



Institut des Sciences  
Vétérinaires-Blida

Université Saad  
Dahlab-Blida 1-



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du  
**Diplôme de Docteur Vétérinaire**

**Méthodes d'analyses des résidus d'antibiotiques, Analyses physico-chimiques et analyses microbiologique de lait cru .Willaya Bejaia**

Présenté par :

**Hadid Lylia**

**Dahmani Hocem Eddine**

Soutenus la date de:  
26/06/2019

Devant le jury :

Président :	<b>Dahmani.H.</b>	<b>M.C.B</b>	<b>isvb</b>
Examineur :	<b>Salhi .O.</b>	<b>M.A.A</b>	<b>isvb</b>
Promoteur :	<b>Douifi.M</b>	<b>M.C.B</b>	<b>isvb</b>

**Année : 2019**

## **REMERCIEMENT**

Avant tout nous remercions dieu tout puissant de nous avoir aidés et de nous avoir donné la foi et la force pour achever ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance et tout notre respect et gratitude à notre promoteur Mr DOUIFI MOHAMAD maître assistant à l'institut des sciences vétérinaire Blida pour l'encadrement et l'encouragement qu'il nous a donnés et de nous avoir guidés dans la réalisation de ce travail, pour sa patience et sa disponibilité. Qu'il trouve ici l'expression de notre profonde gratitude

Nous remercions chaleureusement les examinateurs d'avoir accepté d'examiner et de juger ce travail. Mr Salhi.O maître-assistant à isvb et Mr Dahmani.H maître de conférence à isvb .

Nous remercions également le personnel travaillant du laboratoire d'usine RAMDY sans oublier ceux qui travaillent à la collecte Iraten Rafik .Bensafia Mounir .Boudraa El Hadi ainsi que le directeur Zahir Medjkoun .Aussi le personnel travaillant à la laiterie SOMMAM Saadi Sadek

Nous aimerions également exprimer nos remerciements à Ibaraken Malek .L'inspecteur vétérinaire de la wilaya de Bejaia monsieur Idris. I ,ainsi que chef département de l'institut de sciences vétérinaire monsieur Yahia Achour

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

# DÉDICACES

## Je dédie ce travail a :

Ceux qui ont donné un sens à mon existence, EN m'offrant une éducation digne de confiance mes parents .que dieu vous garde et vous accorde une longue vie

A mon cher papa école de mon enfance, Qui a été mon ambre durant toute les années d'études, et qui a viellé tout au long de ma vie à m'encourager, a me donner l'aide qu'il me faut pour battre et poursuivre le parcours ,je le remercie infiniment pour tout ce que il m'a appris comment croire a ses rêves et relever les obstacles de vie et de la santé, comment être Homme quand il le faut et respecter sa féminité au même temps et si je suis femme et ce que je suis aujourd'hui c'est juste grâce a lui a son soutiens et ses tendres paroles .

A celle qui m'a donnée la vie le symbole de la tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite qui m'aime inconditionnellement ma chère maman

A mes sœurs adorés : ma petite sœur Bylinda notre anglaise et ma chère grande sœur lamia qui a été mon prof de la crèche qui m'a donner la base dans mes études que dieu la protège et l'a bénit ainsi que ses garçons Mayas Islam et sa petite fille Elyanna la petite ange et son mari Ziane

A mes frères : Toufik et sa petite famille sa femme Sabrina et ses filles Anayisse ,Inasse et Arinasse

A Hassim et sa petite famille sa femme Fadila et ses filles Dania et Dalycia

A RAFIK l'unique avec son caractère qu'est prêt toujours a donner et, Redouane celui qui m'a tenue la main a tout moment que j'avais besoins qui croit en moi et m'encourage pour atteindre mes rêves

A ma copine adorée Faiza que j'ai connue a l'institut de Blida et que la coïncidence et le destin nous ont réunit, je la remercie d'être ma copine de m'avoir supporté avec mon comportement et attitude qui se bouleversent d'un moment a l'autre.

A ma copine et amie d'enfance Hakima kimouch qui m' encourage toujours et est la source de ma force

A mon binôme Dahmani Hocem Eddine qu'est un ami et frère avant que ce travail nous réunisse toujours adorable souriant pour la vie et prêts a travailler et se donner a fond pour accomplir la tache et présenter le travail dans une maquette bien ordonner et organiser, merci pour ta compréhension et de m'accepter tel que je suis malgré mes plusieurs défauts .

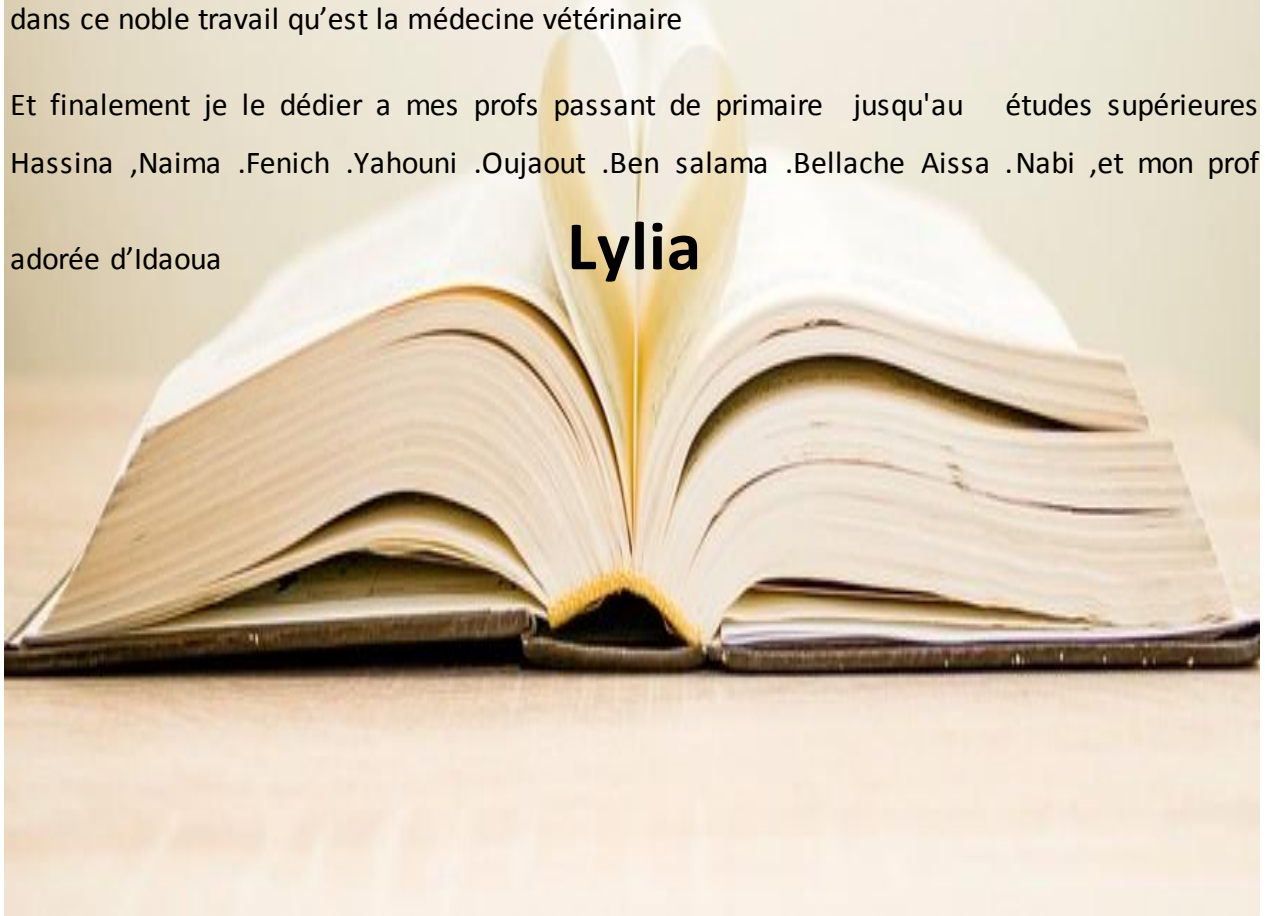
A la personne qui m'a encourager durant toute l'année et l'année passée et sans lui j'avancerai jamais ni dans mes études ni dans ma vie j'en suis sure cher ingénieur Abderahmen et sa famille

A mes amies et amis qui m'ont toujours aimés et combler avec beaucoup d'affection et d'amour et de compréhension Fatma , Hassiba ,Chahinaz .Nesrine .Musta .Nassim dada .Mounir .Lydia

A mes collègues que l'institut de médecine vétérinaire nous a créer comme une petite famille bien solide qui se respecte et se partage la moindre information et documentation : Fatma,Faiza ,Hocem, ,.Mehdi ,Mouh .Hamouda.Nassim.Yasmine.Abdou.Nadim.Louiza .Ahcen ,Walid ,Sid Ahmed ,Iyad ,Nesrine ,Ayoub ,Rania .Rihab .Sabrina.Hocine (cicine) SIMOU ,Ryma ,Loula , Cylia ,Djidji,Amine Hsb,Zakaria , Aziz Rebhaoui et Aziz Hadjar .Chamsou ,Sara ,Rahma , Yasmine . Et a toute la promo 2019 je vous souhaite beaucoup de réussite et de prospérité dans ce noble travail qu'est la médecine vétérinaire

Et finalement je le dédie a mes profs passant de primaire jusqu'au études supérieures Hassina ,Naima .Fenich .Yahouni .Oujaout .Ben salama .Bellache Aissa .Nabi ,et mon prof adorée d'Idaoua

**Lylia**



## DÉDICACES

*À la lumière de mes jours, à la source de mes efforts, ma vie et mon bonheur mon père.*

*À ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.*

*À ma très chère sœur et mes frères, qui m'ont toujours aidé, écouté, soutenu et encouragé tout au long de mon parcours; ceux qui ont toujours été présents avec moi. À qui je souhaite de vif cœur une réussite dans leurs vies et de trouver le bonheur. Je vous adore.*

*À mes meilleur(e)s ami(e)s, à tous ceux qui ont une relation de proche ou de loin avec la réalisation du présent travail. Et à toute la promotion 2018/2019.*

*Et une dédicace spéciale à mon binôme HADID Lyliã, qui a énormément sacrifiée pour la réussite de ce travail. Sans oublié ma chère KHIKHI DRJES Ryma qui m'a aidé et soutenu pour me permettre d'atteindre cette étape de ma vie. Avec toute sa tendresse.*

**Hocem**



## ملخص

منتوج حي قصم الحليب هو منتوج ذو استهلاك كبير الذي يجب ان تستوفي فيه معايير صارمة لضمان اعلى مستوى من الجودة للمكروبيولوجية و التسممية

الحليب الموجه لاستهلاك البشري يجب ان يكون خاليا من اي نوع من التلوث.وللاسف الاستعمال المكثف للمضادات الحيوية غالبا ما يؤدي لوجود مخلفات كيميائية غير مرغوب فيها تسمى بقايا الموجودة في حليب البقرة المعالجة هذه البقايا قد تكون خطرا على صحة المستهلك من نوعية الحساسية،التسمم،و ايضا خسائر لصناعة وتحويل الحليب

ولهذا ركزنا في دراستنا و بحثنا على مجمل الطرق و التقنيات المستعملة في مراكز الالبان والمخابر لتحليل الحليب الطازج في ولاية بجاية

تحليل بقايا المضادات الحيوية

التحليل الفزيوكيميائية

التحليل المكر وبيولوجية

الكلمات المفتاحية:الحليب الطازج،بقايا المضادات الحيوية،الفزيوكيميائية،المكروبيولوجية

## Résumé

Produit vivant et fragile, Le lait est un produit à forte consommation qui doit répondre à des normes strictes pour assurer le plus haut niveau de qualité microbiologique et toxique. Le lait destiné à la consommation humaine doit être exempt de tout type de contamination. Malheureusement, l'utilisation intensive d'antibiotiques entraîne souvent la présence de résidus chimiques indésirables dans le lait de vache, qui peuvent être dangereux pour la santé du consommateur, tels que les allergies, les intoxications et les pertes subies par l'industrie laitière.

C'est pourquoi nous avons concentré notre étude sur les méthodes et techniques utilisées dans les filières laitières et dans les laboratoires d'analyse du lait frais à Bejaia.

- Analyse de résidus d'antibiotiques
- analyse physico-chimique
- Analyse microbiologique

**Mots-clés:** lait frais, résidus d'antibiotiques, physico-chimique, microbiologique

## Summary

Living and fragile product, Milk is a high-consumption product that must meet strict standards to ensure the highest level of microbiological and toxic quality. Milk intended for human consumption must be free of all types of contamination. Unfortunately, the intensive use of antibiotics often results in the presence of undesirable chemical residues in cow's milk, which can be dangerous to the consumer's health, such as allergies, intoxications and losses suffered by the dairy industry.

This is why we have concentrated our study on the methods and techniques used in the dairy sector and in the fresh milk analysis laboratories in Béjaia.

- Analysis of antibiotic residues
- Physico-chemical analysis
- Microbiological analysis

**Keywords:** fresh milk, antibiotic residues, physico-chemical, microbiological



# SOMMAIRE

Remerciement

Dédicaces

Résumé en français

Résumé en anglais

Résumé en arabe

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

## **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

INTRODUCTION .....	01
CHAPITRE1 : Le lait .....	03
1.1. Définition.....	03
1.2. Caractère physico-chimique du lait de vache.....	03
1.3. Composition chimique du lait.....	03
1.4. Composition biologique de lait.....	04
1.4.1. Les cellules de la sécrétion lactée (cellules somatiques).....	05
1.4.2. Les Micro-organismes.....	05
1.4.2.1. Flore non pathogène.....	05
1.4.2.2. La flore pathogène.....	06

<b>CHAPITRE 2 : Les antibiotiques.....</b>	<b>07</b>
<b>2.1. Généralités sur les antibiotiques.....</b>	<b>07</b>
<b>2.2. Classification et mode d'action des antibiotiques.....</b>	<b>08</b>
<b>2.2.1. Les bêta- lactamines .....</b>	<b>09</b>
<b>2.2.2 Les tétracyclines .....</b>	<b>09</b>
<b>2.2.3 Les aminosides .....</b>	<b>10</b>
<b>2.2 .4 : Les macrolides .....</b>	<b>11</b>
<b>2.2.5 Les quinolones .....</b>	<b>11</b>
<b>2.2.6. Les sulfamides .....</b>	<b>12</b>
<b>CHAPITRE 3 : les mammites.....</b>	<b>13</b>
<b>3.1. La définition.....</b>	<b>13</b>
<b>3.1.1. Mammite clinique .....</b>	<b>13</b>
<b>3.1.2 Définition d'une mammite subclinique.....</b>	<b>13</b>
<b>3.1.3 Mammite non spécifiques.....</b>	<b>13</b>
<b>3.2. Etiologie des mammites.....</b>	<b>13</b>
<b>3.3 Espèces bactériennes responsables.....</b>	<b>13</b>
<b>3.4 Pathogénie .....</b>	<b>14</b>
<b>3.4.1. Phase d'invasion.....</b>	<b>14</b>
<b>3.4.2. Phase d'inflammation.....</b>	<b>14</b>
<b>4.1 Diagnostic des mammites.....</b>	<b>15</b>

<b>4.1.1 Diagnostic des mammites cliniques.....</b>	<b>15</b>
<b>4.1.2. Diagnostic des mammites succiniques.....</b>	<b>15</b>
<b>4.2. Traitement des mammites.....</b>	<b>15</b>
<b>4.2.1. Traitement parentéral.....</b>	<b>15</b>
<b>4.2.2. Traitement intra mammaire.....</b>	<b>16</b>
<b>4.2.2.1. Les bétalactamines.....</b>	<b>16</b>
<b>4.2.2.2. Les tétracyclines.....</b>	<b>16</b>
<b>4.2.2.3. Les aminosides.....</b>	<b>16</b>
<b>4.2.2.4. Les macrolides.....</b>	<b>16</b>
<b>4.2.3. Traitement des mammites succiniques.....</b>	<b>16</b>
<b>4.2.4. Traitement au tarissement.....</b>	<b>16</b>
<b>4.3.1. Stratégies thérapeutiques.....</b>	<b>17</b>
<b>4.3.1.1. Traitement antibiotiques.....</b>	<b>17</b>
<b>4.3.1.2. Traitement sélectif.....</b>	<b>17</b>
<b>4.3.1.3. Traitement avec obturateur interne.....</b>	<b>17</b>
<b>4.4. Autres techniques.....</b>	<b>18</b>
<b>Chapitre 4 : Les risques liés à la préséance des résidus d'antibiotiques dans le lait.....</b>	<b>19</b>
<b>1. Introduction.....</b>	<b>19</b>
<b>2. Les risques pour la santé de consommateur.....</b>	<b>19</b>
<b>2.1. Les limites maximales résiduelles.....</b>	<b>20</b>

2.2. Le temps d'attente.....	20
2.3. Le risque toxicologique .....	21
2.4. Le risque allergique .....	21
2.5 Le risque bactériologique .....	22
2.5.1. Sélection de souches bactériennes résistantes .....	23
2.5.2. Modification de la microflore intestinale .....	23
3. Les risques technologiques .....	25

## **PARTIE EXPERIMENTAL**

1. INTRODUCTION .....	26
2. Objectif .....	27
3.1. Matériels et méthodes .....	27
3.1. A. La laiterie DJURDJURA .....	28
3.1. B. Laiterie SOUMMAM .....	28
3.2Materiels.....	28
3.3. Méthodes .....	29
4. Résultats .....	29
4.1. Analyses de résidus d'antibiotiques .....	29
A. Matériel de collecte .....	29
B. Matériel et appareillage de laboratoire .....	30
B.1. L'appareil Beta Star *s*Combo .....	30

<b>B.2 Beta star <sup>(R)</sup> CHR HANSEN</b> .....	<b>34</b>
<b>B.3.DELVO Test SP<sup>(R)</sup></b> .....	<b>38</b>
<b>B.4.PENZYM (appareil pour l'analyse de résidus d'antibiotiques)</b> .....	<b>42</b>
<b>4.2. Analyses physico-chimiques</b> .....	<b>44</b>
<b>1. Test d'ébullition</b> .....	<b>45</b>
<b>1.1. Mode opératoire</b> .....	<b>45</b>
<b>1.2. Expression des résultats</b> .....	<b>45</b>
<b>2. Mesure de PH</b> .....	<b>45</b>
<b>2.1. Mode opératoire</b> .....	<b>45</b>
<b>2.2. Expression des résultats</b> .....	<b>45</b>
<b>3. Détermination de l'acidité</b> .....	<b>46</b>
<b>3.1. Mode opératoire</b> .....	<b>46</b>
<b>3.2. Expression des résultats</b> .....	<b>47</b>
<b>4. D'détermination de la matière grasse par la centrifuge ou par méthode butyrométrique</b> .....	<b>47</b>
<b>4.1.Mode opératoire</b> .....	<b>48</b>
<b>4.2. Expression des résultats</b> .....	<b>48</b>
<b>5. Détermination de la masse volumique ou la densité</b> .....	<b>49</b>
<b>5.1. Méthode du pycnomètre</b> .....	<b>49</b>
<b>5.1.1. Mode opératoire</b> .....	<b>49</b>
<b>5.1.2. Expression des résultats</b> .....	<b>49</b>

<b>5.2. Méthode de lactodensimètre</b> .....	<b>49</b>
<b>5.2.1. Mode opératoire</b> .....	<b>49</b>
<b>5.2.2. Expression de résultats</b> .....	<b>50</b>
<b>6. Mesure de l'extrait saque ou la teneur en matière sèche total</b> .....	<b>51</b>
<b>6.1. Mode opératoire</b> .....	<b>51</b>
<b>7. Test d'amidon</b> .....	<b>52</b>
<b>8. Analyse microbiologiques</b> .....	<b>53</b>
<b>1. Méthode de dénombrement des microorganismes</b> .....	<b>53</b>
<b>1.1. Homogénéisation</b> .....	<b>53</b>
<b>1.2. Préparation des dilutions</b> .....	<b>53</b>
<b>1.3. Le dénombrement des colonies</b> .....	<b>53</b>
<b>2. Dénombrement de la flore totale FMAT (flore mésophile aérobies totale)</b> ..	<b>54</b>
<b>2.1. Principe</b> .....	<b>54</b>
<b>2.2. Mode opératoire</b> .....	<b>54</b>
<b>2.3. Lecture des résultats</b> .....	<b>55</b>
<b>3. Recherche et dénombrement des staphylococcus aureus</b> .....	<b>55</b>
<b>3.1. Principe</b> .....	<b>55</b>
<b>3.2 Mode opératoire</b> .....	<b>55</b>
<b>3.3 Expression des résultats</b> .....	<b>55</b>
<b>3.4 Test de la catalase</b> .....	<b>56</b>
<b>4. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux</b> .....	<b>56</b>
<b>4.1. Principe</b> .....	<b>56</b>
<b>4.2. Mode opératoire</b> .....	<b>56</b>

<b>4.3. Expression des résultats.....</b>	<b>56</b>
<b>5. Discussion.....</b>	<b>57</b>
<b>6. Conclusion.....</b>	<b>61</b>
<b>Références bibliographiques</b>	

## Liste des figures

**FIGURE1**: carte administratif de la willaya de Bejaia

**FIGURE2** : la collecte de lait

**FIGURE3** : le flacon de lait a laboratoire

**Figure4** : matériel et appareillage de laboratoire

**Figure5** : remplir la pipette avec les 3ml de lait

**Figure 6** : le remplissage de tube en plastique avec le produit (le lait)

**FIGURE7** :l'incubation de tube après avoir mettre la bandelette

**FIGURE8** :la lecture selon la notice

**FIGURE9** : la lecture lorsque le test est négatif

**FIGURE10**: la lecture lorsque le test est négatif la barre correspondant aux Béta lactame est gommé (éliminé) donc présence d'antibiotique Béta lactame dans l'échantillon de lait

**FIGURE 11** : Matériel et appareillage de laboratoire (appareil Beta Star (R) CHR HANSEN)

**FIGURE 12** : le tube contenant le réactif et les pipettes

**FIGURE 13** : La boîte des bandelettes et l'échantillon de lait

**FIGURE 14**: mettre la bandelette dans le tube après avoir été réchauffé et le régler pour 10 minutes d'incubation

**FIGURE 15** :l'incubation de lait et l'analyse d'antibiotiques

**FIGURE 16** : La lecture quand le test est négatif

**FIGURE 17**: La lecture des bandelettes après incubation (le résultat)

**FIGURE 18** :l'appareil DELVO Test SP(R)

**FIGURE 19** : les matériels de l'appareil DELVO Test SP (R)

**FIGURE 20** : mettre 0.1 ml de lait dans les tubes ou les ampoules

**FIGURE 21** : à 64 °c mettre le tube dans DELVO Test pendant 3 h

**FIGURE 22** : après 3 h l'appareil sonne et s'affiche end sur l'écran



**FIGURE 23** : les résultats d'analyse de résidus d'antibiotiques

**FIGURE 24**: le témoin négatif

**FIGURE 25**: témoin positif

**FIGURE 26** : l'appareil d'analyse d'antibiotiques PENZYM

**FIGURE 27** : appareil de PENZYM

**FIGURE 28**: le test d'ébullition

**FIGURE 29** : Mesure de PH

**FIGURE 30**: appareillage de laboratoire

**FIGURE 31** : le titrage avec la soude NAOH.

**FIGURE 32** : Butyromètre et la centrifuge

**FIGURE 33** : Le lactodensimètre

**FIGURE 34** : l'introduction de lactodensimètre dans l'éprouve

**FIGURE 35** : le dessiccateur

**FIGURE 36** : le dessiccateur (appareil de mesure l'extrait saque)

**FIGURE 37** : Mettre 2g de lait dans la boite de pétrit

**FIGURE 38** : La lecture des résultats au final

**FIGURE 39**: test d'amidon

**Figure 40** : la stérilisation matérielle de laboratoire

**FIGURE 41** : préparation des boites de pétries

**FIGURE 42** : mettre de gélose dans boite de pétries

## Liste des tableaux :

**Tableau 1** : La composition moyenne de lait de vache (10)

**Tableau N°2**: date de découvertes de quelques molécules d'antibiotiques (MAILLARD 2002)

## Liste des abréviations

N° : numéro

ml : millilitre

l : litre

g : gramme

UI : Unité international

mg : milligramme

cm : centimètre

min : minute

h : heure

% : pourcentage

E.coli : esherishia coli

C°:degree

Staff:staffilococcus

Labos:laboratories

PCA:gélose

Nacl :chlorure de sodium

Naoh:Hydroxyde de sodium

CHoH:Termium plus

H2O: Eau

H2SO4: Acide sulfurique

CH3: méthyl

CooNa:Acétate de sodium

# **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

## INTRODUCTION

Le lait est un produit naturel, pur, blanc, il assure chez tous les mammifères la couverture de tous les besoins alimentaires des nouveau-nés. Il représente la première matière de base pour les industriels de la filière laitière. Il est le produit de base de l'alimentation humaine et une des voies d'élimination des médicaments et principalement après les traitements intramammaires largement pour lutter contre les mammites (Cauty, I, et Pureau, J, M, 2005)

Les normes qualitatives et législatives des produits laitiers sont très exigeantes et ceci pour garantir aux consommateurs une innocuité totale (Cauty, I, et Pureau, J, M, 2005)

Les résidus d'antibiotiques dans le lait doivent être une source de préoccupation des pouvoirs publics, surtout lorsqu'on connaît leurs effets néfastes sur la santé humaine (antibiorésistance, problèmes allergiques, etc.) sur la technologie laitière (pertes économiques Cauty, I, et Pureau, J, M, 2005)

En outre, un lait contenant des antibiotiques ou des résidus d'antibiotiques n'est pas apte à la transformation en lait caillé, yaourt ou fromage, qui nécessite le développement de certaines bactéries (par exemple les lactobacilles dans le cas du yaourt). Alors il devient un milieu hostile aux germes, lors de l'ensemencement. Les bactéries meurent ou s'affaiblissent occasionnant ainsi les défauts de fermentation (LAMONTAGNE et al, 2002)

La mammité est une maladie qui affecte un grand nombre de vaches laitières partout dans le monde. Un sondage réalisé dans l'ensemble des principaux pays producteurs de lait indique que la mammité de type clinique touche chaque année 15 à 20% des vaches (Phelps, 1989). On parle trop souvent de La mammité alors qu'on devrait plutôt parler Des mammites. C'est un atout pour le producteur laitier que de savoir distinguer les différents types de mammites et de connaître les conditions propices au développement des microorganismes qui en sont responsables car cela va déterminer les actions à prendre autant au niveau de la prévention que des traitements. (Carole et Christian Buchmann 2006)

Aujourd'hui, il est généralement reconnu qu'il ne faut tolérer aucune trace d'antibiotiques, aussi légère soit-elle dans le lait destiné à la consommation humaine (Carole et Christian Buchmann 2006)

La réglementation nationale stipule l'absence de résidus d'antibiotiques dans le lait (le journal officiel de la république Algérienne N°35 du 27 mai 1998)

En effet, l'Algérie ne produit à la moyenne qu'un tiers de la consommation annuelle de la population en lait. En revanche est le plus important consommateur du lait au Maghreb, avec une consommation moyenne de 110 litres par habitant et par an, estimée à 115 litres en 2010 (FAO, 2007).

La production nationale de lait cru et ses dérivés n'arrivent toujours pas à répondre aux besoins de la population estimée à 5 milliards de litres de lait annuellement. La capacité de production des éleveurs de ce produit a très large consommation demeure insuffisante (Ministère de l'agriculture 2012).

Pour toutes ces raisons, il importe que les denrées d'origine animales, et notamment le lait et les produits laitiers soient exempts de toute trace d'antibiotiques lors de leurs mises sur le marché (Ministère de l'agriculture 2012)

Pour cela, L'industrie laitière doit disposer de tests simples, rapides et fiables pour détecter la présence des résidus d'antibiotiques et ainsi pour noter la charge microbiennes et différentes mesures physico-chimiques dans le lait (Ministère de l'agriculture 2012)

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

- Une partie bibliographique, traitant le lait, les mammites, les antibiotiques et leur usage ainsi que leurs résidus dans le lait et leurs risques.
- Une partie expérimentale réservée à la présentation, à l'interprétation de différentes méthodes utilisées en analyses d'antibiotiques, physico-chimiques, et microbiologiques dans le lait cru et la discussion des résultats correspondent à la recherche dans la willaya de Bejaia

# CHAPITRE1 : Le lait

## 1.1. Définition

Le lait est un aliment de premier ordre .Chez tous les mammifères il assure à eux seul la couverture de tous les besoins alimentaires des nouveau -nés (Lederer J, (1977)

En 1983, La fédération internationale de laiterie a proposé la définition suivante pour le lait :\*produit de la sécrétion mammaire, obtenue par une ou plusieurs traitees sans aucune addition ou soustraction \*(Hanzen CH 1999) .La vache assure de très loin la plus grande part de la production mondiale (90%)(FAO 1990), (Alais ,C.H.Linden ,G.et Miclo ,L .2003) Ce lait est le produit laitier le plus consommé et le plus étudié en nutrition humaine (Fao 1990)

## 1.2. Caractère physico-chimique du lait de vache

Le lait est un liquide opaque de couleur blanche, plus ou moins jaunâtre selon la teneur en carotène de sa matière grasse .Sa saveur est douce et son odeur faible, mais identifiable .Le ph est légèrement acide sort de la mamelle lors de la traite avec 6.55 et une température de 36.99 °c.

Le lait est un milieu hétérogène dans lequel trois phases distinctes coexistent (Debry, G, (2001) :

- La phase aqueuse, qui contient l'eau (87% du lait) et les produits solubles pouvant donner naissance au lactosérum (lactose, sels, protéines solubles, composés azotés non protéiques, biocatalyseurs tels que vitamines hydrosolubles ou enzymes)
- La suspension colloïdale micellaire (2,6%), qui peut donner naissance au caillé obtenu par la coagulation des caséines suite à l'action de micro-organisme 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 effets de gravité

## 1.3. Composition chimique du lait

Le lait est constitué essentiellement d'eau, de glucides (lactose), de protéines, de lipides et de sels dont les proportions différentes selon les espèces et des races (Tableau n°1)

**Tableau 1** : La composition moyenne de lait de vache (Anonyme 2000)

<b>Les constituants biochimiques</b>	<b>Quantités</b>
<b>Eau</b>	900 à 910g/l
<b>Glucides (lactose)</b>	47 à 50g/l
<b>Lipides</b>	35 à 45g/l
glycérides	34 à 44g/l
phospholipides(lécithine)	0,5g/l
<b>Protides</b>	30 à 36 g/l
Caséine	27 à 30 g/l
protéines solubles (albumines globulines)	5,6 g/l
Substances azotées non protéiques	1,5g/l
<b>Sels</b>	8 à 10 g/l
Phosphate	30 g /l
Chlorure	15g /l
<b>Citrates</b>	2 g/l
<b>vitamines</b>	Très variant
Vitamine A	1500UI
Vitamine D	20UI
Vitamine E	0,8
Vitamine K	Traces
VitamineB1 (thiamine)	0,45mg
VitamineB2(riboflavine)	1,5 mg
VitamineB9(pyroxène)	0,4mg
VitamineB12	0,003mg
Vitamine PP(niacine)	0,9mg
Vitamine acide pantothénique	3,5mg
Vitamine C (acideascorbique)	20mg
<b>Enzymes</b>	Traces
<b>Pigments (carotène, xanthophylle)</b>	Traces
<b>Gaz dissous (anhydride carbonique, azoté, oxygène)</b>	Traces
<b>Valeurs caloriques</b>	700-730g/l

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

#### **1.4. Composition biologique de lait**

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

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



### **1.4.1. Les cellules de la sécrétion lactée (cellules somatiques)**

Comme tout liquide biologique, le lait, même normal contient des cellules somatiques elles sont de nature hétérogène .Outre les cellules d'origine sanguines (PMN, macrophages, le lait contient également les cellules épithéliales qui proviennent de la desquamation de l'épithélium glandulaires ou des canaux lactifères, ces dernières ne jouent aucun rôle physiologique particulier (Rupp, R, 2002)

La détermination de seuil est très variable mais le seuil d 200 000 cellules /ml semble le plus utilisé à travers le monde (Bradley, A, J, et Green M, J,2004 )

La présence des cellules somatiques ne présente, elle-même, aucun pouvoir pathogène ou toxique mais elle est le signe révélateur d'existence de germes ou de produits indésirable (Badinand, F.1994)

### **1.4.2. Les Micro-organismes**

Le lait contient peu de micro –organismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, à partir d'un animal sain, il s'agit essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores(Jay ,J,M,1986)(Robinson ,R,K, 1981)).Par contre chez l'animal malade d'autre micro-organismes peuvent se trouver dans le lait et sont généralement pathogène et dangereux du point de vue sanitaires (Larpent ,J,P1996)

Les bactéries généralement majoritaires de la flore totale peuvent être classées en deux grands groupes, flore non pathogène et flore pathogène (Monosallier, A, 1994)

#### **1.4.2.1. Flore non pathogène**

En général ,93% des laits contiennent (Sommelier, L, et Heuchel, V, 1999)

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

Cette flore constitue la flore de transit sans grande conséquence pour les conservations ou les conservations ou les transformations ultérieures du lait (Monosallier, A, 1994)

### 1.4.2.2. La flore pathogène

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

- Germes contagieux (*Streptococcusagalactiae*, *Streptococcus aureus*)
- Germes d'environnements (*Escherichia coli*,*Streptococcusuberis* ,  
*Streptococcus dysgalactiae*)

D'autres germes, responsables de maladies infectieuses contagieuses, induisent également de temps à l'autre des troubles mammaires (Hanzen, CH.2004).

## CHAPITRE 2 : Les antibiotiques.

### 2.1. Généralités sur les antibiotiques.

Le mot même \*antibiotique\*fut créé en 1889 par Paul VUILLEMIN, qui proposa également le terme \*antibiotique\*pour le microorganisme qui provoquant l'antibiose.

Un antibiotique est un dérivé produit par le métabolisme de micro-organisme possédant une activité antibactérienne à faible concentration et n'ayant pas de toxicité pour l'hôte .cette notion a été étendue aux molécules obtenues par hémisynthèse.

Cependant l'usage fait que l'on nomme antibiotique, toute substance d'origine naturelle ou synthétique possédant une activité antibactérienne et qui n'est pas toxique pour l'hôte humaine ou animale (BRYSKIER ,1999)

Les antibiotiques sont des agents dont la toxicité sélective résulte d'un mode d'action spécifique. Ils agissent à faible dose pour inhiber la croissance des micro-organismes ou pour les détruire. Ils peuvent être produits de manière naturelle par des champignons et des bactéries ou obtenus par synthèse et hémisynthèse. Nous avons recours à leur utilisation de 2 manières selon leur spectre d'activité, c'est pour cela que l'on oppose les traitements documentés aux traitements dits probabilistes :

- Les traitements probabilistes : sont administrés sans avoir une connaissance précise de la bactérie impliquée, ni même de sa sensibilité aux antibiotiques. On utilisera alors les antibiotiques dits à "large spectre", le choix de la molécule est basé sur les microorganismes infectants les plus probables avec un risque minimum d'allergie ou de toxicité.
- Les traitements documentés sont administrés après avoir déterminé la sensibilité des bactéries à l'antibiotique, ce qui sous-entend d'avoir préalablement isolé la bactérie en cause. Ce traitement peut être de première intention ou faire suite au traitement probabiliste une fois les données nécessaires connues (Demoré B, Grare M, Duval R. Elsevier Masson; 2012)

Les dates de recouvertes de quelques molécules sont rappelés dans le tableau N°1

#### **Tableau N°1 : date de découvertes de quelques molécules d'antibiotiques (MAILLARD 2002°**

Micro –organisme	Famille	Molécule	Date de découverte
Penicillium	Pénicillines	Pénicilline	1929
Streptomyces	Aminosides	Streptomycine	1944
		Néomycine	1949
		Kanamycine	1957
		Tobramycine	1967
		Amikacine	1975
	Tétracycline	Chlorotétracycline	1948
		Oxytétracycline	1949
	Quinolones	Acide nalidixique	1962
Cephalosporum	Phénicolés	Chloramphénicol	1946
	Macrolides	Erythromycine	1952
	Céphalosporine	Céphalotine	1954

## 2.2. Classification et mode d'action des antibiotiques

Selon BOURIN et al (1994), les antibiotiques sont définis par leur :

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

Sont classé dans les familles et parfois des groupes dans lesquels les représentants possèdent des caractères voisins ou identiques : la nature chimique et l'origine, le spectre d'action, le mécanisme d'action, les mécanismes de résistances, les effets secondaires (LARPENTet SANGLIER ,1989)

Les principales familles actuellement utilisés en thérapeutique sont :

- Lesbetalactamines (pénicilline et céphalosporine).

- Les aminosides (streptomycine, neomycine, gentamycine).
- Les antibiotiques polypeptidiques (colistine, bacitracine).
- Les tétracyclines (oxytétracycline, tétracycline).
- Les macrolides (tylosines, érythromycine).

Ainsi que les principaux antibactériens de synthèse qui sont :

- Les sulfamides (sulfaguanidine)
- Les quinolones (flumiquine)

### **2.2.1 Les bêta-lactamines :**

Selon PUYT 520002°, les bêta-lactamines représentent les antibiotiques les plus actifs et les moins toxiques, en fonction de leurs origines et de leurs structure, deux groupes d'importance inégale a distingué :

\_ Les pénicillines produites par des moisissures du genre pénicillium.

\_ les céphalosporines, d'importance moindre en médecine vétérinaire de genre céphalosporium. Le noyau de base est le cycle bêta-lactame, les antibiotiques de cette famille bactéricides, ils se répartissent en trois groupes :

- Groupe I : il comporte le cycle bêta-lactame est un cycle thiazoline (ex : spectre étroit pénicilline M et pénicilline V)
- Groupe II : il comporte le cycle lactame est un cycle dihydrothiazine (ex ; spectre larges pénicilline A)
- Groupe III : il comporte un noyau limité au cycle bêta-lactame (céphalosporine)

### **❖ Mécanisme d'action :**

Les bêta-lactamines agissent au niveau de la paroi bactérienne en inhibant la dernière étape de la synthèse de peptidoglycane entraînant une lyse bactérienne (BOURIN et al., 1994)

### **2.2.2 Les tétracyclines :**

Les tétracyclines sont bactériostatiques. Elles pénètrent bien dans les cellules, ces molécules présentent une grande homogénéité.

Selon BOURIN et al (1994), il y a les cyclines naturelles et les cyclines semi naturelles.

➤ **Cycline naturelles :**

- Chlorotétracycline (Auréomycine)
- Tétracycline base (Tétracycline)

➤ **Cycline semi-synthétique :**

- oxytétracycline (Terramycine)
- Doxycycline (Vibramycine)

❖ **Spectre d'activité :**

C'est avec la tétracycline qu'est apparu le terme \* a très large spectre \*.

Les tétracyclines sont indiqués pour les traitements de la pasteurellose, brucellose, Chamydiosecoxielose mycoplasmes leptospera et borrelia

Ils ont une grande activité pour la majorité des bacilles à gram positif aérobies et anaérobies sporulés cependant la sensibilité in vitro doit être vérifiée

Elles sont actives sur plasmodium falciparum avec un effet synergique avec la quinine (Bryskier, 1999)

❖ **Mécanisme d'action :**

Le mécanisme d'action des tétracyclines réside dans l'inhibition des synthèses protéiques de nombreuses épreuves expérimentales notamment en système acellulaire ont été obtenues un mécanisme intense de cette action paraît être l'inhibition de la fixation de complexe aminoacide –ARNT synthétase sur les complexes ribosomes messenger (DUVAL et SOUSSY, 1985, BERGOGNE et DELLAMONICA, 1995)

### **2.2.3 Les aminosides :**

Selon BRYSKIER (1999) se sont des hétérosides naturels formés par un ou plusieurs glycosides liés à un aminocyclitol. Il existe plusieurs centaines de molécules naturelles et hémisynthétiques. Elles sont classées par UMEZAWA en 1939 puis par BRYSKIEUR en 1995 en fonction de la structure chimique centrale en trois classes : Streptomine 2 désoxystreptomines et streptidine .

❖ **Mécanisme d'action :**

Il perturbe la synthèse des protéines au niveau de la fraction 30S du ribosome entraînant la destruction bactérienne. Il est bactéricide.

### ❖ Spectre d'action :

Le spectre d'action des aminosides est large. Agissent sur les bacilles gram négatif aérobies notamment les entérobactéries et sur les bacilles a gram positif (*Listeria*).l'action est inconstante sur lescocci en général .ils sont actif sur les staphylococcus aureus sécréteurs de pénicillinase sur les cocci à gram négatif, *Neisseriameningeridis* et *Neisseria*, GONORRHOEAE, Ces antibiotiques sont inactifs sur les streptocoques pneumocoques les entérocoques et les anaérobies.

### 2.2.4 : Les macrolides :

Selon BOURIN et al (1994) les macrolides sont des antibiotiques fréquemment utilisés en pratique de ville à cause de leurs facilités d'emploi ; ils ont un spectre étroit, et sont parfaitement actifs sur les germes intracellulaires, ils ont une excellente pénétration tissulaires

### ❖ Spectre d'activité :

Ces substances ont un spectre relativement étroit limité aux germes suivants :

- Cocci à Gram positif (streptocoques, staphylocoques mini S)
- Cocci a gram négatif (*Neisseriamaroxielaclorrhalis* )
- Bacile a gram négatif (*Bredetellacampylobacter*l'*Hilicobacter* )
- Bacilles a gram positif corynebacterie ,*Boccilusanthraxis* )
- Germes anaérobies (*Propionibacteruimaureus*, *Eubacteruim*)
- Germes intracellulaires (*Mycoplasmapneumonea* )

### ❖ Mécanisme d'action :

Les macrolides agissent on inhibant la synthèseprotéiquebactérienne, il se fixe sur l'unité 50 8 de ribosomes et bloquent ainsi la réunion de dernier de dernier stade de la synthèse ils sont bactériostatique.

### 2.2.5. Les quinolones :

Selon BRYSKIER (1999), les quinolones ont une structures générale dérivant de l'acide dlydro 1,4 oxo 4 quinoléine carboxylique, la première molécule de quinolones est ne gramme (acide nalidixique), Depuis, plusieurs molécules ont été synthétisées pour exalter le pouvoir antimicrobien et améliorer les caractéristiques pharmacocinétiques.

Schématiquement les quinolones sont classées sur la base de l'étendue de spectre antibactérien et la nature florée ou non de squelette en deux groupes :

- Les quinolones de première génération
- Les quinolones de deuxième génération

### ❖ Mécanisme d'action :

Les quinolones inhibent la synthèse de l'ADN de la bactérie en se fixant sur le complexe \* ADN-ADNgyrase \*en empêchant la réplication et transcription de l'ADN bactérien se sont des antibiotiques bactéricides.

### ❖ Spectre d'activité :

Les quinolones de 1<sup>ère</sup> génération ont à peu le même spectre d'activités dirigé essentiellement contre les bactéries à gram négatif excepté pseudomonaspp

## 2.2.6. Les sulfamides :

Selon DUVAL ET SOUSSY (1985), ils se constituent d' (un noyau paraminobenzène sulfamide avec un radical R déterminant leurs pharmacocinétique et leurs classification pratique selon leurs durée d'action et /ou leurs site d'action.

### ❖ Mécanisme d'action :

Ils ont une activité bactériostatique, Ils rentrent en compétition avec l'acide paraminobenzoïque (PAB) bloquant ainsi l'action de la synthétase

### ❖ Spectre d'activité :

Il est théoriquement large :

- La majorité des bactéries à Gram positif ou négatif.
- Mais nombreuses sont actuellement les souches bactériennes résistantes ; la résistance s'étend à tous les sulfamides.



## **CHAPITRE 3 : les mammites**

### **3.1. La définition**

La mammite est une inflammation d'un ou plusieurs quartiers de la mamelle quelle qu'en soit l'origine traumatique, chimique, physique, ou biologique et le degré de la gravité clinique ou sub-clinique, l'évolution chronique, aigue ou la terminaison c'est-à-dire la guérison apparente réelle ou la mort de l'animal (Hanzen, CH.2004)

#### **3.1.1. Mammite clinique**

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

Dans les cas aigus, des signes généraux peuvent surajouter au tableau clinique (fièvre, abattement, troubles nerveux par exemple)(Seriey ,F,1995)

#### **3.1.2 Définition d'une mammite subclinique**

Ce sont des infections mammaires asymptomatiques .Aucune modification macroscopique du lait, Les germes responsables sont essentiellement le gram positif, on peut aussi trouvée des entérobactéries .ces mammites sont identifiées par des examens complémentaires et surtout par les résultats de CCS marquant l'inflammation de parenchyme mammaire ou des analyses bactériologique de lait mettant en évidence l'infection (Seriey, F, 1995)

#### **3.1.3 Mammite non spécifiques**

Ce type de mammite se présente lorsqu'aucun germe pathogène n'est isolé et identifié (Weisen J, P, 1974)

### **3.2. Etiologie des mammites**

L'infection de la glande mammaire est due à la pénétration de micro-organismes pathogène par le canal du trayon, plus de 2000 espèces du germes ont été identifié, qui sont d'une importance inégale basée sur la combinaison de la fréquence, de la persistance et de la sévérité des infections qui varient selon l'espèce en cause.(Le Roux ,Y,1999)

### **3.3Espècesbactériennes responsables**

On distingue les agents pathogènes majeurs et les agents pathogènes mineurs (Bouchard, E, 2003))

## 1) Les agents pathogènes majeurs :

a) Les agents pathogènes majeurs contagieux comprennent :

- Staphylococcus aureus (coagulase +)
- Streptococcus agalactiae

b) Les agents pathogènes majeurs d'environnement comprennent :

- Escherichia coli, Klebsiella ;
- Streptococcus uberis ;
- Streptococcus dysgalactiae
- Arcanobacterium pyogenes

## 2) Les agents pathogènes mineurs :

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

### 3.4 .Pathogénie

Le processus infectieux passe par trois phases :

#### 3.4.1. Phase d'invasion

Le stade d'invasion est celui où les germes passent de l'extérieur du canal du trayon et finissent par s'établir dans la partie inférieure de la cavité de trayon, hormis le cas des mammites d'origine hématogène (mammites brucellique tuberculeuse)(Noireterre Ph 2006))(Flache Hugues 2002))(Weisen J,P,1974)

#### Phase d'infection

Les germes se multiplient rapidement et envahissent le tissu glandulaire, une population bactérienne s'installe alors dans le canal du trayon, puis la multiplication et l'extension au tissu mammaire peut se produire fréquemment ou épisodiquement selon la sensibilité de ce tissu (Cullen .G.1996)

#### 3.4.2. Phase d'inflammation

Dans ce cas la mammites clinique se manifeste et /ou la numération leucocytaire du lait est élevée (Cullen .G.A, 1996), En général, la présence d'un germe constitue un obstacle au développement des autres germes .c'est la raison pour laquelle dans une exploitation, la flore se limite habituellement à une, voire deux espèces pathogènes.(Hanzen CH 1999)

## **4.1 Diagnostic des mammites**

Après avoir réalisé l'examen général de l'animal, on effectue un examen minutieux de la mamelle, cette examen comprends une inspection a distances de la mamelle, une population superficielle puis profonde, avec notamment une palpation des nœuds lymphatiques retro mammaire de la glande et des trayons on réalise également un examen du lait en trayant les premiers jets dans un bol à fond noir ( Matthews .J.199)(David ,V,et de Cremoux ,R,2002)(Winkelmann ,J,2005))

### **4.1.1 Diagnostic des mammites cliniques**

Ce diagnostic repose sur la mise en évidence des symptômes caractéristiques de l'inflammation de la mamelle, les signes généraux sont présents lors de mammites aigue et surtout suraigües, lorsque l'inflammation est modérée les signes généraux sont absents et seuls sont présents les signes fonctionnels, ces modifications concernent l'aspect, la coloration et l'homogénéité u lait.(Kelly ,W,R,1971)

### **4.1.2. Diagnostic des mammites succiniques**

Le diagnostic des mammites succiniques est basé sur : (Radostits, O,M,Blood ,DCet Gay ,C,C.1997)

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

## **4.2. Traitement des mammites**

La stratégie curative repose essentiellement sur l'antibiothérapie. Cependant .cette dernière doit répondre à certains critères bactériologiques, pharmaceutiques, cliniques et enfin économiques.(Charron ,F,1989)(Hanzen ,CH.2002)

Traiter correctement les mammites cliniques en lactation donc également prévenir une infection mammaire au sein d'un troupeau, l'objectif de ce traitement n'est pas uniquement à la rémission des symptômes cliniques, mais c'est également l'élimination de l'infection, ceci nécessite un traitement correctement réalisé.(Rainard ,P,1979)

### **4.2.1. Traitement parentéral**

Préconiser lorsque l'animal présente des signes généraux et /ou lorsque la mamelle est très enflée (diffusion d'antibiotiques par voie intra mammaire est impossible).utilisé surtout lors de mammite suraigüe ou aigue afin de prévenir l'apparition d'une septicémie ou d'une bactériémie (Ziv, G, 1980)(Lacombe ,J,F,1993))

## **4.2.2. Traitement intra mammaire**

C'est le mode de traitement le plus utilisé, la diffusion de produit injecté dépend de trois facteurs : l'état inflammatoire de la glande , la vacuité des canaux lactifère et la nature de l'excipient .Le choix de la molécule se fera en fonction de germe causal (Rouxel, T, 2001))

### **4.2.2.1. Les bétalactamines**

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

### **4.2.2.2. Les tétracyclines**

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

### **4.2.2.3. Les aminosides**

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

### **4.2.2.4. Les macrolides**

Ont le même spectre que les pénicillines et ce sont les plus indiqués car leur diffusion intra cellulaire est excellente ainsi que leur persistance (Berg, C, 2001)

## **4.2.3. Traitement des mammites succiniques**

Pour des raisons économiques et épidémiologiques, le traitement des mammites sub-cliniques n'a pas lieu d'être préconisé en cours de lactation, il doit être mis en place lors de tarissement, par l'administration d'une suspension antibiotique intra-mammaire (Dedert, A, 2001))

## **4.2.4. Traitement au tarissement**

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

Par contre si la vache présente une mammite sub-clinique au tarissement, on aura un objectif supplémentaire curatif : la guérir bactériologiquement de cette infection. (Bradley, A, J, et Green, M, J, 2004))

### **4.3.1. Stratégies thérapeutiques**

#### **4.3.1.1. Traitement antibiotiques**

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

- **L'action curative** : dirigée vers les germes à Gram +. Le traitement au tarissement pourra être plus efficace qu'un traitement au cours de la lactation car on pourra utiliser une dose plus importante d'antibiotiques sans crainte de résidus dans le lait et le contact sera étroit et prolongé avec le germe du fait de l'involution mammaire et de l'absence d'effets chasse-lait. (Lepoutre, D, 1992))
- **L'action préventive** : dirigée contre les germes d'environnement particulièrement à Gram – comme E. coli (Serieys, F, 1995))

Le traitement antibiotique offre également une protection non négligeable aux quartiers non infectés des vaches infectées. (Browning, J, W, Mein, G, A, Barton, M, Nicholls, T, J, et Brightling, P, 1990)

#### **4.3.1.2. Traitement sélectif**

Il consiste à ne traiter au tarissement que les vaches considérées comme infectées. Ce système a un intérêt économique (Browning, J, W, Mein, G, A, Brightling, P, Nicholls, T, J, et Barton, M, 1994). Mais a aussi une importance au niveau de la santé publique avec la demande croissante d'une baisse de l'utilisation des antibiotiques pour les animaux destinés à la consommation humaine, afin de limiter les résidus dans les denrées d'origine animale. (Browning, J, W, Mein, G, A, Barton, M, Nicholls, T, J, et Brightling, P, 1994)

#### **4.3.1.3. Traitement avec obturateur interne**

Il s'agit d'une substance non antibiotique inerte placée dans le canal du trayon, après administration, il obture le trayon afin d'empêcher les bactéries de pénétrer, il a pour fonction de mimer le bouchon de kératine du trayon (Bradley, A, J, et GREEN, M, J, 2002)

Il administre dans les trayons après la dernière traite et s'enlève juste avant le vêlage, Ce traitement ne peut s'effectuer que sur des vaches saines car il n'a aucune fonction curative, son grand intérêt est son rôle préventif (Berry E,A.et Hillerton ,J,E,2002)

#### **4.4. Autres techniques**

La vaccination a pu être envisagée mais il en résulte une augmentation des immunoglobulines du lait sans diminuer les infections.(Smith K,L,Todhunter ,D,A,et Schoenberger ,P,S,1985)

## **Chapitre 4 : Les risques liés à la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait**

### **1. Introduction :**

Dès les années 60, ces résidus d'antibiotiques dans le lait ont été recherchés car ils posaient des problèmes et des obstacles dans les processus de transformation du lait très rapidement. La détection des inhibiteurs a été incluse dans la définition de la qualité du lait et le risque de sa qualité ainsi le risque associé à ces résidus qui a été pris en compte dans le cadre de protection de la santé des consommateurs (SACHOT et PUYT, 2001).

Selon ECCKMOTTE (1978), l'aspect hygiénique de lait en tant que denrée alimentaire d'origine animale (D.A.O.A), en rapport avec l'antibiotique des mammites, relève ces résidus d'antibiotiques dans le lait qui viennent des :

- Problèmes sanitaires (santé de consommateur)
- Problèmes technologiques (procédés de transformation laitière)

### **2. Les risques pour la santé de consommateur ;**

D'après LAURENTIE et SANDERS (2002), les réflexions sur les résidus et les soucis de protéger la santé des consommateurs ont abouti au développement de deux concepts complémentaires ;

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

Ces deux concepts sont appliqués dans toute l'union Européenne et reconnu internationalement dans le cadre du codex alimentaires

#### **2.1. Les limites maximales résiduelles :**

La limite maximale de résidus est la concentration maximale en résidus, résultant de l'utilisation d'un médicament vétérinaire, que la communauté européenne considère sans risque sanitaire pour le consommateur et que ne doit pas être dépassée ou sur les denrées alimentaires (LAURENTIE et SANDERS 2002)

#### **2.2. Le temps d'attente :**

Le temps d'attente TA est défini dans la directive 81 /851/CEE (1990), il correspond \*au délai entre la dernière administration de la spécialité à des animaux sous les conditions normales d'emploi et la production de la spécialité à des animaux sous les conditions normales d'emploi et la production de denrées alimentaires issues de ces animaux ,afin de garantir que ces denrées ne contiennent pas de résidus de quantités supérieures aux LMR\*.

Le respect du temps d'attente doit permettre de commercialiser dans la majorité des cas des denrées qui présentent des concentrations en résidus inférieures ou très proches de la limite maximale de résidus, garantissant ainsi la protection de la santé du consommateur. Il est établi en fonction de la posologie et de la voie d'administration de l'antibiotique. Toute modification de la posologie ou de la voie d'administration modifiera le délai d'attente du produit (LAMONTAGNE et al, 2002).

Les effets des résidus des antibiotiques dans le lait sur l'organisme humain dépendent de deux facteurs (CHATAIGNER et STEVENS, 2002) :

- De la transformation *in vivo* de la molécule d'origine, conduisant à la formation d'un métabolite ayant perdu ses propriétés antibactériennes mais possédant un pouvoir allergène résiduel. La toxicité de ce résidu peut être augmentée ou diminuée par rapport à celle de la molécule d'origine.
- De la *\*toxicité\** disponibilité qui correspond à la forme sous laquelle le résidu se trouve dans l'organisme. Il peut être libre ou lié à des molécules. Il est alors plus ou moins accessible à la réponse immunitaire de l'organisme, plus ou moins prédisposé à s'accumuler au niveau de certains organes ou bien à être éliminé (DUCLUZEAU, 2000).

Selon leur origine, les substances inhibitrices se retrouvant dans le lait peuvent être classées en trois grandes catégories (ROUSSEL, et al, 2006)

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

### **2.3. Le risque toxicologique :**

La consommation de lait et de produits laitiers contenant des antibiotiques, tels que pénicillines, tétracyclines, est un danger potentiel pour la santé des consommateurs (BERCHE, LOUIS et SIMONET, 1991).

Les tétracyclines entraînent une modification de la flore intestinale humaine, les résidus de pénicilline en particulier forment de complexes avec certaines protéines (albumines) par liaisons covalentes, ils sont alors masqués par la structure tertiaire de l'albumine et deviennent inaccessible aux anticorps, il est donc peu probable que des dérivés significativement immunogènes puissent être formés (CHATAIGNER et STEVENS, 2002)

La consommation de produits contenant des résidus d'antibiotiques (cycline, sulfamicine) diminuant l'immunité naturelle préétablie, et peut entraîner une atteinte du système nerveux, des os, des dents (coloration des dents en jaune), du foie et du sang (BERCHE, LOUIS et SIMONET, 1991)

Les risques toxiques dans ce cas résultent de l'absorption répétée de résidus d'antibiotiques retrouvés dans les aliments et de leur accumulation dans l'organisme humain, c'est pourquoi, la



dose ingérée et la nature de l'antibiotique administré jouent un rôle très important .les manifestation de cette toxicité dépendent de la dose administré et de la voie d'administration ,Ce risque est inexistant en ce qui concerne les résidus d'antibiotiques dans le lait car les quantités retrouvées dans le lait sont toujours trop faibles (LABIE,1981 ;GAUDIN ,1999)

Il faut cependant, faire une exception pour le chloramphénicol, car la littérature médicale comprend quelques rares observations d'accidentés (présenter un effet toxique mortel par atteinte de la moelle osseuse aplasies médullaires irréversibles et l'érythroblastopénie, à la suite de traitements médicaux par de faibles doses de cet antibiotique, pendant un temps bref.

C'est la raison de l'interdiction du chloramphénicol chez les animaux de rentre dont les productions sont destinées à la consommation humaine car les LMR n'ont pas pu être fixées (LABIE ; PUYT ,2002).alors que les quinolones, à des fortes doses, présentant une possibilité de l'érosion du cartilage (LABIE, 1981).

C'est pourquoi ,nous devons adopter une attitude prudente vis-à-vis de ce problème et surtout respecter les mesures inhérentes au bon usage des antibiotiques chez les animaux destinés à la consommation humaine tel que le respects du délai d'attente avant l'abattage (BENDEDOUCHE ,1985 ;CHATAIGNER et STEVENS ,2002).

#### **2.4. Le risque allergique :**

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 et nettement moins allergisante qu'un contacte cutané ou respiratoire(FORM ,2003).

Pour qu'une allergie se déclare, il faut que l'organisme ait été en contact au moins deux fois avec l'allergène, Un premier contact sensibilisant, généralement asymptomatique, permettant à l'organisme de connaitre l'allergène, et un deuxième contact déclenchant qui va provoquer la crise allergique, et ce pour des doses d'allergène même très inférieures à celles ayant provoqué la sensibilisation (GAUDIN ,1999 ; FORM, 2003).

Les allergies alimentaires provoquées par les antibiotiques sont en général peu graves et ne permettent pas d'attribuer aux résidus un effet sensibilisant (BURGASE ,1981).

Les résidus antibiotiques utilisés en thérapeutique animale sont parfois incriminés en allergologie humaine .Les plus souvent mis en cause sont les pénicillines ,suivie des sulfamides et ,dans une bien moindre mesure ,d'autres familles comme les tétracyclines ou la spiromycine .cette liste repose sur les molécules utilisées en médecine humaine impliquées dans la majorité des cas d'allergie médicamenteuse ,En l'absence de données relative aux accidents allergiques liés aux résidus de ces molécules dans les denrées alimentaires ,il parait vraisemblablement de considérer que leurs implication dans les allergies suit une classification similaire (PRADALEIR et al ,1980).

Par ailleurs les services de santé publique se sont inquiétés de la présence d'antibiotiques dans le lait et les produits laitiers, En particuliers, l'observation de graves allergies chez l'homme à la

suite de l'administration de pénicilline a fait soupçonner que la présence de pénicilline dans les approvisionnements laitiers pourrait intervenir dans la sensibilisation de la population humaine et déclencher des symptômes de choc allergiques chez des sujets sensibilisés (JEPSON ,1950)

## **2.5 Le risque bactériologique :**

Dans le tube digestif vivent en effet des milliards de bactéries saprophytes et commensales .En colonisant ainsi le milieu, ces bactéries contribuent à la mise en place d'un système immunitaire naturel par la production d'anticorps .Ce mécanisme empêche le développement de nombreux pathogène (BERCHE, LOUIS et SIMONET ,1991)

Des études in vivo sur des modèles animaux visant à évaluer les effets de doses thérapeutiques et de résidus d'antibiotiques de tétracycline ,cycline ,sulfamicine sur la flore intestinale humaine ont mis en évidence les modification engendrées sur la flore intestinale .il y a effectivement eu une sélection de bactéries résistantes à la tétracycline ,ainsi qu'un effet sur les populations fécales aérobies et anaérobies .sans compter les modifications de certains paramètres métaboliques de la microflore .par contre ,la barrière contre les salmonelles exogènes a été maintenue (CHATAIGNER et STEVENS ,2002).

### **2.5.1. Sélection de souches bactériennes résistantes :**

De nombreux travaux scientifiques ont alors démontrés que la préséance de résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires était à l'origine de l'émergence de résistances bactériennes chez les humains ,ceci s'explique par le fait que la présence d'un antibiotique à des taux supérieurs la concentration minimale inhibitrice entrainerait des modifications génétiques au niveau bactérien conférant ainsi à la bactérie la possibilité de survivre en présence de l'antibiotique en question (CHTAIGNER et STEVENS,2002)

### **2.5.2. Modification de la microflore intestinale :**

La microflore intestinale est un écosystème complexe où cohabitent différentes espèces bactériennes selon un équilibre biologique, chez l'homme, cet équilibre est constitué par une flore anaérobie stricte (clostridies, Entérobactérie) dite dominante .de par sa propre croissance régule et limite et le développement du reste de la flore (lactobacilles, entérobactéries) dite subdominante .La perturbation de cet équilibre entraine inévitablement des désordres plus ou moins graves.

La présence d'un antibiotique dans le milieu intestinal peut conduire à une modification de la composition de la flore : un antibiotique particulièrement actif contre les germes anaérobies et les gram+ va détruire une partie importante de la flore digestive .Le vide ainsi crée pourra être rempli par d'autres micro-organismes peuvent être soit des germes de la flore subdominante (E.coli) soit des germes en transit (Candida albicans, Salmonellas) (FORM, 2003).

D'après MARTEL et VANDAELE (1999),il faut exclure la possibilité de la sélectionner des résistances directement chez l'homme par la consommation de denrées animales qui contiendraient des résidus d'antibiotiques en quantités inférieures ou égales aux limites maximales de résidus LMR.

Les concentration en antibiotiques ,très faibles quand ils sont à l'état de résidus ,diminuent encore par dilution dans le chyle digestif ce qui suggère qu'il faut modérer très fortement le risque théorique de toxicité indirecte d'éventuels résidus inhibiteurs dans les denrées alimentaires d'origines animale même s'il ne faut pas sous-estimer la fragilité de l'écosystème intestinal de certaines catégories d'individus (enfants ,personnes âgées ,convalescents ,immunodéprimés) ( FORM,2003)

Ce type de risque ne serait important que pour les doses thérapeutiques et non pour des doses résiduelles qui nous intéressent ici, il faut d'autres parts noter que le tube digestif de l'homme lui-même contribue à rendre ce risque plus au moins important pour différentes raison :

- Dilution des résidus par les autres infesta et surtout par l'ensemble des sécrétions (environs huit litres par jour) gastriques salivaires intestinales.
- Au contraire, pour les antibiotiques non résorbés dans les parties initiales du tractus digestif, c'est le phénomène de concentration qui prévaut dans les parties distales, l'influence sur la flore digestive sera dans ce cas très importante, et notamment lorsque l'on sait que la flore digestive sera dans ce cas très importante, et notamment lorsque l'on sait que la flore digestive est surtout présente dans les parties terminales (caecum, colon, rectum) (MILHAUD et PERSON, 1981).

### **3. Les risques technologiques :**

Les micro-organismes utilisés pour la fabrication des produits laitiers sont plus ou moins sensibles aux inhibiteurs suivant la nature de l'antibiotique et l'espèces de ferment ,ils sont pour la plupart sensibles à la majorités des antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire ,susceptibles d'être à l'origine de résidus ,en particuliers aux bétalactamines ,le germe le plus sensible est Streptococcus thermophilus (MOUROT et LOUSSOUARN,1981).

En ce qui concerne les produits laitier fermentés et les fromages, la présence de résidus d'antibiotiques ralentit ou inhibe la croissance des ferments lactiques, ce qui aura un effet sur l'acidification et le caillage du lait et résultera en de graves problèmes de texture (LAMONTAGE et al, 2002).

L'industrie laitière se heurta a des difficultés techniques, surtout dans la fabrication des fromages affinés à pate dure. Ces difficultés provenaient de l'action inhibitrice des antibiotiques sur le développement normal des levains utilisés en fromageries, les bactéries lactiques des levains (STREPTOCOCCUS cermoris, strdiacelactis et leuconostocctrovorum )sont inhibées par divers antibiotiques à faible concentration (ABDUSSALM et al ,1966)

Ainsi, toute les étapes de la transformation du lait en fromage peuvent être perturbées :il y a défaut de coagulation du lait et caillé ressort de mauvaise qualité, une insuffisance de l'égouttage et le rendement de fabrication est diminué ;il y a une mauvaise maturation anarchique des bactéries coliformes insensibles aux antibiotiques et dont la multiplication n'est plus inhibée par les ferments lactiques (LABIE,1981 ;GAUDIN ,1999,GUERRIN ,2003).

Pour le beurre ,l'inhibition de la fermentation lactique entraine une insuffisance d'acidification de la crème ,il en résulte des difficultés de barattage ainsi que des pertes accrues de matière grasse dans le babeurre ,de plus, l'inhibition des ferments d'arôme ,particulièrement sensibles (Streptococcus diacetilatis, Leuconostocctrovorum), a pour conséquence un défaut de flaveur du beurre (BARATON ,2001).

Les yaourts sont particulièrement sensibles aux antibiotiques, dont déjà de faibles doses peuvent retarder l'acidification .il en résulte des produits défectueux : Exsudation de sérum en surface, gout de peptone).Par exemple, la coagulation du yaourt n'est pas correcte, le yaourt ne \*prend\* pas, il reste liquide .Les poudres de lait contaminées ne peuvent être utilisées dans la préparation des levains, yaourts ou de fromages (WEISEN, 1974).

Donc du point de vue de la technologie laitière, les fabrications les plus sensibles sont celles dans lesquelles interviennent les ferments lactiques et les germes d'aromatisation (yaourt, fromages à caillage acide présure, crèmes acidifiées, beurres) facilement inhibés par des doses faibles d'antibiotiques voir (tableau n°1.)

Germe	Pénicilline UI /ml	Streptomycine g/l	Chloramphenicol g/ml	Chlor-oxy- tétracycline g/ml
Str .Thermophilus	0.0017 A0.017	0.5-5	0.05-0.1	0.001-0.01
Str.Cremoris	0.05-0.1	-	-	-
Laci.bulgaricus	0.3-0.6	-	0,3-5,0	0,3-0.5
Levains beurrerie	0,017-0,17	0,1-0,2	0,1-0,2	0,01-0,1
Levains fromagerie	0,05-0,02	0,04	0,04	0,02-0,25
Bac. Strarothermophilus Var calidolactis	0,001à0,008	0,6-1	1	0,6-1

C'est la pénicilline qui s'avère le plus actif des antibiotiques sur les bactéries lactiques .Des doses de pénicilline variant de 20 à 15 UI par litre de lait sont suffisantes pour perturber une fabrication .Il suffit qu'une vache sur 50 soit traitée pour que le lait de mélange soit impropre à la fabrication de fromage (ALAIS ,1984).

Ainsi, les conséquences sont graves pour une marque et la filière en générale que pourrait avoir un problème de contamination par des résidus potentiellement dangereux amplifiés par les médias (FRISON ,1991).

De plus, la présence réelle ou douteuse de résidus de médicaments dans un produit pourrait compromettre les marchés d'exportation (MARUJOULS et GOULARD ,1999).

**FRISON D, 1991** .Les inhibiteurs dans le lait, importance au niveau de la coopérative ORLAC, Rapport de stage ISARA de Lyon.

# **PARTIE EXPERIMENTAL**

## 1. INTRODUCTION :

Le lait présente une nécessité première dans la ration alimentaire de la population mondiale. En effet, un aliment complet et indispensable pour les nourrissons, est aussi vital pour les autres tranches d'âges, grâce à son apport intensif en nutriments de base (protides, lipides, glucides) et sa richesse en éléments minéraux notamment le calcium et en vitamines (Supplées et al. 1927)

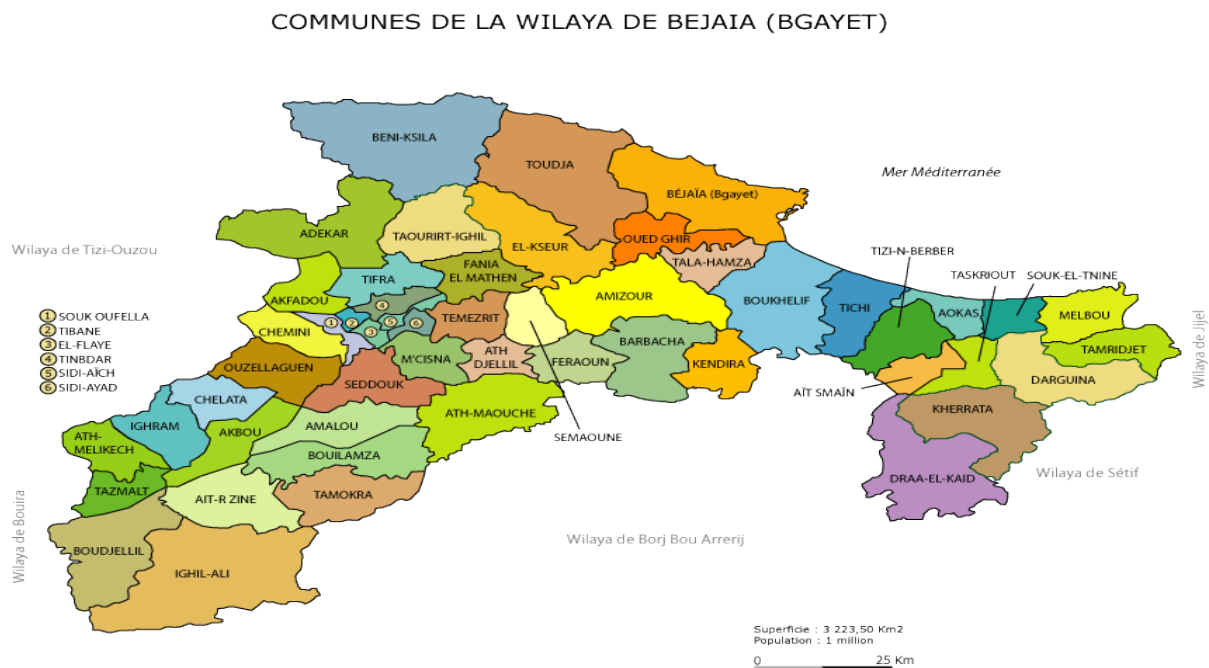
Le lait est le produit de sécrétion des glandes mammaires des mammifères, comme la vache, la chèvre, destinée à l'alimentation du jeune animal naissant. Du point de vue physico-chimique, le lait est un produit très complexe (Carole, 2002).

Comme il n'existe aucune réglementation à l'échelle nationale qui autorise la vente de lait cru directement au consommateur, à l'exception de l'arrêté conjoint de ministre de l'agriculture et du développement rural du ministre de la santé et du ministre de l'industrie du commerce de 08 Avril 2004, comporte une spécification pour le contrôle de « lait cru à son état » afin de répondre aux besoins en termes de la gestion des risques et la protection du consommateur. (Arrêté conjoint de ministre de l'agriculture et du développement rural 08 Avril 2004.)

Dans ce contexte sa production doit être sévèrement contrôlée en raison des risques éventuels qu'il peut présenter pour la santé humaine. En effet, des souches pathogènes pour l'homme et l'animal, pouvant avoir acquis des résistances multiples aux antibiotiques peuvent y proliférer. Une évaluation de la qualité hygiénique du lait permet de rechercher la microflore naturelle et des microorganismes témoins de contaminations extra-mammaires éventuelles (Bull. Soc. Pharm. 2009)

La wilaya de Bejaïa possède un effectif bovin laitier de près de 30 000 têtes réparti sur des élevages de petite taille étant donné que 93,7 % des troupeaux ne dépassent pas six vaches laitières. La production laitière de la wilaya, estimée à 23 870 140 litres pour la campagne 2007/2008, ne couvre que 32,62 %, soit un tiers des besoins de la wilaya estimés à 73 millions de litres avec une moyenne de 73 litres par habitant. A cet effet, le recours à l'importation

massive de poudre de lait pour combler le déficit s'avère une nécessité pour les huit laiteries implantées dans la wilaya.(Djamel Alilat .El Watane 25.05.2009)



**FIGURE1 : carte administratif de la willaya de Bejaia**

## 2. Objectif

Les méthodes d'analyses d'antibiotiques et microbiologiques et les analyses physico-chimiques sont :

- ✓ **Pour les analyses d'antibiotiques** : S combo Beta STAR, Beta star<sup>(R)</sup> CHR HANSEN, DELVO Test, PENZYM
- ✓ **Pour les analyses physico chimiques** : PH, acidité, acide gras test d'amidon, densité
- ✓ **Pour les analyses microbiologiques** : le dénombrement des bactéries ,FMT, coliformes streptocoques et staphylocoques

### 3.1. Matériels et méthodes

Le stage est réalisé en deux laiterie différentes qui SOUMMAM et RAMDY



**3.1. A. La laiterie DJURDJURA** : a été créé en 01/01/1983, et se situe a AKBOU et distante de 60 km de Bejaia et de 170 km de la capital Alger, **Elle** est spécialisé dans la production des fromages fondus, des pates molle (camembert) et du lait pasteurisé.

La laiterie est équipée d'un laboratoire de contrôle afin d'effectuer des analyses physico-chimique, microbiologique et antibiotiques, un bloc administratif ainsi de trois grand magasin s de stockage matière première et emballage .de chambre de maturation pour le bracelet et deux chambre froides

Les wilayas couverte par la laiterie est Setif .Béjaia.Alger .jijel et Tizi

Le lait est prévenu de 8184 vaches sur lequel sa fait la collecte et les analyses

### **3.1. B.Laiterie SOUMMAM:**

La laiterie a été crée en 1983 et se situe a la zone industrielle TAHARCHT, AKBOU .Bejaia .dirigé par le PDG Hamitouch Lounis ,elle est spéciale dans la production de laits ,fromage ,yaourt, produits de cacao et de chocolat ,boisson lactée

La laiterie est équipé par un service de collecte qu'est lieu a Oued Amizour ou se fait l'analyse d'antibiotiques et un laboratoire de contrôle aussi d'analyse d'antibiotiques analyse physico chimique et microbiologiques et en tout est composée de trois sièges déferent ou un est fait pour l'administration, un autre pour la production et le troisième de Oued Amizour pour la collecte de lait cru .La surface qu'elle comble et les 1000a 4999employés qui travaillent en dessus permet également de couvrir 35 willaya de pays et cela selon les statistiques de l'inspecteur vétérinaire de la willaya Bejaia

## **3.2Materiels**

Dans les deux laiteries SOUMMAM et RAMDY nous avons utilisés pour effectuer nos taches un stylo et un carnet pour noter les étapes de travail de chaque technique et méthode et l'appareil photo pour la prise des photos de chaque analyses et appareil

### **3.3. Méthodes :**

Durant la période de notre stage nous avons accompagné personnels travaillant dans laboratoire d'analyse attaché pour les deux laiteries et chaque étape de l'analyse nous prenons des photos et nous enregistrons des données sur un carnet pour bien les organiser par suite.

### **4. Résultats**

Nous avons réalisés des analyses physico chimique, microbiologiques ainsi des analyses pour chercher les résidus d'antibiotiques et si les résultats sont positives donc le lait collectés est contaminés par des résidus d'antibiotiques ou des bactéries ou présente un changement en caractères physico-chimique alors la citerne de lait va être détruite et le collecteur avertit de ce dommage pour bien transmettre le message aux éleveurs pour une bonne sensibilisation.



**FIGURE2 : la collecte de lait**

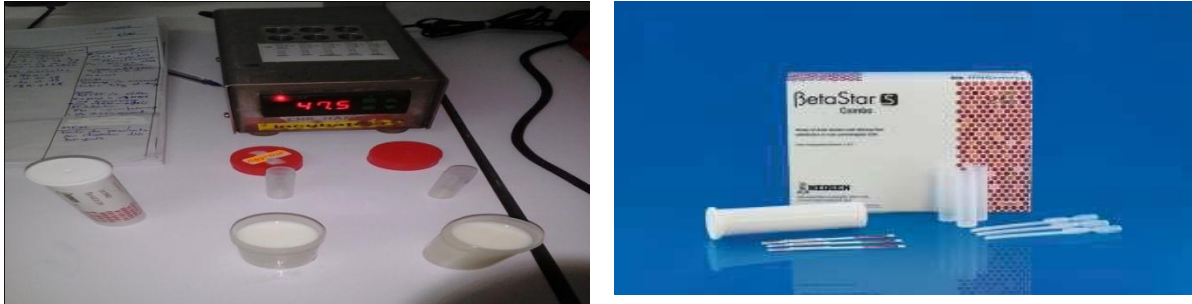
#### **4.1. Analyses de résidus d'antibiotiques :**

Le matériel utilisés afin d'accomplir cette étape est le suivant :

##### **A. Matériel de collecte :**

- Louche en métal pour le prélèvement de lait
- Flacon en plastique avec bouchon stérile de 60ml

- Étiquette adhésive de pour l'identification des flacons
- Pipette de 3ml
- Tube en plastique



**FIGURE3 : le flacon de lait a laboratoire**

## **B. Matériel et appareillage de laboratoire**

**B.1. L'appareil Beta Star \*s\*Combo:** Le Beta Star combo\*s\* est un test rapide de détection des antibiotiques Beta-Lactames et des Tétracyclines dans le lait de vache de chèvre et de brebis .contrôler le temps d'incubation sont de 5 minutes .d'abord faut attendre a que l'appareil affiche la T de 47.5c° puis débiter le test :

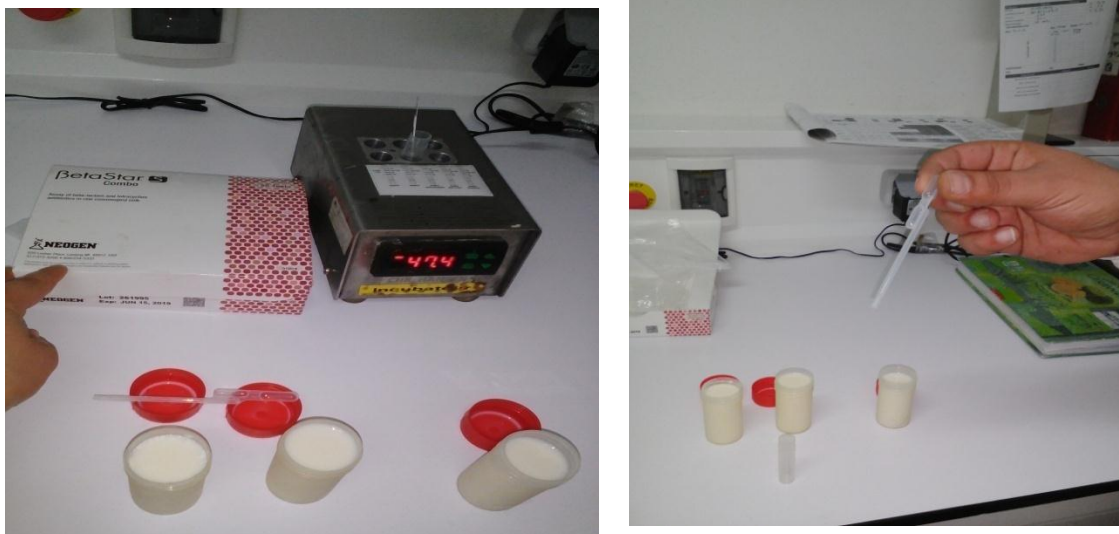
- Un incubateur réglé a 47.5 degré
- Des pipettes
- Des bandelettes
- Des tubes



**Figure4 : matériel et appareillage de laboratoire**

**Les différentes étapes effectuées au cours ' analyse de résidus d'antibiotiques sont les suivantes :**

- Prendre une pipette de 3 ml dans la boîte correspondante de l'appareil
- Utiliser une pression avec le pouce et su le bâtonnet e et la faire rentrer .dans le flacon qu'est rempli de lait.
- Faire extraire le produit (le lait).
- Remplir le tube en plastique avec le produit.
- Mettre une bandelette dans le tube et la mettre dans l'incubateur après l'allumer a 47,5°C.
- Lancer l'incubation pendant 5 minutes (presser le bouton pour lancer l'étape ).après 5 minutes un bip sonore est émis et « end »s'affiche .presser de nouveau pour arrêter le bip sonore .presser le bouton pour lancer la deuxième étape qui est a temps 0presser a nouveau pour arrêter le bip sonore .
- Sortir la bandelette du tube et faire la lecture



**Figure5 : remplir la pipette avec les 3ml de lait**

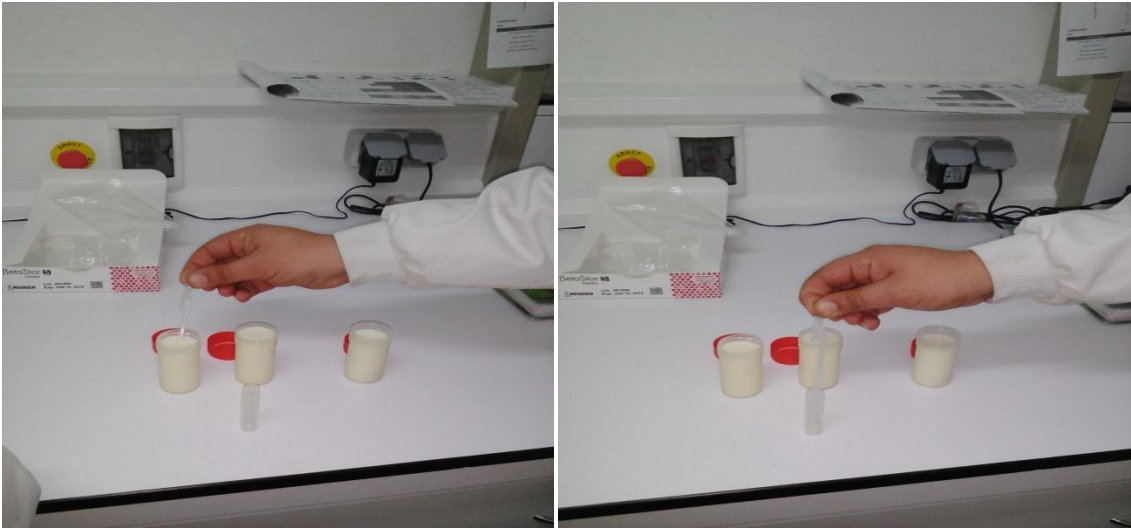


Figure 6 : le remplissage de tube en plastique avec le produit (le lait)



FIGURE7 : l'incubation de tube après avoir mettre la bandelette

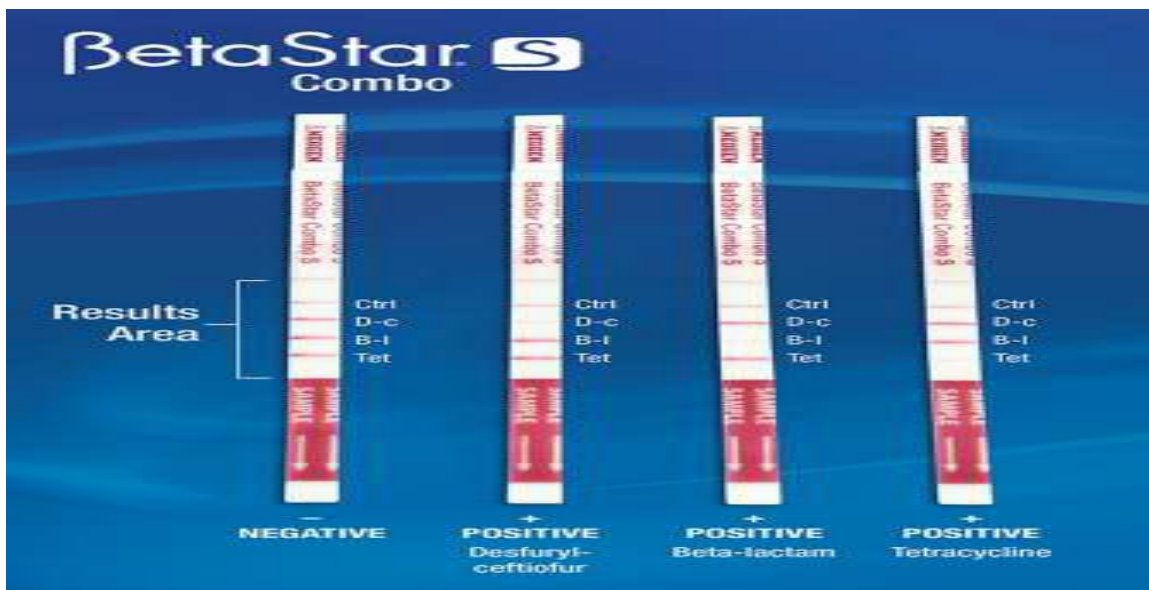


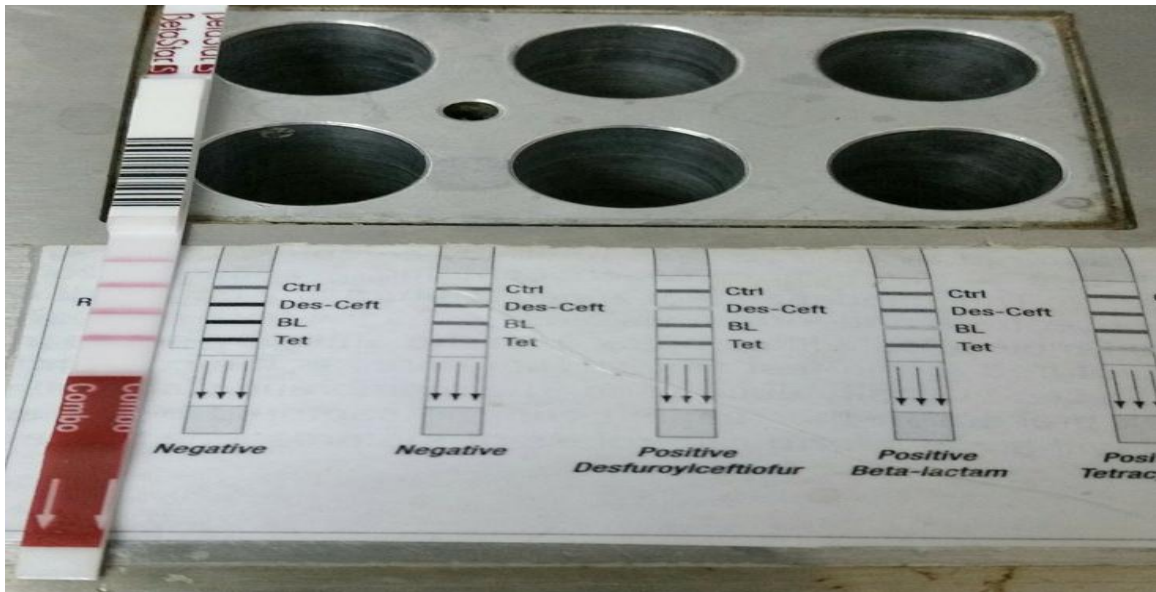
FIGURE8 la lecture selon la notice

**La lecture :**

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

❖ **Témoin négatif :**

absence d'antibiotiques les barres dont Test, B-1,D-c,Ctrl apparait avec une coloration foncé



**FIGURE9 : la lecture lorsque le test est négatif**

❖ **Témoin positif :**

Présence d'antibiotiques apparaîtra par l'élimination d'une barre ou plusieurs sur la bandelette.

L'élimination de la barre est un signe de la présence de cette famille d'antibiotiques dans l'échantillon de lait donc ça peut être les :Desfuryl –ceftiofur qui font partie de la famille des Béta lactame la sous famille des céphalosporine la troisième génération qu'est administré la majorité de temps par voie générale c'est pour cela est rarement indiqué dans les échantillons de lait .ou les Béta lactame ou bien les Tétracycline qu'on les trouve pas ensemble tellement que leurs effets est antagoniste donc n'est pas administrer par le vétérinaire simultanément



**FIGURE10** : la lecture lorsque le test est négatif la barre correspondant aux Béta lactame est gommé (éliminé) donc présence d'antibiotique Béta lactame dans l'échantillon de lait

## B.2 Beta star <sup>(R)</sup> CHR HANSEN

Beta star <sup>(R)</sup> est un test rapide et fiable et éprouvé sur le marché pour le dépistage de lait entrant à la recherche d'antibiotiques bêta- lactamine et céphalosporine (par exemple : pénicilline ,ampicilline ,céphalosporine ) le temps nécessaire pour l'incubation est de 20 minute ou les 10 premier est pour réchauffer le tube contenant le réactif d'analyse et les 10 autres pour la bonne lecture .cet appareil comprend également :

- Incubateur réglé a 47.5 degré
- Des pipettes de 3 ml
- Des tubes qui contiennent le réactif ou le produit d'analyse a effectuer
- Des bandelettes



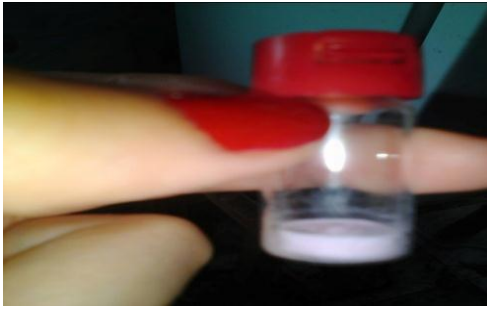
**FIGURE 11 : Matériel et appareillage de laboratoire (appareil Beta Star <sup>(R)</sup> CHR HANSEN)**

**Les différentes étapes effectuer lors de notre analyse d'antibiotique avec l'appareil Beta Star <sup>(R)</sup> CHR HANSEN sont les suivante :**

- Lancer l'incubateur qu'est régler automatiquement a 47.5 degré
- Mettre 3ml de lait cru on utilisant la pipette dans le tube contenant le réactif ou le produit
- Attendre 10 minutes le temps nécessaire pour que le lait se réchauffe
- Après que l'appareil se sonne, on met la bandelette dans le tube
- On attend 10 minutes aussi pour que se sonne une autre fois

Après on fait notre lecture sur la bandelette





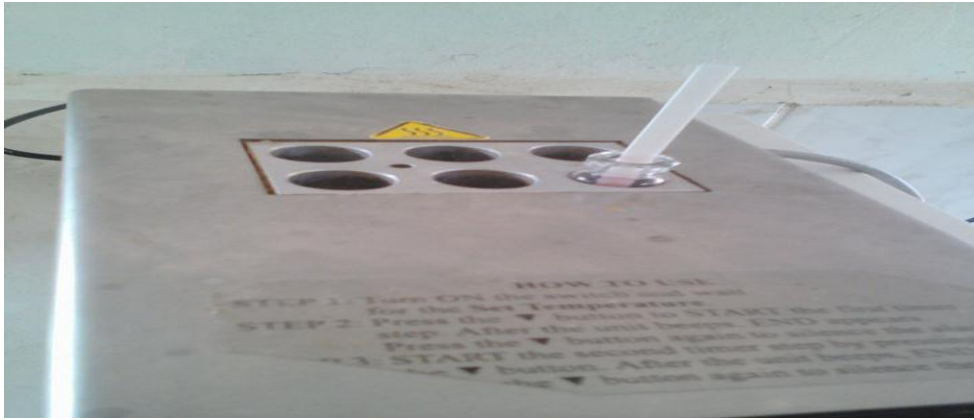
**FIGURE 12 : le tube contenant le réactif et les pipettes**



**FIGURE 13 : La boîte des bandelettes et l'échantillon de lait**



**FIGURE 14 : mettre la bandelette dans le tube après avoir été réchauffé et le régler pour 10 minutes d'incubation**



**FIGURE 15 :l'incubation de lait et l'analyse d'antibiotiques**

**La lecture : pour la bonne lecture des résultats on utilise en parallèle deux témoins :**

**Témoin négatif :**

Se résume par une coloration nette de la bandelette qu'est absence total d'antibiotiques

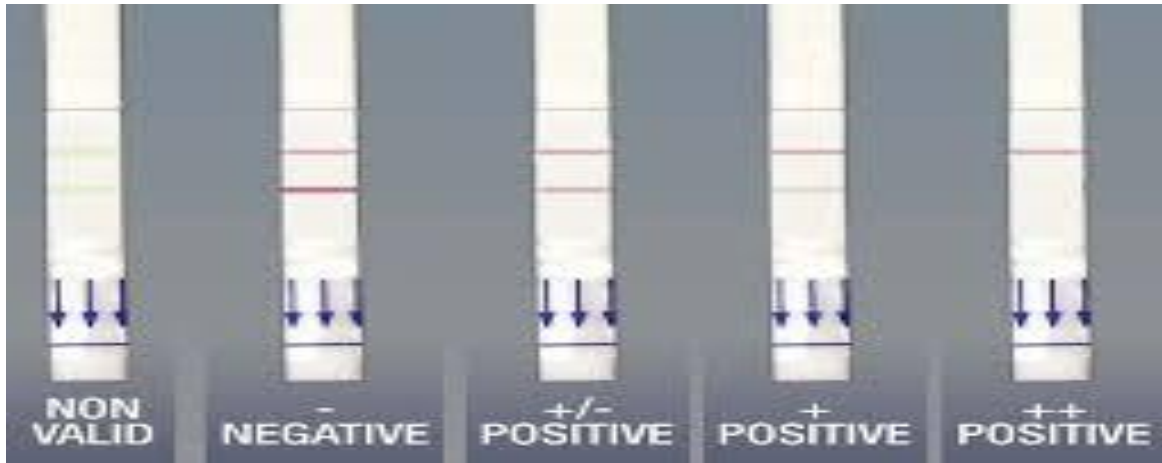


**FIGURE 16 : La lecture quand le test est négatif**

### Témoin positif :

Le résidu d'antibiotique est présent ou une des barre de bandelette est gommée ou éliminer

La barre qui n'apparaît pas ou qu'elle est gommée de la bandelette représente également la famille d'antibiotique correspondant a cette barre



**FIGURE 17 : La lecture des bandelettes après incubation (le résultat)**

### B.3.DELVO Test SP<sup>(R)</sup>

Test microbiologique prêt à l'emploi à haut degré de sensibilité. DELVO test<sup>®</sup> T permet la détection d'un large spectre de plus de 35 antibiotiques. Test unitaire en ampoule (livré avec des pointes à usage unique). Mini incubateur en accessoire. Lecture visuelle.

Cet appareil contient :

- Un incubateur réglé a 64 degré
- Des pipettes
- Des ampoules ou tubes contenant un produit ou un réactif de couleur violet



**FIGURE 18 :l'appareil DELVO TestSP<sup>(R)</sup>**

**Les différentes étapes effectuées lors de nos analyses d'antibiotiques avec l'appareil DELVO Test SP<sup>(R)</sup>:**

- Allumer l'appareil DELVO Test SP<sup>(R)</sup>
- Dès que la température se régle à 64 degré
- Prendre une nouvelle pipette de prélèvement pour chaque échantillon.
- Utiliser chaque pipette une seule fois. Ne pas toucher la pointe de la pipette, celle-ci devant entrer en contact avec le lait
- Remplissage de la pipette: presser une fois sur le petit ballonnet supérieur de la pipette et maintenir la pression, tout en plongeant le bout de la pipette dans l'échantillon de lait d'environ 1 cm. Relâcher la pression sur le ballonnet. La pipette se remplit alors du volume voulu (0,1ml) de lait.
- Remplir l'ampoule avec le lait de la pipette, en appuyant doucement sur le ballon du haut jusqu'à évacuation complète.
- Vérifier la température de l'incubateur (64 °C +/- 2 °C). Insérer les ampoules remplies de lait dans l'incubateur. Utiliser un échantillon témoin, ou mesurer le temps avec le compte-minutes (en réglant celui-ci sur la bonne durée, 3 heures).
- Une fois le temps écoulé, lire la couleur de l'agar-agar solide au fond de chaque ampoule. Le temps a respecter avec la lecture est de 3h.



**FIGURE 19 : les matériels de l'appareil DELVO Test SP <sup>(R)</sup>**



**FIGURE 20 : mettre 0.1 ml de lait dans les tubes ou les ampoules**



**FIGURE 21 : à 64 °c mettre le tube dans DELVO Test pendant 3 h**



**FIGURE 22 : après 3 h l'appareil sonne et s'affiche end sur l'écran**

### **La lecture des résultats :**

La lecture se fait sur deux témoins un positif et l'autre négatif et cela selon le changement de couleur de l'agar-agar



**FIGURE 23 : les résultats d'analyse de résidus d'antibiotiques**

### **Le témoin négatif est :**

**Jaune** : résultat négatif pour l'échantillon de lait, celui-ci ne contient pas d'antibiotiques ou leur concentration reste au dessous du seuil de détection.



**FIGURE 24 : le témoin négatif**

**Le témoin positif est :**

**Violet**:échantillon testé positif, il contient des antibiotiques à une concentration égale ou supérieure au seuil de détection. - - - + +++ La carte couleur DELVO Test



**FIGURE25: témoin positif**

#### **B.4.PENZYM (appareil pour l'analyse de résidus d'antibiotiques)**

Le PENZYM est un test qualitatif, facile d'emploi, très rapide et spécifique des antibiotiques de la famille des bêta-lactames et se base sur une réaction enzymatique et colorimétrique



**FIGURE 26 : l'appareil d'analyse d'antibiotiques PENZYM**

**L'appareil contient :**

- Des pipettes
- Un incubateur



**FIGURE 27 : appareil de PENZYM**



## **Le principe de l'appareil PENZYM :**

L'enzyme DD-carboxypeptidase est mélangé au lait par simple pipetage et mis à incuber à 47°C, après 5 min, un comprimé qui contient tous les réactifs nécessaires est ajouté, 15 min plus tard, la coloration du tube est comparée à une carte de couleur. L'enzyme (DD-carboxypeptidase) ajoutée dans le lait réagit lors de l'incubation avec les antibiotiques pour former un complexe stable. L'excès d'enzyme libre toujours présent dans le lait hydrolyse un substrat de type R-D-Ala-D-Ala. La D-Ala ainsi formée est oxydée en acide pyruvique par une D-amino acide oxydase avec formation simultanée d'eau oxygénée. Cette dernière est utilisée pour oxyder, sous l'action d'une peroxydase, un indicateur organique redox non coloré (l'o-dianisidine) qui évoluera en un composé de couleur rose-orange qu'est négatif

## **La lecture des résultats :**

**- rose orange** --> l'échantillon est négatif

**- orange** --> l'échantillon est douteux

**jaune** --> l'échantillon est positif

## **4.2. Analyses physico-chimiques :**

### **1. Test d'ébullition :**

Un lait qui n'est pas frais présente une structure de caséines particulièrement instables. Dès lors, un simple traitement thermique suffit à les précipiter

#### **1.1. Mode opératoire :**

Dans un tube introduire 2 à 5ml de lait et porter à l'ébullition



**FIGURE 28 : le test d'ébullition**

## **1.2. Expression des résultats**

Si le lait est normal, le liquide reste homogène après quelques instants il se forme en surface une pellicule blanche, plissée (formée principalement de calcium, de protéines et de matière grasse), les laits acidifiés (au 25°D) coagulent par ébullition

## **2. Mesure de PH :**

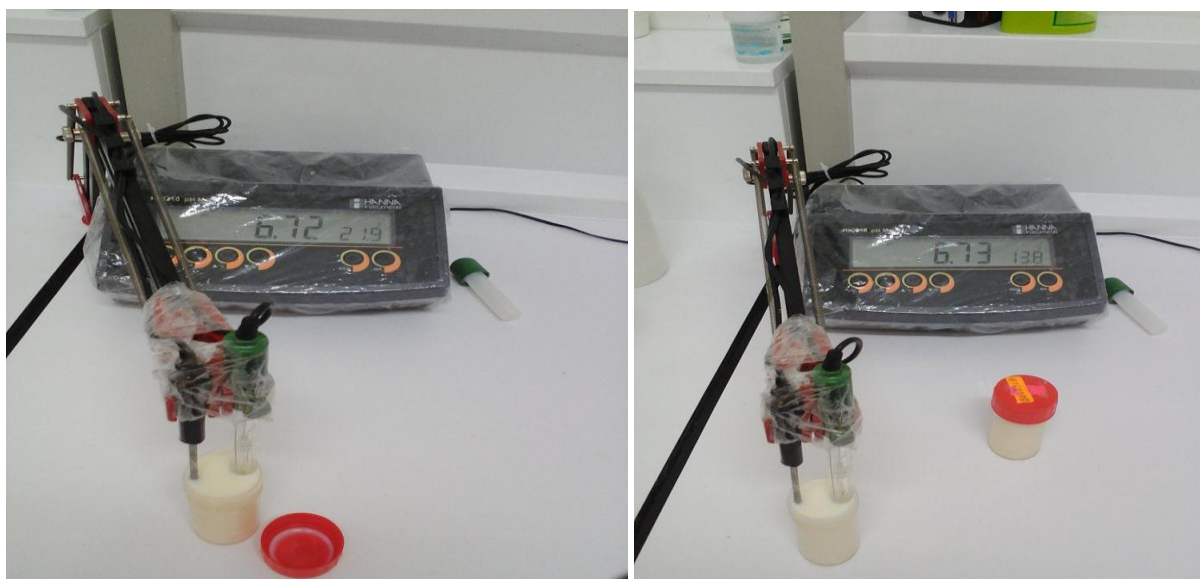
Le pH par définition est la mesure de l'activité des ions H<sup>+</sup> contenus dans une solution. La mesure du pH, renseigne sur l'acidité du lait. Ce dernier est considéré frais si son pH est compris entre [6,4 à 6,8].

### **2.1. Mode opératoire**

- étalonner le pH mètre avec deux solutions tampons de pH=4 et pH=7.
- rincer l'électrode avec l'eau distillée
- Plonger l'électrode dans un bécher contenant le lait à analyser et lire la valeur de pH stabilisée

### **2.2. Expression des résultats :**

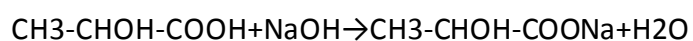
- le résultat est affiché directement sur le pH mètre



**FIGURE29 : Mesure de PH**

### **3. Détermination de l'acidité**

Elle est basée sur le titrage de l'acide lactique par la soude ((NaOH) 1/9N) en présence de la Phénolphthaléine (1%), comme indicateur coloré, qui indique la limite de la neutralisation par Changement de couleur (rose pale).



Cette acidité est exprimée en degré Dornic (°D) où : 1 ° D représente 0,1 g d'acide lactique dans Un litre de lait.

#### **3.1. Mode opératoire :**

- 10 ml de l'échantillon sont préparés dans un bêcher de 100 ml.
- Ajouter à la solution 0,3 ml de la solution de phénolphthaléine à 1%.
- Titrer avec la soude (NaOH N/9) jusqu'au virage de couleur vers le rose de la solution qui doit
- Persister pendant une dizaine de secondes.

### 3.2. Expression des résultats

- L'acidité est exprimée en degré Dornic (°D) et donnée par la formule suivante

$$A = V \cdot 10$$

V : volume en ml de solution d'hydroxyde de sodium (soude Dornic).

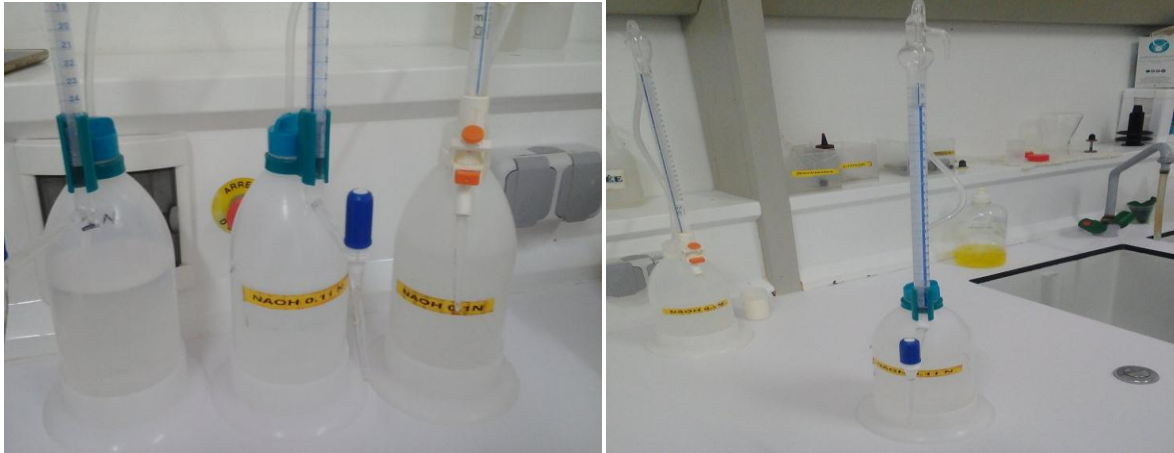


FIGURE 30 : appareillage de laboratoire

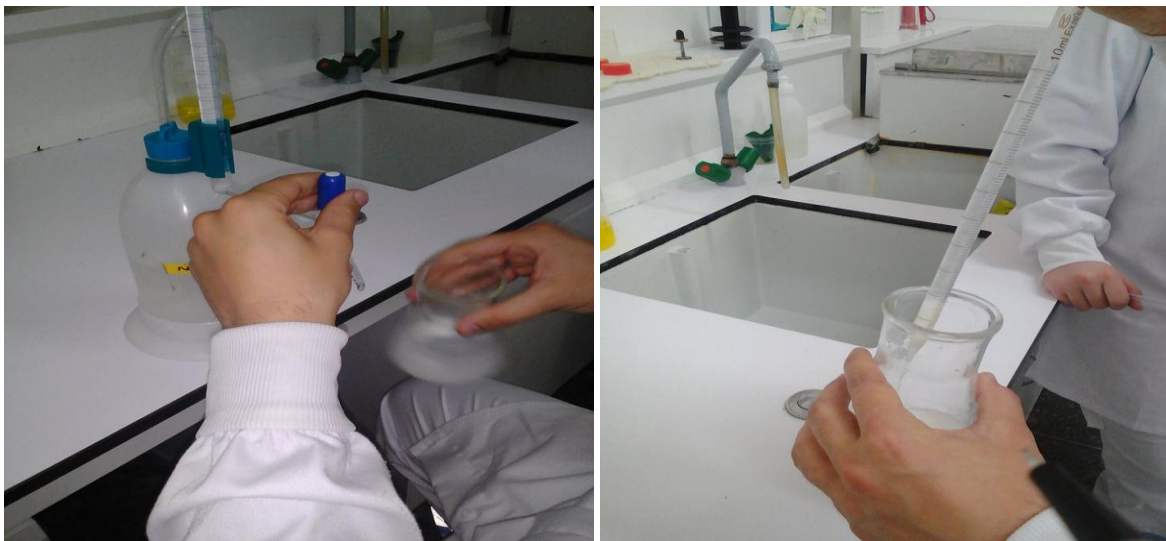


FIGURE 31 : le titrage avec la soude NaOH.

### 4. Détermination de la matière grasse par la centrifuge ou par méthode butyrométrique :

Le principe de cette méthode est basé sur la dissolution de la matière grasse à doser par l'acide

Sulfurique. Sous l'influence d'une force centrifuge et grâce à l'adjonction d'une faible quantité d'alcool iso-amylique, la matière grasse se sépare en couche claire dont les graduations du Butyromètre révèlent le taux.

#### 4.1. Mode opératoire

- Introduire dans le butyromètre de GERBER ; 10 ml d'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).
- Ajouter 11ml de l'échantillon à l'aide d'une pipette en l'écoulant à travers les parois pour éviter le mélange prématuré du lait avec l'acide.
- Ajouter 1ml d'alcool iso amylique.
- Fermer le butyromètre à l'aide d'un bouchon.
- Mélanger jusqu'à la dissolution totale du mélange.
- Centrifuger pendant 5 minutes à 1200 tours / min.



**FIGURE 32 : Butyromètre et la centrifuge**

#### 4.2. Expression des résultats :

Le résultat est exprimé en g/l et la lecture se fait directement sur le butyromètre (figure 02).

$$MG = (B - A)$$

**A** : est la lecture faite à l'extrémité inférieure de la colonne de matière grasse

**B** : est la lecture faite à l'extrémité supérieure de la colonne de matière grasse.

#### 5. Détermination de la masse volumique ou la densité

La densité du lait est une résultante intrinsèque de ses constituants, elle dépend de leur degré d'hydratation notamment en ce qui concerne les protéines. La densité du lait est le rapport des masses d'un même volume de lait et d'eau à 20°C .On a déterminé la masse volumique par deux méthodes différentes

## 5.1. Méthode du pycnomètre

### 5.1.1. Mode opératoire

- Peser le pycnomètre à vide.
- Remplir de lait à 20°C et cela en évitant toute incorporation en bulles d'air.
- Le pycnomètre est peser une 2ème fois.

### 5.1.2. Expression des résultats

On a :

$$MV = [(M_2 - M_1) / V]$$

**MV** : la masse volumique

**M1** : la masse du pycnomètre vide

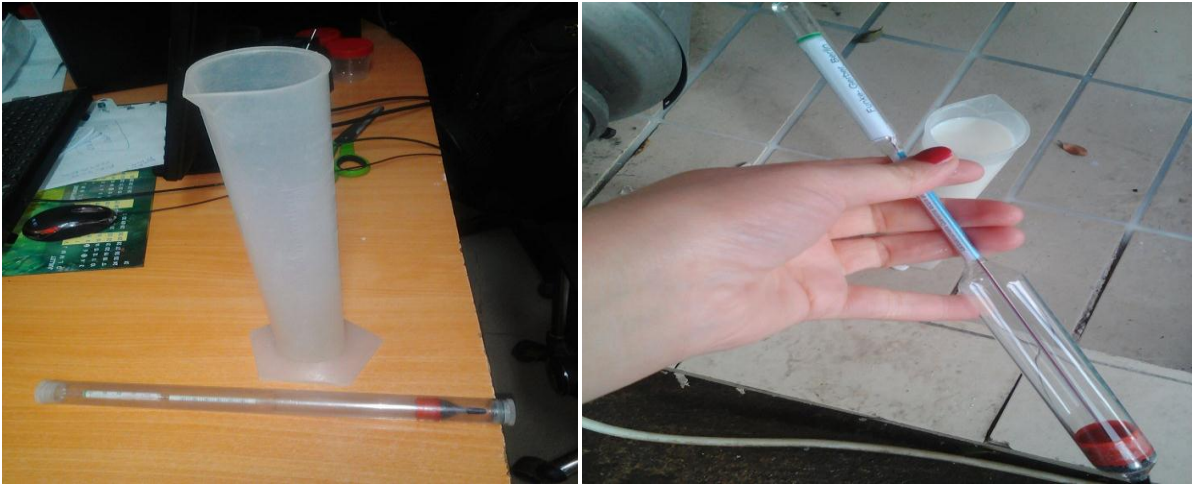
**M2** : la masse du pycnomètre remplis

**V** : volume du pycnomètre.

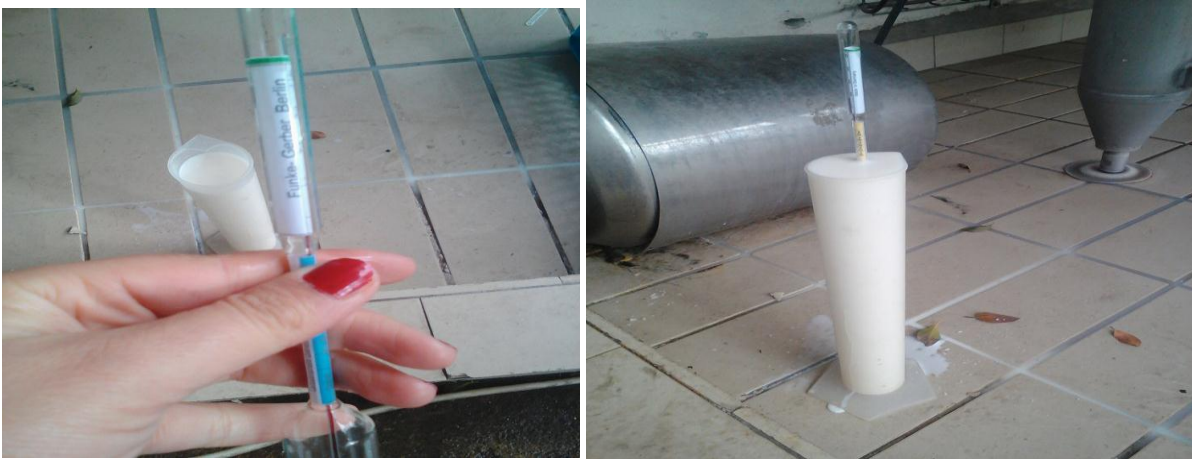
## 5.2. Méthode de lactodensimètre

### 5.2.1. Mode opératoire

- Verser le lait dans l'éprouvette de 500 ml tenue inclinée afin d'éviter la formation de mousse ou de bulles d'air.
- L'introduction de lactodensimètre dans l'éprouvette remplie de lait provoque un débordement de liquide ce débordement est nécessaire, il débarrasse la surface du lait des traces de mousse qui gêneraient la lecture.
- Attendre trente secondes à une minute avant d'effectuer la lecture de la graduation, cette lecture étant effectuée à la partie supérieure du ménisque, lire la température



**FIGURE 33 : Le lactodensimètre**



**FIGURE 34 : l'introduction de lactodensimètre dans l'éprouve**

### 5.2.2. Expression de résultats :

$$MV = MV_1 - [(20 - X) \cdot 0,0002]$$

**MV** : Masse volumique finale.

**MV1** : la masse volumique lue sur lactodensimètre

**20°C**: la température référence

**X** : la température lue sur lactodensimètre (C°)

**0,0002** : constante.

## 6. Mesure de l'extrait saque ou la teneur en matière sèche total

On entend par «matière sèche» du lait le produit résultant de la dessiccation du lait dans les Conditions décrites par la norme et cela se fait par un dessiccateur



FIGURE 35 : le dessiccateur

### 6.1. Mode opératoire

- Sur une boîte de pétrit on met de l'aluminium
- On prend 2g de lait avec une cuillère de métal et on l'introduit dans la boîte
- On lance la machine (dessiccateur) Eton la ferme
- Lorsque sa sonne on prend le chiffre qui apparait sur l'écran de dessiccateur

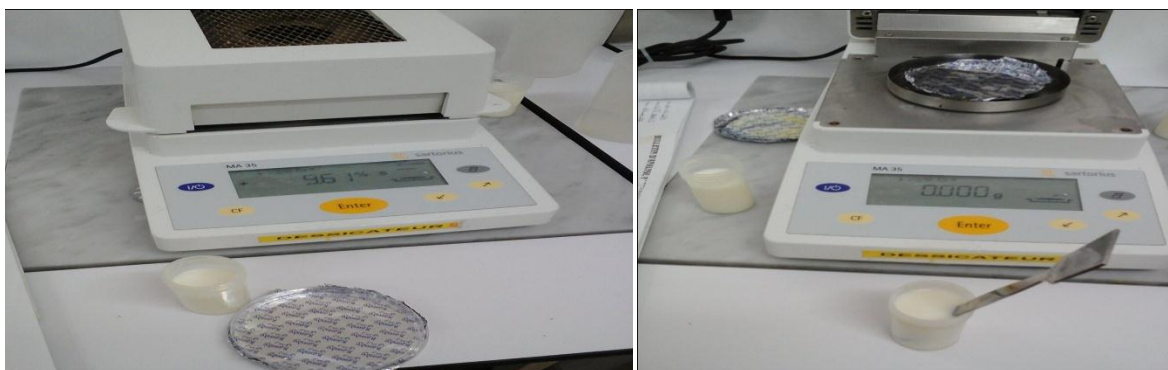
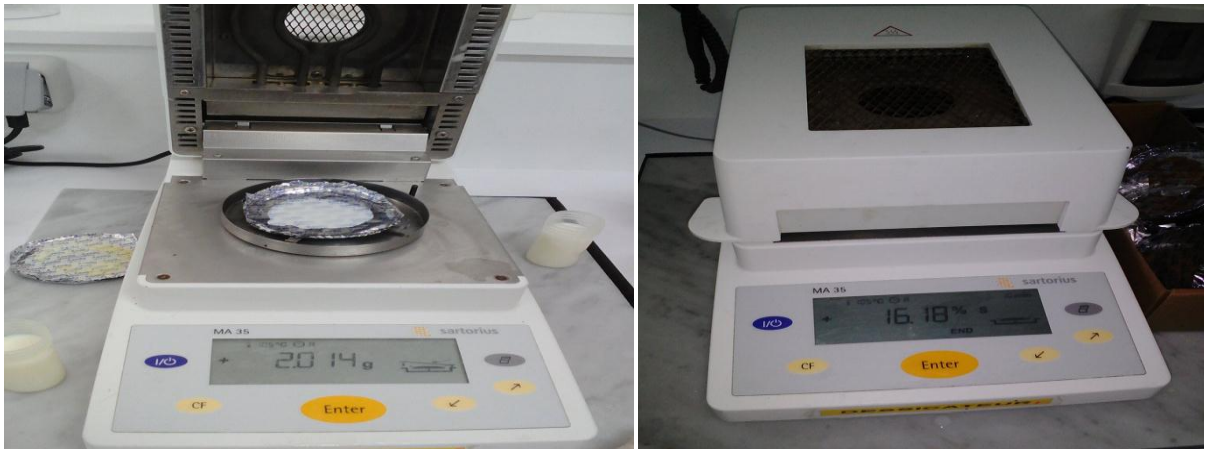


FIGURE 36 : le dessiccateur (appareil de mesure l'extrait seque)





**FIGURE37 : Mettre 2g de lait dans la boîte de pétrit**



**FIGURE38 :La lecture des résultats au final**

## 7. Test d'amidon :

On met une goutte de Ligol dans le lait de vache qu'on veut tester



**FIGURE 39 : test d'amidon**

### 4.3 Analyse microbiologiques :

L'analyse microbiologique du lait est une étape importante qui vise d'une part à conserver les caractéristiques organoleptiques et sensorielles du lait, donc d'allonger sa durée de vie et d'autre part à prévenir les cas de l'intoxication alimentaire liée à la présence des microorganismes pathogènes avant la transmission au consommateur. L'analyse microbiologique du lait cru consiste en la recherche et /ou dénombrement d'un certain nombre de microorganismes susceptibles d'être présents dans le lait. Les analyses effectuées sont portées sur :

- la flore aérobie mésophile totale.
- les coliformes totaux et fécaux.
- les microorganismes pathogènes : les *staphylococcus aureus*

## 1 .Méthode de dénombrement des microorganismes

### 1.1. Homogénéisation

Elle est facilement réalisable par agitation manuelle

### 1.2. Préparation des dilutions

Une série de dilutions est réalisée à partir de l'échantillon à l'aide d'une pipette pasteur stérile, 1ml de l'échantillon à analyser est prélevé, ensuite l'introduire dans un tube contenant 9 ml de diluant ; l'eau physiologique (dilution  $10^{-1}$ )

Répéter ces étapes jusqu'à la dilution  $10^{-7}$

### 1.3. Le dénombrement des colonies

On retient les boîtes contenant de 15 à 300 colonies. Le dénombrement des colonies est réalisé

Selon la formule suivante :  $N = \frac{\sum c}{(n_1 + 0.1n_2) d}$

$\sum c$  : somme des colonies de toutes les boîtes.

d: le facteur de dilution à partir duquel les premiers comptages ont été obtenus  $n_1$  : nombre de

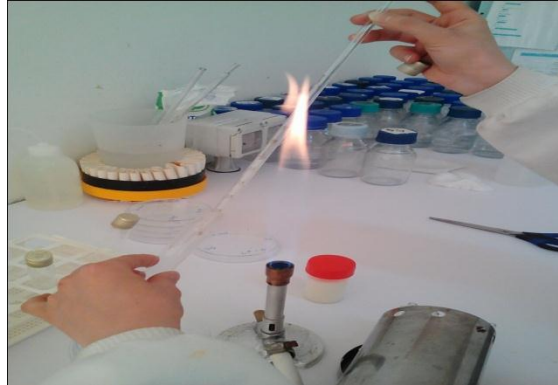
$n_1$  : nombre de boîtes positives de la première dilution.

$n_2$  : nombre de boîtes positives de la deuxième dilution.

## 2. Dénombrement de la flore totale FMAT (flore mésophile aérobies totale)

### 2.1. Principe

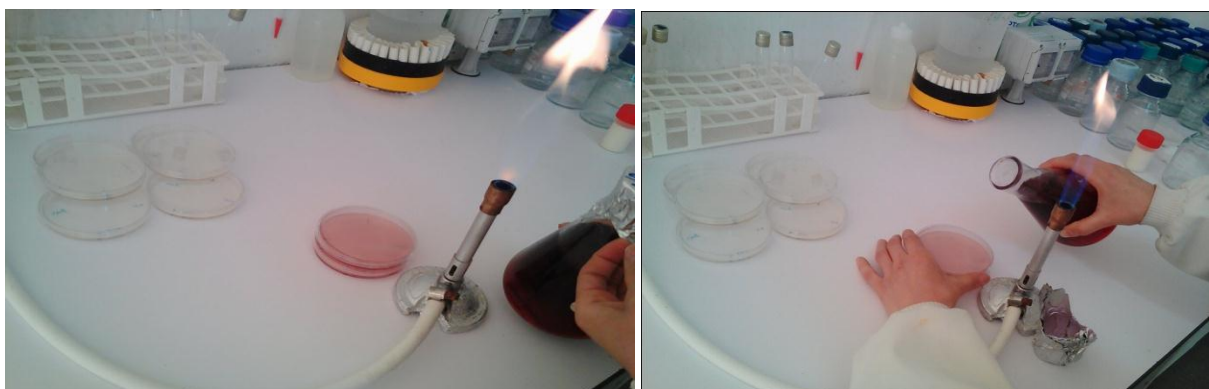
La technique est celle de numération en milieu solide en boite de Pétri avec l'ensemencement en masse sur le milieu PCA (Plate Count Agar)



**Figure 40 : la stérilisation matérielle de laboratoire**

### 2.2. Mode opératoire

- Préparer les boites de pétries stériles.
- Ensemencer les boites par 1 ml de chaque dilution ( $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  et  $10^{-6}$ )
- Ajouter la gélose PCA maintenue en surfusion à ( $45^{\circ}\text{C}$ ).
- Le mélange est homogénéisé par des mouvements circulaires.
- Après solidification, les boites sont retournées puis incubées à  $30^{\circ}\text{C}$  pendant 72 h, l'opération est réalisée en double.



**FIGURE 41 : préparation des boites de pétries**



**FIGURE 42 : mettre de gélose dans boite de pétries**

### **2.3. Lecture des résultats**

La flore totale apparaît sous forme de colonies blanchâtres de tailles et de formes différentes.

## **3. Recherche et dénombrement des staphylococcus aureus**

### **3.1. Principe**

On peut utiliser soit le milieu Baird Parker solide ou bien le milieu Chapman mannité contient Une forte teneur en NaCl (7,5%) et inhibe la croissance de nombreuses bactéries autres que les *Micrococcus* et *Staphylococcus*.

On a utilisé le milieu Chapman, avec ensemencement en stries de 1ml de lait prélevé de la Solution mère et l'incubation à 30°C pendant 24h

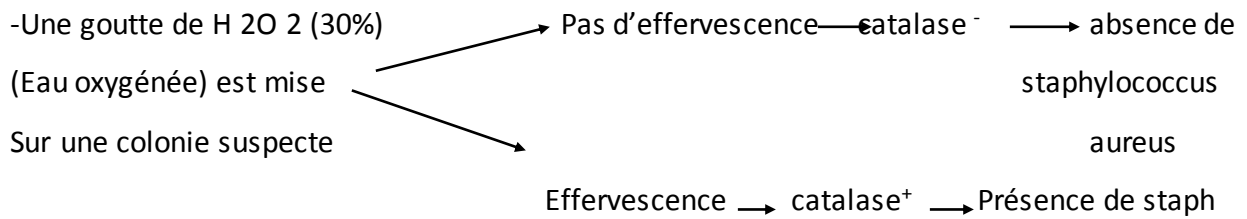
### **3.2 Mode opératoire**

- Préparer une boite de pétrie stérile.
- Ajouter la gélose Chapman mannité.
- Après la solidification, prélever une goutte du lait cru avec l'anse de platine.
- Ensemencer la goutte par des stries croisées et incuber à 30°C pendant 24 h.
- Lade *Staphylococcus aureus* est confirmée par le test de la catalase.

### **3.3 Expression des résultats**

Les *staphylococcus* apparaissent sous forme de colonies bombés jaunes dorées et entourées d'un halo jaune résultant de la réduction de mannitol.

### 3.4 Test de la catalase



## 4. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux

### 4.1. Principe

Le dénombrement des coliformes peut se faire soit sur milieu solide tel que le V.R.B.G (violet Cristal rouge neutre bile glucosée) ; soit sur milieu liquide le bouillon lactose au vert brillant et à labile (BLBVB).

On a utilisé le milieu VRBG avec un ensemencement en masse de 1 ml de chaque dilution, les Boites sont incubées pendant 24 h, à 30°C pour les coliformes «totaux» et à 44°C pour les Coliformes «fécaux»

### 4.2. Mode opératoire

- Préparer les boites de pétri stériles ;
  - Introduire dans les boites 1ml de chaque dilution 10<sup>-4</sup> pour les coliformes fécaux et 10<sup>-5</sup> pour les Coliformes totaux
  - Ajouter la gélose VRBG ;
  - Homogénéiser avec des mouvements circulaires ;
  - Après la solidification, recouvrir la surface avec une 2ème couche mince du même milieu et laisser
- Gélifier à température ambiante ;
- L'incubation a lieu pendant 24 heures, à 30°C pour les coliformes «totaux» et à 44°C pour les Coliformes «fécaux».

### 4.3. Expression des résultats

Les coliformes apparaissent sous forme de colonies de forme lenticulaires, violet avec un anneau rosâtre.

## 5. Discussion :

Notre étude expérimentale portée sur l'exploitation des différentes méthodes d'analyses physico-chimiques, analyses microbiologique ainsi que les analyses de résidus d'antibiotiques et cela dans le lait cru a la willaya de Bejaia

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

Le laboratoire se dispose d'un appareil combo Béta Star pour la détection des Béta –lactamines des tétracyclines et des ceftiofurs, le temps d'incubation est faible seulement 5 minutes. Il existe aussi un autre model d'appareil pour la détection des résidus d'antibiotique, le model Beta Star <sup>®</sup>CHR HANSEN, ce dernier demande un temps d'incubation plus long (20 minutes), et il est utilisé pour la détection des bêta-lactamines et des céphalosporines.

Nous avons utilisés aussi le DELVO Test ,S'agit d'un kit de détection de résidus d'antibiotiques le plus largement utilisés, Ainsi existent (DELVO Test P<sup>(R)</sup>, DELVO Test SP<sup>(R)</sup>, DELVO Test<sup>(R)</sup>BLF )mais elles reposent toutes sur les mêmes principes d'inhibition de bacillusstrearthermophilus ,Ces tests existe sous forme de kits normalisés contenant un nombre standardisé de bactérie dans le milieu gélosé (Sischo WM ;(1996) )

L'échantillon de lait est testé dans le milieu gélosé contenant des substances nutritives, un indicateur de ph et du triméthoprim. Après une incubation a 64 C° pendant 2h30pour le DELVO Test P<sup>(R)</sup> et de 3h pour le DELVO Test SP<sup>(R)</sup> que nous avons utilisées a laboratoire , une croissance du micro-organisme et la production d'acide qui résulte provoquent un virage de couleur de l'indicateur de PH du pourpre au jaune .En présence de substances inhibitrices ,la couleur pourpre du milieu gélosé persiste après la période d'incubation prescrite (SuhrenG,Beukers R,(1998)) cet appareil que nous avons utilisés DELVO Test SP<sup>(R)</sup>estmicrobiologique prêt à l'emploi a haute degré de sensibilité et permet la détection de large spectre de plus de 35 antibiotiques . Unitaire en ampoule (livré avec des pointes a usage unique) contrairement au DELVO Test BLF qu'est disponible au marché, basé sur l'utilisation d'un récepteur spécifique des bêta-lactamines qui est contenu dans l'ampoule et des bandelettes .Parmi les intérêts de cette méthode est :

- Pas de manipulation de souches bactériennes.
- Simplicité d'utilisation et nombre d'échantillons analysés par jour supérieur.
- Meilleure standardisation avec un test du commerce et en limitant les étapes sur lesquelles les variations inter-laboratoires peuvent jouer (épaisseur de la gélose...).
- Délai avant les résultats : moins de 6 minutes au lieu de 3 heures environ. Depuis le traitement de l'échantillon jusqu'au rendu des résultats. La sensibilité correspond à la concentration pour laquelle 95 % des échantillons analysés donnent résultats positifs (Laboratoire de Fougère ,janvier 2013)

Mais nécessite des précautions à suivre :

- Comme ce test est très sensible aux résidus de bêta-lactamines, toute contamination avec ces substances doit être évitée.
- Il est conseillé de se laver les mains et de les sécher correctement avant de démarrer un essai.
- Utiliser une paillasse propre.
- Manipuler le test avec précaution pour ne pas endommager les bandelettes. Cela peut aussi altérer la qualité du test pendant la lecture des résultats. –
- Après avoir prélevé des bandelettes dans le container, il faut le refermer aussitôt et le stocker à nouveau au réfrigérateur. En effet, l'humidité sur les bandelettes raccourcit leur date de validité.

En troisième étape nous avons utilisés Test PENZYM qui repose sur l'inhibition par les bêtalactamines éventuellement présentes dans le lait testé ; la DD carboxypeptidase cette inactivation traduit par l'apparition d'une coloration jaunâtre au lieu de celle rosée ou orangé habituellement observée en l'absence de résidus de bêta-lactamines

Rapide prends (20min), est très spécifique des bêta-lactamines (pénicillines et céphalosporines). Et aussi largement très spécifique de cette famille d'antibiotiques utilisés également en industrie laitière comme utile de screening des laits de grand mélange .la sensibilité de ce test est de l'ordre de 0.004 a 0.012 U/ml (Frère et J.M ; Klein D et Ghuyesen J.M ; 1980) .Et comparant Test PENZYM aux d'autres méthodes qui sont aussi immuno –

enzymatique nous pouvons dire que cette dernière se caractérise par des limites de détection inférieure aux LMR.

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 10<sup>3</sup> germes/ml). Il s'agit essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores : microcoques mais aussi streptocoques lactiques (*Lactococcus* et *Lactobacilles*). Le lait cru est protégé contre les bactéries par des substances inhibitrices appelées "Lacténines" mais leur action est de très courte durée (1 heure environ) (GUIRAUD, 1998). D'autres microorganismes peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade. Ils sont généralement pathogènes et dangereux au point de vue

Les coliformes totaux Selon LARPENT, (1990), la présence des coliformes totaux n'est pas obligatoirement une indication directe de la contamination fécale. Certains coliformes sont, en effet, présents dans les résidus humides rencontrés au niveau de l'équipement laitier. D'après MAGNUSSON et al. (2007), les litières fortement souillées contiennent plus de coliformes et la prévalence de mammites. D'autres sources de contaminations sont également à considérer tel que les mauvaises conditions de transport et le manque d'hygiène

Pendant la traite. La présence des coliformes fécaux est considérée comme un indice de contamination fécale, il s'agit donc plutôt de marqueurs de mauvaise maîtrise d'hygiène ainsi qu'à la mauvaise manipulation (GUIRAUD et ROSEC., 2004). Selon DODD et BOOTH, (2000), le *Staphylococcus aureus* est considéré comme une bactérie pathogène majeure, causant des infections mammaires, ces dernières s'accompagnent d'une augmentation de la perméabilité entre le compartiment sanguin et le lait qui a pour conséquence des modifications de la composition du lait. Et les techniques de dénombrements que nous avons utilisés sont les plus utilisés dans toutes les filières laitières (Christelle Lanher .11/2016)

Après la dilution des échantillons de lait on les ajoute des milieux de cultures et on les incube. Pour le dénombrement nous avons utilisés la méthode classique (à l'œil nu) mais la méthode la plus utilisée aux labos réside sur : Toutes les colonies présentes sur le pétri sont dénombrées à l'aide d'un stéréomicroscope et d'une source lumineuse à fibre optique. La technique des comptes de surface permet de connaître le nombre d'unités prélevées pouvant former une colonie (UFC). Selon cette technique, chaque colonie formée à la surface de la gélose provient d'une bactérie (moisissures) ou d'un agrégat de bactéries (moisissures). Cette méthode ne tient compte que des microorganismes viables qui peuvent se développer dans les conditions de croissance utilisées. À l'aide d'un crayon gras indélébile muni d'un compteur électronique, marquer la colonie une fois



qu'elle a été comptée. Si le nombre de colonies est très élevé, compter seulement une fraction de la surface et multiplié son résultat par l'inverse de cette fraction pour obtenir le compte total. ( l'Institut de recherche Robert-Sauvé 1980).

Le lait du point de vue physico-chimique est une émulsion (dispersion grossière) de matière grasse dans une solution colloïdale de protéine dont le liquide intermicellaire est une solution vraie (Kodio, 2005). PH ou acidité actuelle— L'acidité actuelle s'apprécie par le pH et renseigne sur l'état de fraîcheur du lait. A la traite, le pH du lait est compris entre 6,6 et 6,8 et reste longtemps à ce niveau. Toute valeur située en dehors de ces limites indique un cas anormal ; d'où l'intérêt de cette connaissance pour le diagnostic des mammites. Densité : poids spécifique ou masse volumique Pour une même espèce, la densité n'est pas constante. Elle dépend de la richesse du lait en éléments dissouts et en suspension ainsi que de la teneur en matière grasse. Elle est également variable en fonction de la température. A 20°C, la densité des laits individuels peut prendre des valeurs entre 1,030 et 1,033 et de 1,020 à 1,038 pour les laits de mélange. La densité du lait fraîchement extrait de la mamelle est instable et tend à augmenter avec le temps (Seydi, 2004). Point d'ébullition— L'ébullition propre du lait a lieu à 100°C ; cependant, lorsqu'on porte le lait sur le feu, à une température voisine de 80 à 90°C, il y a une montée du lait, c'est-à-dire formation d'une membrane protéinocalcaire ou peau du lait (frangipane) qui gêne l'ébullition du lait (Boivert, 1980). Pour bouillir le lait, il faut donc éliminer cette peau de lait. Le test à l'ébullition permet d'anticiper le comportement du lait à la stérilisation. Point de congélation ou point cryoscopique Il est de -0,5550°C avec des variations normales entre 0,530 et - 0,5750°C en fonction du climat. Le mouillage rapproche le point de congélation de 0°C, l'écémage ne modifie pas le point de congélation. Cependant, l'acidification lactique et l'addition de sels solubles l'abaissent (Aliais, 1984). Acidité titrable ou acidité Dornic— L'acidité de titration globale mesure à la fois le pH initial du lait et l'acidité développée après la traite par la fermentation lactique qui diminue le pH jusqu'à 4 ou 5. L'acidité de titration indique donc le taux d'acide lactique formé à partir du lactose. Le degré Dornic est le nombre de dixième de millilitre de soude utilisé pour titrer dix millilitres de lait en présence de phénolphthaléine (Amarglio, 1986). 1°D = 1 millilitre d'acide lactique dans 10 millilitre de lait soit 0,1 gramme d'acide lactique par litre. Deux laits peuvent avoir le même pH et des acidités tritables différentes et inversement. C'est-à-dire qu'il n'ya pas de relation d'équivalence réelle entre le pH et l'acidité de titration (Ndiaye, 1991)

## 6. Conclusion :

S'il existe un domaine où le contrôle de la qualité est une nécessité fondamentale, c'est bien celui des produits alimentaires en général, et du lait en particulier. La transformation laitière, qu'elle porte sur du lait cru ou la poudre de lait importée, requiert donc le respect d'une hygiène stricte tout au long de la chaîne. Les produits laitiers contribuent à l'équilibre nutritionnel de la famille, tant en milieu rural qu'en milieu urbain. Sources importantes en protéines, ils contribuent à environ 14% des protéines et 20% des calories provenant des produits animaux (DAPS, 2005). Le secteur laitier est marqué, depuis ces dix dernières années, par deux types d'évolution. D'une part, la reprise des importations de produits laitiers, notamment celle de la poudre de lait et d'autre part, différentes dynamiques de développement de la production laitière locale ont été observées dans différentes zones agroécologiques (Paoa, 2006).

Pour cela, nous nous sommes intéressés dans le cadre de notre travail à l'estimation de la qualité de ce produit

Lorsque la qualité est évoquée, surtout pour un produit variable que le lait, de multiples interprétations peuvent être adaptés selon des critères retenus pour définir cette qualité.

### ➤ Selon les critères physico-chimiques

Le pH, le test d'amidon et test d'ébullition L'acidité, la densité et l'extrait sec total nous avons utilisés les techniques les plus adaptés dans les filières laitières et les appareils de laboratoire d'analyses tels que le dessiccateur, la centrifuge, ph mètre et lactodensimètre.

### ➤ Selon les critères microbiologiques :

La valeur de FMAT, les coliformes totaux et les coliformes fécaux, et les staphylococcus aureus nous avons suivis les étapes d'ensemencements et d'incubations et les milieux de cultures correspondant pour chaque espèce microbiologique

En fin, les différents analyses de résidus d'antibiotiques sont établit : En élevage bovin, une gamme très variée d'antibiotiques est utilisée par les éleveurs pour lutter contre diverses maladies et améliorer le rendement de leurs productions (Thomson et al. 2008 ; Régula et al.

2009 ; et al. 2012). Les principales pathologies pour lesquelles les antibiotiques sont généralement utilisés en élevage bovin sont les mammites, les affections respiratoires et podales (Reybroeck, 2010). Les antibiotiques les plus utilisés sont les tétracyclines, les pénicillines et les céphalosporines administrés par voie parentérale (Reybroeck, 2010). La mauvaise utilisation de ces antibiotiques par les éleveurs et les vétérinaires ainsi que le non respect des délais d'attentes après le traitement des animaux conduisent à la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait et les autres denrées d'origine animale (Aning, 2007). Pour cela nous nous sommes consacrés dans une partie de notre travail aux analyses des résidus d'antibiotiques et nous avons utilisés des testes et des appareils les plus fiables et rapides qui sont : Combo Beta Star<sup>(S)</sup>, Combo Star<sup>(R)</sup>CHR HANSEN ,DELVO Test<sup>(R)</sup> SP ,PENZYM,et cela a causes des risques qu'ils provoquent ou constitues fondamentalement un facteur limitant pour les mini laiteries de yaourts parce qu'ils inhibent le processus de fermentation (Heeschen et Bluthgen, 1990). Les antibiotiques sont). Les antibiotiques sont souvent à l'origine de potentiels risques toxicologiques pour le consommateur et dedéveloppement de bactéries résistantes aux antibiotiques vétérinaires (Kabir et al., 2004 ; Persoons, 2011).

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

**ABDUSSALAM M, STOTVAST D I et ACHARYA R ,1996** .Hygiène du lait O.N.V .A . Et OMS.

**ALAIS C ,1984**.Science du lait principes des techniques laitiers .Paris, Sepaic 4<sup>ème</sup> Edition ,814p .

**Alais ,C ,H,Linden ,G,et Miclo ,L,2003** :Biochimie alimentaire ,5<sup>ème</sup> Edition Dunod .Paris ,163-189

**Amarglio, 1986** point et comparé à la méthode par distillation

**Aning, 2007** traitements des animaux conduisent à la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait et les autres denrées d'origine animale

**Anonyme 2002, EMC** universitaire 2000

**Arrêté conjoint de ministre de l'agriculture et du développement rural 08Avril 2004.**

**Badinand, F, 1994** .Maitrise du taux cellulaire du lait .Rec .Méd .Vét ,170.n°6/7

**BARATON Y ,2001**.Inhibiteurs et autres résidus médicamenteux :Les problèmes posés aux entreprises laitières ,Sécurités alimentaires et médicaments vétérinaires ,ISPAIA de Plaufragan ,GIE ,GTV,Mai ,49-51.

**BEN DEDDOUCHE B, 1985**. La recherche des substances antimicrobiennes dans les viandes fraîches, Maitrise en science vétérinaire

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

**BERCHE P, LOUIS J et SIMONET M 1991**. Bactériologie : Les bactéries des infections humaine, Ed, Médecine, Sciences, Flammarion, Paris,

**BERGOGNE B et DELLAMONICA P ,1995** Antibiothérapie en pratique clinique, Ed Masson, Paris, P 486.

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

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

**Bradley ,A,J,et Green ,M,J,2004** .The importance of the nonlactating period in the epidemiology of intramammary infection and strategies for prevention .Vet .Clin .North .Am Food Anim .Pract .**20**:547.568.

**Boivert, 1980**

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

**Bouchard, E, 2003.**Cours de pathologie mammaire, faculté de médecine vétérinaire de Montréal.

**BOURIN, M, MICHEL, L, et ALLAIN, H, 1994** MEDICAMNETS ANTIBIOTIQUES, Traité de chimie Thérapeutique Vol 2 Cours de pharmacologie 3 ème Edition

**Browning, J.M.,Mein ,G.A.,Brighthling ,P.,Nichols ,T.J..et Barton ,M.1994.**Strategies for mastitis control :dry cow therapy and culling .Aust .Vet .J.71:179-181

**Bull. Soc. Pharm. 2009**

**BURGAZ -SACAZE V, 1981.**Risques d'accidents allergiques dus aux résidus Rec –Med Vét  
**Bryskier A ,1999.**Agents antibactériens et antifongiques Paris ;Ellipses ;1216p

57 :187-190.

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

**Carole et Christian Buchmann 2006** : Techniques de dénombrements PDF

**Carole, 2002**

**Charron, F .1989.**contribution a l'étude de la prophylaxie des mammites bovines, approche critique de la lactation du groupement de défense sanitaire de nord .Thèse doctorat Vétérinaire ENV .Alfort .

**CHATAIGNER B et STEVENS A, 2002.**Investigation sur la présence de résidus d'antibiotiques dans les viandes commercialisées a DAKAR, projet PACEPA, Rapport de l'institut pasteur de DAKAR.

**Christelle Lanher .11/2016)**

**Cullen .G.A.1966:** Cells in milk .Veterinary Bulletin .36.337-346.

**DAPS, 2005**

**David, V.et De Cremoux, R, 2002 :** Palpation et observation de la mamelle .Réussir La chèvre ,237,27-29.

**Debry ,G,2001 .**Lait ,nutrition et santé .Paris :Technique et documentation

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

**Demoré B, Grare M, Duval R. Elsevier Masson; 2012 :** Pharmacie clinique et thérapeutique 4ème édition. Chapitre 40 : Généralités sur les antibiotiques par voie systémique et principes d'utilisation. Chapitre antibiotiques.

**Djamel Alilat .El watane 25.05.2009**

**DODD et BOOTH, 2000.**

**DUCLUZEAU R ,2000** l'utilisation des antibiotiques en agriculture et les dangers pour le consommateur .antibiotiques ; 2 ; 76-85

**DUVAL J et SOUSSY C J 1985 .**Abrégés d'antibiotiques Paris : Masson .180 p .

**ECCKMOTTE M .1978.**Antibiotiques et alimentation humaine .Rev –Méd –vét .

**FAO 1990 :** Annuaire FAO de la production, vol 44, Rome

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

**FAO, 2007**

**Flache Hugues 2002 :** cinétique des comptages cellulaires de quartiers après mammites cliniques chez la vache laitière .Thèse De Docteur vétérinaire .Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon ,72.

**FORM G 2003.**Les résidus inhibiteur dans le lait .Evolution de méthode de détection –Facteur de risque en région Rhône –alpes .thèse Med Vet p121.

**Frère et J.M; Klein D et Ghuysen J.M ;(1980)** :enzymaticmethod for rapid and sensitive détermination of B-lactamantibiotics .Antimicrobial agents and chemotherapy ,18,506-510.

**GUIRAUD, 1998**

**GUIRAUD et ROSEC., 2004**

**Gaudin P, 1999.**Origines et conséquences des substances dites inhibitrices dans la filière lait, Etude au niveau d'un groupe laitier .thèse pour le Diplôme de Docteur Vétérinaire .Nantes .

**Hanzen CH 1999** : Pathologie de la glande mammaire de la vache laitière :Aspects individuels et d'élevage .4<sup>iem</sup> Edition Université de Liège

**Hanzen, CH.2004** Chapitre 8 Propédeutique de la glande mammaire 1<sup>er</sup> doctorat

**Heeschen et Bluthgen, 1990**

**Institut de recherche Robert-Sauvé 1980** : en santé et en sécurité du travail (IRSST) est un organisme de recherche scientifique reconnu internationalement pour la qualité de ses travaux Solidement implanté au Québec depuis.

**Jay, J, M, 1986.**Modern Food microbiology .3 th Ed, Van Nostrand Reinhold Cy

**Kabir et al., 2004 ; Persoons, 2011**

**Kelly, W, R, 1971.**Diagnostic clinique vétérinaire maloine Sa .Editeur .256-259.

**Kodio, 2005**

**Laboratoire de Fougère .janvier 2013**

**Lacombe, J, F, 1993.**Les antibiotiques dans le traitement des mammites bovines Bulletin des GTV N 02 ,21- 28.

**LAMONTAGNE et al ,2002**

**LAMONTAGNE M ,CLAUDE P ,CHAMPAGNE ,JOELLE R ,MOINEAU S,GARDNER N ,LAMOUTEUX M,JEAN J et FLISS I (2002).**Science vet technologie du lait \* transformation de lait \*,Chapitre II ,pp 74-145.

**LARPENT J P et SANGLIER J J 1989** .Biotechnologie des antibiotiques .Paris Technique et documentation ,1037p

**LARPENT, (1990)**

**Lederer J, 1977 :** Encyclopédie moderne de l'hygiène alimentaire .Tome II .Hygiene des aliments .2<sup>iem</sup> édition Maloine, Paris ,310 pages.

**Le journal officiel de la république Algérienne :** N°35 du 27 mai 1998

**Le Roux .Y.1999.** Les mammites chez la vache laitière inflammation de la glande mammaire : Première pathologie en élevage laitier. Explorateur internet

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

**LAURENTIE M et SANDERS P 2002.**Résidus de médicaments vétérinaires et temps d'attente dans le lait, Bull, Group, Tech .Vét .2002(15)197-2001.

**MAGNUSSON et al. 2007**

**Matthews, J, 1999:** Diseases of the goat, 2nd edition .Blackwell Science .Oxford, 266 pp.

**MARUEJOULS B et GOULARD F,1999.**Résidus de pesticides dans le lait ,des résultats encouragements pour les produits de l'agriculture biologique .Alter Agri ,37.10-13.

**MARTEL JL et VANDAELE E, 1999 .**Epidémiologie de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes chez les bovins Point Vét .1999.30

**MILHAUD G, et PERSON J M 1981.**Evaluation de la toxicité des résidus d'antibiotiques dans le lait ,Rec –Med –Vet .157(2) :179-185

**Ministère de l'agriculture 2012**

**MOUROT D et LOUSSOUARN S (1981).**Sensibilités des ferments lactiques aux antibiotiques utilisés en Médecine vétérinaire .Recueil de Médecine Vétérinaire 175.177.

**Ndiaye, 1991**

**Noireterre Ph .2006.**Suivis de contagion cellulaires et d'examen bactériologiques lors de mammites cliniques chez la vache laitière : Etude expérimentale au centre d'élevage Lucien Bizet de Poizy .Thèse de diplôme de docteur vétérinaire ENV Lyon

**Paoa, 2006**



**Radostits ,O.M,Blood ,D,C,et Gay,C,C1997** :Text book of the diseases of cattle ,sheep ,pigs ,goats and horses veterinary medicine :15,576.Eighth edition Saunder

**.Rainard ,P,1979**.traitement des mammites de la vache laitière .Thèse Doc .Vet

**Reybroeck, 2010**

**ROUSSEL P, BENDALI F, DAVID V, GENTILLHOMME .A et SERMENT A ,2006**.Les substances inhibitrices en élevage laitier, Causes de la présence de molécules inhibitrices dans le lait 32-35.

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

**Rupp, R.2000** : Analyse génétique de la résistance aux mammites chez les ruminants laitiers .Thèse Doctorat de l'Institut National Agronomique, Paris –Grignon

**SACHOT E et PUYT j D 2001**.Les différents calculs du temps d'attentes point vét ; 212 ;48-51.

**Sischo WM ;(1996)**

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

**Seydi, 2004**

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

**Sommelier,L,et Heuchel ,V,1999**.Caractérisation microbiologique et aptitude technologique des laits ultra propres .Compte –rendu Institut de l'Elevage ,n°9983118.32p.

**SuhrenG,Beukers R,(1998)**

**Supplées et al. 1927)**

**Thomson et al. 2008 ; Régula et al. 2009 ; et al. 2012**

**Veisseyre (R) 1975** :Technologie du lait .3<sup>ème</sup> édition .Paris ;La maison rustique .714 p.

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

**WEISEN J P ,1974**.Prophylaxie des mammites 2, Dépistage des mammites Edition Vigot frère

**Winkelmann, J, 2005: Schaf –und Ziegenkrankheiten .3.Auflage .Eugen ULmer KG,Stuttgart**  
,130 PP .

**Ziv, G.1980.Practical** pharmacokinetic aspects of mastitis therapy I :Parental treatment  
agri practice ,277.290.