui proviendraient de l'hydrolyse du lactose [13].

Selon PIEN [14] le lait contient deux types de glucides :

- Les glucides libres.
- Les glucides combinés en glycoprotéines.

1.3.1.3. Les lipides « matière grasse » :

Le lait de vache contient naturellement entre 3,6% et 4,5% de matière grasse. Elle est composée de triacylglycérol (TAG) (97,5%), le reste étant constitué de phospholipides (0,6%), d'acide gras (0,027%), de cholestérol (0,31%), de diacylglycérols (DAG) (0,36%) et de monoacylglycérol (MAG) (0,027%) [15]. Ces deux derniers sont considérés comme étant des produits intermédiaires de la biosynthèse des TAG [16]. Les lipides sont dispersés dans le lait sous forme de globules lipidiques inclus dans une membrane dérivée des cellules sécrétoires de la glande mammaire [17].

1.3.1.4. La matière azotée :

Les matières azotées du lait constituent un ensemble complexe dont la teneur totale avoisine 35g/l [6, 18].

Selon LUQUET [19], on distingue deux types de matière azotée dans le lait :

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

a. Les matières azotées non protéiques (ANP) :

Ces composés azotés non protéiques sont présents dans le lait à raison de 0,3 g/L, la moitié étant de l'urée. Cette fraction joue un rôle important dans la croissance des bactéries [1]. On y trouve également et par ordre d'importance les acides aminés, l'acide urique, l'ammoniac, la créatinine. Il y a une corrélation étroite entre la teneur en urée du lait et celle du sang [20].

b. Les protéines :

C'est la fraction la plus importante (93 à 95%) [21]. Leur importance tient à plusieurs raisons : quatrième groupe de substances par son abondance (après l'eau, le lactose et les matières grasses). Elles possèdent de remarquables qualités nutritionnelles [20]. Ces protéines existent sous un grand nombre de structure différente. Les protéines peuvent être subdivisées en deux grandes catégories [22] :

- Les protéines solubles dites protéines du lactosérum qui sont en solution colloïdale et qui se précipitent sous l'action de la chaleur [9]. Les plus abondantes ont les propriétés des albumines et des globulines ; il y a aussi les protéoses-peptones issues de la protéolyse par la plasmine de la caséine [10]. Ces substances ne sont normalement présentes qu'en faibles quantités [5].

- Les caséines qui sont en suspension colloïdale, qui se regroupent sous forme de micelles [9]. La micelle de caséine, particule sphérique d'environ 180nm est constituée de : 92% de protéines, et de caséines (α_s , β , γ , κ) et une partie minérale comportant 90% de phosphate de calcium et 10% d'ions citrates et de magnésium [22].

1.3.1.5. Les enzymes :

Ceux sont des substances organiques, produites par des cellules ou des organismes vivants et agissant comme catalyseurs dans les réactions biochimiques [1]. Environ 60 enzymes ont été répertoriés dans le lait dont 20 sont des constituants natifs [23]. En fonction de leurs propriétés, ces enzymes peuvent jouer un rôle très important [24] :

- Lyse des constituants organiques du lait ayant des conséquences importantes sur le plan technologique et sur les qualités organoleptiques du lait (lipase, protéase);
- Antibactérien, en apportant une protection au lait (lactopéroxydase lysozymes);
- Indicateurs de qualités hygiéniques (certaines enzymes sont produites par des bactéries et des leucocytes), de traitement thermique (phosphatase alcaline, peroxydase, acétyl estérase, sont des enzymes thermosensibles) et l'espèce (test de l'axanthine-oxydase pour détecter le lait de vache dans le lait de chèvre).

1.3.1.6. Matière minérale et saline :

Leur teneur est d'environ 7,2g /l. [25]. Certains minéraux se trouvent exclusivement à l'état dissous sous forme d'ion (sodium, potassium, et chlore) et sont particulièrement biodisponibles. Les autres (calcium, phosphore, magnésium, soufre) existent dans les deux fractions : dans la fraction soluble, ils existent soit sous forme libre (calcium, magnésium), ou encore sous forme complexe (esters phosphoriques et phospholipides), et dans la fraction colloïdale, ils sont liés à la caséine au sein des micelles [20].

Les éléments minéraux majeurs du lait (tableau 2) se caractérisent par une grande constance de leurs concentrations dont les faibles variations sont dues à des facteurs génétiques ou physiologiques, mais relativement peu à des facteurs nutritionnels ou écologiques [25].

Tableau 2 : constituants majeurs des matières salines du lait de vache (g/litre) [5].

constituants	Teneurs moyennes (g/l)
Potassium	1,50
Sodium	0,50
Calcium	1,25
Magnésium	0,12
Phosphore	0,95
Chlore	1,00
Soufre	0,35
Acide citrique	1,80

Les teneurs en oligo-élément peuvent être variables selon les conditions environnementales. Ils sont présents à deux voisins du milligramme ou micro-gramme par litre (tableau 3) [25].

Tableau 3 : teneur en oligo-élément du lait de vache ($\mu\text{g/l}$) [26].

Oligo-élément	Teneurs	Oligo-élément	Teneurs
Aluminium	600-1000	Fluor	70-200
Arsenic	<50	Iode	10-300
Bore	150-300	Manganèse	10-30
Brome	150	Mercure	<1
Cadmium	<1	Molybdène	70
Chrome	15-30	Plomb	2-10
Cobalt	0,5	Sélénium	10-30
Cuivre	20-40	Silicium	1000-6000
Etain	100-1000	Strontium	350
Fer	200-500	Zinc	3000-6000

Les un qualifiés de normaux ou de naturels (cuivre, fer et zinc) passant des cellules lactogènes dans les canaux et citernes de la mamelle comme le lactose ou les caséines. Les autres dits de contamination ou de pollution (plomb et mercure) sont apportés au lait, après sa sortie du pis, par les ustensiles ou l'atmosphère. Bien que présents dans le lait de quantités infimes, leur intérêt nutritionnel pour l'homme est capital car ils peuvent être toxique au dessus d'une certaine concentration [22].

1.3.1.7 Les vitamines :

Se sont des molécules complexes mais de taille beaucoup plus faible que les protéines. De structure très variée mais en étroit rapport avec les enzymes, elles jouent un rôle de coenzyme associée à une apoenzyme protéique [10].

On distingue deux types de vitamines :

- Les vitamines hydrosolubles (B, C) présentes dans la phase aqueuse du lait (écrémé et le lactosérum)
- Les vitamines liposolubles (A, D, E) associées à la matière grasse (crème, beurre)

Elles sont en quantités variables dépendant des facteurs exogènes (race, alimentation, radiation solaire) [27].

1.3.2 Composition biologique :

1.3.2.1 Les cellules :

Le lait contient des cellules épithéliales qui proviennent de la desquamation de l'épithélium glandulaire ou des canaux lactifères, ces dernières ne jouent aucun rôle physiologique particulier [28] et contient aussi des cellules d'origine sanguine (PMN, macrophages et lymphocytes.....). La concentration cellulaire d'un lait normal issu d'une vache non infectée, est inférieure à 100 000 cellules/ml et ne dépasse que rarement le seuil des 300 000 cellules/ml [29], 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 le produit indésirable. En effet, les cellules somatiques sont riches en enzymes et pourraient entraîner une dégradation des constituants du lait au cours de sa conservation. De se fait, les taux leucocytaires du lait servent au paiement du lait et de diagnostic du type d'infection mammaire [30].

On distingue quatre catégories principales [31] :

a. Les cellules épithéliales :

Elles proviennent de la desquamation des épithéliums des canaux galactophores, des acini et leur noyaux, le contenu de leur cytoplasme les font souvent confondre avec les macrophages, les deux représentent plus de deux tiers de toutes les cellules somatiques d'un lait normal [30].

b. Les lymphocytes :

Cellules de petite taille à gros noyau dense, de type B ou T, [30] ils constituent environ 25% de la population des cellules présentes dans le lait issu de vaches saines [32].

c. Les macrophages :

Ceux sont des grosses cellules arrondies dont le cytoplasme contient un appareil enzymatique très développé, ont un pouvoir phagocytaire; mais bien efficace que celui des leucocytes [30].

d. Les leucocytes polynucléaires neutrophiles :

Leur rôle est essentiel dans la défense. Dans le lait sain, ils ne représentent moins de 11% des cellules [30] et constituent le type cellulaire dominant lors d'infection intramammaire [33]. L'afflux massif de ces cellules du sang vers la mamelle entraîne une importante augmentation du nombre total des cellules somatiques dans le lait et peuvent présenter le type majoritaire (90%) [29]

1.3.2.2. les micro-organismes :

Le lait est un milieu de culture pour plusieurs micro-organismes, [34] le lait contient peu de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 5000 germes/ml). Il s'agit essentiellement de germes saprophytes, microcoques, streptocoques lactiques et lactobacilles [35, 36]. Les bactéries, généralement, majoritaire de la flore totale être classées en deux grands groupes, flore non pathogène et flore pathogène [37], la présence d'agents pathogènes dans le lait peut s'expliquer par une infection de l'animal par d'autres animaux, par l'homme, ou par l'environnement [38].

- La flore non pathogène :

La flore psychotrophe reste généralement dominante 3000 bactéries/ml, les flores lactiques et thermo-résistantes de l'ordre 1000 bactéries/ml. Les teneurs moyennes en flore coliformes sont inférieures à 500 bactéries/ml [39].

Cette flore constitue la flore de transit sans grande conséquence pour les conservations ou les transformations ultérieures du lait [37].

- La flore pathogène :

Les principaux micro-organismes pathogènes associés aux produits laitiers sont : *Salmonella sp*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Compylobacter jejuni*, *Shigella sonnei*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Brucella* et certaines moisissures [34, 40]

1.4 LA QUALITÉ DU LAIT :

La maîtrise de la qualité du lait et d'autant plus indispensable qu'elle conditionne, non seulement le prix perçu et la marge par litre de lait [41]. 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 de tarissement [42].

Parmi les composantes de la qualité :

1.4.1 La qualité technologique :

Cette qualité dépend de la composition chimique (TP, TB), de la qualité bactériologique et de l'aptitude à la transformation [43]. Elle caractérise l'existence ou le risque d'altération du lait.

1.4.2 La qualité sanitaire (hygiénique) :

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 jugée défailante si le produit contient une quantité de toxines ou micro-organismes pathogènes suffisante pour rendre le produit dangereux à consommer [44].

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 (débris de bois, grains de sables poils) [45].

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 (animaux, environnement, matériel du personnel de l'unité de production) [45]. Les dangers regroupant les bactéries, les virus et les parasites dangereux pour l'homme [44].

1.4.2.3 Les dangers chimiques : Selon BOURGEOIS et LEVEAU [44], ces dangers chimiques ont deux origines :

A Origine intrinsèque :

Ceux sont des contaminations naturellement présentes dans l'aliment comme les composés allergènes, ou les substances anti-vitaminiques.

B Origine extrinsèque :

Ceux sont les polluants de l'environnement (métaux lourds, résidus de pesticides, contaminants industriels tel que la dioxine), les résidus de traitements vétérinaires, 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, se qui est principalement dû a 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, reflète un problème dans la manipulation et la conservation de lait [9,43].

**CHAPITRE 2
LES RÉSIDUS D'ANTIBIOTIQUES DANS LE LAIT CRU**

2.1. DEFINITION :

En 1944, WAKSMAN définit les antibiotiques comme des substances chimiques naturelles produites par des micro-organismes qui, à très faible concentration, ont le pouvoir d'inhiber la croissance ou même de détruire d'autres micro-organismes [46].

Selon BOURIN et al [47], les antibiotiques sont définis par leur :

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

2.2. CLASSIFICATION ET MODE D'ACTION DES ANTIBIOTIQUES:

Bien que pour l'essentiel, les antibiotiques et les sulfamides vétérinaires sont à l'origine de plus de trois quarts des accidents inhibiteurs [48], de par leur objectif principal, les antibactériens représentent de loin le plus grand risque d'effet inhibiteur dans le lait, d'autant que les bactéries lactiques y sont particulièrement sensibles.

Leur classification en « familles » repose essentiellement sur leur appartenance à des groupes comportant une structure chimique générale semblable (tableau 4, 5, 6, 7, 8, 9,10). La présence de cette structure conduit à des comportements similaires, en termes de propriétés tant chimiques que biologiques. Les antibactériens d'une même famille peuvent, dans la majorité des cas, être détectés par un même test qui met en évidence la partie commune [49].

Tableau 4 : les anti-infectieux

Famille	Antibiotiques		Mol. inhibitrice		LMR lait (µg/kg)	CMI (µg/ml)	CMB (µg/ml)	Source(s) bibliographique (s)
	Groupe	Molécule	Oui	Non				
Tétracyclines	Tétracycline		X		100	[50] 12 µg/ml pour Staph. aureus 60 µg/ml pour Esch. coli 6 µg/ml pour Entero. aerogenes 12 µg/ml pour Klebsiella 3 µg/ml pour Myco. agalactiae 0,001 à 0,01 µg/ml pour Strep. thermophilus > 1,5 mg/ml pour Strep. lactis [51] > 1 µg/ml pour Bacil. stearothermophilus > 5 µg/ml pour Bacil. subtilis > 1,5 µg/ml pour Bacil. megaterium		[50] [51]
			X		100	[53] 0,39 à 1,56 µg/ml pour Staph. aureus > 0,10 µg/ml pour Strep. thermophilus > 1,25 µg/ml pour Lacto. bulgaricus [50] 18 µg/ml pour Esch. coli 18 µg/ml pour Entero. aerogenes 9 µg/ml pour Klebsiella 150 µg/ml pour Coryne. pyogenes 3 µg/ml pour Myco. agalactiae		[52] [50] [53]
Phénicoles	Phénicoles		Ne pas administrer aux animaux dont le lait est destiné à la consommation humaine (Règlement CEE n° 2377/90)		(substance interdite)			
			X		50			[52]
Polypeptides	Polypeptides		X		100	> 12 µg/ml pour Strep. lactis		[52]
			X		50			[52]

Tableau 5 : (suite) les anti-infectieux

Famille	Antibiotiques		Mol. inhibitrice		LMR lait (µg/kg)	CMI (µg/ml)	CMB (µg/ml)	Source(s) bibliographique(s)	
	Groupe	Molécule	Oui	Non					
Macrolides+ apparentés		Oléandomycine	X			1,5 µg/ml pour <i>Staph. aureus</i> > 90 µg/ml pour <i>Esch. coli</i>		[50]	
		Synergistine	X						[52]
		Tylosine	X			50	> 0,075 µg/ml pour <i>Strep. thermophilus</i> > 1 µg/ml pour <i>Strep. lactis</i> > 0,062 µg/ml pour <i>Lacto. bulgaricus</i> [50] > 90 µg/ml pour <i>Esch. coli</i> 150 µg/ml pour <i>Coryne. pyogenes</i> [54] 2 µg/ml pour <i>Staph. aureus</i> 0,5 à 2 µg/ml pour <i>Strep. uberis</i> 0,25 µg/ml pour <i>Strep. dysgalactiae</i>	4 µg/ml pour <i>Staph. aureus</i> 1 à 4 µg/ml pour <i>Strep. uberis</i> 0,5 µg/ml pour <i>Strep. dysgalactiae</i>	[50] [54]
		Spiramycine	X			200	> 1,25 µg/ml pour <i>Strep. thermophilus</i> > 0,62 µg/ml pour <i>Lacto. bulgaricus</i> [50] 90 µg/ml pour <i>Esch. coli</i> [54] 32 µg/ml pour <i>Staph. aureus</i> 2 à 4 µg/ml pour <i>Strep. uberis</i> 2 µg/ml pour <i>Strep. dysgalactiae</i>	64 µg/ml pour <i>Staph. aureus</i> 4 à 8 µg/ml pour <i>Strep. uberis</i> 4 µg/ml pour <i>Strep. dysgalactiae</i>	[50] [54]
Lincosamides		Tilmicosine				Ne pas administrer aux animaux dont le lait est destiné à la consommation humaine (Règlement CEE n° 2377/90)			
		Tulathromycine							
		Erythromycine							
		Lincomycine			150	0,3 µg/ml pour <i>Staph. aureus</i> 3 µg/ml pour <i>Staph. epidermidis</i> > 120 µg/ml pour <i>Esch. coli</i> > 120 µg/ml pour <i>Enter. aerogenes</i> > 120 µg/ml pour <i>Klebsiella</i> 3 µg/ml pour <i>Myc. agalactiae</i>		[50]	
Streptogramins		Pirimycine	X		100			[52]	
		Rifaximine	X		60			[52]	

Tableau 6: (suite) les anti-infectieux

Famille	Antibiotiques		Mol. inhibitrice		LMR lait (µg/kg)	CMI (µg/ml)	CMB (µg/ml)	Source(s) bibliographique(s)		
	Groupe	Molécule	Oui	Non						
Bêta-lactamines	Pénicillines G	Pénéthamate	X		4	> 6 ng/ml pour <i>Strep. thermophilus</i> > 0,003 ng/ml pour <i>Lacto. bulgaricus</i> > 0,03 µg/ml pour <i>Strep. cremoris</i> > 3 ng/ml pour <i>Bacil. stearothermophilus</i> > 18 ng/ml pour <i>Bacil. subtilis</i> > 12 ng/ml pour <i>Bacil. megaterium</i>		[51]		
						[50] 0,1 µg/ml pour <i>Staph. aureus</i> 0,1 µg/ml pour <i>Staph. epidermidis</i> 25 µg/ml pour <i>Esch. coli</i> 50 µg/ml pour <i>Entero. aerogenes</i> 0,5 µg/ml pour <i>Coryne. pyogenes</i> 0,03 µg/ml pour <i>Strep. agalactiae</i> > 6 ng/ml pour <i>Strep. thermophilus</i> > 1,5 µg/ml pour <i>Strep. lactis</i> > 3 ng/ml pour <i>Lacto. bulgaricus</i> [51] > 3 ng/ml pour <i>Bacil. stearothermophilus</i> > 18 ng/ml pour <i>Bacil. subtilis</i> > 12 ng/ml pour <i>Bacil. megaterium</i>		[50] [51]		
	Pénicillines M	Benzylpénicilline	X		4					
	Pénicillines A	Ampicilline	X		4				[50]	
		Amoxicilline	X							[50]
		Acide clavulanique	X		200					[52]
Pénicillines M	Cloxacilline	X		30				[50]		
	Oxacilline	X		30				[52]		
	Dicloxacilline	X		30				[52]		
Nafcilline	X		30				[52]			

Tableau 7: (suite) les anti-infectieux

Famille	Antibiotiques		Mol. inhibitrice		LMR lait (µg/kg)	CMI (µg/ml)	CMB (µg/ml)	Source(s) bibliographique(s)	
	Groupe	Molécule	Oui	Non					
Bêta-lactamines	Céphalosporines	Céfalaxine	X		> 0,5 µg/ml pour <i>Strep. thermophilus</i> >0,05 µg/ml pour <i>Bacil. stearothermophilus</i> >10 µg/ml pour <i>Bacil. subtilis</i> >1 µg/ml pour <i>Bacil. megaterium</i>			[55]	
		Céfapirine	X					[56]	
		Céfazoline	X						[56]
		Céfalonium	X						[56]
		Cefquinome	X			0,25 à 0,5 µg/ml pour <i>Staph. aureus</i> 0,016 à 0,032 µg/ml pour <i>Strep. uberis</i> 0,08 à 0,016 µg/ml pour <i>Strep. dysgalactiae</i> 0,125 µg/ml pour <i>Esch. coli</i>	0,5 à 1 µg/ml pour <i>Staph. aureus</i> 0,032 µg/ml pour <i>Strep. uberis</i> 0,016 à 0,032 µg/ml pour <i>Strep. dysgalactiae</i> 0,125 µg/ml pour <i>Esch. coli</i>		[54]
Ceftiofur	X						[56]		
Céfopérazone	X						[56]		
Céfuroxime									

Commission du Codex Alimentarius a approuvé l'interruption d'activités sur projet de LMR sur Céfuroxime pour le lait de vache (02/2006)

Tableau 8 : (suite) les anti-infectieux

Famille	Antibiotiques		Mol. inhibitrice		LMR lait (µg/kg)	CMI (µg/ml)	CMB (µg/ml)	Source(s) bibliographique(s)	
	Groupe	Molécule	Oui	Non					
Aminosides	Streptomycine	Streptomycine	X		200	> 0,75 µg/ml pour <i>Strep. lactis</i> > 3 µg/ml pour <i>Bacil. stearothermophilus</i> > 0,3 µg/ml pour <i>Bacil. subtilis</i> > 1,2 µg/ml pour <i>Bacil. megaterium</i>		[51]	
			Dihydrostreptomycine	X		200	25 µg/ml pour <i>Staph. aureus</i> 10 µg/ml pour <i>Esch. coli</i> 10 µg/ml pour <i>Entero. aerogenes</i> 15 µg/ml pour <i>Klebsiella</i> < 1 µg/ml pour <i>Coryne. pyogenes</i> 10 µg/ml pour <i>Myc. agalactiae</i> > 25 µg/ml pour <i>Strep. agalactiae</i> > 1,25 µg/ml pour <i>Strep. thermophilus</i> > 0,15 µg/ml pour <i>Lacto. bulgaricus</i>		[50]
				Spectinomycine	X		200	40 µg/ml pour <i>Staph. aureus</i> 30 µg/ml pour <i>Staph. epidermidis</i> 15 µg/ml pour <i>Esch. coli</i> 20 µg/ml pour <i>Entero. aerogenes</i> 2 µg/ml pour <i>Klebsiella</i> 100 µg/ml pour <i>Coryne. pyogenes</i>	
Glycosyl aminoglycosides	Néomycine	Néomycine	X		1500	12,5 µg/ml pour <i>Staph. aureus</i> 5 µg/ml pour <i>Esch. coli</i> 2 µg/ml pour <i>Entero. aerogenes</i> 2 µg/ml pour <i>Klebsiella</i> 30 µg/ml pour <i>Coryne. pyogenes</i> > 25 µg/ml pour <i>Strep. agalactiae</i> > 2,5 µg/ml pour <i>Strep. lactis</i>		[50]	
			Gentamicine	X		100	1 µg/ml pour <i>Staph. aureus</i> 0,5 µg/ml pour <i>Esch. coli</i> 2 µg/ml pour <i>Entero. aerogenes</i> 2 µg/ml pour <i>Klebsiella</i> 5 µg/ml pour <i>Coryne. pyogenes</i>		[50]
				Apramycine Paromomycine					

Ne pas administrer aux animaux dont le lait est destiné à la consommation humaine (Règlement CEE n° 2377/90)

Tableau 9 : (suite) les anti-infectieux

Famille	Anti-infectieux		Mol. inhibitrice		LMR lait (µg/kg)	CMI (µg/ml)	CMB (µg/ml)	Source(s) bibliographique(s)
	Groupe	Molécule	Oui	Non				
Sulfamides + apparentés	Sulfamides	Sulfadiazine		X	100			
		Sulfachlorpyridazine		X	100			
		Sulfadimidine		X	25			
		Sulfadoxine		X	100			
		Sulfadiméthoxine		X	10 (limite de détection)			
		Furosémide	X		Annexe II (LMR pas nécessaire)			
		Sulfaméthoxyypyridazine	X		10 (limite de détection)			
			X		50			[52]
			X		30			[52]
			X		50			[52]
Antibiotiques quinolones	Quinolones	Danofloxacine	X		30			[52]
		Enrofloxacine	X		100			[57]
		Marbofloxacine	X		75			[54]
Ne pas administrer aux animaux dont le lait est destiné à la consommation humaine (Règlement CEE n° 2377/90)								
	Diffloxacine							
	Acide oxolinique							

Tableau 10 : (suite) les anti-infectieux

Anti-infectieux		Mol. inhibitrice		LMR lait ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	CMI ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	CMB ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Source(s) bibliographique(s)
Famille	Groupe	Molécule	Oui				
				(substance interdite)	Administration aux animaux d'exploitation en tant que médicament vétérinaire interdite (Règlement CEE n° 2377/90)		
				(substance interdite)			
Subs. diverses	Novoflavonine		X	50	1,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ pour <i>Staph. aureus</i> > 120 $\mu\text{g}/\text{ml}$ pour <i>Esch. coli</i> 6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ pour <i>Enter. aerogenes</i>		[50]
	Acide acétyl salicylique			(LMR pas nécessaire)			En l'absence de LMR, ne pas administrer aux animaux dont le lait est destiné à la consommation humaine (Règlement CEE n° 2377/90)
	Décoquinat			(LMR pas nécessaire)			
Bromhexine			(LMR pas nécessaire)				

2.3. UTILISATION DES ANTIBIOTIQUES EN ELVAGE BOVIN :

- **Utilisation des antibiotiques à but curatif ou préventif :**

L'antibiothérapie, l'antibactérien est une aide à apporter lorsque le système immunitaire est trop faible ou la souche infectieuse est particulièrement virulente [58].

La métaphylaxie est une mesure mise en place lorsqu'une infection s'est déclarée dans un élevage, et qu'une proportion importante d'animaux est malade. Elle consiste en l'administration à dose curative de l'antibiotique utilisé sur les animaux malades aux animaux sensibles exposés non atteints. Dans cette optique, les objectifs recherchés sont les mêmes que ceux de l'antibiothérapie [59].

L'antibioprévention, est l'administration préventive d'antibiotique à dose thérapeutique à des individus soumis à un risque infectieux [60]. Elle est très fréquente en élevage laitier, avec l'application de pommades intra mammaires contenant un ou plusieurs antibiotiques lors du tarissement des vaches.

- **Une utilisation désormais interdite (les additifs antibiotiques):**

Les additifs antibiotiques, aujourd'hui interdits, sont des antibactériens utilisés à faible dose pendant toute la croissance des animaux, avec l'objectif d'obtenir un gain de poids maximal en un minimum de temps [60].

Les animaux produits sous label (label rouge par exemple) ou agriculture biologique ne reçoivent pas d'antibiotique dans l'aliment, les bovins à l'herbage, les vaches laitières non plus [59,61].

2.4. LES CAUSES DE LA PRESENCE DES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES DANS LE LAIT:

Le traitement antibiotique des mammites représente la principale cause de pollution du lait par des résidus d'antibiotiques [62, 63, 64,65]. La pollution d'une grande quantité de lait nécessite une quantité d'antibiotique importante, d'autant plus grande que la LMR est élevée. La recherche d'une contamination directe d'origine mammaire doit être privilégiée [66].

- **Principales erreurs commises par les éleveurs :**

Les erreurs commises par les éleveurs constituent une source importante de contamination du lait. Elles peuvent être résumées de la manière suivante [67]:

- Un mélange accidentel du lait d'une vache traitée avec le lait des autres vaches au sein d'un cheptel.
- Une traite, par erreur, d'une vache tarie, récemment traitée par des antibiotiques.
- Une désinfection défectueuse de la machine à traire entre les traites.
- Une non vérification de l'ancien traitement administré aux vaches en lactation, récemment achetées.
- Le matériel utilisé pour récupérer le lait de vache traitée est défectueux, tel qu'une fuite au niveau des valves des pots, qui peut être à l'origine d'une contamination du lait.
- Un mélange accidentel de l'aliment médicamenteux avec la ration des vaches en lactation.

- **Non-respect des modalités d'utilisation des traitements (hors AMM) :**

Des études sur l'origine des résidus dans le lait avaient déjà montré que les trois quarts des résidus retrouvés dans le lait des éleveurs pénalisés sont des antibiotiques et que leur présence est liée à une mauvaise utilisation du médicament [65].

Cette mauvaise utilisation se manifeste par les traitements inadaptés non conformes aux exigences de l'AMM [68].

- Le non respect des protocoles de traitement des produits administrés par voie intra-mammaire est fréquemment mis en cause, dans 38% des cas selon l'enquête de FABRE et al [63].
- 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 [68].
- L'usage anormale et hors AMM des médicaments, comme l'administration par voie intra mammaire de suspension destinée à la voie intramusculaire (IM) pour traiter des mammites en lactation, est également recensé [66].

- **Non-respect des protocoles de traitement en lactation :**

Les délais d'attentes sont différents d'un produit à l'autre et selon les situations. Il faut respecter scrupuleusement les prescriptions: dose, voie d'administration, durée du traitement. Tout changement d'un de ces paramètres risque de modifier l'élimination du produit (ordonnance du vétérinaire et notice du produit) [69].

Concernant les erreurs lors du traitement des vaches en lactation, deux grands types d'erreurs doivent être distingués :

Le non-respect du délai d'attente et le non-respect de la posologie.

- **Non-respect des protocoles de traitement au tarissement :**

Malgré la communication importante qui a lieu sur le sujet, les résultats du NOVI montrent que des problèmes d'inhibiteurs sont encore liés au non-respect de la période colostrale [70].

Les vaches tarées qui ont été traitées contre le tarissement vèlent avant le délai d'attente indiqué sur l'étiquette-dépistage [71].

Les produits intra mammaires de tarissement sont des médicaments à part entière. De plus, ils ont une longue durée de vie dans la mamelle. La période de retrait du lait après le vêlage (en fait du colostrum) obligatoire est de 7 jours complets. Tout éleveur qui ne respecte pas ce délai légal s'expose à livrer du lait contenant des résidus d'inhibiteurs [69].

En cas de raccourcissement de la période sèche (mauvais enregistrement des dates d'insémination, vêlage prématuré), les éleveurs n'allongent pas la période de retrait du colostrum tendit que celle-ci doit normalement être portée à 14jours [70].

- **Passage accidentel par absences d'identification des animaux :**

D'après FORM [72], 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 interviennent en fonction des traites, notamment durant les week-ends.

- **défaut d'hygiène du matériel :**

Une mauvaise vidange et une absence de rinçage de la griffe qui vient de traire une vache sous délais d'attente (une cuillerée à soupe de lait d'une vache traitée à la pénicilline peut contaminer un tank) sont régulièrement mises en causes et dans ce cas l'éleveur, qui trait à part l'animal traité; est persuadé de respecter le délai d'attente [68,63].

2.5. L'IMPACT DES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES:

L'aspect hygiénique du lait en tant que denrée alimentaire d'origine animale (**D.A.O.A**), en rapport avec l'antibiothérapie des mammites et autres pathologies, relève de la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait à l'origine de (tableau 11,12,13) :

- Problèmes sanitaires (santé du consommateur).
- Problèmes technologiques (procédés de transformation laitière) [73].

2.5.1. Les risques pour la santé du consommateur :

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.

Ces deux concepts sont appliqués dans l'union Européenne et reconnue internationalement dans le cadre du codex alimentarius [74].

a. Les limites maximales résiduelles :

La concentration maximale de résidus résultant de l'emploi d'un médicament vétérinaire (exprimé en mg/kg en $\mu\text{m}/\text{kg}$ sur la base du poids frais) légalement permise ou estimée acceptable dans ou sur un aliment (règlement N°2377/90/CEE). Elle s'exprime en ppm, c'est à dire en microgramme de résidus par kilogramme d'aliment. Elle est indispensable à l'autorisation de mise sur le marché (AMM) de tout médicament vétérinaire destiné aux animaux de production (Directive 2001/82/CEE Mars 2006). La connaissance des LMR permet outre la détermination du délai d'attente après un traitement, l'élaboration de test de détection des résidus, de sensibilité aussi proche que possible des LMR.

b. Le temps d'attente :

Il correspond au délai entre la dernière administration d'un médicament à des animaux, dans des conditions normale d'emplois et la production de denrées alimentaires issus de ces animaux, garantissant que ces denrées ne contiennent pas de résidu du médicament en quantité supérieur à sa LMR (Directive 81/851/CEE).

Les risques dus à la consommation d'un lait contenant des résidus d'antibiotiques sont très faibles. On peut cependant répertorier trois catégories de risques:

- Le risque toxicologique.
- Le risque allergique.
- Le risque bactériologique.

2.5.1.1. Le risque toxicologique :

Les antibiotiques utilisés en thérapeutique possèdent en règle générale une faible toxicité. Ceci les différencie des antibiotiques externes qui ne peuvent en aucun cas être employés par voie générale. Néanmoins, certains antibiotiques présentent une très forte toxicité générale qui empêche leur emploi dans beaucoup d'espèces animales [46].

2.5.1.2. Le risque allergique :

Le schéma général d'une réaction allergique est toujours le même. Pour qu'une allergie ou une hypersensibilité se déclenche, il faut que l'organisme ait été en contact au moins deux fois avec l'allergène. Un premier contact qui permet à l'organisme de reconnaître l'allergène, un deuxième contact déclenchant qui va provoquer la crise [75].

Les allergies provoquées par les antibiotiques sont en général peu graves et ne permettent pas d'attribuer aux résidus un effet sensibilisant [76].

Les résidus d'antibiotiques présents dans le lait ne peuvent intervenir qu'en tant qu'éléments déclenchants, compte tenu des faibles quantités incriminées et également du fait que la voie digestive est nettement moins allergisante qu'un contacte cutané ou respiratoire [72].

2.5.1.3. Le risque bactériologique:

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

- La sélection de souches bactériennes résistantes.
- Le déséquilibre de la flore bactérienne normale du tube digestif [77].

2.5.2. Conséquences pour la fabrication de produits fermentés :

La présence de résidus d'antibiotiques dans le lait présente des conséquences néfastes pour la technologie laitière de fabrication de produits fermentés. Ces conséquences néfastes résultent essentiellement de l'inhibition partielle ou totale des phénomènes de fermentation bactérienne nécessaires à la fabrication de nombreux produits laitiers. Les fabrications les plus sensibles sont celles où interviennent les ferments lactiques et les germes d'aromatisation : yaourt, fromages à caillage acide et à caillage mixte, crème et beurres maturés. En effet, même une faible quantité d'antibiotique suffit en général à inhiber ces ferments [78].

Tableau 11: l'impact des résidus d'antibiotiques sur la transformation du lait.

Famille	Antibiotiques		Processus inhibé	Risque en élevage	Source(s) bibliographique(s)
	Groupe	Molécule			
Tétracyclines	Tétracycline Chlortétracycline Chlorthalidate Doxycycline Méthyltétracycline Oxytétracycline		fermentation lactique	Traitement d'infections diverses	[50] [51]
					[52]
					[50] [53]
Phénols	Phénol		Ne pas administrer aux animaux dont le lait est destiné à la consommation humaine (Règlement CEE n° 2377/90)		
Polypeptides	Bacitracine Colistine		fermentation lactique fermentation lactique	Aérosol pour usage externe Traitement des mammites en lactation Traitement d'infections diverses	[52]
					[52]
					[52]
Macrolides+ apparentés	Erythro- Lincosamine	Oléandomycine Synergistine Tylosine Spiramycine Tilmicosine Tulathromycine Erythromycine Lincomycine	fermentation lactique	Traitement d'infections respiratoires et uro-génitales Antibiothérapie Traitement d'infections diverses	[50]
					[52]
					[50] [54]
					[50] [54]
Lincosamine			fermentation lactique	Traitement d'infections diverses	[50]
Aminoglycosides		Rifaximine		Traitement de mammites subcliniques en lactation Traitement des mammites au tarissement	[52]

Tableau 12 : (suite) l'impact des résidus d'antibiotiques sur la fabrication laitière.

Famille	Antibiotiques		Processus inhibé	Risque en élevage	Source(s) bibliographique(s)
	Groupe	Molécule			
Bêta-lactamines	Pénicillines G	Pénéthamate	1,2 ng/ml --> ralentissement de <i>Strept. thermophilus</i> (gruyère) 0,03 mg/ml --> modif. de forme et d'activité des ferments lactiques 0,12 mg/ml --> retard d'acidification pour laits fermentés 0,3 mg/ml --> inhibition totale des ferments lactiques inhibe synthèse du peptidoglycane, bactéricide	Traitement des mammites	[51]
		Benzylpénicilline		Traitement d'infections diverses	[50] [51]
		Ampicilline		Traitement d'infections diverses	[50]
	Pénicillines V	Amoxicilline	inhibe synthèse du peptidoglycane, bactéricide	Traitement d'infections diverses	[50]
		Acide clavulanique		Traitement d'infections diverses	[52]
		Cloxacilline		Traitement des mammites	[50]
		Oxacilline		Traitement des mammites	[52]
	Tétracyclines	Dicloxacilline	inhibe synthèse du peptidoglycane, bactéricide	Traitement des mammites	[52]
		Nafcilline		Traitement des mammites au tarissement	[52]
		Céfalexime		Traitement des mammites	[55]
Céphalosporines	Céfapirine	inhibe synthèse du peptidoglycane, bactéricide	Traitement d'endométrite	[56]	
	Céfazoline		Traitement des mammites	[56]	
	Céfalonium		Traitement des mammites au tarissement	[56]	
	Cefquinome		Traitement d'infections diverses	[54]	
	Ceftiofur		Traitement des mammites en lactation	[56]	
	Céfopérazone		Traitement des mammites en lactation	[56]	
	Céfturoxime		Traitement des mammites en lactation	[56]	
Commission du Codex Alimentarius a approuvé l'interruption d'activités sur projet de LMR sur Céfturoxime pour le lait de vache (02/2006)					

Tableau 13 : (suite) l'impact des résidus d'antibiotiques sur la fabrication laitière.

Famille	Anti-infectieux		Processus inhibé	Risque en élevage	Source(s) bibliographique(s)			
	Groupe	Molécule						
Sulfamides+ apparentés	Sulfamides	Sulfadiazine	La somme de tous les résidus du groupe des sulfamides ne peut pas dépasser la valeur LMR (Règlement CEE n° 2377/90)					
		Sulfachlorpyridazine						
		Sulfadimidine						
		Sulfadoxine						
		Sulfaméthoxine						
		Furosémide						
Antibiomélics	Fermolactiques	Sulfaméthoxyypyridazine	fermentation lactique	Traitement d'infections diverses	[52]			
				Traitement d'infections diverses	[52]			
	Oxololiniques	Fluméquine	Danofloxacin	fermentation lactique	Traitement des infections respiratoires, des entérites néo-natales	[52]		
					Traitement des infections respiratoires, articulaires, des mammites	[57]		
		Marbofloxacin	Difloxacin	Acide oxolinique	Ne pas administrer aux animaux dont le lait est destiné à la consommation humaine (Règlement CEE n° 2377/90)	Traitement d'infections diverses	[54]	
		Subs. divers	Non antibiotiques	Acide acétyl salicylique Décoquinat Bromhexine	Administration aux animaux d'exploitation en tant que médicament vétérinaire interdite (Règlement CEE n° 2377/90)	fermentation lactique	Traitement d'infections diverses	
					En l'absence de LMR, ne pas administrer aux animaux dont le lait est destiné à la consommation humaine (Règlement CEE n° 2377/90)			

CHAPITRE 3
LES RESIDUS DES DETERGENTS ET DESINFECTANTS
DANS LE LAIT CRU

3.1. DEFINITION :

Selon LEVEAU et BOUIX [79], l'hygiène dans l'industrie agroalimentaire est une préoccupation constante des responsables qui doivent produire l'aliment de qualité que réclame le consommateur et les lois du marché.

Les antiseptiques sont des substances chimiques à usage externe qui tuent ou évitent la prolifération des bactéries chez les animaux. Ce sont essentiellement les produits utilisés lors de la traite pour le nettoyage et la désinfection des trayons. Ces solutions antiseptiques sont à base d'iodophores, d'hypochlorite ou de chlorhexidine.

Les désinfectants (hypochlorites, chloramines, iodophores, chlorophénols et acide peracétique) sont utilisés à la ferme pour le nettoyage du matériel de traite, ils limitent la contamination bactériologique à la production. Ces derniers ont un effet inhibiteur sur la flore lactique en cas de présence anormalement élevée dans le lait. Leur influence sur les tests d'inhibition, souvent invoquée, est donc peu probable surtout pour des laits de grand mélange [54].

3.2 INTERET DU NETTOYAGE ET LA DESINFECTION :

Le nettoyage et la désinfection sont parmi les opérations les plus importantes de l'industrie agroalimentaire et ce pour diverses raisons [80] :

- La qualité des produits finis est souvent influencée par des goûts étrangers dus à des développements microbiens. Ces développements se font au dépend de résidus du produit présent dans l'appareil ou dans un récipient après utilisation.
- L'aptitude au traitement thermique est fortement dépendante de la population initiale.
- Les souillures peuvent renfermer des microorganismes pathogènes et, par conséquence, constituer une source de contamination très dangereuse pour les produits alimentaires.

3.3. AGENT DE NETTOYAGE ET DE DESINFECTION :

3.3.1. Agent de nettoyage:

Les détergents sont des combinaisons des composés chimiques qui, associées aux facteurs : temps, température, action mécanique, permettent de débarrasser une surface de sa souillure [79].

Les produits de nettoyage sont classés en quatre groupes :

3.3.1.1 Détergents alcalins :

Agissent par attaque chimique se traduisant par la solubilisation ou la désagrégation des souillures. Parmi ces produits on trouve [81] :

3.3.1.1.1. La soude caustique ou hydroxyde de sodium (NaOH) :

La soude est un alcalin puissant qui neutralise tous les acides en donnant des sels de sodium. C'est la matière première la plus utilisée pour apporter de l'alcalinité ou causticité par elle-même, elle ne possède pas de propriété détergente mais elle apporte une réserve d'alcalinité permettant la neutralisation des acides gras et la saponification des corps gras, favorise la précipitation de la dureté carbonatée. Utilisée seule, elle ne possède pas de propriété séquestrant, de ce fait, provoque la précipitation par déplacement du calcium et de magnésium des sels de l'eau sous forme incrustante.

3.3.1.1.2. La potasse

L'hydroxyde de potassium KOH, ou potasse caustique s'obtient par électrolyse du chlorure KCl dissous ou par action de calcium Ca(OH)^2 sur une solution aqueuse de carbonate de potasse à ébullition. C'est une base forte, mais qui, plus onéreuse que la soude, est peu employée dans l'industrie laitière. Comme la soude et le carbonate, le gros inconvénient de la potasse en détergence est d'accélérer la précipitation des sels de dureté des eaux.

3.3.1.1.3. Les phosphates alcalins :

Le pyrophosphate et le tripolyphosphate occupent une place tout à fait particulière parmi les phosphates alcalins parce qu'ils évitent la précipitation des eaux en complexant les ions de calcium et de magnésium. Les polyphosphates, surtout le tripolyphosphate, évitent la précipitation des sels de calcium même à faible concentration.

3.3.1.1.4. Le carbonate de sodium (CO_3Na_2) :

Alcalin moyen, il neutralise tous les acides en donnant des sels de sodium et en dégageant du gaz de Na_2O . Il a donc une alcalinité plus faible que la soude mais elle est sous forme stable. Il est facilement rinçable.

3.3.1.1.5. Les silicates :

En détergence, on parle souvent de silicates en sous-entendant la « soude ». Ils sont des alcalins plus forts.

3.3.1.2. Les détergents acides :

Agissent de la même façon par une attaque chimique. Parmi ces produits, on trouve [80] :

3.3.1.2.1. L'acide nitrique (HNO_3) :

Son utilisation principale en laiterie est l'élimination de « la pierre de lait ».

3.3.1.2.2. L'acide sulfurique (H_2SO_4) :

Il dissout les tartres calcaires mais le sulfate de calcium est très peu soluble, il présente l'avantage de ne dégager aucune vapeur.

3.3.1.2.3. L'acide chlorhydrique (HCl) :

C'est un acide fort, il se dissocie totalement ; il a un très bon pouvoir détartrant.

3.3.1.2.4. L'acide phosphorique (H_3PO_4) :

Il a une très bonne fonction dispersante, utilisé quand l'emploi de l'acide nitrique est trop dangereux ; il a un bon pouvoir détartrant, remplace l'acide chlorhydrique trop dangereux d'emploi et trop corrosif. Mais son inconvénient est que la forme des sels calciques est peu ou pas soluble.

3.3.1.2.5. L'acide sulfamique ou acide amido-sulfonique ($\text{NH}_2\text{-SO}_3\text{H}$) :

On l'utilise dans l'industrie laitière car le sulfamate de calcium est très soluble. (Il sera utilisé pour le nettoyage des machines à traire à l'eau bouillante).

3.3.1.2.6. Acide peracétique :

L'acide peracétique est un bactéricide à fort pouvoir oxydant. Il agit par dénaturation des protéines. Son spectre antibactérien large avec un temps d'action court, même à faible concentration. Il inhibe la croissance des *Streptococcus lactis* et *cremoris* dès les premiers microgrammes.

3.3.2 Agent de désinfection:

3.3.2 1. Les composés chlorés:

Les produits chlorés (hypochlorites, chlorhexidine) ont une activité antibactérienne supérieure à celle des iodophores, pourtant, leur intérêt diminue au profit de ces derniers qui sont moins irritants pour la peau. Des études ont montré l'effet inhibiteur de la chlorhexidine sur la croissance des streptocoques [56].

Parmi les hypochlorites on trouve les hypochlorites de sodium ou l'eau de Javel (Na₂O₂Cl₂), les chloramines et les acides chlorocyanuriques [79], ils donnent de l'acide hypochloreux en présence d'eau.



Les dérivés chlorés sont principalement utilisés en traitement des surfaces et circuits après nettoyage, ils ont une bonne rinçabilité [79].

3.3.2 2. l'iode:

Les produits iodés ainsi formulés agissent en phase acide alors que les produits chlorés agissent en phase alcaline sur les parties caoutchouc (tuyauteries et joints). L'iode se dépose facilement et passe ensuite dans le produit (en risquant de donner une odeur au lait par exemple).

En ce qui concerne l'iode contenu dans le lait, deux origines sont à distinguer : d'une part l'iode présent dans l'alimentation et d'autre part, les iodophores présents dans les produits de nettoyage des bâtiments et des trayons.

L'iode appartient à la famille des halogènes, c'est un constituant naturel du lait et des produits laitiers. Il y est présent essentiellement sous forme d'iodures (80 à 90 % de l'iode total). La mamelle ne limitant pas la teneur en iode comme elle le fait pour d'autres éléments (plomb, cuivre ou cadmium par exemple), tout apport supplémentaire à l'animal augmente sa concentration dans le lait. Cela peut présenter des risques pour la transformation (altération organoleptique, inhibition de la flore lactique, notamment de *Streptococcus lactis et cremoris* dès 10 µg/ml) [82]. Les traitements thermiques tels que la pasteurisation ou la stérilisation UHT (Ultra Haute Température) n'ont pas d'effets sur la quantité d'iode contenue dans le lait.

3.3.2 3. les iodophores :

Les solutions d'iodophores sont aussi bien utilisées pour le nettoyage des installations de traite que pour la désinfection des trayons [83]. Elles sont bactéricides à large spectre.

Cet effet est dû à la libération de 70 à 80 % de l'iode fixé par le porteur tensio-actif lorsque l'iodophore est utilisé en solution diluée.

Lors de leur utilisation pour le nettoyage des installations de traite, la qualité du rinçage est déterminante ; normalement, après désinfection du matériel avec des iodophores, un rinçage adéquat élimine la majorité du désinfectant pouvant adhérer en surface. Des différences dans la capacité d'absorption et de relargage de l'iode par les divers matériaux ont été observées : le verre et l'acier sont des matériaux plus sûrs (et donc moins à risque) que le plastique et le caoutchouc [82].

3.3.2 4. Les agents oxydants non halogènes :

Par agents oxydants, on entend essentiellement [79] :

- Le peroxyde d'hydrogène ou eau oxygénée, est le plus utilisé en industrie laitière, car les résidus ne sont pas toxiques, il est facilement rinçable.
- Le perborate de sodium.
- Le permanganate de potassium.

3.3.2 5.L'aldéhydes :

La plupart des noms sont consacrés par l'usage :

- Aldéhyde formique ou formol ou méthanol ; facilement rinçable, formation des résidus durs (type galalithe) sont relativement toxique.
- Aldéhyde acétique ou acétaldéhyde Glyoxal.

3.3.2 6.Les composés d'ammoniums quaternaires :

Au cours de ces dernières années, les produits à base d'ammoniums quaternaires ont perdu de leur prestige. A plusieurs reprises, l'attention a été attirée sur les résidus que ces produits laissent sur les surfaces traitées. En effet, lors de la transformation du lait contenant des bactéries lactiques, ces résidus peuvent entraîner des perturbations. C'est pour cette raison que leur utilisation a été interdite en France, dans les industries laitières.

3.3.2 7.Les savons ampholytes :

Ils sont difficilement rinçables. De nos jours, une grande diversité de produits désinfectants et antiseptiques (tableau 14 et 15) est utilisée dans les exploitations agricoles [48]. C'est une des conséquences de la course à la qualité demandée par les laiteries ceci entraîne une augmentation du risque de contamination accidentelle du lait de tank.

3.4. PROCEDURES DE NETTOYAGE :

Pour faciliter le lavage du tank, installer si possible des robinets d'eau chaude et froide à hauteur du couvercle du tank. Ceci évitera de tirer un tuyau depuis le sol. L'installation en hauteur, à coté des robinets d'une petite étagère pour le stockage des ustensiles nécessaires au lavage (brosse, éponge, lessive...) va limiter les allers et retours. Utilisation d'un palan pour élever le tank. On retiendra qu'il faut un volume d'eau équivalent à 1,5% de la capacité du tank à lait avec une valeur minimale de 30 litres, exemple : un tank de 3000 litres nécessite 45 litres d'eau pour les 3 phases. [81].

Pour la qualité d'eau, on a deux points à surveiller :

- **La qualité bactériologique :**

Il est impératif que l'eau utilisée pour les opérations de nettoyage et de désinfection de l'installation de traite soit potable pour éviter toute recontamination par des micro-organismes. Dans le cas d'utilisation d'eau d'un captage privé, une analyse bactériologique annuelle s'impose [81]

- **La dureté de l'eau :**

Dans certaines zones géographiques, l'eau contient naturellement plus de sels dissous (calcium magnésium). La dureté de l'eau ou TH° (titre hydrotimétrique) s'exprime en milligrammes d'équivalent de carbonate de calcium par litre.

Les séquestrants contenus dans les produits de nettoyage doivent permettre de solubiliser les sels minéraux présents dans les eaux dures. Cependant, dans certains cas, il peut s'avérer prudent d'augmenter la concentration en produit de nettoyage pour assurer un bon résultat [81].

3.4.1. Nettoyage manuel :

Il comprend plusieurs opérations:

3.4.1.1. Pré-rinçage:

La première opération à réaliser, immédiatement après l'évacuation du lait, est de procéder à un simple ou double rinçage du tank à l'eau froide. La vanne d'évacuation est ouverte mais doit

être plusieurs fois manœuvrée. L'emploi du jet sous pression la facilite [84]. Ce pré-rinçage indispensable a pour but d'éliminer la plus grande partie des restes de lait et d'éviter qu'il ne sèche, ce qui rendrait beaucoup plus difficile l'action mécanique et détergente [85].

3.4.1.2. Lavage-brossage:

Dans un seau, généralement en matière plastique, on prépare la solution détergente alcaline, en respectant la concentration et la température voulue (par exemple 1 % à 50°C) [85]. La vanne d'évacuation étant fermée [81], on procède alors au brossage énergique des parois intérieures du tank en procédant de haut en bas [85]. Bien nettoyer aussi l'agitateur, le rebord du tank, le couvercle et les accessoires divers. Ne pas oublier que des restes de lait provenant notamment d'éclaboussures souillent fréquemment les parties supérieures du tank, le couvercle et les accessoires, qui ne sont pas en contact direct avec le lait. Il ne doit, après brossage, rester aucune impureté visible. On évacue ensuite la solution détergente et dans le même temps le robinet de vidange est démonté et soigneusement brossé [85]

3.4.1.3. Rinçage :

Il n'y a plus qu'à procéder à un copieux rinçage à l'eau fraîche et claire. Si celle-ci n'est pas potable, il convient d'ajouter à celle-ci une cuillère à soupe (environ 15 ml) d'eau de javel du commerce (à 12° chlorométrique environ) pour 10 litres d'eau [85].

3.4.1.4. Séchage :

Après les 3 phases décrites précédemment, il est conseillé de sécher le tank de conservation du lait afin d'éliminer toute trace d'humidité à l'intérieur. [81]

Tableau 14 : Les désinfectants

Type	désinfectants		Mol. inhibitrice		LMR lait (µg/kg)	CMI (µg/ml)	Source(s) bibliographique(s)
	Famille	Classe	Oui	Non			
Halogènes	Produits actifs chlorés	Iode, iodophores	X		(LMR pas nécessaire)	[88] > 0,3 mg/ml pour <i>Strep. thermophilus</i> > 0,2 mg/ml pour <i>Bacil. stearothermophilus</i> [87] 10 à 25 µg/ml pour <i>Strep. lactis</i> 10 à 25 µg/ml pour <i>Strep. cremoris</i>	[68] [63] [66] [87] [88]
		Chlore, hypochlorite de sodium				[88] > 0,322 mg/ml pour <i>Strep. thermophilus</i> > 0,322 mg/ml pour <i>Bacil. stearothermophilus</i> > 3,22 mg/ml pour <i>Bacil. subtilis</i> [87] 50 µg/ml pour <i>Strep. lactis</i> 50 µg/ml pour <i>Strep. cremoris</i>	[87] [88]
Biguanides	Chlorhexidine		X		(LMR pas nécessaire)	25 à 50 µg/ml pour <i>Strep. lactis</i> 25 à 50 µg/ml pour <i>Strep. cremoris</i>	[87]
Chlorophénols				X			[89]
Composés oxygénés	Peroxyde	Peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée)	X			[89] 25 à 50 µg/ml pour <i>Strep. lactis</i> 25 à 50 µg/ml pour <i>Strep. cremoris</i> 50 à 100 µg/ml pour <i>Strep. thermophilus</i>	[89] [90]
Ammoniums quaternaires							interdit en industries laitières en France (Arrêté du 08/09/1999 pris pour l'application de l'article 11 du décret no 73-138 du 12 février 1973 modifié portant application de la loi du 1er août 1905 sur les fraudes et falsifications en ce qui concerne les procédés et les produits utilisés pour le nettoyage des matériaux et objets destinés à entrer en contact avec des denrées, produits et boissons pour l'alimentation de l'homme et des animaux

Tableau 15 : Les détergents

Détergents		Mol. inhibitrice		LMR lait ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	CMI ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Source(s) bibliographique(s)
Type	Classe	Oui	Non			
Produits alcalins	Bouillie	X				[89]
	Sels de sodium	X				[89]
	Acide nitrique	X			75 $\mu\text{g}/\text{ml}$ pour inhibition partielle de <i>Strep. lactis</i> , <i>Strep. cremoris</i>	[87]
Produits acides	Acide phosphorique	X			600 $\mu\text{g}/\text{ml}$ pour inhibition totale de <i>Strep. lactis</i> , <i>Strep. cremoris</i>	[87]
	Acide peracétique	X			75 $\mu\text{g}/\text{ml}$ pour inhibition partielle de <i>Strep. lactis</i> , <i>Strep. cremoris</i> 600 $\mu\text{g}/\text{ml}$ pour inhibition totale de <i>Strep. lactis</i> , <i>Strep. cremoris</i>	[87]
Agents séquestrants		X				[89]

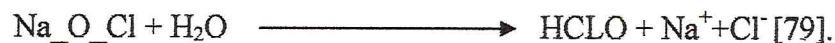
On a en fait trois sources possibles de contamination du lait par les antiseptiques et les désinfectants [91]:

- Une contamination par le matériel (mauvais rinçage)
- Une contamination par la peau des trayons (suit aux opérations de trempage)
- Une contamination volontaire (pour limiter le développement des germes, une pratique consistait à introduire frauduleusement du peroxyde d'hydrogène dans le lait pour en améliorer la qualité bactériologique).

La présence de détergents acides ou alcalins dans le lait est difficilement mise en évidence par les méthodes usuelles de détection car il faut qu'ils soient présents à des doses très élevées. De toute manière, ces substances n'ont pas de propriétés inhibitrices vis-à-vis des microorganismes [91] par contre des études ont prouvé l'activité inhibitrice des antiseptiques et désinfectants sur les ferments lactiques. Il faut cependant noter que ces produits utilisés ont une toxicité directe pour l'homme mais à des doses très élevées [92].

3.5. L'impact des résidus provenant des désinfectants et des détergents sur la technologie laitière:

Les détergents ne peuvent être détectés qu'en quantité très excessive, car les résidus qui en résultent sont des ions physiologiquement présents dans le lait (**ion sodium, potassium, phosphates, acétates**) [51] ils ont une influence sur la concentration minérale du lait : Exemple: cas de l'eau de Javel.



- En rhéologie, Il existe une concentration maximale en minéraux permettant d'obtenir des caractéristiques optimales (les caractéristiques rhéologiques des gels de protéines sériques, les caractéristiques microstructurales et physiques). La concentration optimale en NaCl est comprise entre 75 à 200mM [93].
- Les minéraux ont un effet sur la capacité des protéines sériques : en dessous d'une concentration seuil, ils favorisent la migration des protéines. A l'inverse, au dessus de cette concentration, les minéraux provoquent l'augmentation de l'exposition de groupements hydrophobes de la protéine (compétition minéraux/protéines pour les molécules d'eau). Ceci peut conduire à la formation d'agrégats, d'où une migration des protéines ralentie et un phénomène de coalescence des gouttelettes accentués [93].
- Effet sur l'adsorption et le déplissement des protéines sériques : En augmentant la concentration en minéraux il est possible d'observer une perte de solubilité des protéines, et l'augmentation de l'agrégation protéique [93].
- la présence des ions déstructurants tels que **sodium** et citrate altèrent plutôt négativement les paramètres de coagulation présure [93].

Les processus inhibés lors de la transformation laitière sont expliqués dans les (tableaux 16,17).

Tableau 16 : l'impact des résidus provenant des désinfectants sur la qualité du lait

désinfectants		Processus inhibé	Risque en élevage	Source(s) bibliographique(s)
Type	Famille			
Halogènes	Produits iodés	Iode, iodophores	Produit d'entretien+trempeage des trayons, mauvais rinçage dosage excessif en iode des suppléments minéraux en alimentation.	[68] [83] [86] [87] [88]
	Composés chlorés	Chlore, hypochlorite de sodium	Produit d'entretien des installations, désinfectant, mauvais rinçage	[87] [88]
Biquanités	Chlorhexidés	[87] fermentation lactique défaut de goût	Antiseptique externe	[87]
Chlorophénols		fermentation lactique	Produit d'entretien des installations, des bâtiments, mauvais rinçage	[89]
Composés oxygénés	Peroxyde	bactéricide pour bactéries Gram + et Gram -, baisse du rendement fromager	Produit d'entretien des installations, désinfectant, mauvais rinçage	[89] [90]
Ammonium quaternaires		Interdit en industries laitières en France (Arrêté du 08/09/1999 pris pour l'application de l'article 11 du décret no 73-138 du 12 février 1973 modifié portant application de la loi du 1er août 1905 sur les fraudes et falsifications en ce qui concerne les procédés et les produits utilisés pour le nettoyage des matériaux et objets destinés à entrer en contact avec des denrées, produits et boissons pour l'alimentation de l'homme et des animaux		

Tableau 17: l'impact des résidus provenant des détergents sur la qualité du lait.

Type	Détergents		Processus inhibé	Risque en élevage	Source(s) bibliographique(s)
		Classe			
Produits alcalins		potasse	L'augmentation de K^+ modifié l'aptitude des laits à la coagulation (augmentation de temps de prise, diminution de vitesse d'organisation) [93].	Produit d'entretien, mauvais rinçage	[89], [93].
		Soude	L'augmentation de Na^+ provoque la limitation de la synérèse et la diminution de la fermeté maximale et modifié l'aptitude des laits à la coagulation (augmentation de temps de prise, diminution de vitesse d'organisation) [93]. élévation du pH, ralentissement des processus d'acidification, goût et odeur de détergent mais risque nul	Produit d'entretien, mauvais rinçage	[90]
		Sel de soude			
Produits acides		Acide nitrique	bactériostatique, goût et odeur de détergent mais risque nul	Produit d'entretien, mauvais rinçage	[87]
		Acide phosphorique			
		Acide para-aminique			
Agents séquestrants			augmentation du temps de coagulation, goût et odeur de détergent	Produit d'entretien, mauvais rinçage	[89]

3.6. Les facteurs influençant la variation de concentration minérale dans le lait (concentration de Na⁺, K⁺):

- Les laits de début de lactation (colostrum), de fin de lactation ont par rapport à des laits «normaux» des teneurs augmentées en minéraux solubles « déstructurant » tels que les ions Na et Cl [93].
- sur la période juillet, octobre où se concentrent les fins de lactations et les débuts de lactations, il y a une forte augmentation en ions Na et Cl associé à une augmentation de teneurs en protéines [93].
- Des stress climatique importants (sécheresse) conduisent aux mêmes observations avec en plus une augmentation de l'ion K suivants les pratiques de conduite des troupeaux (groupements ou non des mises bas, alimentation), des variations saisonnières des compositions minérales des laits sont observées [93].
- L'état sanitaire de la mamelle peut avoir une influence sur la concentration des ions de sodium et de potassium dans le lait (augmentation de la teneur du sodium et la diminution du potassium [94, 95, 96].

PARTIE
EXPERIMENTALE

PARTIE EXPERIMENTALE

1. Période et lieu de l'étude

Notre étude a été réalisée sous forme d'un suivi de 5 collecteur durant la période s'étalant du 10 Avril au 10 Mai 2010, sauf les vendredis, au niveau des laboratoires se trouvant au sein de: la laiterie de Beni-Tamou (Blida), L'A.D.E (Médéa) et la Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires et biologiques de l'université Saad DAHLAB de Blida.

Cette recherche a pour but l'étude de la qualité hygiénique du lait de collecte destiné à la transformation et ceci par.

- la recherche des résidus des antibiotiques dans le lait cru.
- la mise en évidence des résidus provenant des détergents et des désinfectants (NaOH - KOH - NaO Cl) par dosage de Na^+ et K^+ dans le lait cru, ce dernier a été complété par le contage cellulaire afin de voir l'influence des mammites sur ces résultats.
- l'appréciation de l'aspect économique.

2. Matériel et Méthodes :

2.1. Origine des échantillons :

La recherche des inhibiteurs a été réalisée sur le lait cru de citerne, provenant de 5 collecteurs, chacun d'eux est sensé ramasser quotidiennement le lait d'un certains nombre d'élevages bovins agrès par les services vétérinaires, selon un circuit bien défini au niveau de la wilaya de Blida.

Le choix des 5 collecteurs est fait selon que :

- La laiterie a proposée le suivi de ces collecteurs pour cause de leur sérieux dans le travail (même mélange), leur disponibilité et leur esprit coopératif.
- Leur horaire d'arrivée matinale nous aide pour l'acheminement des prélèvements vers les autres laboratoires.

2.2. Les prélèvements de lait :

On a procédé aux prélèvements des échantillons directement à partir des citernes dans des flacons stériles et identifiés portants la date de prélèvement et le collecteur correspondant.

On a suivi pour chaque collecteur le schéma suivant (figure 1):

- Un prélèvement quotidien pour la détection des résidus d'antibiotiques analysés par le Delvo x press β II.
- Prélèvement de 2 échantillons supplémentaires une fois par semaine, stockés dans des glacières à + 4°C, acheminés le même jour ;
 - L'un d'eux, vers le laboratoire de l'ADE, pour le dosage de Na^+ et K^+ par la spectrophotométrie à flamme.
 - L'autre, vers le laboratoire de la Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires et biologiques de l'université Saad DAHLAB de Blida, pour le contage cellulaire par le coulter-counter.

Pour les 5 collecteurs nous avons un total de :

- 135 échantillons pour la détection des résidus d'antibiotiques.
- 25 échantillons pour le dosage de Na^+ et K^+ .
- 25 échantillons pour le contage cellulaire.

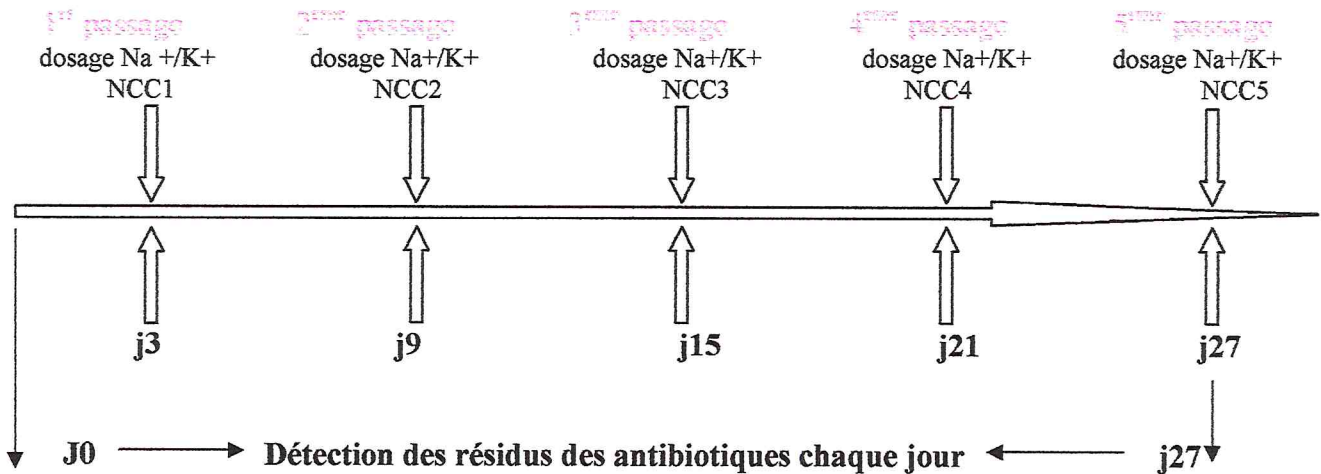


Figure 1 : Protocole de prélèvement.

2.3. Matériel :

2.3.1. Matériel de collecte :

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

2.3.2. Matériel de laboratoire :

2.3.2.1. Recherche des résidus d'antibiotiques:

- Micropipette réglable à 100 µl avec embouts à usage unique (embouts jaunes).
- Multipette.
- Portoirs métalliques.
- Eau distillée stérile.
- Le Kit «Delvo x press β II» :

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

Le pack contient (Figure 2):

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

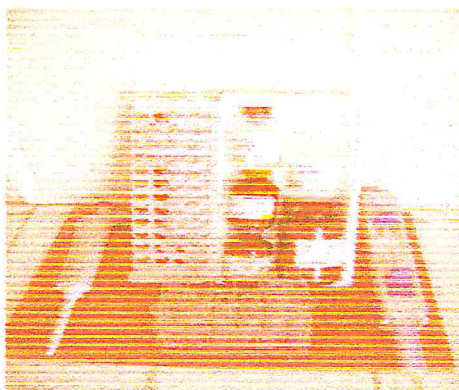


Figure 2 : Présentation du kit « Delvo Xpress B II ».

2.3.2.2. Dosage de Na⁺ et K⁺ dans le lait :

- Flacons stériles de 250 ml pour les prélèvements du lait.
- Bêcher de 100 ml.
- pH mètre.
- Agitateurs.
- Barreau magnétique.
- Supports métalliques.
- Pipettes graduée de : 1 ml, 5 ml, 10 ml.
- 5 entonnoirs.
- Filtres.
- Éprouvette graduée de 250 ml.
- Éprouvette graduée de 50 ml.
- Cuvettes.
- Fioles jaugées de 100 ml.

- La spectrophotométrie à flamme Modèle 410 (Figure 3):

La spectrophotométrie de la flamme est un des procédés les plus rapides et sensibles connus aujourd'hui pour le dosage des éléments alcalins et alcalino-terreux.

Les éléments à analyser (sodium, potassium, calcium etc ...) sont généralement sous forme de sels. L'analyse se fait en partant de leurs solutions.

Le principe est le suivant : la solution contenant les ions à doser est aspirée à débit constant dans un nébuliseur pneumatique. La solution est ainsi envoyée sous la forme d'un brouillard dans une flamme (acétylène/air). Les ions en solution vont alors passés à l'état d'atome (atomisation) si la température de la flamme est suffisante. Dans certain cas, cette étape est difficile. Sur la flamme, un rayonnement de longueur d'onde spécifique de l'atome à analyser, est envoyé.

L'absorbance est mesurée, celle-ci étant proportionnelle à la quantité d'atome dans la flamme donc d'ion en solution. Cela permet le dosage de l'analyte (après avoir réalisé une courbe de calibration.

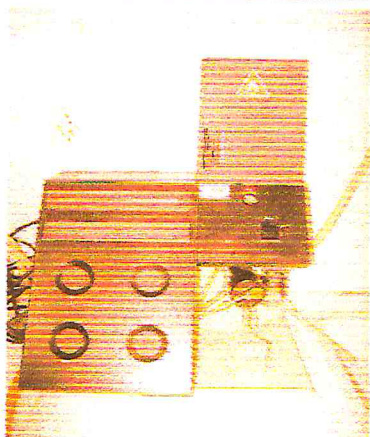


Figure 3 : La spectrophotométrie à flamme Modèle 410.

■ Réactifs et solutions :

- Acide acétique glaciale.
- Eau distillée stérile.
- Solution fille de sodium (Na^+) à 30 mg/l de la solution mère de NaCl à 1000 mg/l dans 100 ml d'eau distillée.
- Solution fille de potassium (K^+) à 75 mg/l de la solution mère de KCl à 1000 mg/l dans 100 ml d'eau distillée.

2.4. Méthodes :

2.4.1. La méthode de dosage par le Delvo x press β II :

2.4.1.1. 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.

2.4.1.2. La pratique :

- 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 4).
- Mettre 0,2 ml de chaque échantillon dans chaque tube concernant (Figure 5).
- Ajouter 0,2 ml de tracer dans chaque tube (Figure 6).



Figure 4 : Mettre 0,2 ml de standard.



Figure 5 : Mettre 0,2 ml de l'échantillon.



Figure 6 : Addition de 0,2 ml de tracer.

- Mettre tous les tubes dans la ligne A et lancer l'appareil, laisser pendant 03 mn jusqu'à ce que l'appareil signale (Figure 7).
- Une fois l'appareil a signalé, prendre tous les tubes et les rincer 3 fois successives avec la solution de rinçage.
- Ajouter 1 ml de developer dans tous les tubes (Figure 8).
- Mettre les tubes dans la ligne B de l'appareil et laisser incuber pendant 03 mn (Figure 9).

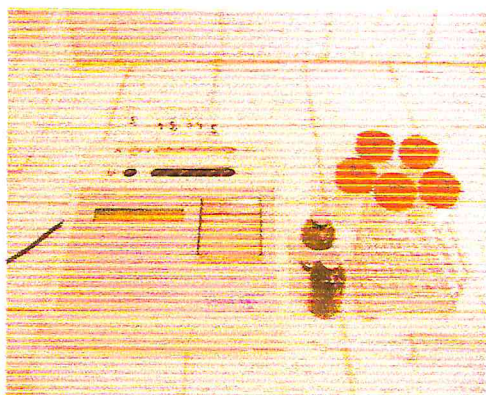


Figure 7 : Mettre les tubes dans la ligne A.



Figure 8 : Addition de 1ml de developer.

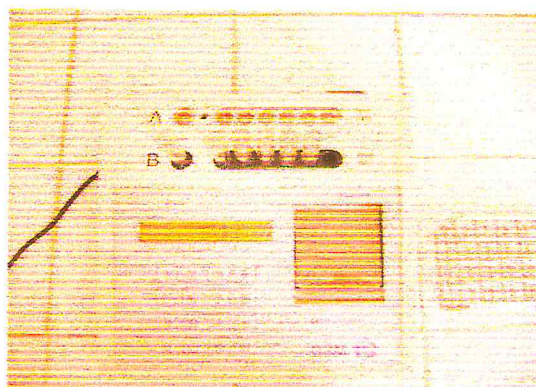


Figure 9 : Mettre les tubes dans la ligne B.

Lecture :

La lecture automatiquement après 3 minutes :

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

2.4.2. Confirmations des résultats :

Pour les échantillons négatifs, nous avons confirmé les résultats avec une méthode microbiologique à large spectre « Le Delvotest SP » qui permet de déceler au niveau des MRL (Maximum Residue Limit) un certain nombre de substances reprises dans la liste de MRL définies pour le lait de la législation européenne (Règlement CEE 2377/90 et ses modifications ultérieures). Le matériel et la méthode sont présentés dans l'appendice B.

2.4.3. La méthode de dosage par la spectrophotométrie à flamme 410 :

a. Préparation des étalons (Figure 10) :

• Gamme étalon en sodium :

Préparer une gamme de six solutions étalons, en fioles jaugées de 100 ml, dont les concentrations en sodium seront comprises entre 0.005 g/l et 0.030 g/l.

• Gamme étalon en potassium :

Préparer une gamme de six solutions étalons, en fioles jaugées de 100 ml, dont les concentrations en potassium seront comprises entre 0.0015 g/l et 0.075 g/l.



Figure 10 : Préparation des étalons de sodium ou de potassium.

b. Préparation des échantillons :

- Homogénéiser chaque échantillon de lait avant prélèvement.
- Mettre dans un bêcher 50 ml de lait.
- Placer la sonde du pH mètre dans le lait.
- Ajouter de l'acide acétique glacial à l'aide d'une pipette graduée jusqu'à l'obtention d'un pH de 4,6, tout en homogénéisant le mélange à l'aide d'un agitateur et d'un barrot magnétique placé dans le bêcher (Figure 11).



Figure 11 : l'ajout de l'acide acétique glacial jusqu'à l'obtention d'un pH 4,6.

- Verser le mélange dans des fioles jaugées de 100 ml.
- Ajuster le volume à 100 ml avec de l'eau distillée stérile.
- Laissez le mélange pendant 1 heure pour la défécation.
- Effectuer deux filtrations successives de filtrat de défécation obtenu avec des filtres stériles (Figure 12).



Figure 12 : Filtration de filtrat de défécation obtenu avec des filtres stériles.

◆ Préparation de la dilution pour le dosage du sodium :

- Prélever 0.1 ml de filtrat de défécation et le déposer dans une éprouvette graduée de 25 ml (Figure 13).
- Ajuster à 10 ml avec de l'eau distillée stérile pour obtenir la dilution A (Figure 14).
- Homogénéiser la solution préparée.

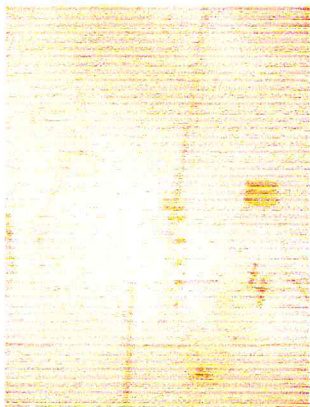


Figure 13 : Prélèvement de 0,1 ml de filtrat de défécation.

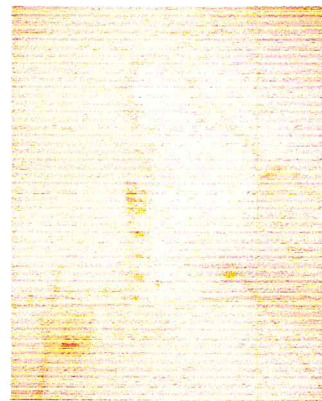


Figure 14 : Ajustement à 10 ml avec de l'eau distillée.

◆ Préparation de la dilution pour le dosage du potassium:

- Prélever 0.1 ml de filtrat de défécation et le déposer dans une éprouvette graduée de 250 ml (Figure 15).
- Ajuster à 200 ml avec de l'eau distillée stérile pour obtenir la dilution B (Figure 16).
- Homogénéiser la solution préparée.

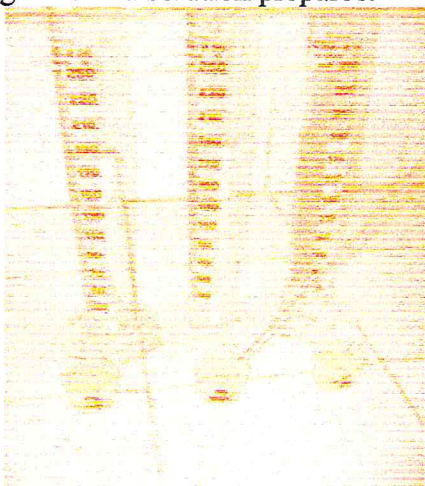


Figure 15 : Prélèvement de 0,1 ml de filtrat de défécation



Figure 16 : Ajustement à 200 ml avec de l'eau distillé

c. Dosage :

◆ Etalonnage de l'appareil :

- Passer la cuvette contenant la solution étalon de Na^+ à 30 mg/l ou du K^+ à 75 mg/l.
- Optimiser à 30 pour le Na^+ et à 75 pour le K^+ à l'aide du bouton "fine".
- Retirer la cuvette remplie par la solution étalon de Na^+ à 30mg/l ou de K^+ à 75 mg/l et la remplacer par une cuvette remplie d'eau distillée et vérifier si l'écran affiche zéro (0.000).
- Retirer la cuvette remplie par l'eau distillée et la remplacer par une cuvette remplie par une solution étalon de Na^+ à 30 mg/l ou de K^+ à 75 mg/l et vérifier si l'écran affiche 30 pour le Na^+ et 75 pour le K^+ .
- Retirer la cuvette et la remplacer par une cuvette remplie par l'eau distillée.
- Faire passer la gamme des étalons par ordre croissant ou décroissant des concentrations pour le Na^+ et le K^+ (Figure 17).

- A la fin, passer les dilutions A ou B jusqu'à ce que la valeur affichée sur l'écran soit stable (Figure 18).

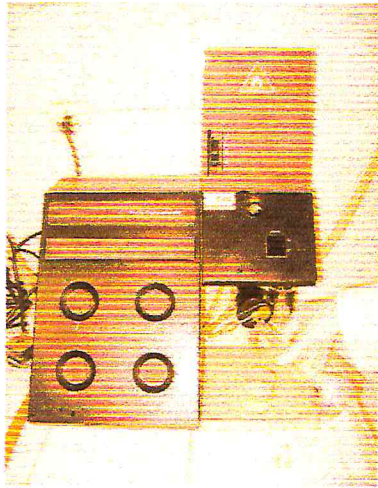


Figure 17 : Passage de la gamme des étalons de Na^+ ou de K^+ .

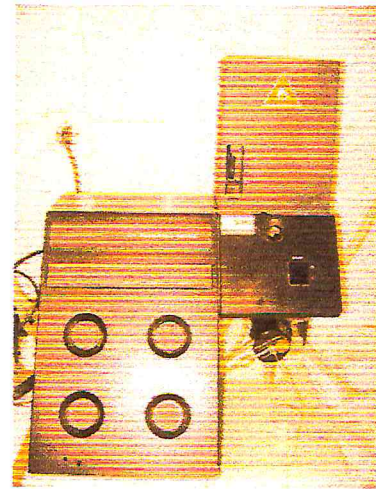


Figure 18 : passage des dilutions A et B dans la photométrie à flamme.

d. La lecture

La lecture dans les deux cas s'effectue automatiquement à partir d'un écran ; les résultats sont exprimés en mg/l.

e. Interprétation des résultats :

- Tracer les courbes d'étalonnage.
- Calculer les concentrations massiques du sodium et du potassium du lait analysé exprimé en g/l.
- Concentration massique en sodium = $20 \times X_{\text{Na}^+}$ g/l.
- Concentration massique en potassium = $400 \times X_{\text{K}^+}$ g/l.

(X_{Na^+} et X_{K^+} étant les concentrations massiques dans le filtrat de défécation dilué, obtenues expérimentalement).

2.4.4. Numération cellulaire de lait de tank :

Les concentrations de Na^+ et K^+ dans le lait sont influencés par les affections mammaires (mammites). Pour cela, tous les laits analysés ont subis la numérotation cellulaire, afin de confirmer leur origine.

Le matériel de laboratoire et réactifs ainsi que la méthode sont présentés dans l'appendice B.

2.4.5. L'impact économique :

L'importance que les résidus d'antibiotiques occupent dans la filière laitière, sur le plan technologique, implique que les industriels laitiers doivent mettre tout en œuvre pour limiter au maximum les pertes économiques.

Afin d'avoir une vision sur les pertes économiques enregistrées par la laiterie et dans le cadre de notre étude nous avons calculé le coût des laits cru de citerne détectés positifs et renvoyés par la laiterie, sachant que le prix du litre de lait conventionné entre la laiterie et les collecteurs est de 30 DA.

3. Les résultats :

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

Les résultats du suivi des cinq collecteurs pour la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne ont été mis dans un tableau, comportant aussi la quantité du lait amené par chaque collecteur, que nous avons joint en Appendice C.

Les résultats des 135 échantillons de laits analysés ont été traités par collecteur, soit 27 échantillons pour chaque collecteur.

Les résultats ont été les mêmes pour les deux tests (Delvo X press et Delvotest SP), sauf pour l'échantillon 27 du collecteur 1 qui a été négatif par le Delvo X press et douteux par le Delvotest SP.

-Le suivi du collecteur 1 :

Les résultats montrent que sur les 27 passages;

- 26 échantillons sont négatifs, soit 96,29%
- 01 échantillon est douteux, soit 3,70%.
- Aucun échantillon n'a été détecté positif, soit 0,00%.

Les résultats du collecteur 1 sont illustrés dans la figure suivante :

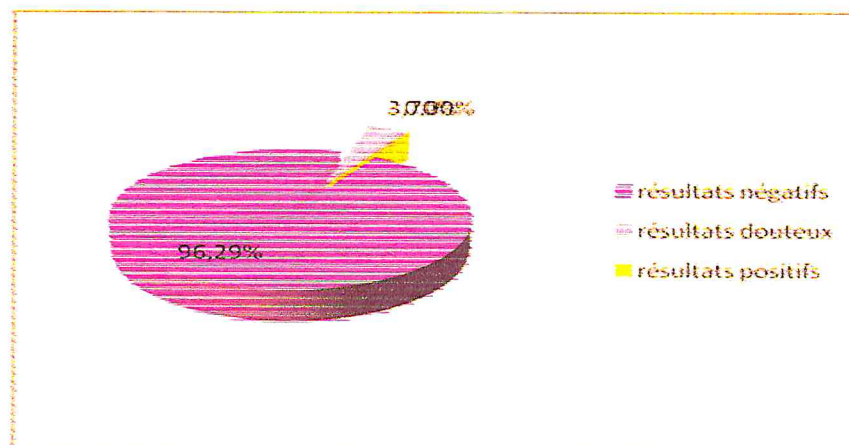


Figure 19: les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques du collecteur 1.

-le suivi du collecteur 2 :

Les résultats montrent que sur les 27 passages;

- 18 échantillons sont négatifs, soit, 66,66%.
- 05 échantillons sont douteux, soit 18,51%.
- 04 échantillons sont positifs, soit 14,81%.

Les résultats du collecteur 2 sont illustrés dans la figure ci-dessous:

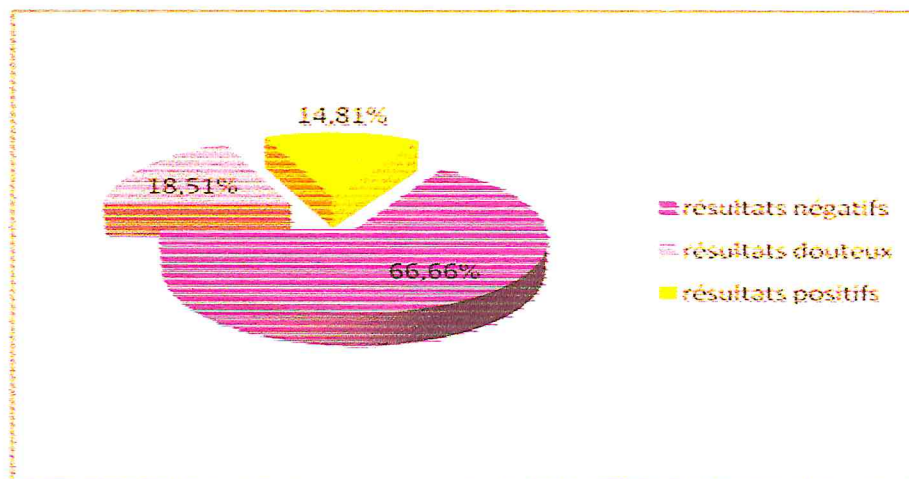


Figure 20: les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques du collecteur 2.

-Le suivi du collecteur 3 :

Les résultats montrent que sur les 27 passages;

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

Les résultats du collecteur 3 sont illustrés dans la figure suivante:

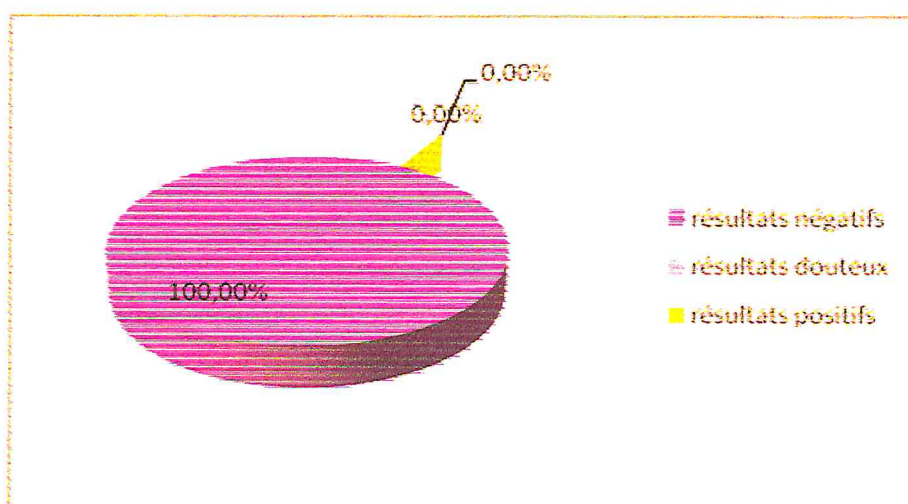


Figure 21: les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques du collecteur 3.

-Le suivi de collecteur 4 :

Les résultats montrent que sur les 27 passages;

- 25 échantillons sont négatifs, soit 92,59%.
- 02 échantillons sont positifs, soit 7,4%.

Les résultats du collecteur 4 sont illustrés dans la figure ci-dessous:

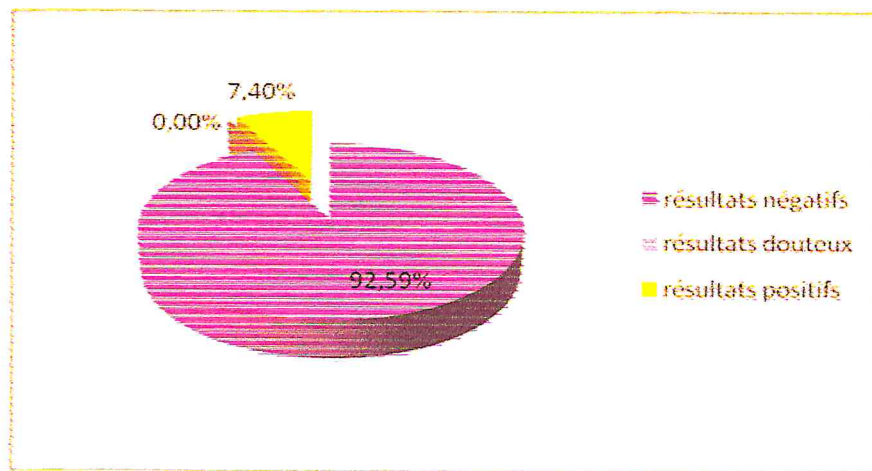


Figure 22: les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques du collecteur 4.

-Le suivi de collecteur 5 :

Les résultats montrent que sur les 27 passages;

- 19 échantillons sont négatifs, soit 70,37%.
- 06 échantillons sont douteux, soit 22,22%.
- 02 échantillons sont positifs, soit 7,4%.

Les résultats du collecteur 5 sont illustrés dans la figure ci-dessous:

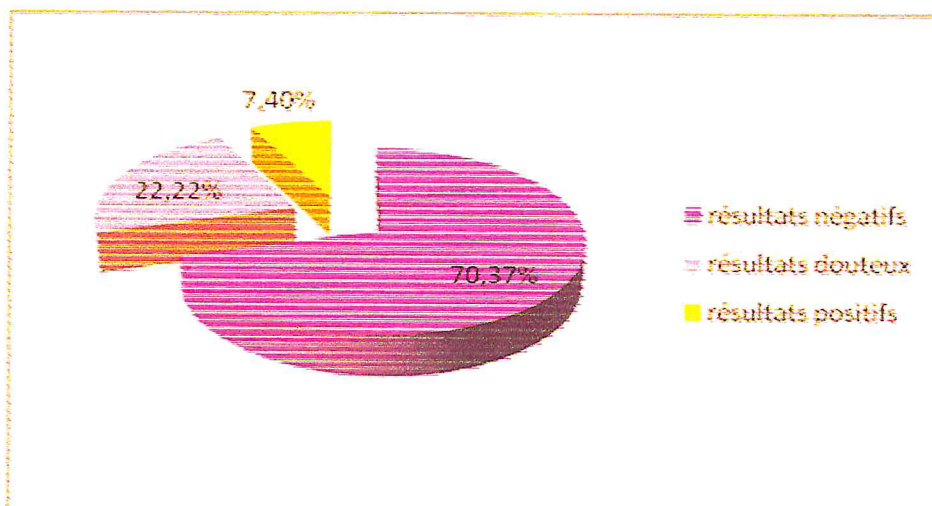


Figure 23: les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques du collecteur 5.

3.2. Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait de citerne des cinq collecteurs confondus :

Les résultats finaux de la recherche des résidus d'antibiotiques dans les laits de citerne des cinq collecteurs confondus sont rapportés dans le tableau suivant.

Tableau 18 : Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques des cinq collecteurs confondus.

		-	±	+	Effectif de passage.
1 ^{ER} passage	Nb	05	00	00	05
	%	100	00	00	100
2 ^{ème} passage	Nb	05	00	00	05
	%	100	00	00	100
3 ^{ème} passage	Nb	05	00	00	05
	%	100	00	00	100
4 ^{ème} passage	Nb	05	00	00	05
	%	100	00	00	100
5 ^{ème} passage	Nb	04	00	01	05
	%	80	00	20	100
6 ^{ème} passage	Nb	04	00	01	05
	%	80	00	20	100
7 ^{ème} passage	Nb	04	00	01	05
	%	80	00	20	100
8 ^{ème} passage	Nb	03	00	02	05
	%	60	00	40	100
9 ^{ème} passage	Nb	03	01	01	05
	%	60	20	20	100
10 ^{ème} passage	Nb	03	02	00	05
	%	60	40	00	100
11 ^{ème} passage	Nb	03	02	00	05
	%	60	40	00	100
12 ^{ème} passage	Nb	03	02	00	05
	%	60	40	00	100
13 ^{ème} passage	Nb	03	02	00	05
	%	60	40	00	100
14 ^{ème} passage	Nb	04	01	00	05
	%	80	20	00	100
15 ^{ème} passage	Nb	04	01	00	05
	%	80	20	00	100
16 ^{ème} passage	Nb	05	00	00	05
	%	100	00	00	100
17 ^{ème} passage	Nb	05	00	00	05
	%	100	00	00	100
18 ^{ème} passage	Nb	05	00	00	05
	%	100	00	00	100
19 ^{ème} passage	Nb	05	00	00	05
	%	100	00	00	100
20 ^{ème} passage	Nb	05	00	00	05
	%	100	00	00	100
21 ^{ème} passage	Nb	05	00	00	05
	%	100	00	00	100
22 ^{ème} passage	Nb	05	00	00	05
	%	100	00	00	100
23 ^{ème} passage	Nb	05	00	00	05
	%	100	00	00	100
24 ^{ème} passage	Nb	05	00	00	05
	%	100	00	00	100
25 ^{ème} passage	Nb	05	00	00	05
	%	100	00	00	100
26 ^{ème} passage	Nb	04	00	01	05
	%	80	00	20	100
27 ^{ème} passage	Nb	03	01	01	05
	%	60	20	20	100
Total	Nb	115	12	08	135
	%	85,18	8,88	5,92	100

Les résultats montrent que sur les 135 échantillons prélevés;

- 115 échantillons sont négatifs, soit 85,18%.
- 12 échantillons sont douteux, soit 8,88%.
- 08 échantillons sont positifs, soit 5,92%.

Les résultats du suivi des cinq collecteurs confondus sont illustrés dans la figure suivante:

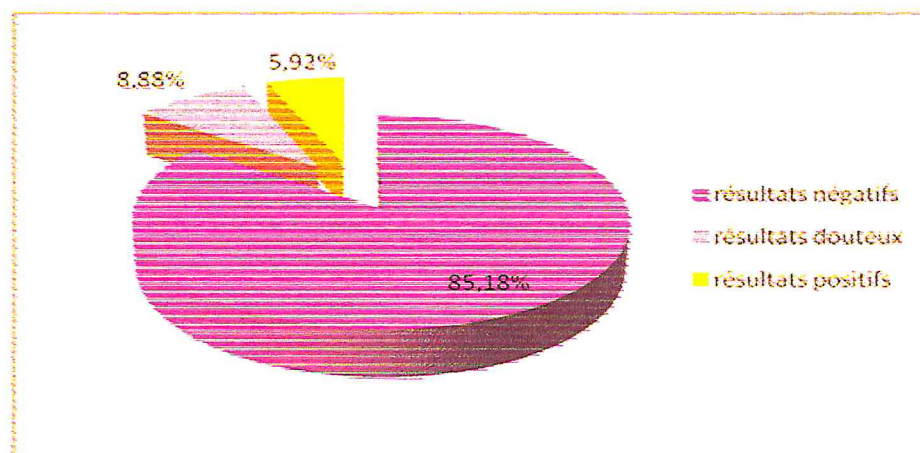


Figure 24 : les résultats du suivi des 5 collecteurs confondus.

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

Les résultats selon la quantité du lait sont présentés dans le tableau 19 et la figure 25 et 26.

Tableau 19: Les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne des cinq collecteurs selon la quantité du lait.

Collecteurs	Quantité (l)				%		
	total	-	±	+	-	±	+
C1	56354	53790	2564	0000	95,45	04,54	00,00
C2	40433	27136	7590	5707	67,11	18,77	14,11
C3	14267	14267	0000	0000	100	00,00	00,00
C4	16418	15524	0000	894	94,55	00,00	05,44
C5	39075	27479	8897	2699	70,32	22,76	06,90
Total (l)	166547	138196	19051	9300	82,97	11,43	5,58

Durant un mois de suivi du lait des 5 collecteurs, la laiterie a reçu 166547 l de lait cru, dont:

- 138196 l de lait négatifs, soit 82,97%,
- 19051 l de lait douteux, soit 11,43% (acceptable),
- 9300 l de lait positifs, soit 5,58%.

Les résultats ont montré que le collecteur 2 a enregistré la plus grande quantité de lait contaminée par les résidus d'antibiotiques.

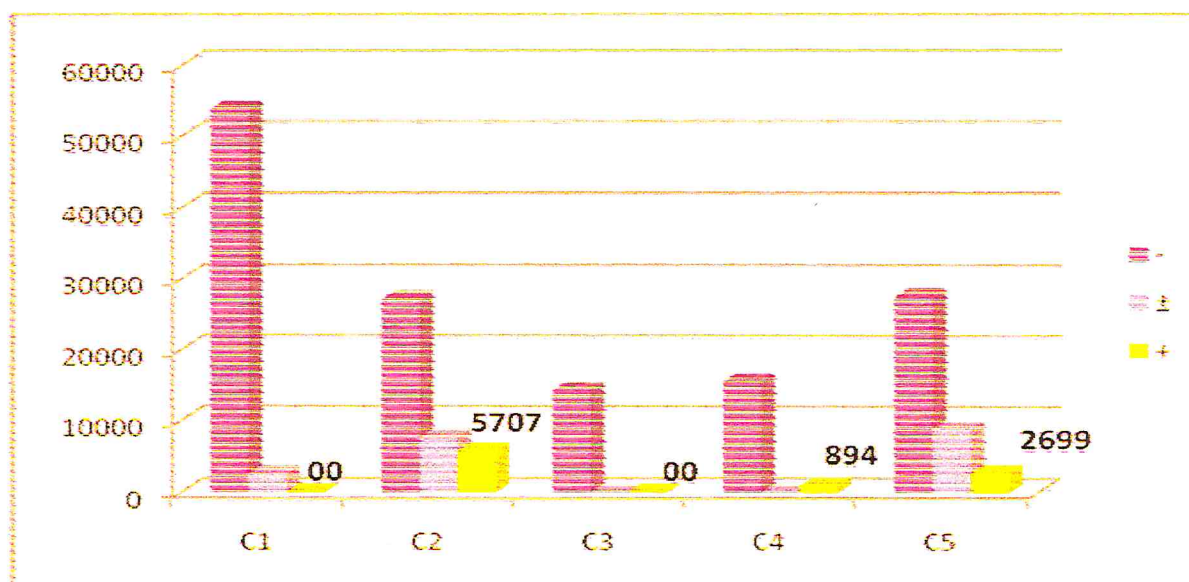


Figure 25: Les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne pour chaque collecteur selon la quantité du lait.

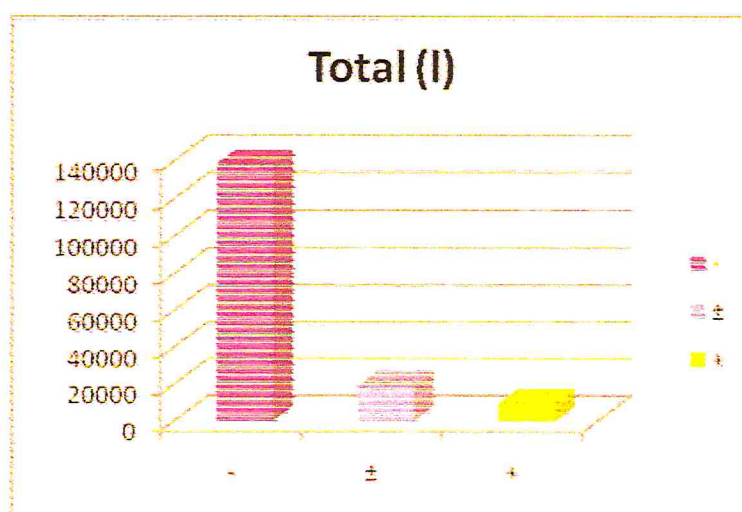


Figure 26: Les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne des cinq collecteurs confondus selon la quantité du lait.

3.4. Les résultats du dosage des ions de Na^+ et K^+ en relation avec la numération cellulaire du lait de citerne :

Les résultats du suivi des cinq collecteurs pour la recherche des ions de Na^+ et K^+ en relation avec la numération cellulaire dans le lait cru de tank ont été traités par collecteur, soit 5 échantillons pour chaque collecteur.

Sachant que la teneur moyenne dans le lait cru est de 0,5 g/l pour le Na^+ et de 1,5g/l pour le K^+ [5]. Alors qu'un taux cellulaire du lait de citerne supérieur à 400 000 cell/ml reflète la présence de mammite.

- **Le suivi du collecteur 1 :**

Les résultats du dosage des ions de Na^+ , K^+ et de la NCC dans le lait cru pour le collecteur 1 sont rapportés dans le tableau 20 et les figure 27 et 28.

Tableau 20: les résultats du dosage de Na^+ , K^+ , NCC, dans le lait pour le collecteur 1.

collecteur	dosage	Passage 1	Passage 2	Passage 3	Passage 4	Passage 5
C 1	Na^+ g/l	1,48	1,2	1,45	1,23	1,63
	K^+ g/l	0,88	1,24	0,92	1,2	1,04
	NCC cell/ml	1096500	775200	1030200	847900	965260

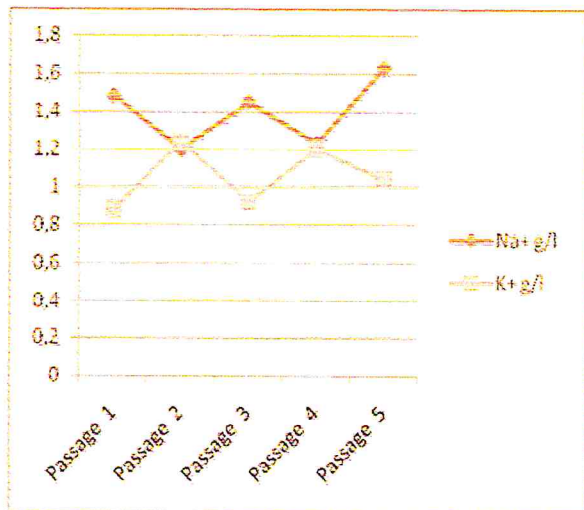


Figure 27: dosage de Na^+ , K^+ du lait du collecteur 1.

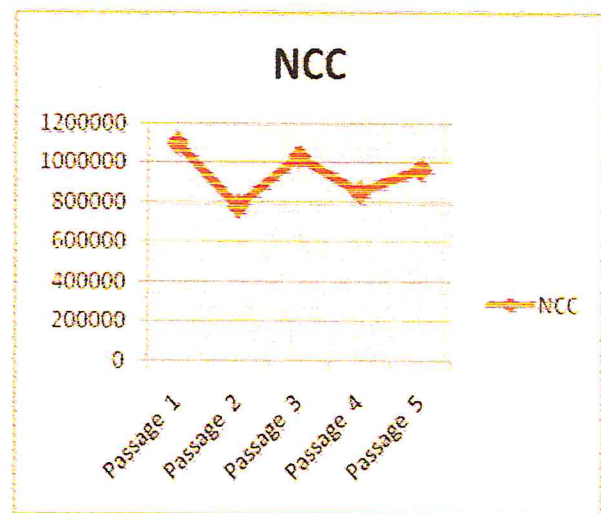


Figure 28: l'évolution de NCC dans le lait du collecteur 1.

Nous avons constaté :

- une augmentation de la concentration du Na^+ et une diminution de la concentration de K^+ dans le lait cru de citerne par rapport au seuil, dans les cinq passages
- un taux cellulaire élevé, correspondant à un lait mammitiqueux.

Nous remarquons aussi que:

- L'augmentation de la concentration de Na^+ est proportionnelle à l'augmentation du taux cellulaire, sauf pour le passage 5.
- La diminution de concentration d K^+ est proportionnelle à l'augmentation du taux cellulaire pour les cinq passages.

Notant aussi que dans le passage 5, le résultat du Delvotest SP a révélé une légère inhibition de culture.

- **Le suivi du collecteur 2 :**

Les résultats du dosage des ions de Na^+ , K^+ et de la NCC dans le lait cru pour le collecteur 2 sont rapportés dans le tableau 21 et les figure 29 et 30.

Tableau 21 : les résultats du dosage de Na⁺, K⁺, NCC, dans le lait pour le collecteur 2.

collecteur	dosage	Passage 1	Passage 2	Passage 3	Passage 4	Passage 5
C 2	Na ⁺ g/l	1,45	1,26	1,24	1,20	1,24
	K ⁺ g/l	0,8	1,32	1,12	1,2	0,92
	NCC cell/ml	1189000	286400	824800	755700	845480

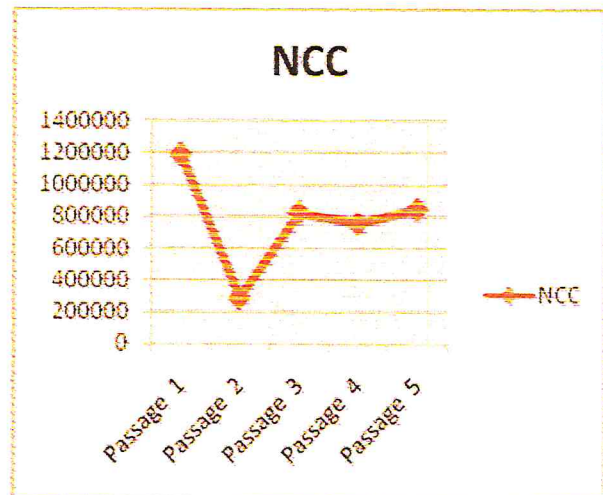
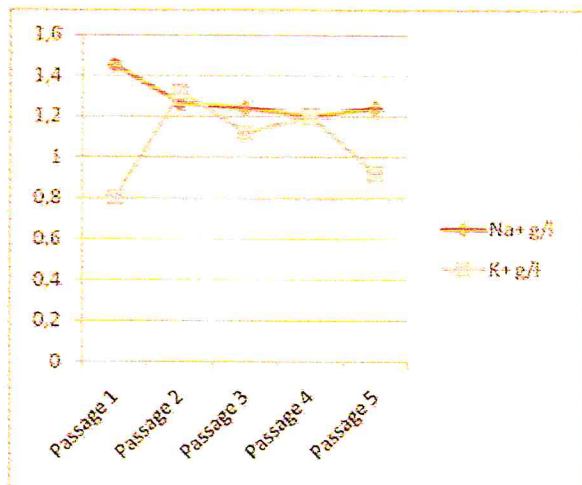


Figure 29: dosage de Na⁺, K⁺ du lait du collecteur 2. Figure 30: l'évolution de NCC dans le lait du collecteur 2.

Nous avons constaté :

- une diminution de la concentration de K⁺ et une augmentation de Na⁺ dans le lait cru de citerne par rapport au seuil, accompagnées d'un taux cellulaire élevé.

Nous remarquons aussi que :

- L'augmentation de la concentration de Na⁺ est proportionnelle à l'augmentation du taux cellulaire, sauf pour le passage 2.
- La diminution de concentration d K⁺ est proportionnelle à l'augmentation du taux cellulaire pour les cinq passages.

• **Le suivi du collecteur 3 :**

Les résultats du dosage des ions de Na⁺, K⁺ et de la NCC dans le lait cru pour le collecteur 3 sont rapportés dans le tableau 22 et les figure 31 et 32.

Tableau 22 : les résultats du dosage de Na⁺, K⁺, NCC, dans le lait pour le collecteur 3.

collecteur	dosage	Passage 1	Passage 2	Passage 3	Passage 4	Passage 5
C 3	Na ⁺ g/l	1,18	1,07	1,15	1,02	1,18
	K ⁺ g/l	0,96	1,12	1,02	1,2	0,92
	NCC cell/ml	1199000	808600	1093500	733400	1404000

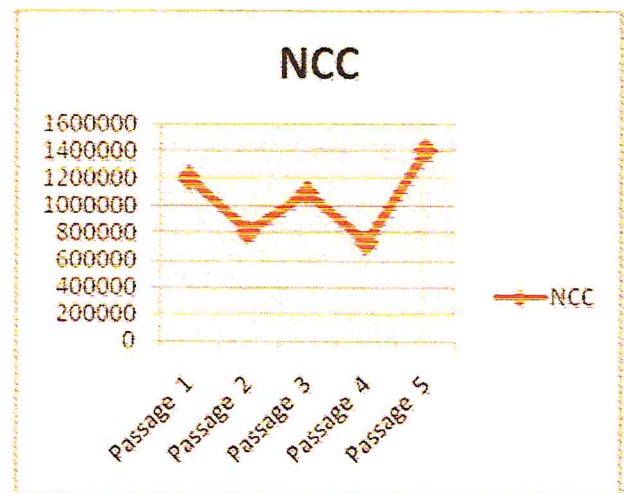
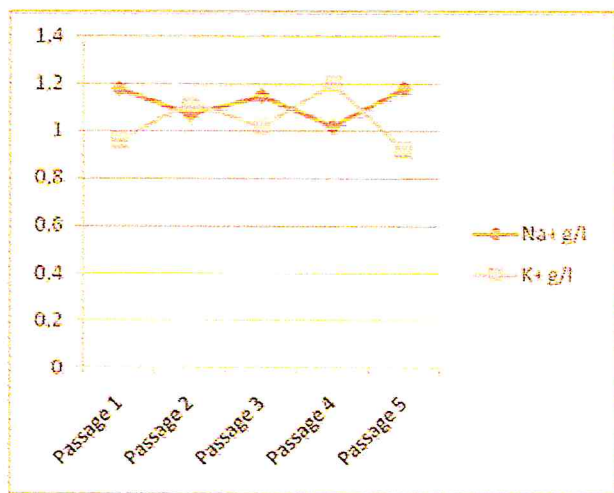


Figure 31: dosage de Na⁺, K⁺ du lait du collecteur 3. Figure 32: l'évolution de NCC dans le lait du collecteur 3.

Nous avons constaté :

- une augmentation de la concentration du Na⁺ et une diminution de la concentration de K⁺ dans le lait cru de citerne par rapport au seuil, accompagnées d'une augmentation du taux cellulaire.

Nous remarquons aussi que :

- L'augmentation de la concentration de Na⁺ est proportionnelle à l'augmentation du taux cellulaire, pour les cinq passages.
- La diminution de concentration de K⁺ est proportionnelle à l'augmentation du taux cellulaire pour les cinq passages.

• **Le suivi du collecteur 4 :**

Les résultats du dosage des ions de Na⁺, K⁺ et de la NCC dans le lait cru pour le collecteur 4 sont rapportés dans le tableau 23 et les figure 33 et 34.

Tableau 23 : les résultats du dosage de Na⁺, K⁺, NCC, dans le lait pour le collecteur 4.

collecteur	dosage	Passage 1	Passage 2	Passage 3	Passage 4	Passage 5
C 4	Na ⁺ g/l	1,48	1,2	1,2	1,3	1,58
	K ⁺ g/l	0,84	1,3	1,2	0,92	1,12
	NCC cell/ml	1192500	573700	771900	885300	809300

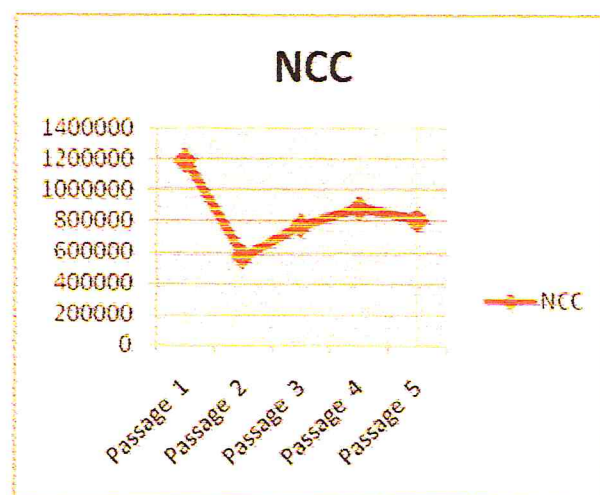
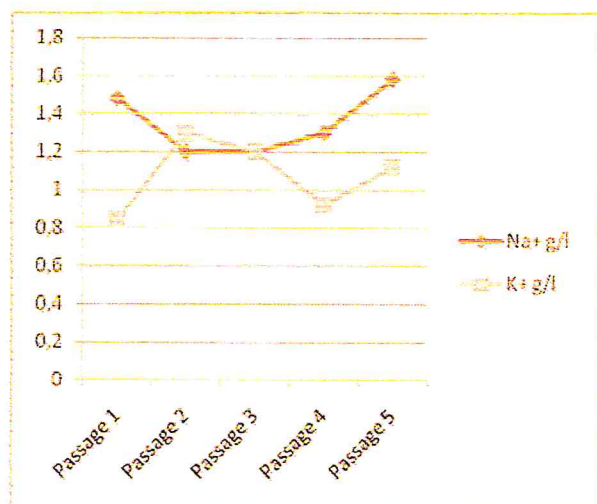


Figure 33: dosage de Na⁺, K⁺ du lait du collecteur 4. Figure 34: l'évolution de NCC dans le lait du collecteur 4.

Nous avons constaté:

- une augmentation de la concentration du Na⁺ et une diminution de la concentration de K⁺ dans le lait cru de citerne par rapport au seuil, accompagnées d'une augmentation du taux cellulaire.

Nous remarquons aussi :

- L'augmentation de la concentration de Na⁺ est proportionnelle à l'augmentation du taux cellulaire, pour les cinq passages.
- La diminution de concentration d K⁺ est proportionnelle à l'augmentation du taux cellulaire pour les cinq passages.

- **Le suivi du collecteur 5 :**

Les résultats du dosage des ions de Na⁺, K⁺ et de la NCC dans le lait cru pour le collecteur 5 sont rapportés dans le tableau 24 et les figure 35 et 36.

Tableau 24 : les résultats du dosage de Na⁺, K⁺, NCC, dans le lait pour le collecteur 5.

collecteur	dosage	Passage 1	Passage 2	Passage 3	Passage 4	Passage 5
C 5	Na ⁺ g/l	1,45	1,47	1,59	1,32	1,39
	K ⁺ g/l	1,12	1,48	1,2	1,3	1,2
	NCC cell/ml	958400	430300	814700	664400	911600

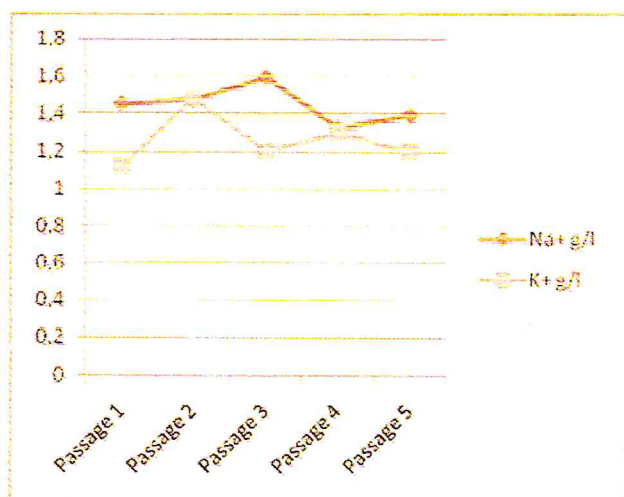
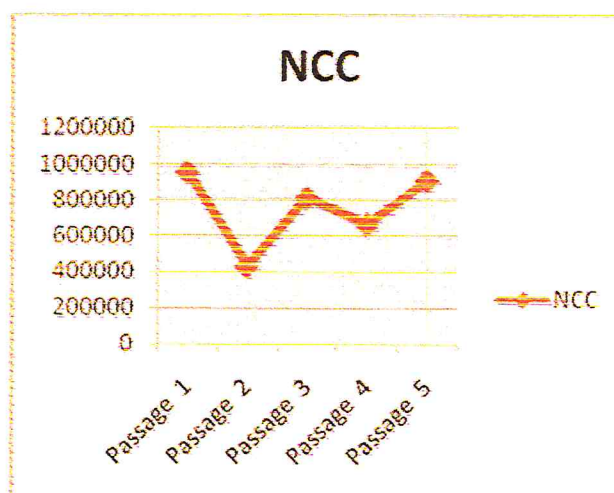
Figure 35: dosage de Na⁺, K⁺ du lait du collecteur 5.

Figure 36: l'évolution de NCC dans le lait du collecteur 5.

Nous avons constaté :

- une augmentation de la concentration du Na⁺ et une diminution de la concentration de K⁺ dans le lait cru de citerne par rapport au seuil, dans les cinq passages
- un taux cellulaire élevé, correspondant à un lait mammitiqueux.

Nous remarquons aussi que :

- L'augmentation de la concentration de Na⁺ est proportionnelle à l'augmentation du taux cellulaire, sauf pour le passage 2.
- La diminution de concentration de K⁺ est proportionnelle à l'augmentation du taux cellulaire pour les cinq passages.

3.5. Les pertes économiques :

Les pertes économiques liées à la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait des cinq collecteurs sont rapportées dans le tableau 25 et la figure 37.

Tableau 25 : les pertes économiques des cinq collecteurs.

Collecteurs	Quantité (l)		Pertes (30DA/l)
	totale	+	
C1	56354	0000	/
C2	40433	5707	171210
C3	14267	0000	/
C4	16418	894	26820
C5	39075	2699	80970
TOTAL	166547	9300	279000

Les résultats montrent que les pertes financières sont de l'ordre de :

- 279000 DA pour les cinq collecteurs confondus, avec :
 - 171210 DA pour le collecteur 2,
 - 80970 DA pour le collecteur 5,
 - 26820 DA pour le collecteur 4.

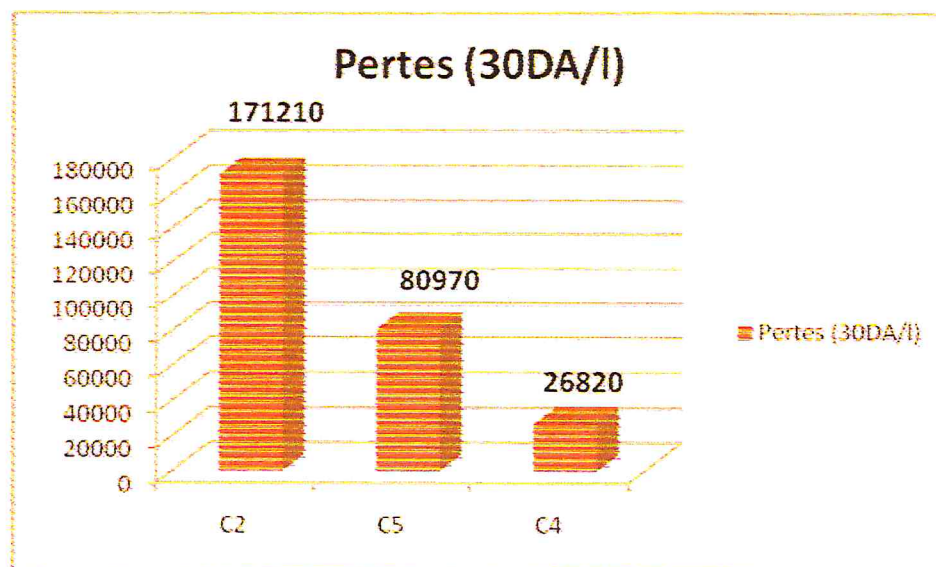


Figure 37: Les pertes économiques pour les trois collecteurs

4. Discussion :

4.1. la recherche des résidus des antibiotiques :

Les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait de citerne des cinq collecteurs confondus ont montré que sur les 135 échantillons analysés, 8,88% sont douteux et 5,92% sont positifs. Alors que les résultats du suivi effectué sur les citernes de chaque collecteur ont dévoilé une contamination de 14,81% des citernes pour le collecteur 2 et de 7,4% des citernes pour chacun des collecteurs 4 et 5.

Nos résultats sont inférieurs à ceux rapportés par :

- LABRES et al [97], qui ont montré un taux de positivité de 78,60% en utilisant la méthode officielle.
- BADANI [98] qui a rapporté un taux de positivité de 28,84% au moyen de Delvotest SP.
- OUSSER [99], réalisé sur 50 échantillons de lait de citerne à l'aide de Delvotest SP, qui a rapporté un taux de positivité de 12%.
- BOUAISSA ET YAMNAINE [100] qui ont obtenu un taux de positivité de 90,90% des laits de citerne de la même laiterie.

La positivité observée dans le lait de citernes ne serait que le reflet de la positivité des élevages, car, il semble que quand le lait d'un éleveur est détecté positif au Delvotest, la citerne l'ayant collecté a de grandes chances d'être positive.

Par ailleurs la positivité d'une citerne dépend étroitement d'une part, du nombre d'exploitations collectées par citerne et d'autre part de lettrage livré par exploitation, il faut également considérer le volume de lait collecté par camion (capacité) car celui-ci varie d'un camion à un autre.

C'est ainsi qu'il semblerait que lorsqu'un éleveur livre un volume réduit de lait positif il a moins de chances de contaminer la citerne, car les exploitations collectées seront plus nombreuses. On est bien en présence d'un phénomène de dilution, donc la citerne a de faible chance d'être positive.

Inversement pour un éleveur livrant un volume important par collecte, la citerne contiendra du lait d'un nombre moins élevé d'exploitation, ce qui diminuera la dilution du lait contaminé, d'où un taux de contamination élevé de la citerne (citerne positive).

La présence d'un taux élevé de laits négatifs dans les citernes 85,18%, n'est que le reflet de la prise de conscience des responsables de la laiterie vis-à-vis de la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait et leur impact sur la technologie du lait, la santé du consommateur et surtout sur leur image, notamment après la privatisation de la laiterie et l'esprit compétitif avec les autres laiteries.

Après la privatisation de la laiterie, les responsables du laboratoire d'analyse de la laiterie ont adopté une méthode d'analyse très rapide, moins chère et utilisable en routine dans l'industrie, qui est le Delvotest X press. Sauf que ce dernier n'est spécifique qu'au Bétalactamine, ce qui nous a emmené à confirmer les résultats négatifs obtenus avec une autre méthode, le Delvotest SP, ayant un spectre plus large de détection, malgré la durée qui est plus longue. Cette méthode a été abandonnée par la laiterie après plusieurs essais, en raison du temps d'analyse qui ne les a pas arrangés.

Nos résultats indiquent que sur les 116 échantillons négatifs obtenus par le Delvo X press et testés par le Delvotest SP un seul s'est révélé douteux ce qui veut dire que la contamination est exclusivement due à la présence de résidus des bêtalactamines, soit 100%. Ce taux est différent de ceux obtenus par:

- BENCHALABI et CHERGUI [101], qui est de 27,72% de positivité, de Bêtalactamines détectées par le TWINE SENSOR.
- BOUAISSA et YAMNAINE [100] sur le lait de citerne en utilisant le Rosa Test, et qui rapportent un taux de 65,46% de positivité de bêtalactanine.
- SHITANDI [102] en Kenya, qui rapporte un taux de contamination de 11% par les bêtalactamines sur les 1109 échantillons de lait analysés.
- KRESS et al [103] en Allemagne, qui ont montré que sur les 63 échantillons de lait cru contaminés, 95% l'ont été pour les bêtalactamines. L'analyse a été faite par le SNAP β -lactame.
- RIETER [104], l'étude faite au Canada rapporte un taux de contamination de 04% par les bêtalactamines.
- ROMNEE [105] en Belgique, et qui est de 60% de contamination par les bêtalactamines

Les résultats obtenus par le Delvotest SP sont expliqués par la large utilisation des bêtalactamines en clinique malgré l'apparition progressive de nouvelles molécules d'antibiotiques.

4.2. Le dosage des ions Na^+ et K^+ :

Le dosage des ions de Na^+ a révélé un taux supérieur à celui du seuil (0,5 g/l) et le dosage des ions de K^+ a révélé un taux inférieur à celui du seuil (1,5 g/l) dans le lait de citerne.

*La concentration du Na^+ est influencée par la présence de l'infection mammaire, cette influence est reflétée par une augmentation du taux des cellules somatiques dans le lait.

- LE ROUX [94] a rapporté, que dans le cas de mammites, la teneur de **sodium** est de 1,04 g/l.
- JANOTA et GLABOWNA [95] ont rapporté que dans un lait de mammites, la concentration en Na^+ est doublée.
- nos résultats sont élevés chez les collecteurs 1, 2, 4, 5 par rapport à ces derniers.
- Les résultats du collecteur 3 sont proches de ceux de JANOTA-BASSALIK et GLABOWNA [95], et LE ROUX [94].
- SERIEYS [96] a également obtenu une augmentation de la teneur en chlore et en **sodium** en cas de mammité.

Cependant, les observations des résultats de C1, C2, C4, C5 laissent à supposer que ces concentrations sont influencées par d'autres facteurs, tel que l'alimentation et les résidus des désinfectants et détergents « Na-O-Cl, NaOH » ; l'alimentation étant fixe est inchangée donc c'est un facteur ayant une faible influence (présence d'une nette fluctuation surtout dans le cas de C1 lors des passages 4 et 5).

Toutes fois, la présence d'une légère inhibition de culture dans le 5ème passage du C1 après la confirmation par le Delvotest SP ; nous oriente vers deux hypothèses :

- La présence des résidus d'antibiotiques à faible concentration ce qui est moins probable vue la fiabilité du Delvo X press.
- La présence des résidus de désinfectants, ceci est d'autant plus confirmé par :

-l'augmentation de la concentration de Na^+ :

La présence des résidus de désinfectants est reflétée par l'augmentation de la concentration de Na^+ . Ce surplus de concentration pourrait provenir des désinfectants : soit du NaOH, ou bien de l'eau de Javel lors du nettoyage des trayons, des machines à traire, et des tanks à lait.

Ayant obtenu une inhibition de culture, et sachant d'un côté que le Na^+ n'en ai pas la cause ; et d'un autre côté que la dilution de l'eau de Javel nous donne du Na^+ et un principe actif qui est le HClO selon la formule suivante :



On pourrait supposer que si ce Na^+ provenait de l'eau de javel, sa présence indiquerait la présence de ce principe actif, qui lui est connu pour être un inhibiteur de culture (le milieu gélosé de Delvotest SP est ensemencé par le germe test « *Bacillus stearothermophilus* », ce dernier est inhibé par 0,322 mg/ml d'hypochlorite de sodium à une concentration de 1/10 à partir de 1° chlorométrique, et par 3,22 mg/ml d'hypochlorite de sodium 1° chlorométrique : extrait 48° chlorométrique) [54].

- l'utilisation fréquente de l'eau de Javel (Na-O-Cl) lors du nettoyage des trayons, des machines à traire, et des tanks à lait :

L'enquête réalisée par TCHAKMAKDJJI et GHENIN [107] a montré que : 66,66% des éleveurs utilisent l'eau de Javel pour la désinfection des lavettes lors de nettoyage des trayons, 100% des éleveurs nettoient la machine à traire après chaque traite dont 66,66% utilise l'eau de Javel ; cela peut être due à la disponibilité du produit sur le marché ainsi que son coût bas.

L'enquête réalisée par FARES et GOUASMI [108] a montré que : 73,07% des éleveurs utilisent pour les opérations de lavage et de désinfections le savon liquide ou en poudre et de l'eau de Javel avec des doses aléatoires. Cependant 11,54% seulement pratiquent le pré-rinçage et rinçage par le pistolet de jet d'eau sous pression, 80,76% se fait par l'eau courante (tuyau), 7,69% se fait par rinçage au bidon.

- D'autre part, un ajout volontaire des inhibiteurs de croissance des germes (antiseptiques) dans le lait de commerce dans le but de freiner la croissance des bactéries et stabiliser le lait [109].

Nous constatons par ailleurs une augmentation de la concentration de Na^+ par rapport au taux cellulaire lors du 2^{ème} passage du C2 et C5, cette augmentation est précédée d'une positivité des tests au antibiotiques incriminant ainsi l'intérêt porter par les collecteurs pour le nettoyage de leurs citernes pour éviter la contamination et éviter ainsi les pertes économiques.

***La concentration du K^+** est inférieur au seuil (1,5g/l [5]) dans les cinq passages pour les cinq collecteurs, sauf dans le passage 2 du collecteur 5, où la concentration obtenue est proche du seuil.

Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par SERIEYS [96] qui a rapporté une diminution des teneurs en potassium et en calcium, phosphate lors d'une infection mammaire.

Les observations des résultats des cinq collecteurs laissent à supposer que ces concentrations sont influencées principalement par la présence des infections mammaires, et secondairement par l'alimentation parce que cette dernière est un facteur fixe est inchangée.

Nous n'avons pas constaté une augmentation de K^+ parce que le détergent alcalin (KOH) qui est la principale source exogène de K^+ est :

- Peu employé dans l'industrie laitière, à cause de gros inconvénient de la potasse en détergence qui est l'accélération de la précipitation des sels de dureté des eaux [79].
- La potasse est exclue des protocoles de nettoyage employé par la laiterie lieu de notre stage à cause de ces inconvénients.
- D'autre part, l'enquête réalisée par FARES et GOUASMI [108], a révélé une absence d'utilisation des détergents alcalins (Potasse, Soude) dans tous les élevages qu'ils ont visité (26 élevages).

- Nos résultats des deux dosages (l'augmentation de concentration de Na^+ et la diminution de concentration de K^+), laissent à minimiser l'influence de facteur de début de lactation (colostrum) ou de fin de lactation où les deux concentrations sont augmentées en même temps [93], en plus les fins et les débuts de lactation se concentrent en période juillet, octobre et notre étude est faite au mois d'avril.
- L'utilisation fréquente de désinfectant (l'eau de Javel) avec des doses aléatoires depuis la sortie du lait de trayon jusqu'à l'arrivée à la laiterie, passant par différents stades de stockage et de conservation, renforce les chances d'augmentation de la concentration de Na^+ malgré le phénomène de dilution
- Lorsqu'un éleveur utilise la potasse (KOH) et livre un volume réduit de lait contaminé, il a moins de chances de contaminer la citerne, car les exploitations collectées seront plus nombreuses. Nous sommes bien en présence d'un phénomène de dilution, donc la citerne a de faible chance d'être contaminée.

Le nettoyage et la désinfection du matériel de traite et de stockage du lait est indispensable à une bonne qualité bactériologique du lait. Ils font appel quotidiennement (matériel) ou tous les deux jours en général (tank) à des détergents et des désinfectants.

Toutes ces substances sont bactéricides et visent à diminuer la pollution bactérienne à la surface des matériels en contacts avec le lait ; elles sont donc susceptibles d'être à l'origine de résidus inhibiteurs.

Sauf que, les détergents ne peuvent être détectés qu'en quantité très excessive, car les résidus qui en résultent sont des ions physiologiquement présents dans le lait (ions sodium, potassium) ; leur toxicité pour le consommateur et les micro-organismes laitiers est nulle.

En revanche, les conséquences potentielles de la présence de résidus de désinfectants et de détergents sont plus importantes, ainsi les hypochlorites ont des propriétés inhibitrices, mais la encore à des concentrations improbables, très supérieures à celles qui entraînent une modification de la saveur réductrice : il faudrait par exemple 10% d'une solution de rinçage à 200 ppm d'hypochlorite de sodium (eau de javel) pour entraîner une inhibition des *streptocoques lactiques* [51].

4.3. L'impact économique :

L'impact économique n'a été suivi que pour les laits détectés positifs pour les résidus d'antibiotiques, car tout les laits détectés positifs sont rejetés et non transformés et ils ne sont même pas indemnisés ni pour les collecteurs ni pour les éleveurs. Alors que les laits contenant les ions de Na^+ et K^+ ne sont pas rejetés car ils ont peu d'intérêt en technologie laitière en raison de leur faible taux dans le lait à cause de l'effet de la dilution.

Nos résultats montrent que les pertes financières liées au rejet du lait contenant les résidus d'antibiotiques, durant un mois de suivi, ont concerné 3 collecteurs sur cinq et sont de l'ordre de :

166547 l de lait, soit 279000 DA pour l'ensemble des cinq collecteurs.

5707 l de lait, soit 171210DA pour le collecteur 2 ; 2699 l de lait, soit 80970 DA pour le collecteur 5 et 894 l de lait, soit 26820 DA pour le collecteur 4.

L'étude faite par GAUDIN [109], a montré que les pertes passées de 286 295 francs à 183 433 francs en trois ans pour la laiterie Y, de 1786francs en 1991à 2515 francs en 1993 pour l'entreprise Z et de 2262 francs en 1991 à 2300 francs en 1993 pour l'entreprise X.

Les pertes engendrées par les résidus d'antibiotiques dans le lait et enregistrées par la laiterie, concernent beaucoup plus la laiterie que les collecteurs, car les laits rejetés par la laiterie sont orientés vers le circuit informel, ce qui mettra la santé du consommateur en danger.

CONCLUSION

Parmi les contaminants du lait potentiellement néfaste pour la santé publique, un regard attentif est porté sur les résidus inhibiteurs, notamment les antibiotiques et les désinfectants.

Les résultats de notre étude a permis de mettre en évidence la contamination du lait par les résidus d'antibiotiques qui constitue un risque non négligeable chez l'industriel et le consommateur ; et évaluer par la suite les pertes économiques qui en résulte. Il est important de noter qu'on a suspecté la présence des résidus de désinfectants (l'eau de Javel), qui n'a pas une action néfaste ni sur la flore lactique ni sur la santé du consommateur que lors des concentrations relativement importante, concernant la concentration de Na^+ qui n'a pas un effet négatif sur le processus de coagulation tant qu'elle est compris entre 75 et 200 m mol.

Il apparaît raisonnable de penser que des contrôles réguliers effectués le long des circuits de collectes du lait devraient être mis en œuvre.

Un dispositif réglementaire doit être également instauré, afin de dynamiser l'action des producteurs dans l'amélioration de la qualité des laits, avec une pénalisation financière, si la présence de résidus inhibiteurs est prouvée.

Les axes d'amélioration se portent aujourd'hui vers la filière de l'élevage avec une formation et une information toujours plus technique des éleveurs qui restent le maillon principal pour la qualité des denrées alimentaires d'origine animale.

RECOMMANDATION :

A l'issu de notre étude, pour minimiser la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait avec tout les problèmes qui en découlent, nous recommandons certaines notions faciles à appliquer aussi bien au niveau des élevages qu'au niveau des laiteries si elles sont bien respectées :

- Au niveau de l'élevage :
 - Afficher sur un panneau tous les renseignements relatifs aux traitements afin de s'assurer que les trayeurs sont au courant des vaches qui ont été traitées et du délai d'attente convenable.
 - Les vaches subissant un traitement antibiotique lors du tarissement doivent être séparées pour éviter toutes erreurs lors de la traite.
 - Eliminer, pour toute la période recommandée, le lait provenant de vaches venants de vèler si on a administré un traitement au tarissement.
 - Mettre à l'écart le lait provenant de tous les quartiers des vaches traitées (même si un seul quartier est traité).
- 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.
 - Faire périodiquement des tests de contrôle au niveau des élevages.
 - Instaurer le paiement du lait à la qualité tout en pénalisant les éleveurs réfractaires aux recommandations.

Pour éviter la présence des résidus des désinfectants et détergents il est recommandé de :

- Proposer aux éleveurs une méthode de choix des désinfectants et détergents, de contrôle de leur application et de leur efficacité.
- Respect des protocoles et des doses conseillés par le fabricant.
- Rinçage correct de l'installation de traite après la désinfection.
- Vidange complète de l'installation à la fin des opérations de nettoyage.

REFERENCES

1. Gérard, D., « Lait, Nutrition et santé », Edit Tec & Doc, (2001), 566 p.
2. Larpent, J.P., « Lait et produits laitiers : vache-brebie-chevre, Tome1 : les laits de la mamelle à la laiterie », Edit Lavoisier, Tec & Doc, Paris, (1985), 397 p.
3. Jacques, M., « Initiation à la physicochimie du lait », Edit Tec & Doc, (1998), 212 p.
4. FAQ, « Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine », Internet Explorateur, (1995).
5. Alais, C., « Science du lait principes des techniques laitières », Paris, Sepaic 4^{ème} Edition, (1984), 814 p
6. Lupien, J., « Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine organisation des unies pour l'alimentation et l'agriculture », Rome, (1995), 272 p.
7. Pougheon, S. et Gouraud, J., « Le lait et ses constituants: caractéristiques physico chimiques », in: Debry, G., « Lait, Nutrition et Santé », Edit Lavoisier, Tech & Doc, Paris, (2001), 3-42.
8. Allard, G. et Mauries, M., « Produire du lait biologique : réussir la transition », Edit Groupe France Agricole, Paris, (1998), 191p.
9. Amiot, J., Fournier., Lebeuf, Y., Paquin, P. et Simpson, R., « Composition, propriétés physico-chimique, valeur nutritive, qualité technologiques du lait » in : Vignola, C.L., « Science et technologie du lait : transformation du lait », Ecole polytechnique de Montréal, (2002), 1-73.
10. Pougheon, S. et Goursaud, J., « Le lait et ses constituants caractéristiques physicochimiques », In : Debry, G., « Lait, nutrition et santé », Tec & Doc, Paris, (2002), 3-42. . Mathieu, J., « Initiation à la physico-chimie du lait », Edit Lavoisier, Tech & Doc, Paris, (1998), 220 p.
11. Mathieu, J., « Initiation à la physico-chimie du lait », Edit Lavoisier, Tech & Doc, Paris, (1998), 220 p.
12. Veisseyre, R., « Technologie du lait, constitution, récolte, traitement et transformation du lait », 3^{ème} édition, la maison rustique, Paris, (1975), 714 p.
13. Carole, L.V., « Science et technologie du lait », (2002), 149 p.
14. Pien, J., « Physicochimie du lait », Tech lait, 841, (1975), 13-14.
15. Christie, W.W., « The composition and structure of milk lipids », In: Fox, P.F., « Development in dairy chemistry », Vol 2, Applied sciences publishers, London, (1983), 1-35.
16. Gnädig, S., Chardigng, J.M. et Bedio, J.L., « le lait et ses constituants : biodisponibilité et valeur nutritionnelle : lipides » in Debry, G., « lait, nutrition et santé », Edit Lavoisier, Tech & Doc, Paris, (2001), 105-124.

17. Renner, E., « Milk and dairy products in human nutrition », Volkswirtschaftlicher Verlag, Munich, (1983), 15-89.
18. Lindent, G. et Lorient, D., « Biochimie agro-alimentaire : Valorisation alimentaire de la production agricole », Edit Masson, Paris, (1994), 101-109.
19. Luquet, F.M., « Lait et produit laitiers : vache, brebis, chèvre » Tome III, Edit Lavoisier, Tech & Doc, Paris, (1986).
20. Hanzen, C.H., « Pathologie de la glande mammaire de la vache laitière Aspects individuels et d'élevage » 4^{ème} Edition Université de Liège, (1999).
21. Hanzen, C.H., « Preupédentique et pathologie de la reproduction mâle et femelle biotechnologie de la reproduction pathologie de la glande mammaire » 3^{ème} et 4^{ème} Edit Université de Liège, (2000).
22. Cayot, P.H. et Lorient, D., « Structures et techno fonctions des protéines du lait », Lavoisier, (1998), 20-82.
23. Blanc, X., « Les protéines du lait à activité enzymatique et hormonale », Le lait. 62, (1982), 350-395.
24. Got, R., « Les enzymes du lait », Ann.Nutr.Alim., 25, (1971), A291-A311.
25. Gueguen, L., « Le lait et ses constituants: caractéristiques physiologiques: minéraux et oligoéléments » in Debry, G., « Lait, nutrition et santé », Edit Lavoisier, Tech & Doc, Paris, (2001), 125-149.
26. Renner, E., « Micronutrients in milk and milk-based food products », Elsevier, Applied Science, London, (1989), 311 p.
27. Mahaut, M., Jeantet, R., Brule, G. et Schuch, P., « Les produits industriels laitiers », Edit Lavoisier, Tech & Doc, Paris, (2000), 178.
28. Rupp, R., « Analyse génétique de la résistance aux mammites chez les ruminants laitiers », Thèse de doctorat de l'Institut National Agronomique, Paris, Grignon, (2000).
29. Serieys, F., « 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, (1985), 255-261.
30. Badinand, F., « Maîtrise du taux cellulaire du lait », Rec.Med.Vet., 170 (6/7), (1994), 419-427.
31. Lee, C.S., Wooding, F.B.P. et Kemp, P., « Identification, properties and differential counts of all populations using electron microscopy of dry cows secretions, colostrums and milk from normal cows », J.Dairy.Res., 47 (1980), 39-50.
32. Miller, R.H., Paaper, M.J. et Fulton, L.A., « Variation in milk somatic cells of heifers at first calving », Journal of Dairy Science., 74, (1991), 3782-3790.
33. Graaven, N. et Williams, M.R., « Defences of the bovine mammary gland against infection and prospects for their enhancement », Vet. Immunol and immunopathology. 10, (1985). 71-127.

34. Lamontagne, M., Champagne, C.P., Reitz-Ausseau, J., Moineau, S., Gardner, N., Lamouteux, M., Jean, J. et Fliss, I., « Microbiologie du lait », In : Vignola, C.L., « Science et technologie du lait: transformation du lait », Ecole polytechnique de Montréal, (2002), 74-151.
35. Larpent, J.P., « Les ferments microbiens dans les industries agro-alimentaires: produits laitiers et viandes », APRIA, Paris, (1991).
36. Hermier, J., Lenois, J. et Weber, F., « Les groupes microbiens d'intérêt laitier », Cepil, Paris, (1992).
37. Monsallier, G., « Maîtrise de la teneur en germes mésophiles totaux du lait à la production », Res.Méd.Vét., 170, n° 6/7, (1994), 411-418.
38. Leyral, G. et Vierling, E., « Microbiologie et toxicologie des aliments : hygiène et sécurité alimentaire », 3^{ème} Edit Aquitaine : Doin, (2001), 274 p.
39. Sommelier, L. et Heuchel, V., « Caractérisation microbiologique et aptitude technologique des laits ultra propres », compte-rendu institut de l'Elevage, (1999), n° 9983118, 32 p.
40. Gelinas, P., « Répertoire des micro-organismes pathogènes transmis par les aliments », Edition Edisem, Sainte Hyacinthe, Québec, (1995), 207 p.
41. Grimard, B. et Seegers, H., « Qualité du lait », Res.Méd.Vét., n° 6/7, Tome 170, (1994), 331.
42. Guattéo, R., « Maîtrise de la concentration en cellules somatiques du lait en troupeaux bovins laitiers : efficacité d'une démarche de correction des points de maîtrise identifiés par un audit spécifique ; la démarche Querellait », Thèse de doctorat vétérinaire, faculté de Médecine, Nantes, (2001), 103 p.
43. Cauty, I. et Perea, J. M., « La conduite du troupeau laitier : La qualité du lait », 1^{er} Edition France agricoles, (2005), 55-57.
44. Bourgeois, C.M. et Leveau, J.Y., « Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agro alimentaires », Tome III, édition Science, Tech & Doc, Paris, (1980) 331p.
45. Broutin, C., Diedhiou, Y. et Diend, M., « Maîtrise de la qualité dans la transformation laitière », Guide de bonnes pratiques d'hygiènes, Sénégal, (2005), 19-31.
46. Puyt, J-D., « Médicaments anti-infectieux en médecine vétérinaire : Base de l'antibiothérapie », ENV Nantes, (2002), 201 p.
47. Bourin, M., Michel, L. et Allin, H., « MEDICAMENTS – ANTIBIOTIQUES », Traité de Chimie Thérapeutique Vol 2, Cours de pharmacologie 3^{ème} Edition.
48. VIAL, F., « Les inhibiteurs dans le lait – Etude du taux de pollution des laits », Enquête chez les éleveurs de la région Rhône-Alpes, Thèse Doct. Vét. Lyon, (1993).
49. Fabre, J. M., Bosquest, G. et Petit, C., « Comprendre et prévenir les risques de résidus des antibiotiques dans les denrées animale », SNV (2006).
50. Parguel, P., « A propos de la contamination physique et chimique du lait – Les inhibiteurs ». Fiche Institut de l'Elevage/CNIEL, Janvier (1991).

51. Luquet, F.M., « Lait et produits laitiers », Edit, Lavoisier, Paris, Tome 1, (1985).
52. Mickelson I, M.N., « Effects of nutritional characteristics of *Strep. agalactiae* on inhibition of growth by lactoperoxidase-thiocyanate-hydrogen peroxide in chemically defined culture medium », *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 32, August (1976), 238-244.
53. Piro, F., « Susceptibility of European bovine mastitis pathogens to enrofloxacin and other anti-infective », *J.V et Pharmacol.Therap.*, n° 26, (2003), 237.
54. Duflocq, F., « Les résidus d'antibiotiques dans le lait après un traitement par voie intramammaire », Thèse Doct. Vét. Alfort, (1982).
55. Delves, B. J., « Nisin and its uses as a food preservative. *Food technology* », November (1990), 100-117.
56. FIL-IDF., « Détermination of indigenous antimicrobial proteins in milk ». FIL-IDF, n°284, (1993), 29-42.
57. Monsallier, G., Brouillet, P., Egron, L., Vers la certification, cycle de conférences de la Commission Qualité du Lait de la SNGTV, (1991).
58. Faroult, B. et Aino, J.P., « Réflexions pour de meilleures pratiques de l'antibiothérapie Vétérinaire ». In : Journées Nationales GTV-INRA. Nantes, 26-28 Mai 1999. Groupement Techniques Vétérinaires, (1999), 163-164.
59. Corpet, D.E ., « Antibiotiques en élevage et résistances bactériennes : vers une interdiction ». *Revue Méd. Vét.*, 150 (2), (1999), 165-170.
60. Millemann, Y., « Antibiorésistances et prescription antibiotique ». *La dépêche Technique*, 80 (Suppl), (2002), 25-29.
61. Mackinnon, J. D., Bulling, E. et Helmuth, R., « Proceedings of the symposium ». « CVriteria and Methods for the Microbiological Evaluation of the growth promoters in animal feeds » Berlin, 14 & 15 novembre 1984, *Vet Med Hefte*, 1985. (1985).
62. Serieys, F., Meffe, N., Berny, F., Lopez, C. et Baraton, Y., « Facteurs de risques de pollution du lait par des résidus inhibiteurs associés au traitement des mammites », *Rencontres Rech.Ruminants* (1995), 2,205-210.
63. Fabre, J.M., Moretain, J.P., Ascher, F., Brouillet, P. et Berthelot, X., « Les principales causes d'inhibiteurs dans le lait », Résultats d'une enquête dans un millier d'élevages français. *Bull. Group. Tech. Vét.* (1996), 3-B.-522, 27-31.
64. Federicci-Mathieu, C., « Résidus dans le lait et sécurité alimentaire : quels risques? Quels moyens de maîtrise ? », *Bull. Group. Tech. Vét.* (2000), 7, 99-102.
65. Lepoutre, D. et Petit, C., « Maîtrise des résidus dans le lait : le rôle du vétérinaire praticien », *Bull. Group. Tech. Vét.* (2000), 8, 47-51.
66. Faroult, B., Lepoutre, D., Brouillet, P. et Le Page, P., « Mammites des bovins (clinique et subcliniques) : démarches diagnostiques et thérapeutiques », *La Dépeche Technique, Supplément Technique.*, n°87 (2004) ,39 p.
67. Edmonson, P., « avoidance of medicines residues in milk », in practice, (2003), 278-283.

68. Brouillet, P., « Maitrise de la présence d'inhibiteurs dans le lait », *Rec.Méd.Vét.*, (1994), n° 170(6/7), 443-455.
69. CNIEL, Actualité technique., « Détection des résidus d'inhibiteurs », La méthode officielle pour le paiement du lait devient plus précise, (2002).
70. Roussel, P., Bendali, F., David, V., Gentillhomme, A. et Serment, A., « Les substances inhibitrices en élevage laitier », Causes de la présence de molécules inhibitrices dans le lait, (2006), 32-35.
71. Ten Heg, J., « Dépistage des résidus d'antibiotiques dans les vaches laitières et le lait », (2007).
72. Form, G., « Les résidus inhibiteurs dans le lait: évolution des méthodes de détection, facteurs de risques en région Rhone-Alpes », Thèse. Doc. Vét. Lyon, (2003), 102, 121 p.
73. Eeckmotte, M., « Antibiotiques et alimentation humaine », *Rev- Méd-Vét*, (1978).
74. Laurentie, M., et Sanders,P., « Résidus de médicaments vétérinaire et temps d'attente dans le lait », *Bulletin des GTV*. 15 Avril- Mai- Juin : (2002), 197- 201.
75. Pradalier, A., Dry, J. et Luce, H., « Réflexions sur l'allergie médicamenteuse », *Con-Méd.* (1980), 40 : 5993 – 6011.
76. Burgat , S.V., « risques d'accidents allergiques dus aux résidus », *Rec - Méd – Vét*, (1981), 157 : 187 - 190.
77. Milhaud, G. et Person, J. M., « Evaluation de la toxicité des résidus d'antibiotiques dans le lait », *Rec- Méd- Vét.* (1981), 157 (2) : 179 – 185.
78. Stoltez, R., « Les Residus d'antibiotique dans les denrées d'origine animale: évaluation et maitrise de ce danger », Thèse pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire 17 décembre (2008).
79. Leveau, J.Y. et Bouix, M., «Nettoyage, désinfection et hygiène dans les bio- industries », *Édit Tec&Doc lavoisier*, Paris (1999), pp:42.168.344.
80. Ducoulombier, A., «Nettoyage, désinfection dans les industries alimentaire», *APRIA*, (1975), pp: 3-4-23,32.
81. Colin, A., « nettoyage de l'installation de traite ; qualité du lait », direction technique NEOLAÏT (www.neolaît.com), (2004).
82. Anonyme., « A propos de la contamination physique et chimique du lait, l'iode », *Institut de l'Élevage*, Janvier (1995)
83. Assmat, B., « La contamination des produits laitiers par des iodophores », *RTVA*, Novembre (1983).
84. Hedouin, C., *Institut de l'élevage.*, « Produire un lait de qualité passe par une propreté exemplaire de la salle de traite et de la laiterie », (www.instelevage.asso.fr), (2003).
85. Weber, F., « Réfrigération du lait à la ferme et organisation des transports produit par : département de l'agriculture », étude FAQ production et santé animales 47.m-26 ISBN 92—5-202170-1 (www.fao.org), (1985).

86. Aumont., G. «Milk iodine residues after a post-milking iodophor», *Ann. Rech. Vét*, n° 4, (1987), 375- 378.
87. Dgal., « Bilan des plans de surveillance et de contrôle mis en œuvre par la DGAL en 2004 », DGAL, Septembre (2005).
88. Pfizer., « Pourquoi y-aura-t-il deux fois plus d'inhibiteurs en 2002 ? Le Point Vétérinaire », (2002).
89. Ganiere, J.P., Mangion, C. et Peridy, M., « Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices et Bactéricides de la cefquinome, la marbofloxacin, la tylosine et la spiramycine en solution dans du lait vis-à-vis de bactéries isolées de mammites bovines », *Revue Méd. Vét.*, (2004), 411-416.
90. Gupta, R.K., Prasad, D.N., «Antibiotic activity of nisin in food preservation. *Microbiologie- Alimentation-Nutrition*, Vol. 7, (1989), 199-208.
91. Mannaert, P., «Détergents and désinfectants: chemical residues in milk and milk products», *Bull.Fed.Int.Lait*, (1969), 113,57-62.
92. Genouel, G., «Les antiseptiques et l'antiseptie en médecine vétérinaire», Thèse pour le diplôme de docteur vétérinaire, Lyon, (1980).
93. Frédéric, G., « Minéraux et produit laitiers », Edit Tec & Doc, coordonnateur, London Paris -New york, ICP (inductively coupled plasma).année.
94. Le Roux, Y., « les mammites chez la vache laitière, inflammation de la glande mammaire : première pathologie en élevage laitier », (1999), p1-10.
95. Janotta, B., Glabowna, M., « *Milchwissenschaft* », (1982), 37, 13.
96. Serieys, F., « Les mammites des vaches laitières collection le point sur le lait cinquième édition institut de l'élevage Paris, (1995), 64p.
97. Labres, E. et Mouffok, F., « Recherche d'antibiotique et de résidus d'antibiotiques dans les laits », *Maghreb vétérinaire*, Vol 4. 17 :5-7, (1989).
98. Badani, K., « Recherche des résidus d'inhibiteurs dans le lait », mémoire pour le diplôme de docteur vétérinaire, Université de Blida.
99. Ousser, N., « Recherche des résidus D'antibiotiques dans le lait cru par le Delvo test SP », Mémoire pour le diplôme d'ingénieur d'état en biologie. Université de Blida.
100. Bouaissa, K. et Yamnaine, N., « Recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru par le Rosa test », mémoire pour le diplôme de docteur vétérinaire, Université de Blida, (2007), 81p.
101. Benchalabi, K. et Chergui, D., « 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, (2008)57 p.
102. Shitandi, A., « Risk factors and control strategies for antibiotic residues in milk at farm level in Kenya, Doctoral dissertation, (2004), 50 p.

103. Kress, C., Seidler, C., Kerp, B., Schneider, E. et Usleber, E., « Experiences with an identification program for inhibitor-positive milk samples», *Analytica chimica Acta* 586, 2007, 275-279, (2006).
104. Reiter, B., « Protective proteins in milk», *Biological significance and exploitation*, International Dairy Federation, Bulletin 191, Bruxelles, Belgique, (1985).
105. Romnee, J., « Le controle des antibiotiques dans le lait de ferme : hier et aujourd'hui», *Les antibiotiques dans le lait. Quelques chiffres provenant de OI de Battice*, (2006), 61pp.
106. Ghenin, L. et Tchakmakdji, S., « Les antiseptiques et désinfectants à usage vétérinaire », *Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme : Docteur Vétérinaire, Université de Blida*, (2007).
107. Fares, M. et Gouasmi, M., « évaluation des pratiques d'hygiène de matériel de stockage du lait cru dans 26 fermes dans la région de Blida », *Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme : Docteur Vétérinaire, Université de Blida*, (2009).
108. Zinedine, A., Faid, M. et Benlemlih, M., « Détection des résidus d'antibiotiques dans le lait et les produits laitiers par méthode microbiologique » *remise*, Vol 1, N1, (2007), p7.
109. Gaudin, P., « Origines et consequences des substances dites inhibitrices dans la filiere lait – etude au niveau d'un groupe laitier -», *These pour obtenir le diplome de docteur veterinaire, faculte de medecine de Nantes*, (1999).
110. Grappin, R. et Jeunet, R., « Premiers essais de l'appareil Fossomatique, pour la determination automatique de numeration de cellule de lait », *le lait*, (1974), 54, 627-644.

APPENDICE A

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

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

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

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

ARTICLE 4 : La dénomination " lait " sans indication de l'espèce animale de provenance, est réservée au lait de vache.

Tout lait provenant d'une femelle laitière, autre que la vache, doit être désigné par la dénomination " lait ", suivie de l'indication de l'espèce animale dont il provient.

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

ARTICLE 6 : Le lait ne doit pas :

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

En outre, le lait ne doit pas subir:

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

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

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

ARTICLE 8 : Le lait doit répondre aux spécifications suivantes:

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

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

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

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

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

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

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

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

Seghir BABES

APPENDICE B

1. Matériels et méthode de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne par le Delvotest SP :

I.1. Matériel :

- Le kit d'analyse, Devotest SP, composé de :
 - 100 Ampoules renfermant un milieu gélosé solide violacé contenant un indicateur de pH et du triméthoprim, ensemencé par un germe test (*Bacillus stearothermophilus var. calidolactis*) et enrichis en éléments nutritifs de croissance. Les ampoules sont recouvertes d'une feuille d'aluminium.
 - Une seringue calibrée pour le prélèvement de 100µl.
 - 100 Embouts jetables pour le prélèvement des échantillons de laits, fournie avec le kit.
- Delvo® incubator réglée à $64,0\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$ équipée à un chronomètre.

I.2. Méthode :

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

- Chauffer préalablement les laits crus à analyser pendant 10 mn à 80 °C afin d'éliminer tous les inhibiteurs naturels.
- Laver et sécher soigneusement les mains avant de manipuler le kit.
- Séparer le nombre d'ampoules nécessaires à l'aide d'un ciseau, en faisant très attention à la feuille d'aluminium des ampoules adjacentes, ne pas arracher les ampoules.
- Ouvrir les ampoules en perçant un trou dans la feuille d'aluminium, avec la pointe de la seringue sans embout. Ne pas manipuler les ampoules de façon brusque, car le milieu gélosé risque d'être décollé. Cela peut affecter la qualité de coloration du test lors de la lecture des résultats.
- Placer un embout jetable sur la seringue pour chaque échantillon de lait à tester.
- Prélever 100 µl de l'échantillon du lait après l'avoir homogénéiser à l'aide de la seringue à embout jetable, plonger d'environ 1cm dans le lait.
- Verser ensuite la totalité de l'échantillon de lait prélevé dans l'ampoule identifiée correspondante, pour cela pressé lentement et complètement le piston pour ajouter le lait à la surface de l'agar.
- Couvrir les ampoules avec le parafilm
- Mettre les ampoules en incubation dans un Delvo® incubator préchauffée à 64 °C durant 3 h. Des températures d'incubations trop faibles ou trop élevées, ainsi que des fluctuations excessives de températures affecteront la durée du test et sa sensibilité.
- La lecture doit se faire dans les 2/3 inférieurs de l'agar.

- ❖ Une coloration jaune indique l'absence de substance antibactérienne à une concentration égale ou supérieure au seuil de détection du test.
- ❖ Une coloration jaune/violette indique la présence de substance antibactérienne à une concentration égale ou inférieure au seuil de détection.
- ❖ Une coloration violette indique la présence de substance inhibitrice dans l'échantillon de lait analysé à une concentration égale ou supérieure au seuil de détection.

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

2. Matériels et méthode de la numération cellulaire du lait de citerne :

2.1. Matériel de laboratoire :

- Verrerie de laboratoire (Tube à essais, bêcher, Pipette graduée de 10 ml).
- Filtre 0.45 µm et 0.22 µm.
- Bain marie thermostaté.
- Agitateur.
- Barreau magnétique.
- Balance à précision.
- Micropipette automatique réglée à un volume de 100 µl.
- Embouts jaunes à usage unique.
- Centrifugeuse.
- Minuterie ou chronomètre.
- Portoir métallique.
- Appareils coulter counter model Z₂ :

2.2. Réactifs et solutions :

- Eau distillée stérile.
- Na Cl.
- Triton × 100.
- Ethanol 96%.
- Formol.
- Tris.

2.3. La méthode du contage cellulaire :

La méthode utilisée est celle préconisée par la norme FIL 148A :1995, modifiée pour la fixation des échantillons selon la méthode de GRAPPIN et JEUNET [110]

a. Préparation des solutions :

a.1. Solution de fixation du lait :

- Prélever 9ml d'eau distillée à l'aide d'une pipette graduée et les mettre dans un flacon de 60 ml.
- Ajouter 1 ml de formol à 35% à l'aide d'une micropipette.

- Conserver à l'abri de l'air afin d'éviter l'évaporation du formol.

a.2. Solution de clarification :

- Mettre dans un bécher 7,3 g de NaCl pur et 1,25 g de Tris, pesés à l'aide d'une balance à précision.
- Ajouter 20 ml de triton × 100, 12 ml de formol à 35% et 125 ml d'éthanol à 96%.
- Compléter avec 800 ml d'eau distillée stérile.
- Agiter avec un barreau magnétique jusqu'à disparition des particules solides.
- ajuster le volume à 1000 ml avec de l'eau distillée stérile.
- Effectuer deux filtrations successives de la solution électrolyte préparée à l'aide des filtres stériles de 0,45 µm et 0,22 µm de façon à renfermer moins de 100 particules/ml.
- Conserver la solution électrolyte dans des flacons en verre de 500 ml à l'abri de l'air.

b. Préparation des échantillons :

Le principe de la technique consiste à éliminer l'influence de la matière grasse par dispersion des globules gras dont la taille est supérieure à 5 µm qui peuvent interférer avec les cellules en suspension dans le lait lors du comptage.

La préparation des échantillons se fait selon deux étapes :

1) Fixation :

Cette étape permet à la membrane cytoplasmique des cellules d'acquérir une certaine résistance et d'éviter leur éventuelle destruction lors du traitement thermique.

La fixation se fait selon les étapes décrites ci-dessous :

- Homogénéiser chaque échantillon de lait avant prélèvement.
- Prélever 9,8 ml de lait à l'aide d'une pipette graduée et les dépose dans un tube à essai de 20 ml.
- Additionner 0,2 ml de formol à 3,5% à l'aide d'une micropipette.
- Agiter le mélange.
- Incuber les tubes pendant 30 mn à 60°C dans un bain marie.

2) Clarification :

L'action conjuguée de l'éthanol, de l'émulsifiant et de la chaleur entraîne une clarification du milieu par dispersion des globules gras en particules très fines, rendant possible le comptage sélectif des cellules.

La clarification se fait selon les étapes décrites ci-dessous :

- Prélever 0.1 ml de lait fixé et le dépose dans un tube à essai.
- Ajouter 9.9 ml de la solution électrolyte filtré.
- Homogénéiser la solution préparée.
- Pour le même échantillon de lait fixé préparer une série de 2 tubes identifiés.

• La solution ainsi préparée est chauffée dans un bain marie à $80 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant 10 minutes, veiller à ce que le niveau de l'eau du bain marie soit au dessus du niveau du liquide des tubes.

Retirer la solution préparée du bain marie et laissez refroidir à température ambiante.

c. Numération cellulaire de la solution clarifiée :

- Homogénéiser la solution clarifiée.
- Couler la préparation dans un récipient de mesure afin d'éviter la formation de bulles d'air et d'éventuel dépôt cellulaire dans le fond du tube.
- Procéder à la numération à l'aide du compteur (Coulter model Z₂).

La numération cellulaire doit être effectuée dans l'heure qui suit le refroidissement des solutions clarifiées.

d. Lecture :

La numération est indiquée, en lecture directe, en millions de cellules somatiques par ml de lait.

APPENDICE C

Tableau 26 : Les résultats du suivi des cinq collecteurs pour la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait de tank :

C 5	2099L -	622PL -	583L -	1690L -	2196 L -	P ₁
	1438L -	700L -	563L -	1670L -	2000 L -	P ₂
	1224L -	623L -	564L -	1556L -	2620 L -	P ₃
	1224L -	661L -	563L -	1323L -	2010 L -	P ₄
	1127L -	622L -	563L -	1200L +	2328L -	P ₅
	1361L -	622L -	388L -	1301L +	1417L -	P ₆
	2118L -	583L -	563L -	1709L +	2485L -	P ₇
	1437L +	642L -	466L -	1497L +	1400L -	P ₈
	1262L +	603L -	564L -	1670L ±	2621L -	P ₉
	1263L ±	642L -	563L -	1708L ±	2160L -	P ₁₀
	1263L ±	603L -	566L -	1300L ±	2180L -	P ₁₁
	1282L ±	623L -	389L -	1397L ±	1476L -	P ₁₂
	2116L ±	623L -	564L -	1515L ±	2213L -	P ₁₃
	1690L ±	642L -	428L -	1303L -	1500L -	P ₁₄
	1283L ±	603L -	583L -	1381L -	2427L -	P ₁₅
	952L -	603L -	350L -	1262L -	2020L -	P ₁₆
	1400L -	603L -	564L -	1284L -	2388L -	P ₁₇
	1341L -	622L -	583L -	1517L -	1457L -	P ₁₈
	1807L -	623L -	583L -	1516L -	2214L -	P ₁₉
	2119L -	604L -	564L -	1500L -	2300L -	P ₂₀
	874L -	584L -	564L -	1689L -	2448L -	P ₂₁
	1244L -	623L -	564L -	1630L -	1800L -	P ₂₂
	1263L -	603L -	564L -	1517L -	2097L -	P ₂₃
	1263L -	642L -	311L -	1301L -	1846L -	P ₂₄
	2119L -	603L -	583L -	1711L -	2350L -	P ₂₅
	1263L -	311L +	564L -	1770L -	1840L -	P ₂₆
	1243L -	583L +	563L -	1516L -	2564 L ±	P ₂₇
	70.37	92.59	100	66.66	96.29	-
	22.22	0	0	18.51	3.70	±
	7.40	7.40	0	14.81	0	+

P : passage ; C : collecteur