

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

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

THEME :

**Recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de
citerne par le Delvotest Xpress11 et le Delvotest SP**

Présenté par :

M^{elle} EL FARRA Kinda et M^{elle} MEBARKI Saadia

Devant le jury :

Mr YAHIMI A K Maitre assistant A à l'université Saad DAHLEB , Bilda	Président
Mme YAHIMI N Maitre assistante B à l'université Saad DAHLEB , Blida	Examineur
M ^{elle} TARZAALI D, Maitre assistante B à l'université Saad DAHLEB, Blida	Promotrice
M ^r SAADAOUI M R, Docteur vétérinaire, Blida	Co- Promoteur

Promotion, Juin, 2012

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, nous remercions Allah de nous avoir accordé la santé et le courage pour pouvoir réaliser ce modeste travail.

Nos vifs remerciements vont en premier lieu à notre promotrice **M^{elle} TARZAALI Dalila**, Maitre assistante B à l'université SAAD DAHLEB de Blida qui a bien voulu accepter l'encadrement de notre travail par ses précieux orientations et conseils. Toutes nos gratitude.

Nous remercions également **Mr YAHIMI AK**, Maitre assistant A à l'université Saad Dahleb de Blida, qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de mémoire. Hommages respectueux.

Mme YAHIMI N, Maitre assistante B à l'université Saad Dahleb de Blida, qui a accepté de participer en qualité de membre de jury. Remerciements chaleureux.

Un grand merci est adressé à **Mr BERBER Ali** chef du département des sciences vétérinaires et à tous nos enseignants pour tout ce qu'ils nous ont donné comme savoir et savoir faire. Sincères remerciements.

Ces remerciements ne seraient être complets sans un mot pour nos collègues avec qui de belles amitiés se sont développées.

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

SOMMAIRE

Résumé en Français	
Résumé en Anglais	
Résumé en Arabe	
Remerciements	
Dédicaces	
Sommaire	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	01
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUES	
CHAPITRE 1: QUALITE DU LAIT	
1. 1 Introduction	02
1.2 Définitions	02
1.3. Importance de la consommation laitière en Algérie	03
I.4 Qualité de lait	03
I.4.1. Qualité organoleptique du lait	03
1.4.2. Qualité hygiénique et sanitaire du lait	05
1.4.3. Le paiement du lait selon la qualité	05
CHAPITRE 2: LES ANTIBIOTIQUES	
2.1. Historique	07
2.2. Définition d'un antibiotique	07
2.3. Mode d'action des antibiotiques	07
2.4. Usages des antibiotiques en médecine vétérinaire	08
2.5. Antibiotiques non autorisés en médecine vétérinaire	10
2.6. Classification des antibiotiques	10
2.6.1. Critères de classification	10
2.7. Classification	10
2.8. Pharmacocinétique des antibiotiques	13
2.9. Associations d'antibiotiques	15

2.10. Les résidus d'antibiotiques	15
2.10.1. Définition du résidu	15
2.10.2. Les risques présentés par les résidus	15
2.11. Les causes de contamination du lait par les résidus d'antibiotiques	18

CHAPITRE 3: LES METHODES DE DETECTION DES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES DANS LE LAIT

3.1. Introduction	20
3.2. Méthode microbiologique	20
3.2.1. Ancienne méthode officielle de référence	20
3.2.2. Méthode de détection rapide	21
3.3.1. Méthode enzymatique	22
3.3.2. Méthode immuno-enzymatique	23

PARTIE EXPERIMENTALE

1.1. Période et lieu de l'étude	25
1.2. Echantillonnage	25
1.3. Matériels et méthode	26
1.4. Résultat	35
1.5. Discussion	44
CONCLUSION	48
RECOMMANDATION	49
REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE	

ملخص

الأدوية البيطرية وخاصة المضادات الحيوية هي جزء من العتاد اللازم في تربية الحيوانات اليوم لأنها يمكن أن تقي أو تعالج كثير من الأمراض ومع ذلك، يمكن العثور على هذه المضادات الحيوية كمخلفات زائدة عن الحد الأقصى المسموح به في أي طعام من أصل حيواني (كالحليب).

المخاطر المرتبطة بوجود هذه الرواسب هي مخاطر السمية، الحساسية والبكتيرية على صحة الإنسان وكذلك مخاطر تكنولوجيه على الصناعة الغذائية.

دراستنا تتمثل في البحث عن رواسب البيتا لاكتامين في حليب صهاريج ملبنة بني تامو اولا بواسطة "ديلفو اكسبريس" ثم التحقق بواسطة "ديلفو اس بي".

نتائج تحاليل 98 عينة من الحليب الطازج بواسطة "ديلفو اكسبريس" اظهرت تلوث صهريج واحد اي نسبة 1,02% اما نتائج تحاليل 98 عينة من الحليب الطازج بواسطة "ديلفو اس بي" اظهرت تلوث 16 صهريج اي نسبة 16,32% .

الكلمات المفتاحية: الحليب الطازج, خزان, رواسب المضادات الحيوية, ديلفو اكسبريس, ديلفو تست اس بي .

SUMMARY

Veterinary drugs antibiotics are part of the armamentarium necessary in breeding today because they can prevent or treat many infectious diseases. However, these antibiotics can be found as residues in excess of the maximum permitted residue in food from animal traits (milk).

The dangers associated with the presence of these residues are of toxicological, allergic and microbiological for human health but also technology for the Food industry.

This study focuses on the research of Betalactams in raw milk tanks at the dairy of Beni -Tamou using the Delvo X press then by the Delvotest Sp.

- ✓ The analysis of 98 samples of raw milk tank using the Delvo X press revealed 01 milk contaminated, a rate of 1,02%.
- ✓ The analysis of 98 samples of raw milk tank using the Delvotest Sp showed revealed 16 milk contaminated, a rate of 16,32%.

Keywords: raw milk tank, antibiotic residues, Delvo X press, Sp Delvotest.

RESUME

Les médicaments vétérinaires notamment les antibiotiques font partie de l'arsenal thérapeutique indispensable dans l'élevage d'aujourd'hui car ils permettent de prévenir ou de traiter un grand nombre de maladies infectieuses. Cependant, ces antibiotiques peuvent se retrouver sous forme des résidus en quantité supérieure à la limite maximale de résidus autorisée dans les denrées alimentaires (lait) issues des animaux traités.

Les dangers liés à la présence de ces résidus sont d'ordre toxicologique, allergique et bactériologique pour la santé humaine mais aussi technologique pour l'Industrie agro-alimentaire.

La présente étude porte sur la recherche des résidus de Bêtalactamines dans le lait cru des citernes de la laiterie de BENI-TAMOU au moyen du Delvo X press puis la confirmation avec le Delvotest Sp.

- ✓ L'analyse des 98 échantillons de laits crus de citernes au moyen de Delvo X press a révélé 1 lait contaminé, soit 1,02%.
- ✓ L'analyse des 98 échantillons de lait crus de citernes par le Delvotest Sp a montré 16 laits contaminés, soit 16,32%.

Mots clés: lait cru, citerne, résidus d'antibiotique, Delvo X press, Delvotest Sp.

LISTE DES FIGURES

Figure n° 1 : Principaux sites d'action des antibiotiques	08
Figure n° 02 : le kit de Delvo X press.	27
Figure n° 03 : Mettre 0,2 ml de standard	27
Figure n° 04 : Mettre 0,2 ml de l'échantillon	28
Figure n° 05 : Dépôt de 0,2 de tracer	28
Figure n° 06 : Mettre les tubes dans la ligne A.	28
Figure n° 07 : Rinçage de la solution	29
Figure n° 08 : Addition de 1 ml de développer	29
Figure n° 09 : Mettre les tubes dans la ligne B	29
Figure n° 10 : le kit Delvotest SP	31
Figure n° 11 : Détachement des ampoules	32
Figure n° 12 : Ouverture de la feuille d'aluminium	32
Figure n° 13 : Dépôt du lait dans l'ampoule	33
Figure n° 14 : Incubation des ampoules	33
Figure n°15 : Pourcentage de la contamination du lait par les résidus des bêtalactamines en fonction de chaque wilayas (Blida, Médéa, Ain-defla Tipaza)	39
Figure n°16: Pourcentage de la contamination du lait par les résidus des bêtalactamines dans les quatre wilayas confondus (Blida, Tipaza, Médéa, Alger)	40
Figure n°17 : Pourcentage de la contamination du lait par les résidus d'antibiotiques en fonction de chaque wilayas (Blida, Médéa, Ain-defla Tipaza)	43
Figure n°18: Pourcentage de la contamination du lait par les résidus des d'antibiotiques dans les quatre wilayas confondus (Blida, Tipaza, Médéa, Alger)	43
Figure n°21: La comparaison entre les résultats du Delvotest Xpress 11 et le Delvotest SP	44

LISTE DES TABLEAU

Tableau n° 1 : principales familles d'antibiotiques et leurs spectres d'activité	11
Tableau II: les seuils de sensibilité du Delvo X press 11	30
Tableau n° III : Résultats de la recherche des résidus de bêtalactamines dans les laits de citernes provenant de la wilaya de Blida	36
Tableau n° IV : Résultats de recherche des bêtalactamines dans les laits de citernes provenant de la wilaya de Médéa	37
Tableau n° V : Résultats de la recherche des résidus de bêtalactamines dans les laits de citernes provenant de la wilaya de Ain-defla	38
Tableau n° VI: Résultats de la recherche des bêtalactamines dans les laits de citernes provenant de la wilaya de Tipaza	38
Tableau n° VII : Résultats de la recherche des résidus de bêtalactamines dans les laits de citernes provenant des quatre wilayas (Blida, Médéa, Ain-defla Tipaza)	39
Tableau n° VIII : Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans les laits de citernes provenant de la wilaya de Blida	40
Tableau n° IX : Résultats de la recherche des résidus de d'antibiotiques dans les laits de citernes provenant de la wilaya de Médéa	41
Tableau n° X: Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans les laits de citernes provenant de la wilaya de Ain-defla	41
Tableau n° XI : Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans les laits de citernes provenant de la wilaya de Tipaza	42
Tableau n°XII : Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans les laits de citernes provenant des quatre wilayas (Blida, Médéa, Ain-defla Tipaza)	42
Tableau n°XIII : La comparaison entre les résultats du Delvo Xpress 11 et le Delvot SP	44

Dédicaces

Louange à Dieu tout puissant

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail

A mon pays la Palestine qui est toujours

dans mon cœur et mes pensées.

A mes parents les êtres les plus chers à mon cœur

pour m'avoir prodigué conseils et encouragements

A mon frère Amdjed et sa femme Ibtihal et

leurs sourisses Boudi et Sila ,

A mon très cher frère Ayhem et sa femme Nada.

A ma petite sœur Maissa et tous mes souhaits

de succès dans ses études.

A mes deux familles EL FARRA et OUIDA.

A la famille TADJ EDDINE.

Hinda

INTRODUCTION

Le lait, produit naturel, pur et blanc a une image forte auprès des consommateurs comme en témoignent de nombreuses publicités, notamment parce qu'il reste un nutriment de base pour les enfants. Pour les industriels de la filière laitière, c'est une matière première clé, l'outil de leur travail [93].

Nous constatons actuellement en Algérie une utilisation abusive et anarchique des antibiotiques en pratique vétérinaire [94,95]. Il s'agit surtout du non respect du délai d'attente et du non respect de réglementation concernant l'absence des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale destinées à la consommation humaine [95].

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)[96].

L'importance de ce problème d'ordre sanitaire et technologique nous a incité à s'intéresser à ce thème et a présenté ce que sont les résidus d'antibiotiques, les dangers de leur présence dans les denrées alimentaires et surtout la gestion de ce risque par l'Etat et par les acteurs de la filière alimentaire dans une partie bibliographique et la recherche des résidus de Bétalactamines dans le lait cru des citernes de la laiterie de BENI-TAMOU au moyen du Delvo X press, puis par le Delvotest Sp dans une partie expérimentale.

CHAPITRE 1:

QUALITE DU LAIT

1.1 Introduction :

L'Algérie est un pays de tradition laitière. Le lait et les produits laitiers occupent une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens ils apportent la plus grosse part de protéines d'origine animale. En regard de son contenu en énergie métabolisable, le lait présente une forte concentration en nutriments. Mais le lait n'a pas seulement un intérêt alimentaire, il occupe une place centrale dans l'imaginaire des algériens. Ce n'est d'ailleurs pas par hasard qu'il est offert comme signe de bienvenue, traduisant, ainsi par l'acte notre tradition d'hospitalité.

La consommation nationale s'élève à environ 3 milliards de litres de lait par an, la production nationale étant limitée à 2,2 milliards de litres, dont 1,6 milliard de lait cru. C'est donc près d'un milliard de litres de lait qui est ainsi importé chaque année, majoritairement sous forme de poudre de lait". Chaque année, l'Algérie importe 60% de sa consommation de lait en poudre, et la croissance annuelle moyenne du marché algérien des produits laitiers est estimée à 20%. Ubifrance affirme que le marché algérien du lait est dominé par le secteur privé.

"On recense 19 laiteries publiques et 52 laiteries privées. On compte environ 190 000 exploitations laitières, dont 80% sont familiales [1].

1.2 Définitions:

Le lait est un liquide opaque blanc mat, plus ou moins jaunâtre selon la teneur de la matière grasse en β -carotènes. Il a une odeur peu marquée, mais caractéristique. Son goût, variable selon les espèces animales, est agréable et douceâtre.

En 1909, le lait destiné à l'alimentation humaine a été défini par le Congrès International de la Répression des Fraudes, comme étant le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas

La réglementation européenne réserve la dénomination "lait" exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale, obtenu par une ou plusieurs traites, sans aucune addition ou soustraction. S'ils ne proviennent pas de l'espèce bovine, l'origine du lait et des produits laitiers doit être spécifiée : lait/fromage de chèvre, lait/fromage de brebis.

1.3. Importance de la consommation laitière en Algérie:

L'Algérie est le premier consommateur laitier du Maghreb avec un marché annuel estimé, en 2004, à 1,7 milliard de litres [4] plus de trois milliards de litres en 2007 [5,6] et une consommation moyenne de l'ordre de 100 à 110 l/habitant/an. Cette consommation augmente encore régulièrement et devrait atteindre au moins 115 l par habitant et par an en 2010 [4,5].

La production locale est évaluée à un peu moins de deux milliards [6], l'Algérie est donc contrainte d'importer des quantités massives de lait, dont la plus grande partie sous forme de lait de poudre qui coûte de plus en plus cher [5].

En Algérie, le lait occupe une place importante dans la ration alimentaire car il représente la principale source de protéines d'origine animale, en 1990 par exemple, on estime que le lait a compté pour 65,5 % dans la consommation de protéines d'origine animale, devançant largement la viande (22,4 %) et les oeufs (12,1 %) et cela est due surtout au coût car un gramme de protéines à partir du lait coûte huit fois moins cher que la même quantité à partir de la viande ; en termes énergétiques, une calorie obtenue à partir de la viande est vingt fois plus chère que celle du lait [7].

I.4 Qualité de lait:

Elle caractérise le risque pour la santé du consommateur. Cette qualité est jugée défailante si le produit contient une quantité de toxines ou de microorganismes pathogènes suffisante pour rendre le produit dangereux à consommer ou s'il existe un risque suffisant pour qu'il en soit ainsi [8].

I.4.1. Qualité organoleptique du lait:

[9] rapporte que l'aspect, l'odeur, la saveur, la texture ne peuvent être précisés qu'en comparaison avec un lait frais.

I.4.1.1. La couleur:

Le lait est de couleur blanche mat, qui est due en grande partie à la matière grasse, aux pigments de carotène (la vache transforme le B-carotène en vitamine A qui passe directement dans le lait [10]).

[11] explique que dans le lait, deux composants, les lipides sous forme de globules de matière grasse et les protéines sous forme de micelles de caséines diffractent la lumière. Ces agrégats dispersent les rayons lumineux sans les absorber et le rayonnement qu'ils renvoient, est identique en composition au rayonnement solaire, à savoir une lumière blanche.

1.4.1.2. L'odeur :

Selon [9], l'odeur est caractéristique le lait du fait de la matière grasse qu'il contient fixe des odeurs animales. Elles sont liées à l'ambiance de la traite, à l'alimentation (les fourrages à base d'ensilage favorisent la flore butyrique, le lait prend alors une forte odeur), à la conservation (l'acidification du lait à l'aide de l'acide lactique lui donne une odeur aigrelette).

1.4.1.3. La saveur

La saveur du lait normal frais est agréable. Celle du lait acidifié est fraîche et un peu piquante. Les laits chauffés (pasteurisés, bouillis ou stérilisés) ont un goût légèrement différent de celui du lait cru. Les laits de rétention et de mammites ont une saveur salée plus ou moins accentuée. Il en est en parfois de même du colostrum. L'alimentation des vaches laitières à l'aide de certaines plantes de fourrages ensilés, etc. peut transmettre au lait des saveurs anormales en particulier un goût amer. La saveur amère peut aussi apparaître dans le lait par suite de la pullulation de certains germes d'origine extra-mammaire [12].

1.4.1.4. La viscosité

[13] a montré que la viscosité du lait est une propriété complexe qui est particulièrement affectée par les particules colloïdes émulsifiées et dissoutes.

La teneur en graisse et en caséine possède l'influence la plus importante sur la viscosité du lait. La viscosité dépend également de paramètres technologiques.

La viscosité est une caractéristique importante de la qualité du lait, étant donné qu'une relation intime existe entre les propriétés rhéologiques et la perception de la qualité par le consommateur. Ainsi, un consommateur d'Europe centrale évalue de manière très positive le lait concentré à forte consistance (filandreux). Il associe la teneur élevée des composants du lait à la viscosité élevée

1.4.2. Qualité hygiénique et sanitaire du lait

Un lait de bonne qualité ne doit pas décolorer le bleu de méthylène en moins de trois heures. A l'épreuve de la réductase microbienne. Le lait, quelque soit sa nature et son origine est donc rarement conforme aux normes définies par l'Institut Sénégalais de Normalisation.

Il est généralement admis que l'acidité du lait caillé pourrait détruire les germes. Cette forme de présentation du lait semble assurer une conservation acceptable puisque le produit peut-être commercialisé quelques jours apparemment sans gêne pour le consommateur. Si les germes qui se sont multipliés ne sont pas des germes pathogènes notoires, leur abondance est cependant le signe que l'hygiène minimale n'est pas respectée, d'où de fortes possibilités de risques.

Les antibiotiques sont des substances interdites dans le lait. S'ils sont réglementés, c'est parce que l'on craint des accidents d'allergie, surtout avec la pénicilline. Comme on ne peut prouver que les petites quantités d'antibiotiques retrouvées dans le lait suite à un traitement antibiotique ne sont pas suffisantes pour sensibiliser les consommateurs ou pour perturber certaines fabrications utilisant des ferments lactiques, le lait est considéré comme impropre à la consommation humaine ou animale [14]

1.4.4. Le paiement du lait selon la qualité :

Selon[15], le lait, jusqu'à une époque récente, a été payé au volume ou au poids, comme si sa composition était constante et sa qualité invariable. Ce mode de paiement n'est pas seulement injuste, il peut avoir des conséquences néfastes:

- Sur la sélection bovine: recherche des animaux à production élevée sans tenir compte de la richesse du lait ;
- Sur la qualité bactériologique moyenne du lait: négligence du producteur qui n'est ni puni, ni récompensé, et manque d'encouragement à suivre le progrès technique.

Des textes administratifs et réglementaires ont été ensuite promulgués pour les modalités d'application. Des conventions doivent être passées entre les entreprises laitières et les producteurs pour déterminer les modalités de calcul des différences de prix payé pour le lait le meilleur et celui payé pour le moins bon devant être moins égal à 10% du prix indicatif. Mais le processus doit être déclenché dans chaque département par un arrêté préfectoral.

En Algérie le lait du « circuit de collecte » est payé sur le taux de matières grasses et la qualité bactériologique n'est pas considérée parmi les critères de qualité tandis que celui du « circuit informel » échappe à tout contrôle sanitaire et hygiénique [16].

Il est à noter que la fréquence de prélèvement du lait n'est pas rigoureusement imposée dans tous les cas. Trois prélèvements par mois semblent vers lequel on tend, dans divers pays.

On peut faire simplement la moyenne mensuelle, en tenant compte des quantités fournies.

L'échantillonnage pondéré est plus équitable dans le cas des analyses chimiques; sur chaque apport de lait, on prélève un volume proportionnel à la quantité livrée; les prélèvements successifs sont ajoutés les uns aux autres dans un flacon au numéro du producteur, contenant du bichromate de potassium. L'analyse est faite chaque quinzaine, par exemple.

La tendance est actuellement de faire exécuter les analyses par les laboratoires interprofessionnels départementaux ou régionaux, indépendants de la production et de la transformation du lait et gérés par des spécialistes qui disposent souvent d'importants équipements d'analyses. Ils reçoivent des subventions gouvernementales [15].

CHAPITRE 2:

LES ANTIBIOTIQUES

2.1. Historique:

La découverte des antibiotiques revient à sir FLEMING Alexander en 1929. Au cours d'examen de routine de cultures de staphylocoques en boîtes de Pétri au Saint Mary's Hospital de Londres, il découvre le développement accidentel de certaines moisissures de *Penicillium notatum* autour desquelles les colonies bactériennes ne se développaient pas. Il émet l'hypothèse que ce champignon devait sécréter une substance nuisible à la croissance des staphylocoques et il a démontré que le bouillon filtré de ce champignon permet de reproduire ce phénomène. Il a donné à ce produit qui a pu empêcher la croissance de ces bactéries le nom pénicilline qui est introduit en thérapeutique pendant la deuxième guerre mondiale.

Parallèlement sont préparés en 1935, les sulfamides, le premier groupe d'antibactériens artificiels. Par la suite de nombreux autres antibiotiques ont été isolés à partir de champignons inférieurs, mais aussi et surtout des bactéries telluriques (genre *Actinomycètes*, *Bacillus*) les plus productrices d'antibiotiques.

2.2. Définition d'un antibiotique:

Un antibiotique est une substance antibactérienne d'origine biologique, c'est-à-dire produite par des micro-organismes (champignons microscopiques et bactéries) ou de synthèse chimique et qui est capable d'inhiber spécifiquement la vitalité d'autres micro-organismes par un mécanisme particulier jouant sur les mécanismes vitaux du germe, [17,18,19].

2.3. Mode d'action des antibiotiques

A la différence des antiseptiques et des désinfectants, les antibiotiques agissent en général de façon très spécifique sur certaines structures de la cellule bactérienne; cette grande spécificité d'action explique pourquoi les antibiotiques sont actifs à très faible concentration. Cette action s'exerce selon les molécules sur des sites variés (Cf. figure n° 1), [20,21,22,23,24]:

- sur la paroi bactérienne : en inhibant la dernière étape de la biosynthèse du peptidoglycane (muréine composant essentiel de la paroi bactérienne, qui confère à la bactérie sa forme et sa rigidité ce qui lui permet de résister à la forte pression osmotique intra cytoplasmique) au cours de la multiplication cellulaire, la nouvelle bactérie n'est plus protégée entraînant ainsi une lyse bactérienne
- sur la membrane cellulaire : en désorganisant sa structure et son fonctionnement, ce qui produit des graves troubles d'échanges électrolytiques avec le milieu extérieur
- sur les ribosomes : ce qui entraîne l'arrêt de la biosynthèse des protéines ou la formation de protéines anormales
- sur l'ADN : en empêchant sa réplication et en inhibant la biosynthèse protéique
- autres : en agissant tant qu'antimétabolites bactériens (c'est à dire au niveau des étapes du métabolisme intermédiaire des bactéries)

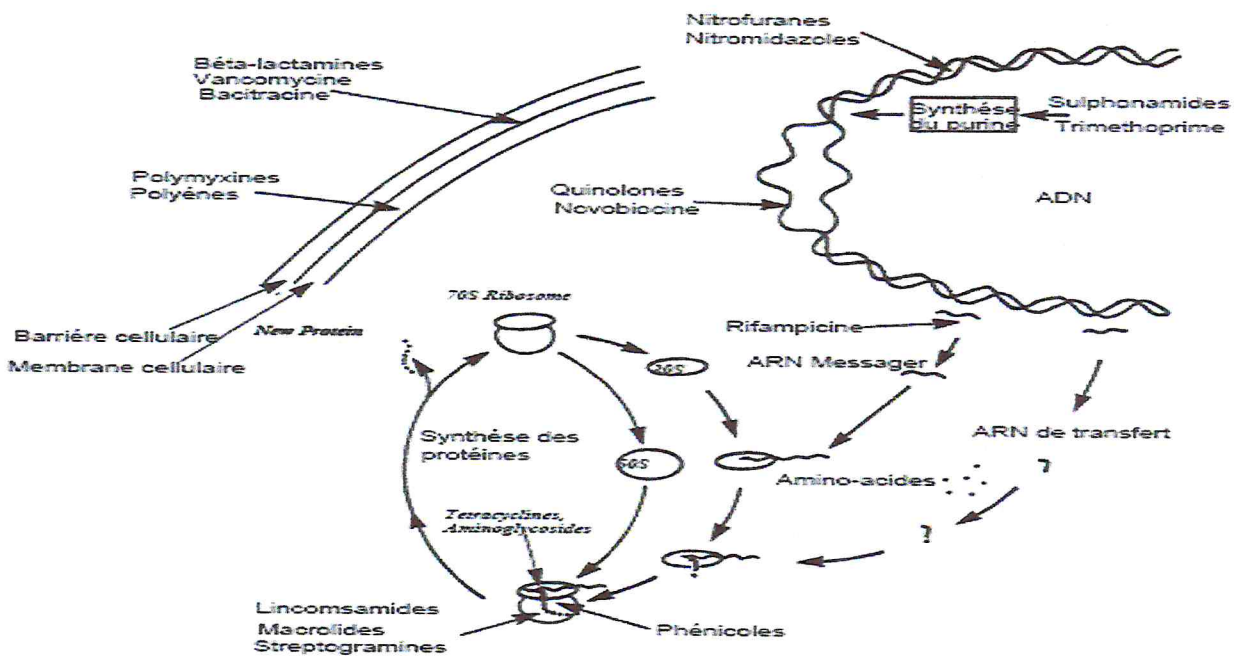


Figure n° 1 : Principaux sites d'action des antibiotiques,[20,21,22,23,24,25]

2.4. Usages des antibiotiques en médecine vétérinaire:

Selon [26,27,28] les antibiotiques peuvent être utilisés de quatre façons différentes, avec des objectifs variables :

- les antibiotiques sont tout d'abord utilisés à titre thérapeutique curatif.
L'objectif majeur est d'obtenir la guérison des animaux cliniquement malades et d'éviter la mortalité. Le traitement a aussi pour effet de réduire la souffrance et de restaurer la production (lait, viande). Il réduit l'excrétion bactérienne, permettant dans certains cas d'obtenir une guérison bactériologique et, lors d'infection zoonotique, il peut éviter la contamination humaine.
- lorsqu'une infection collective et très contagieuse se déclare dans un élevage avec de grands effectifs et évolue sur un mode aigu, avec suffisamment d'éléments concordants pour incriminer une (des) bactérie(s), l'ensemble du groupe d'animaux est traité. Les sujets qui sont exposés mais ne présentent pas encore de signes cliniques (sains ou en incubation) font donc l'objet d'un traitement en même temps que ceux qui sont déjà malades. Cette pratique est qualifiée de métaphylaxie. Elle permet de traiter les animaux soumis à la pression infectieuse alors qu'ils sont encore en incubation ou lorsque les manifestations cliniques sont très discrètes.
- les antibiotiques peuvent, parfois, être administrés à des périodes critiques de leur vie, sur des animaux soumis à une pression de contamination régulière et bien connue, après contrôle de la nature de l'infection par des examens de laboratoire. Dans ces conditions, on parle d'antibioprévention car le traitement permet d'éviter totalement l'expression clinique. Cette modalité d'utilisation des antibiotiques est adaptée à une situation sanitaire donnée et doit être provisoire. L'antibioprophylaxie est également utilisée lors d'opérations chirurgicales pour prévenir les infections bactériennes.
- l'usage des antibiotiques dans l'aliment à titre d'additifs en vue d'améliorer la croissance a fait l'objet de nombreuses critiques. Il est très limité actuellement et été totalement abandonné fin 2005 en Europe. Ces antibiotiques régulateurs de flore (ARF) ou antibiotiques promoteurs de croissance (AGP pour antibiotic growth promoters) sont utilisés à des doses très faibles, non curatives et sont tous des agents chimiothérapeutiques non utilisés

en médecine humaine pour limiter les risques de sélection de résistance vis-à-vis de molécules d'intérêt médical majeur.

2.5. Antibiotiques non autorisés en médecine vétérinaire:

Les antibiotiques dont l'usage est interdit pour le traitement des animaux dont les productions sont destinées à la consommation humaine sont les suivants [27] :

- Chloramphénicol
- Dapsone
- Diméridazole
- Metronidazole
- Furazolidone seule
- Autres nitrofuranes
- Ronidazole

2.6. Classification des antibiotiques:

2.6.1. Critères de classification:

Selon[29,23,30] les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères :

- leur origine (biosynthétisés par des champignons, des bacilles ou des Streptomyces, issus du génie chimique).
- leur composition chimique (dérivés d'acides aminés, hétérosidiques ou polycycliques)
- leur activité (antibactériens, antifongiques, antimétaboliques). Nous nous intéresserons ici uniquement aux antibiotiques à activité antibactérienne.
- mode d'action.
- modalité d'action.

2.7. Classification:

De toutes ces classifications possibles, la classification la plus courante est celle par famille voir

(tableau n°1), possédant un certains nombre de caractères communs : composition chimique ou origine, spectre d'action similaire ou très rapproché, cibles bactériennes identiques, résistance bactérienne et sensibilisation croisée, effets indésirables rapprochés, etc., [29].

Tableau n° 1 : principales familles d'antibiotiques et leurs spectres d'activité [31,32,33,34,35]

Familles d'antibiotiques	Antibiotiques Correspondants	Spectres d'activité	Origine	Voie d'administration
Bêtalactamines	<i>Les pénicillines</i>			
	Pénicilline G	Actives contre cocci Gram +	Naturelle ou	I,M,T
	Ampicillines	et Gram - ainsi que les bacille Gram +	Semi-synthétique	O,I,M,U
	Amoxycilline			
	<i>Les céphalosporines</i>			
	Première génération	Actives contres les Gram +	Naturelle ou Semi-synthétique	I,M,U
	Céfalexine			
	Cefalonium			
	Céfapirine			
	Deuxième génération	Spectre intermédiaire		
Céfuroxime				

	Céfoxitine Troisième génération Ceftiofur Céfopérazone Quatrième génération Cefquinome	Active contre les Gram -		I,M,U
Aminosides	Streptomycine Néomycine Apramycine	Actives contre les bacilles à Gram -	Naturelle ou Semi- synthétique	I,M,U O,M O,I
Phénicolés	Chloramphénicol Thiamphénicol Florfénicol	Spectre large	Semi- synthétique	T I
Tétracyclines	Oxytétracycline Chlortétracycline Doxycycline	Spectre large	Semi- synthétique	O,I,M,T,U O

Macrolides	Spiramycine Tylosine Josamycine	Actives contre les coques Gram + et Gram - et bacille gram + Actifs sur les mycoplasmes	Naturelle ou Semi-synthétique	O,I,M
Sulfamides	Sulfaguanidine Sulfathiazol	Spectre large	synthétique	O,I,U,T
Quinolones	Acide oxolinique Ciproflaxine	Spectre large	synthétique	O

O= voie orale, I= voie injectable, U= voie intra-utérine, M= voie intramammaire, T= topique

2.8. Pharmacocinétique des antibiotiques:

Pour éradiquer une infection, l'antibiotique doit parvenir à son site d'action, c'est-à-dire atteindre les germes situés dans une structure donnée d'un organe, dans une cellule ou dans des liquides extra / péri-cellulaires, à des concentrations adéquates, et cela, pendant le temps nécessaire. Ce passage du lieu d'administration jusqu'au site (s) d'action se fait en quatre phases différentes,[36].

2.8.1. L'absorption:

L'absorption d'une molécule, c'est-à-dire son passage du site d'administration à la circulation sanguine est fonction à la fois des propriétés de la molécule et des modalités d'administration notamment de la voie (orale, parentérale) et de la formulation du médicament [27]. Elle doit permettre le passage du médicament du site d'administration vers la circulation générale, pour que l'antibiotique puisse ensuite parvenir au site de l'infection. Certaines classes d'antibiotiques ont une bonne absorption digestive (macrolides, tétracyclines, sulfamides). Pour d'autres classes, l'absorption est nulle (aminosides, polypeptides), et la voie injectable est nécessaire

pour obtenir un effet systémique. Enfin, dans certaines classes d'antibiotiques (béta-lactamines), certaines molécules sont bien absorbées, ce qui permet l'administration orale alors que d'autres devront être injectées,[36].

2.8.2. La distribution:

L'antibiotique parvient au site de l'infection plus ou moins bien : certains organes sont mieux irrigués que d'autres; le site même de l'infection peut être mal irrigué (amas fibrino-leucocytaire de végétations valvulaires cardiaques, abcès entouré d'une coque). Les germes peuvent être situés dans le sang ou dans les espaces extracellulaires, ou à l'intérieur de cellules qui les ont phagocytés. Lorsque le passage de l'antibiotique du sang vers un site d'infection se fait par diffusion passive, Il se fera d'autant mieux que le gradient des concentrations (de la forme libre, seule diffusible) entre le plasma et les tissus sera important. Dans ce but, on peut même chercher un mode d'administration qui procure des concentrations les plus élevés possibles (des pics), avec pour limite la toxicité propre éventuelle de l'antibiotique. Si les bactéries se développent à l'intérieur de cellules, il faudra que les antibiotiques puissent y parvenir, sous une forme active ; un pH intracellulaire plus ou moins acide ou basique modifie la vitesse de traversée des membranes des molécules, plus ou moins ionisées [37].

2.8.3. Les transformations:

Comme tout les médicaments, les antibiotiques peuvent subir des transformations, en métabolites, actifs ou non sur les bactéries, toxiques ou non (c'est à dire induisant des effets indésirables). Les substances actives peuvent être métabolisées par différents organes. Si toutes les cellules de l'organisme possèdent une capacité métabolique de base, certains organes ont une capacité métabolique importante (foie, rein, poumon). La transformation d'une molécule par le métabolisme dépend de la structure de la molécule et des voies métaboliques exprimées chez l'animal [27].

2.8.4. L'excrétion:

Les concentrations dans un certain nombre de sécrétions ou excréta de l'organisme (bile,urine, lait, salive, mucus pulmonaire, sécrétion intestinale, sueur, etc.) varient au cours du temps en fonction des modalités d'excrétion passive ou active de la molécule et de ses métabolites. La

capacité d'élimination d'un principe actif, est exprimée par la clairance totale (ou clairance plasmatique) qui est la somme des différentes clairances (clairance métabolique du foie, clairance d'excrétion biliaire, clairance d'excrétion rénale...). Ces clairances peuvent présenter de grandes variabilités interspécifiques [27].

2.9. Associations d'antibiotiques:

Selon [22,25] les antibiotiques doivent autant que possible être utilisés seuls, c'est la règle générale de la mono-antibiothérapie. Toutefois on est souvent conduit en thérapeutique anti-infectieuse à associer plusieurs antibiotiques soit :

- pour retarder l'apparition d'une antibiorésistance microbienne, mais uniquement chromosomique
- pour assurer une couverture antibiotique en urgence (c'est-à-dire pour élargir le spectre d'activité) devant une infection à germes inconnus lors d'infection poly-bactériennes ou lorsque l'on ignore la nature du germe en cause, c'est la principale raison en médecine vétérinaire
- afin de rechercher une synergie
- et afin de limiter les effets indésirables, notamment la toxicité de certains antibiotiques en réduisant les doses de chacun

2.10. Les résidus d'antibiotiques :

2.10.1. Définition du résidu:

Ce sont toutes les substances pharmacologiquement actives, qu'il s'agisse des principes actifs, d'excipients ou de produits de dégradation, ainsi que leurs métabolites restant dans des denrées alimentaires obtenues à partir d'animaux aux quels le médicament vétérinaire en question a été administré, (Article 1, point 1, du règlement (CEE) n°2377/90),[38] ; [40].

2.10.2. Les risques présentés par les résidus:

Selon [41] les risques présentés par les résidus suite à leur utilisation chez les animaux sont de l'ordre de trois :

- risques pour la santé publique
- risques pour la santé animale
- risques d'ordre technologique

2.10.2.1. Risques pour la santé publique:

❖ Toxicité directe:

Les antibiotiques dont l'utilisation est actuellement interdite et qui présentent plus de toxicité sont le chloramphénicol et nitrofurannes.

- les nitrofurannes sont soupçonnés de fœto-toxicité.
- certains sulfamides sont fœtotoxiques à forte dose. Ces molécules passent dans le lait maternel, et sont toxiques pour les nourrissons de moins d'un mois. Ils ont des effets néfastes sur le matériel génétique et notamment l'ADN, sur la reproduction, la fertilité, et une toxicité pour le système nerveux, et le système immunitaire [42].

❖ Les réactions allergiques:

On note des réactions allergiques chez des personnes déjà sensibilisées (risques très faibles si les LMR sont respectées).

En médecine humaine, l'allergie est un effet secondaire reconnu des antibiotiques et en particuliers des bêtalactames. Quand aux macrolides, ils causent peu d'effets secondaires et seulement très peu d'entre eux semblent causés par des mécanismes allergiques. Cependant, compte tenu des très faibles taux de résidus présents dans l'organisme, comparés aux concentrations d'antibiotique administrées lors de traitement ou de prophylaxie, il est très improbable qu'ils soient à l'origine d'une sensibilisation primaire de l'individu [42].

❖ L'acquisition de résistances aux antibiotiques :

Toute utilisation d'antibiotiques en médecine vétérinaire ou en médecine humaine accroît les risques d'apparition de bactéries résistantes. Les risques les plus grands sont associés à certaines pratiques d'administration des antibiotiques, comme celles qui consistent à administrer simultanément le produit à tout un troupeau, à administrer le produit de façon prolongée ou de sur utiliser un même antimicrobien.

Aucun lien direct n'a été établi entre l'usage d'antibiotiques comme stimulateurs de croissance dans les élevages et les antibio- résistances apparues chez les humains.

Des chercheurs étudient cependant la possibilité qu'un tel lien puisse exister,[43].

2.10.2.2. Risques pour la santé animale :

Les antibiotiques utilisés en thérapeutique possèdent en règle générale une faible toxicité. Ceci les différencie des antiseptiques externes qui ne peuvent en aucun cas être employés par voie générale. Néanmoins, certains antibiotiques présentent une forte toxicité générale qui empêche leur emploi dans beaucoup d'espèces animales. C'est le cas des antibiotiques ionophores (monensin) qui présentent une toxicité cardiaque majeure.

En dehors des toxicités directes d'organe spécifique à chaque antibiotique, toute antibiothérapie doit faire craindre au praticien surtout deux types d'effets indésirables, une perturbation de la flore digestive et des échecs thérapeutiques par sélection de résistance,[25].

2.10.2.3. Risques d'ordre technologique

Les résidus représentent un réel problème pour les transformateurs laitiers par leurs conséquences néfastes sur les fermentations lactiques [44, 45,46,47,48]et constituent le problème majeur des accidents de fabrication [49,50].

Les bactéries lactiques (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactococcus lactis*..., [51,47] jouent un rôle essentiel comme ferment en acidifiant le lait (car ils transforment le lactose du lait en acide lactique et la présence de cet acide entraîne une baisse du pH [51],[52] ce qui permet la précipitation des protéines, le développement

des arômes et l'inhibition de flores indésirables [53,32,44,03].

Les bactéries lactiques sont sensibles à de très faibles doses d'antibiotiques [44,54], ainsi la présence de résidus d'antibiotiques inhibent de manière partielle ou totale la croissance de ces ferments et se traduit par de nombreux défauts [50,52,53,55,56], notamment les accidents de fabrication du fromage, du yaourt et autres produits de fermentation du lait [44,57,58,59].

Les accidents les plus connus sont les défauts de coagulation du lait, l'insuffisance de l'égouttage et les risques de prolifération incontrôlée de germes gazogènes, insensibles aux antibiotiques [32,48,54,60,61] telles que les Coliformes, Bacillus, Clostridium, Proteus, Aerobacter.

Ainsi, Thomas et Panes (1955) ont étudié la fabrication de différents fromages avec du lait de vache et ont constaté que la présence de 0,04 à 0,15 U.I de pénicilline/ml de lait donnait des fromages d'une qualité inférieure à celle des témoins avec une acidité anormale, une humidité élevée, une texture spongieuse et parfois un goût amer ou doux [56].

De ce fait un lait contenant des antibiotiques ou des résidus d'antibiotiques n'est pas apte à la transformation [58].

Les résidus sont responsables de grandes pertes financières qui se répercutent tout le long de la filière laitière [32,54,62,63,64]

2.11. Les causes de contamination du lait par les résidus d'antibiotiques:

Le traitement des mammites représente la principale cause de contamination du lait par les antibiotiques [65], plusieurs causes peuvent ainsi être incriminées :

a) les erreurs commises par l'éleveur, selon [32] :

- un mélange accidentel du lait d'une vache traitée avec celui des autres vaches.
- une traite, par erreur, d'une vache tarie, récemment traitée par des antibiotiques.
- une désinfection défectueuse de la machine à traire.
- une non-vérification de l'ancien traitement administré aux vaches en lactation récemment achetées.
- un mélange accidentel de l'aliment médicamenteux avec la ration des vaches en lactation.

b) la mauvaise utilisation du médicament, selon [32,44] :

- non-respect de la dose, car l'augmentation de cette dernière est à l'origine de l'allongement de la durée d'élimination du médicament.
- non-respect de la voie d'administration.
- utilisation d'une préparation destinée à une vache tarie dans le traitement d'une vache en lactation.

c) le non respect du délai d'attente, selon [32,44]:

- défaut de communication entre médecin vétérinaire et éleveurs.
- acte volontaire de la part de l'éleveur par ignorance des risques réels de ce geste

d) la contamination par le matériel de traite [32,44]

e) l'absence d'identification des animaux [32,44]

f) la mauvaise hygiène lors de la traite, le lait peut être contaminé par les souillures fécales contenant des antibiotiques excrétés par voie digestive [44].

g) l'adjonction volontaire d'antibiotiques dans le lait, après la traite, dans le but d'inhiber le développement de la microflore et d'améliorer la qualité bactériologique du produit [44].

CHAPITRE 3:

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

3.1. Introduction :

Depuis 1945 on a développé un peu par tout dans le monde un nombre impressionnant de méthodes pour la détection des résidus d'antibiotiques dans le lait [67].

La législation algérienne relative à la qualité du lait rend obligatoire la recherche des résidus d'antibiotique dans le lait(journal Officiel de la République Algérienne N° 35 du 1 Safar 1419 correspondant au 25 mai 1998).

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

3.2. Méthode microbiologique :

La plupart des tests développés pour la recherche de résidus d'antibiotiques sont essentiellement basés sur la constatation d'un ralentissement ou d'une inhibition de la croissance d'une souche bactérienne sensible mise en présence de l'échantillon de lait à tester (Guirad, 1998) [68].

3.2.1. Ancienne méthode officielle de référence :

Méthode biologique basée sur l'inhibition de bactérie lactique sensible en présence de résidus antimicrobiens inhibiteurs. C'est la seule méthode qui permette, en cas de contrôle, de sanctionner les producteurs dont le lait est régulièrement contrôlé (3-4 fois /mois) par les laboratoires interprofessionnels du contrôle du lait. Elle implique la réalisation de deux techniques successives :

3.2.1.1. Test d'acidification :

Il s agit d'un test rapide et relativement simple dont l'objectif est de détecter un maximum de substances différentes à un seuil proche ou inférieur à la LMR. Elle doit aussi permettre de faire

rapidement des analyses sur un grand nombre d'échantillon afin de ne retenir qu'un faible nombre d'échantillon douteux qui seront ensuite soumis à une méthode de confirmation.

3.2.1.2. Epreuve de confirmation : ou méthode de Galesloot-Hassing :

C'est une méthode qui permet de confirmer la présence d'une substance interdite ou posant des problèmes en transformation ainsi que d'identifier la substance ou de moins sa famille, elle consiste à tester des échantillons douteux ou positifs sur 2 boîtes de pétri différents, sur 2 géloses ensemencées l'une avec *Bacillus Stearotherophilus*, détecte plus particulièrement les pénicillines et les tétracyclines, l'autre avec *Bacillus Subtilis*, détecte préférentiellement les aminosides et les macrolides. un disque de papier filtre imprégné du lait à tester est placé à la surface d'un milieu gélosé nutritif inoculé avec les microorganisme-test

3.2.2. Méthode de détections rapides :

La méthode officielle ne permet pas de préciser la nature de la substance inhibitrice incriminée. Par ailleurs elle est longue à mettre en œuvre (16-18h pour les épreuves de confirmation). Les impératifs de fabrication en industrie amènent les laiteries à utiliser d'autres tests, non officielles, plus rapides, de façon à tester les laits de grand mélange et à pouvoir lancer rapidement la chaîne de fabrication.

3.2.2.1. Le Delvotest :

C'est le test le plus utilisé, plusieurs versions sont proposées, qui permettent de le mettre en œuvre, soit en laboratoire (version MCS. P ou P 5 PACK pour effectuer simultanément un grand nombre de test), soit à la ferme (version P mini), il est de ce fait le kit de détection de résidus d'antibiotique le plus largement utilisé. (Sischo, 1996) [69].

3.2.2.2. Le Copan Test P et S100 :

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

3.2.2.3. Le Valiot-101 :

Le Valviot 101 présente le même principe que le Delvotest, mais utilise *Streptococcus thermophilus*, bactérie mise en œuvre dans la fabrication du yaourt et dans le test d'inhibition de l'ancienne méthode officielle [70].

3.2.2.4. Le BR Test :

C'est un test d'oxydo-réduction utilisant le noir brillant et utilisant la souche *Bacillus Stearothermophilus*, le milieu étant coulé dans des cupules de plaques de micro-titration (96 analyses par plaque).

3.2.2.5. Le Charm Farm Test :

C'est un test qui utilise une seule fiole en une seule étape, c'est un test qui permet de détecter cinq familles de produits vétérinaires : les betalactamines, les sulfamides, les tétracyclines, les aminosides et les macrolides dans le lait cru de vache.

3.2.2.6. Le test au yaourt :

Le test est assez simple, consiste à vérifier la coagulation du laitensemencé avec un yaourt. Il utilise le principe de variation du pH (fermentation) et de la coagulation lors de la fabrication du yaourt. Un litre de lait cru est mélangé à un yaourt frais et le mélange est incubé entre 35 et 40 °C pendant 3 à 4 heures. Si le lait ne caille pas, on peut suspecter la présence d'inhibiteurs de la fermentation.

3.3. Méthode physico-chimique :

3.3.1. Méthode enzymatique :

3.3.1.1. Le penzym (U.C.B Productions) :

C'est un test enzymatique et colorimétrique qui permet une recherche rapide de résidus d'antibiotiques de la famille des bêtalactamines (pénicilline et céphalosporines). Bien qu'il ne soit pas approuvé comme test officiel, il est très largement utilisé en industrie laitière comme outil de screening des laits de grand mélange [71].

3.3.1.2. lumac :

Il s'agit d'un test rapide (35 mn) basé sur l'ATP-metrice. Il met en évidence, par une réaction colorée, une enzyme produite par *Bacillus stearothermophilus* lors de sa croissance. Si le germe est inhibé, l'enzyme ne s'est pas produite.

3.3.2. Méthode immuno-enzymatique :

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

3.3.2.1. DelvoX Press TM BL :

Il consiste à faire réagir une quantité définie de lait à tester avec une quantité précise d'un soluté dit traceur qui a pour fonction de complexer les résidus antibiotique. Le mélange est ensuite versé dans un tube recouvert d'un enduit spécifique qui est sensé réagir avec l'excédent de traceur libre. Le complexe traceur-antibiotique est éliminé par rinçage successif et un substrat colorimétrique réagit avec le traceur fixé sur les parois du tube. Le DelvoX Press TM BL permet la détection spécifique des bêta-lactamines.

3.3.2.2. Snap Tests :

Le snap Bêtalactamine et Snap Tétracycline utilisent une méthode immuno-enzymatique. Le test utilise des récepteurs immunologiques conjugués à une enzyme qui se lie spécifiquement soit à

l'antibiotique contenu dans le lait testé soit aux antibiotiques (betalactamine ou tétracycline) fixé à la surface du test.

4.3.2.3. CHARM ROSA Milk MRL-Test :

Les résidus de l'antibiotique présent dans le lait à tester sont révélés par une réaction immunochromatographique sur des bandelettes contenant des anticorps et un colorant marqué, après une incubation de 3 minutes. Le CHARM MLR test est le plus rapide à l'heure actuelle pour la détection des bêta-lactamines et de la cloxacilline. D'autres déclinaisons de ce test permettent la recherche des tétracyclines. Des quinolones et des sulfamides en 8 minutes (Charm SDSM ROSA).

4.3.2.4. Système Charm II:

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

4.3.2.5. Le Betastar :

Le test Betastar est une méthode du type « Receptor Assay » basée sur l'emploi d'un récepteur spécifique lié à des particules d'or.

Il permet la détection rapide, dans le lait, des résidus de pénicillines et de céphalosporines, lors de la première étape d'incubation, les antibiotiques bêta-lactamines, s'ils sont présents se lient au récepteur, pendant la seconde étape d'incubation, le lait migre sur un support immunochromatographique (membrane fixée à une bandelette) qui comporte deux bandes de capture, la première bande retient tous les récepteurs qui n'ont pas été liés d'antibiotiques pendant la première étape, faisant apparaître une coloration rouge intense qui traduit une absence de résidus.

PARTIE EXPERIMENTALE

Notre étude expérimentale a pour but de rechercher des résidus d'antibiotiques dans le lait cru des citernes destinés à la transformation laitière. Cette étude est réalisée afin de dresser un état des lieux de la qualité hygiénique du lait de citernes destinés à la transformation laitière et de comparer entre deux méthodes d'analyses. Pour cela nous avons fixé les objectifs suivants :

- Rechercher les résidus d'antibiotiques par le Delvo Xpress 11
- Rechercher les résidus d'antibiotiques par le Delvotest SP

1.1. Période et lieu de l'étude :

La première partie expérimentale de cette étude a été réalisée au niveau de la laiterie de Beni-Tamou, à l'initiative des responsables de laboratoire « contrôle de qualité » qui sont très soucieux en ce qui concerne la qualité de leurs produits laitiers. La deuxième partie de cette étude expérimentale a été réalisée au niveau de laboratoire de la faculté des sciences Agro-vétérinaires et biologies de Blida, durant une période s'étalant du mois de janvier jusqu'au mois de février 2012.

1.2. Echantillonnage :

La recherche des résidus d'antibiotiques a été effectuée sur le lait cru parvenu au niveau de la laiterie par le biais des différents collecteurs. Ces derniers collectent le lait à partir des élevages, provenant de la wilaya de Blida, Médéa, Ain-defla et Tipaza.

Au départ, nous avons procédé à l'analyse des laits de collecte qui arrivent quotidiennement au niveau de la laiterie.

98 échantillons de laits de collecte ont été donc prélevés par nous même dans des flacons identifiés en mettant la date de prélèvement, le collecteur correspondant et la région d'origine, immédiatement dès l'arrivée des camions citernes.

Nous avons suivi le protocole suivant:

Un échantillon de lait cru est prélevé de chaque citerne, dans un premier temps pour la détection des résidus d'antibiotiques pour être analysé par le Delvo x press 11, puis le même prélèvement est conservé dans un congélateur pour être analysé ultérieurement dans le laboratoire de la Faculté des Sciences Agro-vétérinaires et biologique de l'université Saad DHLAB de Blida par le Delvotest SP.

1.3. Matériels et méthode :

1.3.1. La recherche des résidus d'antibiotique par le Delvo X press B 11 :

1.3.1.1. Matériel :

1.3.1.1.1. Matériels de collecte :

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

1.3.1.1.2. Matériels de laboratoire :

Le matériel employé dans ce test est le suivant :

- Micropipette réglable à 100 µl avec embouts à usage unique.
- Réfrigérateur.
- Portoirs métalliques
- Eau distillée stérile
- Le Kit Delvo X press B

Le Delvo X press B est un test immune-enzymatique rapide, qui détecte les résidus de bétalactamines présents dans le lait, en 10 mn. Ce test est fondé sur le dosage de l'excès d'un réactif spécifique et l'interprétation est effectuée par une mesure colorimétrique.

Le pack contient (voir figure n°02):

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

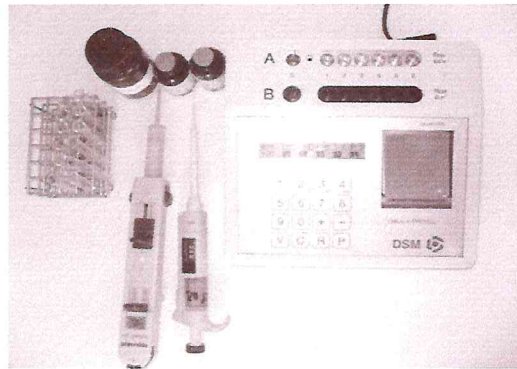


Figure n° 02 : le kit de Delvo X press.

1.3.1.2. Méthode

❖ Choix de la méthode :

Nous avons choisi cette méthode pour les raisons suivantes :

- Utilisable en routine dans la laiterie,
- La rapidité du test.

❖ Principe :

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

❖ La pratique :

Au cours de notre analyse, nous avons effectué les étapes suivantes :

- Identification des tubes contenus dans le pack, un pour le lait et les autres selon le nombre des échantillons.
- Mettre 0.2 ml de standard dans le tube concernant. (Figure n° 03)

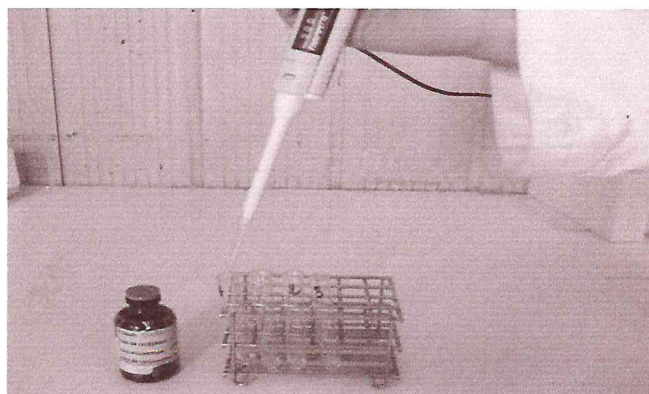


Figure n° 03 : Mettre 0,2 ml de standard.

- Mettre 0,2 ml de chaque échantillon dans chaque tube concerné. (figure n° 04)

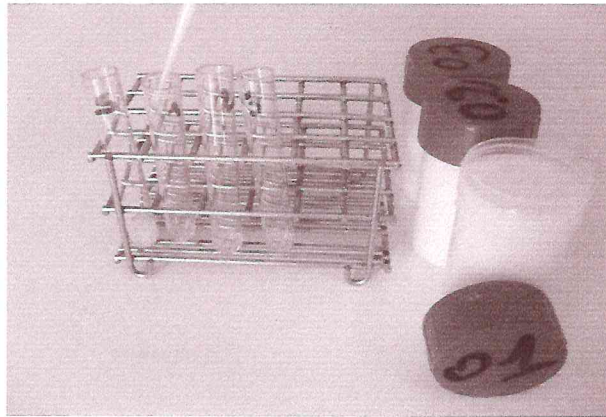


Figure n° 04 : Mettre 0,2 ml de l'échantillon.

- Déposer 0.2 ml de tracer dans chaque tube. (Figure n° 05).



Figure n° 05 : Dépôt de 0,2 de tracer.

- Placer tous les tubes dans la ligne A et lancer l'appareil réglé à 64 C°, pendant 03 mn jusqu'à ce que l'appareil signale. (Figure n° 06).

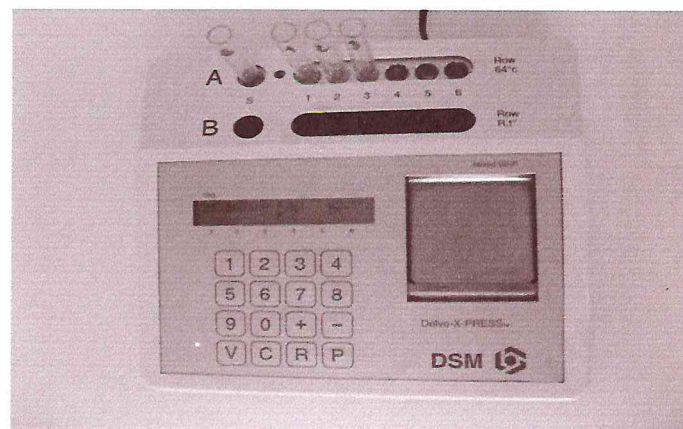


Figure n° 06 : Mettre les tubes dans la ligne A.

- Une fois l'appareil a signalé, prendre tous les tubes et les rincer 3 fois successives avec la solution de rinçage. (figure n° 07).

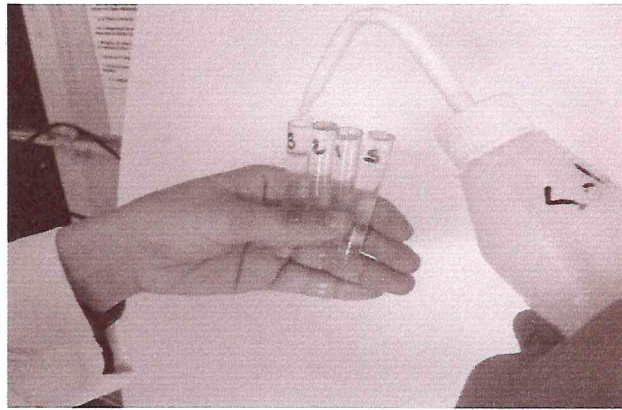


Figure n° 07 : Rinçage de la solution.

- Sécher tous les tubes de l'extérieur.
- Additionner 1 ml de développer dans tous les tubes. (Figure n° 08)

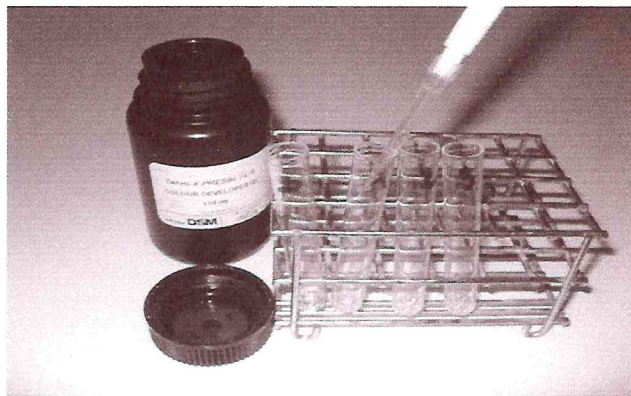


Figure n° 08 : Addition de 1 ml de développer

- Mettre les tubes dans la ligne B de l'appareil et laisser incuber pendant 03 mn (figure09).



Figure n° 09 : Mettre les tubes dans la ligne B

❖ **La lecture :**

La lecture est réalisée automatiquement juste après la deuxième incubation :

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

1.3.1.2.5.. Le seuil de sensibilité du Delvo X press11 :

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

Tableau II: les seuils de sensibilité du Delvo X press 11

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

1.3.2. Confirmation des résultats par le Delvotest SP :

1.3.2.1. Matériel :

1.3.2.1.2. Matériel et appareillage de laboratoire :

- Tubes à essais stériles de 20 cm.
- Micropipette réglable à 100 µl
- Portoir métallique
- Ciseau
- Bain marie réglable à 64 °C.
- Réfrigérateur
- Minuterie
- Le kit Delvotest SP, composé de :
 - ✓ 100 ampoules renfermant un milieu gélosé solide violacé contenant un indicateur de PH et du triméthoprime, ensemencé par un germe test (*Bacillus stearthermophilus var.calidolactis*) et enrichis en éléments nutritifs de croissance. Les ampoules sont recouvertes d'une feuille d'aluminium.
 - ✓ 100 embouts jetables pour le prélèvement des échantillons de lait, fournie avec le kit. (Figure n° 10)



Figure n° 10 : le kit Delvotest SP.

1.3.2.2. Méthode :

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

- Chauffer préalablement les laits crus à analyser pendant 10 mn à 80°C afin d'éliminer tous les inhibiteurs naturels qui peuvent fausser nos résultats

- Laver et sécher soigneusement les mains avant de manipuler le kit.
- Détacher les ampoules nécessaires à l'aide d'un ciseau, en faisant très attention à ne pas endommager la feuille d'aluminium des ampoules adjacentes. Ne pas arracher les ampoules. (Figure n° 11).

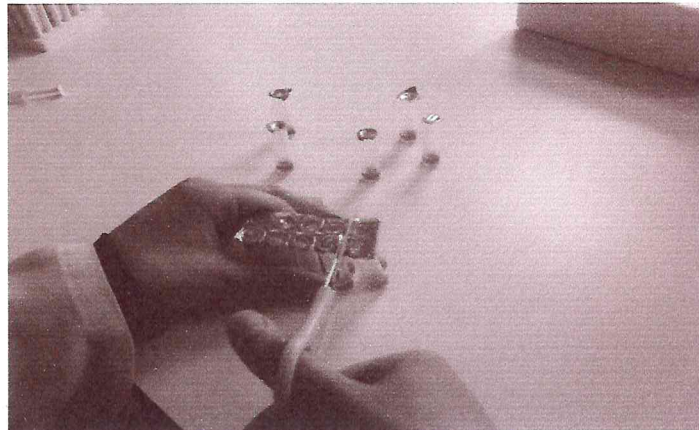


Figure n° 11 : Détachement des ampoules.

- Replacer les ampoules restantes dans des conditions adéquates. Si la température des ampoules non utilisés monte jusqu'à la température ambiante, cela risque de réduire la durée de vie du test.
- Identifier les ampoules et les échantillons de lait par des chiffres.
- Ouvrir les ampoules en perçant un trou dans la feuille d'aluminium, avec la pointe de la seringue sans embout. Ne pas manipuler les ampoules de façon brusque, car le milieu gélosé risque d'être décollé. Cela peut affecter la qualité de coloration du test lors de la lecture de résultat. (figure n° 12).



Figure n° 12 : Ouverture de la feuille d'aluminium.

- Agitation des échantillons de lait à analyser.
- Prélever 100 μ l de l'échantillon du lait par micropipette à embout jetable neuf, plonger dans le lait.
- Verser ensuite la totalité de l'échantillon de lait prélevé dans l'ampoule identifiée correspondante, pour cela presser lentement et complètement le piston pour ajouter le lait à la surface de l'agar. (Figure n° 13).

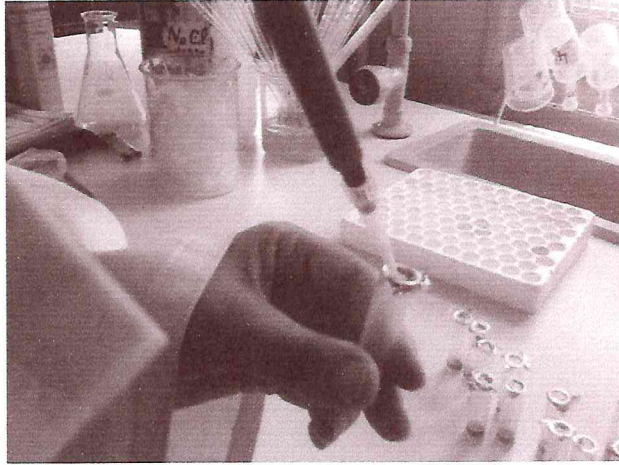


Figure n° 13 : Dépôt du lait dans l'ampoule.

- Couvrir les ampoules par une bande adhésive
- Placer les ampoules dans un bain-marie préchauffé à 64°C pendant 2h 45 mn. Des températures trop faibles ou trop élevées, ainsi que des fluctuations excessives de températures affecteront la durée du test et sa sensibilité. (figure n° 14).



Figure n° 14 : Incubation des ampoules.

❖ **La lecture :**

Après 3 heures de l'incubation (64°C) retirer les ampoules du bain marie et lire les résultats. Les résultats doivent être lus dans les 2 /3 inférieurs de l'agar.

- Une coloration jaune indique l'absence de substance antibactérienne à une concentration égale ou supérieure au seuil de détection du test, donc résultat négatif.
- Une coloration jaune/violette indique la présence de substance antibactérienne à une concentration proche au seuil de détection, donc résultat douteux.
- Une coloration violette indique la présence de substance antibactérienne dans l'échantillon de lait analysé à une concentration égale ou supérieure au seuil de détection.

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

Lorsque une meilleure sensibilité du test est nécessaire, utiliser un autre tube Delvotest SP et mesurer un lait de contrôle négatif en ajoutant 100µl de lait ne contenant pas d'antibiotique. Lorsque l'ampoule test contrôle négatif a viré complètement au jaune, les résultats des autres tests peuvent être lus.

1.4. Résultats :

1.4.1. Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait de citernes:

Les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans les laits de citernes sont présentés dans les tableaux et les figures ci-dessous.

1.4.1.1. Résultats de la recherche des résidus des bêtalactamines par le Delvo X press 11:

Les laits de citernes analysés provenant des quatre wilayas (Blida, Tipaza, Médéa et Ain-defla) qui alimentent la laiterie de Beni-Tamou :

- **Wilaya de Blida:**

Les résultats obtenus sur les laits de citernes de la wilaya de Blida sont rapportés dans le Tableau n°III.

Tableau n° III : Résultats de la recherche des résidus de bêtalactamines dans les laits de citernes provenant de la wilaya de Blida.

N° de collecteurs	Nombre de prélèvement	Résultats			
		Positifs	%	Négatifs	%
1	30	1	3,33	29	96,66
2	5	0	0	5	100
3	3	0	0	3	100
4	8	0	0	8	100
5	8	0	0	8	100
6	8	0	0	8	100
7	1	0	0	1	100
8	7	0	0	7	100
9	2	0	0	2	100
10	3	0	0	3	100
11	2	0	0	2	100
Total	77	1	1,29	76	98,71

Sur les 77 échantillons de lait testés, provenant de la wilaya de Blida, nous avons constaté que 1 échantillon est positif, soit un taux de 1,29 %, alors que 76 échantillons sont négatifs, soit un taux de 98,71%.

Un seul prélèvement provenant du collecteur n° 01 de la wilaya de Blida a révélé une contamination du lait cru de citerne.

- **Wilaya de Médéa:**

Les résultats de l'analyse de lait de citerne provenant de la wilaya de Médéa sont indiqués dans le tableau n° IV .

Tableau n° IV : Résultats de recherche des bêtalactamines dans les laits de citernes provenant de la wilaya de Médéa.

N° de collecteurs	Nombre de prélèvement	Résultats			
		Positifs	%	négatifs	%
1	6	0	0	6	100
2	2	0	0	2	100
3	3	0	0	3	100
4	4	0	0	4	100
Total	15	0	0	15	100

Les analyses des 15 échantillons de lait de citernes de la wilaya de Médéa ont montré une absence des résidus d'antibiotiques dans tous les prélèvements, soit 100%.

- **Wilaya de Ain-defla:**

Le tableau n° V rapporte les résultats obtenus de l'analyse des laits de citernes provenant de la wilaya de Ain-defla.

Tableau n° V : Résultats de la recherche des résidus de bêtalactamines dans les laits de citernes provenant de la wilaya de ain-defla.

N° de collecteurs	Nombre de prélèvement	Résultats			
		Positifs	%	Négatifs	%
1	5	0	0	5	100
Total	5	0	0	5	100

D'après les résultats obtenus de l'analyse des 5 échantillons du lait des citernes de la wilaya de Ain-defla nous avons noté que tous les échantillons analysés étaient négatifs, soit 100%.

- **Wilaya de Tipaza:**

Les résultats de la recherche des résidus de bêtalactamines dans le lait des citernes de la wilaya de Tipaza sont représentés dans le Tableau n°VI .

Tableau n° VI: Résultats de la recherche des bêtalactamines dans les laits de citernes provenant de la wilaya de Tipaza

N° de collecteurs	Nombre de prélèvement	Résultats			
		Positifs	%	Négatifs	%
1	1	0	0	1	100
Total	1	0	0	1	100

Les résultats obtenus montrent que l'échantillon de lait de citernes provenant de la wilaya de Tipaza est négative, soit 100%

- **Le lait de citernes des quatre wilayas:**

L'association des résultats obtenus sur les laits de citernes des quatre wilayas (Blida, Médéa, Ain-defla Tipaza) est représentée dans le Tableau n°VII et la Figure n°15 et 16 .

Tableau n° VII : Résultats de la recherche des résidus de bêtalactamines dans les laits de citernes provenant des quatre wilayas (Blida, Médéa, Ain-defla Tipaza).

Wilaya	Nombre de prélèvement	Résultats			
		Positifs	%	Négatifs	%
Blida	77	1	1,29	76	98,71
Médéa	15	0	0	15	100
Ain-defla	5	0	0	5	100
Tipaza	1	0	0	1	100
Total	98	1	1,02	97	98,98

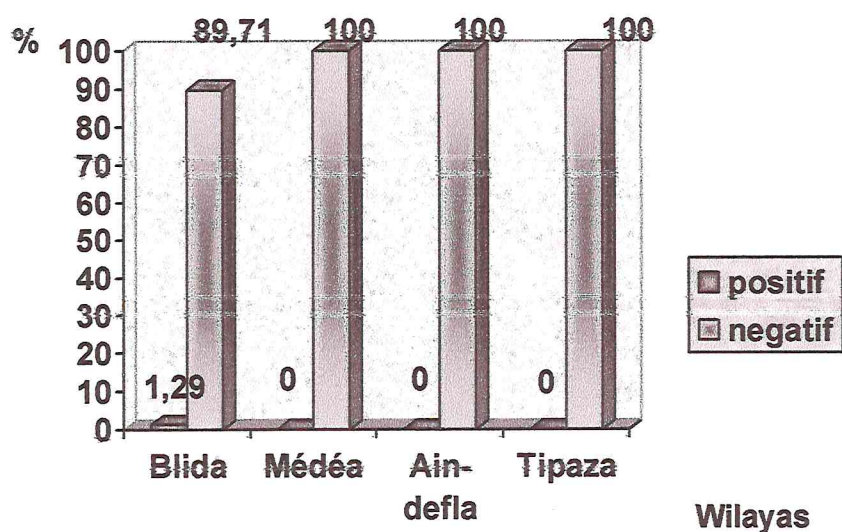


Figure n°15 : Pourcentage de la contamination du lait par les résidus des bêtalactamines en fonction de chaque wilayas (Blida, Médéa, Ain-defla Tipaza).

Un seul échantillon de lait cru de citerne appartenant à la wilaya de Blida est contaminé par les résidus de bêtalactamines. Ceux des autres wilayas sont négatifs.

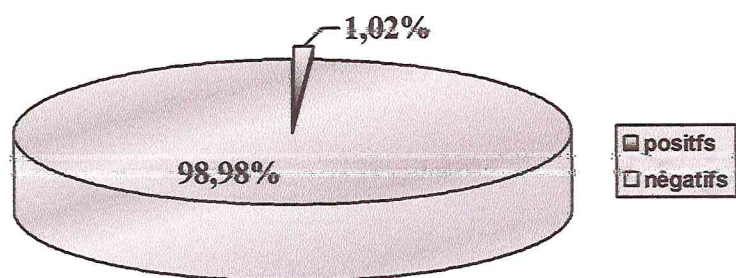


Figure n°16: Pourcentage de la contamination du lait par les résidus des bêtalactamines dans les quatre wilayas confondus (Blida, Tipaza, Médéa, Alger).

Le résultat de la recherche des résidus de bêtalactamines dans le lait de citernes des quatre wilayas présente un taux de positivité de 1,02%.

1.4.1.2. Résultats de la recherche des résidus des bêtalactamines par le Delvotest SP:

Les résultats de l'analyse du lait de citerne provenant de la wilaya de Blida sont indiqués dans le tableau n° VIII.

Tableau n° VIII : Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans les laits de citernes provenant de la wilaya de Blida

N° de collecteurs	Nombre de prélèvement	Résultats			
		Positifs	%	Négatifs	%
1	30	6	20	24	80
2	5	0	0	5	100
3	3	1	33,33	2	66,66
4	8	1	12,5	7	87,5
5	8	1	12,5	7	87,5
6	8	1	12,5	7	87,5
7	1	0	0	1	100
8	7	1	14,28	6	85,71
9	2	0	0	2	100
10	3	0	0	3	100
11	2	0	0	2	100
Total	77	11	14,28	66	85,72

Nous avons constaté que sur les 77 échantillons de lait analysés provenant de la wilaya de Blida, 11 sont positifs ce qui correspond à un taux de 14,28 % .

- **Wilaya de Médéa:**

Les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait de citernes provenant de la wilaya de Médéa sont reportés dans le tableau n°IX

Tableau n° IX : Résultats de la recherche des résidus de d'antibiotiques dans les laits de citernes provenant de la wilaya de Médéa.

N° de collecteurs	Nombre de prélèvement	Résultats			
		Positifs	%	négatifs	%
1	6	0	0	6	100
2	2	0	0	2	100
3	3	1	33,33	2	66,66
4	4	3	75	1	25
Total	15	4	26,66	11	73,33

Ces résultats révèlent que sur 15 échantillons de lait cru analysés, 4 sont positifs, soit 26,66%

- **Wilaya de Ain-defla:**

Les résultats obtenus sur les laits de citernes de la wilaya de Ain-defla sont rapportés dans le Tableau n°X .

Tableau n° X: Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans les laits de citernes provenant de la wilaya de Ain-defla

N° de collecteurs	Nombre de prélèvement	Résultats			
		Positifs	%	négatifs	%
1	5	1	20	4	80
Total	5	1	20	4	80

Nous avons constaté qu'un seul échantillon de lait cru de citernes est positif sur cinq, soit 20%.

- **Wilaya de Tipaza:**

Les résultats de l'analyse du lait de citernes provenant de la wilaya de Tipaza sont indiqués dans le tableau n°XI .

Tableau n° XI : Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans les laits de citernes provenant de la wilaya de Tipaza.

N° de collecteurs	Nombre de prélèvement	Résultats			
		Positifs	%	Négatifs	%
1	1	0	0	1	100
Total	1	0	0	1	100

L'analyse du lait de citernes de la wilaya de Tipaza a montré l'absence des résidus d'antibiotiques, soit 100%.

- **Le lait de citernes des quatre wilayas:**

L'association des résultats obtenus sur les laits de citernes des quatre wilayas (Blida, Médéa, Ain-defla Tipaza) est représentée dans le Tableau n°XII et la Figure n°17 et 18 .

Tableau n°XII : Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans les laits de citernes provenant des quatre wilayas (Blida, Médéa, Ain-defla Tipaza).

Wilaya	Nombre de prélèvement	Résultats			
		Positifs	%	Négatifs	%
Blida	77	11	14,28	66	85,72
Médéa	15	4	26,66	11	73,33
Ain-defla	5	1	20	4	80
Tipaza	1	0	0	1	100
Total	98	16	16,32	82	83,67

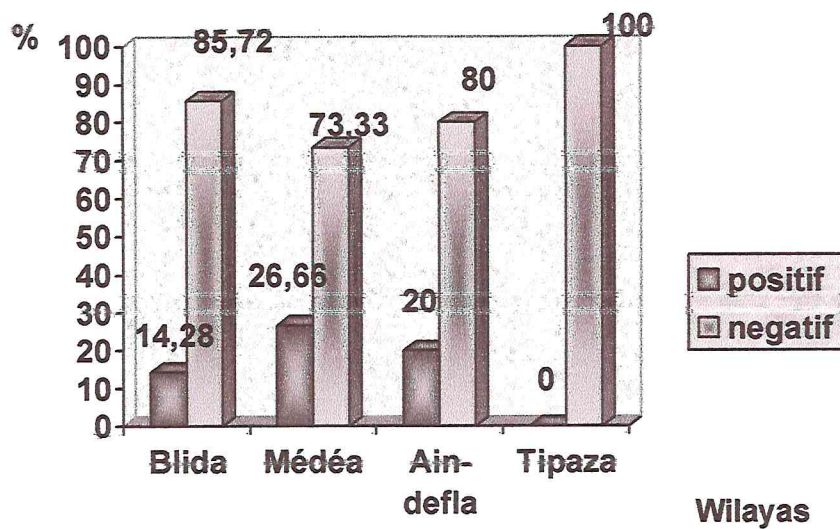


Figure n°17 : Pourcentage de la contamination du lait par les résidus d'antibiotiques en fonction de chaque wilayas (Blida, Médéa, Ain-defla Tipaza).

Les wilayas de Blida, Médéa et Ain-defla ont présenté des laits contaminés par les résidus d'antibiotiques avec des taux respectifs de 14,28, 26,66 et 20.

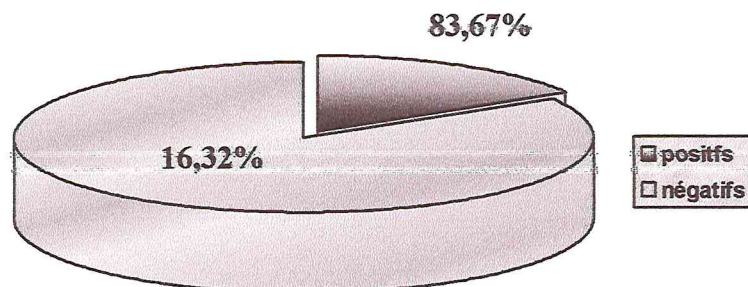


Figure n°18: Pourcentage de la contamination du lait par les résidus desd'antibiotiques dans les quatre wilayas confondus (Blida, Tipaza, Médéa, Alger).

Le résultat de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait de citernes des quatre wilayas confondus présente un taux de positivité de 16,32%.

1.4.1.3. La comparaison entre les résultats du Delvo Xpress 11 et Delvotest SP :

La comparaison entre les résultats de la recherche des résidus des bêtalactamines par le Delvotest Xpress et les résidus d'antibiotiques par le Devotest SP dans le lait de citerne est représentée dans le tableau n°XIII .

Tableau n°XIII : La comparaison entre les résultats du Delvotest Xpress 11 et le Delvotest SP.

Delvot Xpress 11		Delvotest SP	
%	%	%	%
Positif	Négatif	Positif	Négatif
1,02	98,98	16,32	83,67

Nous avons constaté que le taux de positivité des résidus d'antibiotiques détecté par la Delvotest Xpress 11 (1,02%) est moins élevé par rapport à celui détecté par le Devotest SP (16,32%).

La figure ci-dessous illustre les résultats comparatifs entre les taux de contamination des laits de citernes, détectés par le Devotest Xpress11 et le Delvotest SP.

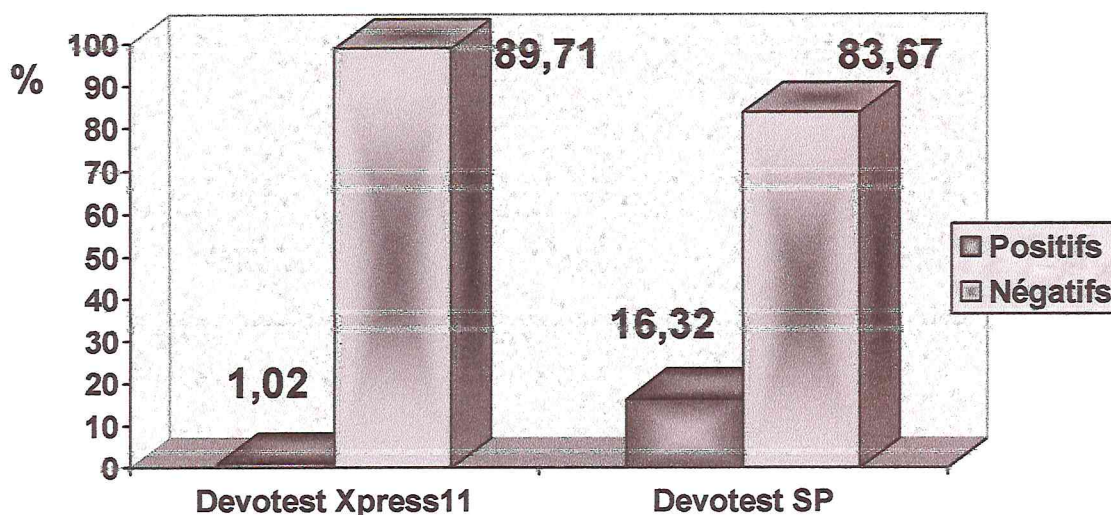


Figure n°19: La comparaison entre les résultats du Delvotest Xpress 11 et le Delvotest SP.

5. Discussion :

5.1. Discussion des résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques par le Delvo Xpress 11:

A l'issue de notre première partie expérimentale, basée sur la recherche des résidus d'antibiotiques au moyen du Delvo Xpress 11 dans le lait cru, nos résultats montrent que sur les 98 échantillons de laits crus de citernes analysés, un seul était contaminé, soit 1.02%

Le taux de positivité est inférieur à ceux rapportés par :

- [72], l'étude faite au Canada rapporte un taux de contamination de 4% par les bêtalactamines.
- L'étude de [73] sur 110 échantillons analysés au moyen du ROSA TEST, 72 échantillons sont positifs soit 65,46%, et 38 sont négatifs Soit 34,54%.
- En Kenya, [74], rapporte un taux de contamination de 11% par les Bêtalactamines sur les 1109 échantillons de lait analysés.
- [75], qui est de 27,72% de positivité, de bêtalactamines détectées par le TWINE SENSOR.
- L'étude faite par [76], rapporte un taux de contamination de 5,92% par les bêtalactamines sur les 135 échantillons de laits crus de citernes analysés par le Delvo X press B11.
- Une étude a été réalisée par [77] entre 2003 et 2005. Sur les 63 échantillons de lait révélés positive, 95 % l'ont été pour les bêtalactamines.

Ces contaminations dus dans la plupart du temps à des causes différentes :

- L'utilisation excessive des antibiotiques à titre curatifs afin d'éradiquer l'infection, d'éviter la mortalité des animaux et de restaurer leur production
- Les bêtalactamines sont encore les antibiotiques les plus actifs, les moins toxiques et les plus utilisés en clinique, ce qui explique le grand risque de contamination du lait par ces molécules et le choix de la laiterie du test spécifique à cette molécule.

Les antibiotiques utilisés en thérapeutique animale sont parfois incriminés en allergologie humaine. Parmi les antibiotiques les plus souvent incriminés, sont les pénicillines appartenant à la famille des bêtalactamines. Ces molécules utilisées en médecine humaine, sont impliquées dans la majorité des cas d'allergie médicamenteuse.

L'observation de graves allergies chez l'homme à la suite de l'administration de Pénicilline, la présence de ce dernier dans le lait de cru pourraient provoquer la sensibilisation de la population humaine et déclencher des symptômes de choc allergiques chez des sujets sensibilisés [78].

Un cas cité par [79] (1961) prouve absolument que l'absorption de lait contenant de la pénicilline peut provoquer des éruptions eczémateuses rémittentes chez les personnes sensibilisées. Le malade cité réagissait fortement à une dose de 15 unités par jour, soit 500 ml de lait contenant 0,03 unités de pénicilline par millilitre.

Les échantillons négatifs ne signifie pas que le lait est exempt de résidus d'antibiotique donc on ne peut pas conclure avec certitude la salubrité du lait analysé ce qui nous donne des faux négatifs, Ce test souffre de certains inconvénients, il n'offre pas un large spectre de détection il reste spécifique au bétalactamines. Ces résultats faussement négatifs sont parfois dus à la présence d'autres antibiotiques qui ne sont pas détectable par le DelvoX press.

Pour cela nous avons adopté une deuxième méthode (le Delvotest SP) qui nous permet de confirmer les résultats négatifs obtenus.

5.1. Discussion des résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques par le Delvotest SP :

Le Delvotest Sp est le plus souvent utilisé par les entreprises laitières pour la recherche des résidus inhibiteurs dans le lait, car il offre un large spectre de détection et présente une sensibilité voisine des seuils LMR. Son avantage est un emploi facile et accessible à tout le monde, il suffit d'un minimum de rigueur pour mener à bien l'analyse. Son principal inconvénient est sa durée: 2h30 ou 3 heures

Nos résultats par le Delvotest SP montrent que sur les 98 échantillons analysés, 16 positifs soit 16.32%.

Ils sont inférieurs par rapport à ceux rapportés dans différents études :

- Des travaux similaires réalisés sur 136 échantillons de lait par [80] en 1989 ont montré un taux de positivité de 25% en utilisant la méthode officielle, cette méthode fait intervenir la même souche *Bacillus stearpthermophilus* var. *calidolactis* C 953.08
- [81] en 2007, rapporte un taux de positivité de 20% des laits d'élevage analysés.
- [100] qui ont obtenu un taux de positivité de 90,90% des laits de citerne de la même laiterie.
- [82] en 2003 en Tunisie rapporte un taux de positivité de 40% pour le lait de collecte dont l'analyse est réalisée au moyen de Delvotest SP.
- en 2004 [98] qui rapporte 71% laits non contaminés, avec 28,84 laits contaminés au moyen de Delvotest SP.

- [84] en 2009 a rapporté un taux de contamination de 26,39% des laits analysés.
- L'étude faite par Zinedine et al en 2007 sur un total de 136 échantillons de lait et dérivés, prélevés dans les régions de Rabat et Kénitra au Maroc, analysés par une méthode microbiologique a montré une contamination respective de 42,87% ; 6,65% et 3,33 % des échantillons analysés du lait cru, du lait pasteurisé et du « Raïb » (lait caillé).
- [74] en 2004 a rapporté un taux de contamination de 14,9% des laits analysés au Kenya.

La positivité observée dans les laits de citernes est un signe de la positivité des laits d'élevages. Cette positivité des citernes dépend du nombre d'exploitations collectées par citerne et de lettrage livré par exploitation mais aussi le volume de lait collecté par camion.

Le taux élevé de laits négatifs dans les citernes est un signe que les responsables sont conscients vis-à-vis de la présence des résidus d'antibiotiques et des risques de ces derniers sur la santé du consommateur et surtout sur leur image à cause de l'esprit compétitif avec les autres laiteries.

Cependant pour la transformation laitière, la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait est très redoutée pour des raisons technologiques, ceci même à des concentrations très faibles.

Plusieurs hypothèses considérées comme des causes primordiales de la contamination de lait par des résidus d'antibiotiques qui sont expliqués comme suit :

- Les éleveurs qui ne connaissent pas ou ne respectent pas les règles d'utilisation des médicaments.
- L'administration par voie galactophore de spécialités contenant un ou plusieurs antibiotiques ; ces traitements représentent la première cause de résidus d'antibiotique dans le lait [86,87,88]
- L'usage massif et incontrôlé des préparations pharmaceutiques intra mammaires pour le traitement et la prévention des mammites bovines, qui représentent la principale cause de pollution du lait par des résidus d'antibiotiques[89,90,91].
- Le non respect de la période colostrale (14 traites)
- La mauvaise vidange et l'absence de rinçage de la griffe.
- Un ajout volontaire des inhibiteurs de croissance des germes (antibiotiques, antiseptiques) dans le lait de commerce dans le but de freiner la croissance des bactéries et stabiliser le lait.

Aussi responsable de résidus d'antibiotique

- Absence d'enregistrement des traitements administrés, le risque augmente si plusieurs trayeurs sont impliqués. Par conséquent il y'aura une mauvaise transmission des consignes, et ce d'autant plus que le nombre d'intervenants est grand [92].

Aussi le taux élevé de lait négatif, peut être un signe que le lait est exempt d'antibiotique, comme il peut être contaminé par des résidus qui sont inférieurs au seuil de détection du Delvotest, ce qui représente également le risque de faux négatif. Car il n'est pas sensible au colistine et rifaximine.

Un réseau de surveillance de la contamination des denrées animales doit être mis en place par les services vétérinaires.

Pour la laiterie de Beni-Tamou, la recherche de résidus d'antibiotique est devenue obligatoire pour plusieurs raison :

- Assurer la sécurité de produit
- Respecter les limites maximales de résidus fixés par la réglementation
- Disposer d'un lait apte à la transformation

La législation algérienne rend obligatoire la recherche de résidus d'antibiotique dans le lait cru. Les résultats de cette recherche doivent être négatifs, soit absente. (**JORA N°35 du Safar -1419 correspondant au 25 mai 1998**). Malgré cette réglementation, elle n'est pas toujours systématiquement appliquée par d'autres laiteries moins soucieuses des risques des résidus d'antibiotiques.

CONCLUSION

L'élevage intensif moderne des animaux de rente s'accompagne de l'emploi d'antibiotiques. Une législation très complète encadre leur utilisation, de la conception et production du médicament vétérinaire jusqu'à son utilisation chez l'animal de rente.

Les dangers liés à la présence de résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires pour les consommateurs ou pour l'Industrie laitière sont aujourd'hui bien maîtrisés par l'Etat et les Industriels, notamment avec une réglementation arrivée aujourd'hui à maturité.

La présente étude a permis de mettre en évidence la contamination du lait par les résidus d'antibiotiques non préconisés par la législation tel que les Bêtalactamines qui constituent un risque non négligeable dans les cas d'allergies et le développement d'antibio-résistance chez le consommateur.

La mauvaise utilisation du médicament et le non respect du délai d'attente relèvent de la responsabilité de l'éleveur, ainsi que le vétérinaire par la non maîtrise de la réglementation et de la manipulation des médicaments.

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

Le vétérinaire a une place centrale dans la maîtrise de l'utilisation des antibiotiques en santé animale. Il intervient notamment au stade de la conception, du développement, de l'autorisation de mise sur le marché du médicament vétérinaire antibiotique, mais aussi et surtout dans sa distribution, son administration ainsi que dans le contrôle des bonnes pratiques de son utilisation.

RECOMMANDATION

Les vétérinaires sont les interlocuteurs privilégiés des entreprises laitières, ils peuvent de part leurs conseils convaincre les éleveurs à assurer un lait de qualité.

A l'issus de notre étude, pour minimiser la présence des résidus d'antibiotique dans le lait, pour garantir un aliment sain aux consommateurs sans risque pour leurs santé, nous proposons les recommandations suivantes:

A. Les obligations des éleveurs:

- **L'administration des médicaments vétérinaires aux animaux:**

L'administration des antibiotiques est réalisée par le vétérinaire et/ou le détenteur des animaux ou la personne leur donnant les soins.

- **Le bon emploi des médicaments vétérinaires antibiotiques:**

Les éleveurs doivent respecter les posologies, les durées de traitement et les temps d'attente fixés par le vétérinaire dans sa prescription.

- en cas de traitement d'un seul quartier atteint de mammite, le lait des quatre quartiers doit être éliminé.
- ne pas laisser passer dans le tank le lait d'une vache traitée car il représente la principale cause de contamination.

B. Les obligations des laiteries:

Il est donc nécessaire pour l'industrie laitière, dont l'objectif est de disposer d'une matière première conforme aux exigences réglementaires et de contrôler l'aptitude technologique à la transformation du lait collecté : de contrôler les citernes de collecte à leur arrivée en usine, et de disposer de tests simples, rapides et fiables avec une sensibilité large, pour déceler la présence de résidus d'antibiotiques.

C. Les obligations des vétérinaires praticiens:

- Respect des règles de prescription des antibiotiques.
- Indication claire des temps d'attente (lait) sur les ordonnances.
- Respect des règles d'archivage des duplicata d'ordonnance.
- Le vétérinaire a un rôle primordial lors de la prescription de médicaments vétérinaires (rappeler aux éleveurs que ces médicaments ne sont pas dénués de risque et que leur utilisation doit se faire de manière raisonnée avec professionnalisme et rigueur).

88. **Fabre J.M., Moretain J.P., Ascher F., Brouillet P., et Berthelot X., 1996.** "Les principales causes d'inhibiteurs dans le lait. " Bulletin des GTV. 3 B 552 : 27-31.
89. **Fedderici-Mathieu C, (2000).** "Résidus dans le lait et sécurité alimentaire ": quels risques, quels moyens de maitrise ? Bull. Group. Tech. Vet, 7, 99-102.
90. **Fabre J.M., Moretain J.P., Berthelot X., 2002.** "Evolution de la méthode interprofessionnelle de recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait. " Bulletin des GTV. 15. Avril – Mai – Juin : 172 – 178.
91. **Le poutre D, et Petit C., (2000).** Maitrise des résidus dans le lait :
Le role du vétérinaire praticien, Bull. Group. Tech. Vet.,n°8, 199-20.
- 92 **Form G, (2003).** " Les résidus inhibiteurs dans le lait. Evolution des méthodes de détection-Facteurs de risques en région Rhône-Alpes. " Thèse Méd. Vét. P102.
- 93 **CAUTY, L et PEREAU, J. M., (2005).** La conduite du troupeau laitier : La qualité du lait , 1^{er} Edition France agricoles, 55-57.
- 94 **BOUCHOT, M.C. (1981).** Facteurs influençant l'excrétion des antibiotiques dans le lait.Rec.Med.Vet, 157,191-197.
- 95 **LE POUTRE, D. et PETIT, C., (2000)** Maîtrise des résidus dans le lait : le rôle du vétérinaire praticien , Bull.Group.Tech.Vét., n° 8, 199-203.

74. **Shitandi A.**, (Risk factors and control strategies for antibiotic residues in milk at farm level in Kenya, doctoral dissertation, (2004).
75. **Benchalabi A et Chergui D.**, (2008). (Recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru par le Delvotest SP et le Twinsensor BT), mémoire pour obtenir le diplôme de docteur vétérinaire, université de Blida. P57.
76. **Kheroubi I et Mahieddine K.**, (2010). (Recherche des résidus d'antibiotique et les résidus de désinfectants et détergents dans le lait cru), mémoire pour le diplôme de docteur vétérinaire, université de Blida. P62.
77. **Kress, C., Seidler, C., Kerp, B., Schneider, E., Usleber, E.** (2006). Experiences with an identification program for inhibitor-positive milk samples. *Analytica chimica Acta* 586 (2007) 275-279.
78. **Jepsen A.**, 1950. Les résidus de désinfectants et d'antibiotiques dans le lait. *Nord. Vet. Med.* 2, 447.
79. **Borrie P., et Baret L.**, 1961. *Brit-Med-J.*2, 1267.
80. **Lebres E et Mouffok F**, (1989). Recherche d'antibiotique et de résidus d'antibiotiques dans les laits. *Maghreb vétérinaire*. Vol 4. 17 :5 – 7.
81. **Ouzroute B**, (2007). Recherche des résidus de substances antibactériennes dans le lait. Mémoire pour le diplôme de docteur vétérinaire. Centre universitaire El-Taref.
82. **Ouertani H**, (2003). "Les résidus d'antibiotique dans le lait. Enquête dans un centre de collecte de la région de Beja. " Thèse Doc. ENMV. N°15.
83. **Badani K**, (2004). "Recherche de résidus d'inhibiteurs dans le lait. Mémoire pour le diplôme de docteur vétérinaire. " Université de Blida.
84. **Tarzaali D** (2009). "Recherche des inhibiteurs dans le lait cru", Mémoire de magister, Université SAAD DAHLEB de Blida.
85. **Zinedine A et Faid M et Benlemlih M**, (2007). "Détection des résidus d'antibiotiques dans le lait et les produits laitiers par méthode microbiologique".
86. **Booth J.M., et Harding F.**, 1986. "Testing for antibiotic residues in milk. " *Vet-Rec.* 119: 565-569.
87. **Collectif.**, 1992. " Milk and dairy beef ten-point quality assurance" program. *Agri-Practice.* 13: 18-27.

59. **Broutin. C et al (2005)** "Maîtrise de la qualité dans la transformation laitière" Guide de bonnes pratiques d'hygiène, p. 29-31.
60. **Ryckaert. I et al (2003)**. "42 questions sur le lait". Édition IMP Bruxelles, septembre 2003, p. 13-56.
61. **Mourot et Loussouarn (1981)**. " Sensibilité des ferments lactiques aux antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire". recueil de médecine vétérinaire, n°157, p. 155-157.
62. **Weisen. J.P (1974)**. "La prophylaxie des mammites" .Édition Vigot frères, p. 16-19.
63. **Mitchell. M (2005)**. "Détection des résidus d'antibiotiques dans le lait de chèvre" Artificial Intelligence, n° 170(18), p. 1194-1212.
64. **Raskin. P, Romnee. J.M, Kerrour. M, Dufrasne. I et Istasse. I (2007)**. "Inhibitory substances of bacillus steathermophilus var.calidolactis present in milk of cow with no antibiotic treatment" Renc. Rech. Ruminants, n°4, p. 291.
65. **Le Talec. J.I (1981)**. "Les médicaments susceptibles de laisser des résidus dans le lait" Semaine vétérinaire, n° 203, p. 7.
66. **Sraïri M.T, Hasni. I, alaoui. A, Hamama et Faye. B (2004)**. "Qualité physico-chimique et contamination par les antibiotiques du lait de mélange".
67. **Lamontagne M, Claude P, Champagne, Joelle R, Moineau S, Gardner N, Lamouteux M, Jean J et Fliss I, (2002)**. Science et technologie du lait « transformation du lait », chapitre II, pp 74-145
68. **Guirad J. P., (1998)**. "Microbiologie alimentaire", Edition Dunod. P652
69. **Sischo W.M., (1996)**. "Quality Milk and Test for Antibiotic Residues", Journal of Dairy Science, 79, 1065-1073
70. **Brouillet P, (2002)**. "Les tests rapides de detection des antibiotiques dans le lait ". Bulletin des GTV.15.Avril – Mai – Juin : 183 – 189.
71. **Suhren G, (2002)**. Hemmstoffe und Tierarzneimittelruckstande in Milch: rechtliche Grundlagen, Nachweisverfahren, Untersuchungssysteme = Inhibitors and residues of veterinary drugs in milk: legal basis detection methods and detection systems. vol. 54, n°1, pp. 35-71 [37 page(s) (article)] (27 ref.)
72. **Rieter B., (1999)**. < Origine et conséquence des substances dites inhibitrices dans la filière lait-Etude au niveau d'un groupe laitier), thèse N°37 pour le diplôme d'état de docteur vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes.
73. **Bouaissa et Yamnaine., (Recherche de résidus d'antibiotiques dans le lait cru par le MLR test (Rosa-test), mémoire pour le diplôme docteur vétérinaire , université de Blida. P81.**

44. **Brouillet. P (2002)** "Résidus de médicaments dans le lait et tests de detection" Bulletin des GVT n°15. Mai-Juin 2002, p. 25-41.
45. **Moretain. J.P (2000)** "La recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait" Proceedings lait, qualité et santé, p. 19-22.
46. **Gaudin. P (1999)** "Origines et conséquences des substances dites inhibitrices dans la filière lait : etude au niveau d'un groupe laitier". Thèse doctorat vétérinaire, école vétérinaire de Nantes, p. 26.
47. **Mourot. D (1981).**"Appréciation de la nuisance des résidus d'antibiotiques : la nuisance technologique" Semaine vétérinaire, n° 203, p. 8.
48. **Giraudet C. (1978)** "Etude de la prophylaxie des accidents de fromagerie dus à une contamination du lait à la ferme par des germes de souillure". *Thèse de Doctorat vétérinaire*, Toulouse, n°93, 77p.
49. **Oliveira. R, De Pietro. A et Cass. Q (2006)** "Quantification of cephalixin as residue levels in bovine milk by high-performance liquid chromatography with on-line sample cleanup". Talanta n° 71, p. 1233-1238.
50. **Ouellette. D (2004)** "Du bon lait pour du bon fromage" Conférence : symposium sur les bovins laitiers, 21 octobre 2004, Québec, Canada.
51. **Mietton. B, Desmazeaud. M et Deroissart. H (1994)** " Les bactéries lactiques " Édition Lavoisier, volume 2, p. 55-134.
52. **Robb. Ed (2006)** "Pour un fromage de meilleure qualité" pour l'amour des vaches, Volume 5, n°1, p. 6.
53. **Fabre. J.M, Bouquet. O et Petit. C (2006).** " Comprendre et prévenir les risques de résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale, p. 25-47. www.editions.educagri.fr/publication/extrait.pdf
54. **Luquet. F.M (1985)** "Lait et produits laitiers (vache, brebis, chèvre)" Édition Tec.Doc.Lavoisier, tome 1, p. 410-412.
55. **Fabre. JM et Joyes. D (2000).** "Résidus dans le lait : observation des inhibiteurs bien utiliser les médicaments proceedings : lait, qualité et santé" , p. 10-12.
56. **Siousarran. V (2003)** "Hygiène du lait cru en zone urbaine et périurbaine de Niamey", Niger.Rapport de stage, p. 42-43.
57. **Anifantakis. E.M (1980)** "Influence de la pénicilline sur la technologie et la qualité du fromage Feta fabriqué à partir du lait de brebis" le Lait, p. 525-531..
58. **Zinedine. A, Faid. M et Benlemlih. M, (2007)** "Détection des résidus d'antibiotiques dans le lait et les produits laitiers par method microbiologique" REMISE, volume 1, n°1, p. 1-9.

29. **Fontaine M. (1993)** "VADE MECUM du vétérinaire. Formulaire vétérinaire de pharmacologie, de thérapeutique et d'hygiène". 15^{ème} édition. Volume 1. Alger : Office des publications Universitaires, 560p.1642p.
30. **Allain. P (a) (2006)** "Antibiotiques agissant sur la membrane plasmique : colistine Extrait du livre "Les médicaments" 3^{ème} édition <http://www.pharmacorama.com/Rubriques/Output>.
31. **Abidi. K (2004)** "Résidus d'antibiotiques dans le lait de boisson" Thèse : Médecine vétérinaire École nationale de médecine vétérinaire de Sidi Thabet, Tunisie, p. 6-23.
32. **Yala. D, Merad. A. S, Mohamedi. D et Ouar Korich .M. N (2001)** "Classification et mode d'action des antibiotiques, médecine du Maghreb 2001, n°91.
33. **Perlemuter. L et al (2000)** "Pharmacologie : nouveau cahier de l'infirmière" Édition MASSON, p. 63.
34. **Lechat. P, Bisseliches. F, Chardeau. P, Dechy. H, Juillet. Y, Laugier. Y, Mazzola. CH, Sterin. P, Warnet. A, et Weber. S (1975)** "Classification des antibiotiques" Édition MASSON, 2^{ème} édition, p. 98-99.
35. **Anonyme (2006).** " Arrêté royal relatif au contrôle de la qualité du lait cru et à l'agrément des organismes interprofessionnels". MB 20070115. 1555-1560.
36. **Anonyme. d (2006)** "Pharmacocinétique et modalités d'administration des antibiotiques" <http://www.infectiologie.com/site/medias/JNI/JNI06/IDE/ati1-Saux.pdf>
37. **Jacquemin . F (2006)** "Viandes : Après les hormones, les antibiotiques". <http://pagesperso-orange.fr/alps08-carignan/viandes.htm#haut>.
38. **Milhaud. G (1981)** "Appréciation de la nuisance des résidus d'antibiotiques : toxicité directe du chloramphénicol" Semaine vétérinaire, n° 203, p. 8.
39. **Pinault L (2003)** "Prescription des médicaments et délivrance au détail des médicaments vétérinaires Prat. Méd. Chir. Anim. Comp, 38, p495-500.
40. **Pouliquen . H et Le Bris . H (2001)** "Residues of antibacterial drugs in foodstuff of fish origin: risk assessment", page 676-677. Méd. Vét., 2002, 153, 10, 675-678.
41. **Scippo . M-L (2008)** "Technologie, sécurité et qualité des aliments introduction a la qualité et la sécurité des aliments : aspects chimiques. Contrôle des résidus et des médicaments vétérinaires", page 2-36. Université de Liège, faculté de médecine vétérinaire. <http://www.adaoa.ulg.ac.be/>.
42. **Châtaigner. B et Stevens. A (2005)** "Investigation sur la présence de résidus d'antibiotiques dans les viandes commercialisées a Dakar.Institut Pasteur de Dakar, p. 6-9.
43. **Klotins . K (2006).** "Utilisation des antibiotiques comme stimulateurs de croissance: controverse et solutions. <http://www.omafr.gov.on.ca/french/livestock/animalcare/amr/facts/05-042.htm>

15. **Baazize, D. (2006)** " Evaluation de la qualité microbiologique du lait cru de vache dans la région de la Mitidja". Mémoire de magister, pp 160.
16. **Gogny. M et Puyt. J.D (2001)** "Classification des principes actifs", page 2-6. Editions le point vétérinaire 2001.
17. **Gauthier. E (2001)** "Les antibiotiques : l'envers du miracle", page 1-3. <http://agora.qc.ca/mot.nsf/Dossiers/Antibiotique>. (Consulter le 03-02-2008).
18. **Anonyme 7 d (2008)** "Pharmacologie des Antibiotiques", page 2-60. Cours de Pharmacologie DCEM3.Centre d'Investigations Cliniques.<http://www.medecine.univparis7>.
19. **Mevius. D.J, (1999)** "Resistance monitoring and surveillance". In: Proceedings de l'Office International des Epizooties. 1st European scientific conference "Use of antimicrobials in animals and public health protection" Paris, 24-26, 122-135.
20. **Oxoby . M (2002)** "Etudes sur la synthèse totale des antibiotiques naturels de la famille des Angucyclinones", page 3-12. Thèse de docteur en chimie organique de l'université Bordeaux I, école doctorale des sciences chimiques.
21. **Anonyme. (2005)** Cour de chromatographie liquid http://eaduniv_angers.fr/Page2/COURS/6CoursDEUST/CHROMATOGRAPHIE
22. **Anonyme. c (2006)** "La chromatographie liquide haute performance" Cours de chimie organique, minérale et structurale, Académie de Nancy, Metz <http://www.ac-nancy-metz.fr/enseign/Physique/HPLC.htm>
23. **Cuq . J.L (2008)** "Microbiologie alimentaire: les agents antimicrobiens, page 125-130. <http://diffusiondessavoirs.uomlr.fr/balado/wp-content/uploads/2007/10/poly-coursbio>
24. **Guerin. P et Guerin-Fauble. V (2007)** "Mammites de la vache laitière" Thèse docteur vétérinaire, école nationale vétérinaire de Lion, p. 77-117.
25. **Bezoen . A, Van Haren . W et Hanekamp . J-C (1999)** "Human Health and Antibiotic" Growth Promotors (AGPs): Reassessing the Risk.Heidelberg Appeal Nederland studies. <http://www.stichting-han.nl/english/studies.html>
26. **Guillemot. M.D et al (2006)** "Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine". Document AFSSA (Agence Française de la Sécurité Sanitaire des Aliments), p. 49-55.
27. **Jacquemin . F (2006)** "Viandes : Après les hormones, les antibiotiques". <http://pagesperso-orange.fr/alps08-carignan/viandes.htm#haut>.
28. **Duval, J. et Soussy, C.J.,** « Antibiothérapie bases bactériologie pour l'utilisation des antibiotiques », Edition Masson, Paris, (1990), 325 p