



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 par le Delvotest SP et le TwinSensor BT
Dans la wilaya de Blida*

Présenté par :

M^{elle} BENCHALABI Khadidja

&

M^{elle} CHERGUI Djamila

Devant le jury :

Mme GHARBI Amina née DECHICHA, CC, Université Saad Dahlab, Blida Présidente

M^{elle} SAHRAOUI Naima, CC, Université Saad Dahlab, Blida Examinatrice

Mme AMMI Djamila née BAAZIZE, MAT, Université Saad Dahlab, Blida Examinatrice

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

Mr SAADAOUI Mohamed Rédha, Docteur vétérinaire, Blida Co-promoteur

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

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

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

THEME :

*Recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait
cru par le Delvotest SP et le TwinSensor BT
Dans la wilaya de Blida*

Présenté par :

M^{elle} BENCHALABI Khadidja

&

M^{elle} CHERGUI Djamila

Devant le jury :

Mme GHARBI Amina née DECHICHA, CC, Université Saad Dahlab, Blida	Présidente
M ^{elle} SAHRAOUI Naima, CC, Université Saad Dahlab, Blida	Examinatrice
Mme AMMI Djamila née BAAZIZE, MAT, Université Saad Dahlab, Blida	Examinatrice
M ^{elle} TARZAALI Dalila, Docteur vétérinaire, Blida	Promotrice
Mr SAADAOUI Mohamed Rédha, Docteur vétérinaire, Blida	Co-promoteur

* Promotion 2007 / 2008 *

SOMMAIRE

Remerciements	
Dédicaces	
Résumé en français.....	I
Résumé en anglais.....	II
Résumé en arabe.....	III
Liste des abréviations.....	IV
Liste des figures.....	V
Liste des tableaux.....	VI

INTRODUCTION.....	01
-------------------	----

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : LE LAIT

I.1. Définition	02
I.2. Caractères physique du lait de vache	02
I.3. Composition chimique du lait	02
I.3.1. L'eau	02
I.3.2. La matière sèche	03
I.3.2.1. Les glucides	03
I.3.2.2. Les matières azotées	03
I.3.2.3.1. L'azote non protéique (ANP).....	03
I.3.2.3.2. Les protéines vraies	0
I.3.2.3. La matière grasse	03
I.3.2.4. Les matières salines ou sels	04
I.3.2.5. Les Vitamines	04
I.3.2.6. Les Enzymes	04
I.3.3. Composition biologique	05
I.3.3.1. Les éléments cellulaires	05
I.3.3.2. Les micro-organismes du lait.....	05
I.3.3.2.1. La flore indigène ou originelle	05
I.3.3.2.2. La flore contaminante	05
I.4. La qualité du lait	06
I.4.1. La qualité technologique	06
I.4.2. La qualité sanitaire	0
I.4.2.1 Les dangers physiques	07
I.4.2.2 Les dangers biologiques	07
I.5.2.3. Les dangers chimiques	07

I.4.3. La qualité gustative	07
I.4.4. Le paiement selon la qualité	07

CHAPITRE II : LES ANTIBIOTIQUES ET L'ANTIBIOTHERAPIE

II.1. Introduction	09
II.2. Définition	09
II.3. Classification et mode d'action des antibiotiques	1
	0
II.3.1. Les bêtalactamines	10
II.3.2. Les tétracyclines	10
II.3.3. Les aminosides	11
II.3.4. Les macrolides	12
II.3.5. Les quinolones	12
II.3.6. Les sulfamides	13
II.3.7. Les antibiotiques polypeptidiques	13
II.4. Utilisation des antibiotiques en élevage bovin	13
II.4.1. Utilisation des antibiotiques à but curatif ou préventif	14
II.4.2. Une utilisation désormais interdite (les additifs antibiotiques).....	15
II.5. Pharmacocinétiques des antibiotiques	15
II.5.1. Administration des antibiotiques par injection intra mammaire	15
II.5.2. Administration des antibiotiques par vois parentérale	16
II.6. Passage des antibiotiques dans le lait	16

CHAPITRE III : LES CAUSES DE LA PRESENCE DES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES DANS LE LAIT

III.1. Introduction	17
III.2. Les passages accidentels	17
III.3. Non-respect des protocoles de traitement en lactation	18
III.4. Non-respect des protocoles de traitement au tarissement	19
III.5. Non-respect des modalités d'utilisation des traitements (hors AMM).....	19
III.6. Lait résiduel à l'origine d'une contamination	20

CHAPITRE IV: LES RISQUES LIES À LA PRESENCE DES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES DANS LE LAIT.

IV.1. Introduction	21
IV.2. Les risques pour la santé du consommateur	21
IV.2.1. Les limites maximales résiduelles	2
	1
IV.2.2. Le temps d'attente	2
	1
IV.2.3. Le risque toxicologique	22
IV.2.4. Le risque allergique	23
IV.2.5. Le risque bactériologique	23
IV.2.5.1. Sélection de souches bactériennes résistantes	24
IV.2.5.2. Modification de la microflore intestinale	24
IV.3. Les risques technologiques	25

CHAPITRE V : METHODE DE DETECTION DES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES DANS LE LAIT

V.1. Importance de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait.....	27
V.2. Méthode de détection des résidus d'antibiotiques	27
V.2.1. Méthode microbiologique	27
V.2.1.1. Méthode officielle.....	2
V.2.1.1.1. Phase de dépistage	27
V.2.1.1.2. Phase de confirmation	28
V.2.1.2. Méthode rapide	28
V.2.1.2.1. Le Delvotest	28
V.2.1.2.2. Copan test	28
V.2.1.2.3. Le valio	29
V.2.2. Les tests enzymatiques	29
V.2.2.1. Le penzym	29
V.2.3 Méthodes immuno-enzymatiques	29
V.2.3.1. Le Delvo-x-press	29
V.2.3.2. Le Betastar	30
V.2.3.3. Le snap test (snap bêtalactamines et le snap tétracycline).	30
V.2.3.4. MRL tests	30

V.2.3.5. Le système charm II	30
V.2.3.6. Le Twinsensor	30
V.2.4. Méthodes physico-chimiques	31

PARTIE EXPERIEMENTALE

I. Recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru par le Delvotest SP	32
I.1. Période et lieu de l'étude	32
I.2. Origine des échantillons	32
I.3. Les prélèvements de lait	33
I.4. Matériel.....	33
I.5. Méthode	33
I.6. Résultats	37
I.7. Discussion	41
I.8. Conclusion	44
II. La recherche des résidus des Bétalactamines et des Tétracyclines dans le lait cru par le TwinSensor BT.....	45
I.1. lieu d'étude	45
II.2. Echantillonnage	45
II.3. Matériel.....	45
II.4. Méthode	47
II.5. Résultats	50
II.6. Discussion	55
II.7. Conclusion	58
Conclusion générale	59
Recommandations	60
Références bibliographiques	
Annexes	

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir aidé et donné la foi et la force pour achever ce modeste travail.

Nous tenons à remercier notre promotrice **M^{elle} TARZAALI Dalila**, docteur vétérinaire à Blida pour l'encadrement et l'encouragement qu'elle nous a donné et de nous avoir guidé dans la réalisation de ce travail, pour sa patience et sa disponibilité. Qu'elle trouve ici l'expression de notre profonde gratitude.

Nos remerciements vont également à notre co-promoteur **Mr SAADAOUI Mohamed Rédha**, docteur vétérinaire à Blida pour sa compréhension, sa disponibilité et toute l'aide qu'il nous a apporté.

A **Mme GHARBI Amina née DECHICHA**, chargée de cour à l'université Saad Dahleb de Blida, Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de mémoire. Hommages respectueux.

A **M^{elle} SAHRAOUI Naima**, chargée de cour à l'université Saad Dahleb de Blida et **Mme BAAZIZE Djamila**, maître assistante titulaire à l'université Saad Dahleb de Blida pour avoir accepté d'examiner ce travail.

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.

Nos sincères remerciements vont à **Dr BENACHENHOU Salim** Docteur vétérinaire à Blida, **Dr SAOULA Khaled**, médecin généraliste, **Mr ABDELAOUI Abd el Madjid** responsable de la collecte du lait zone ouest DDA (DANONE-DJERDJERA-ALGERIE), ainsi que **M^{elle} KHERBOUCHE Fatiha**, responsable du service de qualité du lait de la laiterie de DDA (DANONE-DJERDJERA-ALGERIE) pour leur aide précieuse.

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

DEDICACES

A mes parents, Pour m'avoir soutenu et encouragé toutes ces longues années afin de me permettre de réaliser un rêve d'enfance, Pour avoir cru en moi et m'avoir appris à faire confiance... Pour avoir supporté les moments difficiles, et ma mauvaise humeur de certains jours... Et pour partager maintenant ce moment de bonheur, Un seul merci même infini ne suffit pas, je vous dédie ce mémoire, Avec tout mon amour.

*A mon grand frère TAYAB. Pour m'avoir toujours entouré d'affection, soutenu, rassuré et surtout aidé, merci pour tant de patience.
A toi ASSIA, mis a part ton absence c'est le moment que je partage mon immense joie avec toi, tu es toujours présente avec nous, JE T'ADORE.
A KATIBA, OLIA, CHAHRA, YACINE, MOHSSINE, mon équilibre passe également par vous, en espérant que l'on partage encore de merveilleux moments ensemble.*

A tous mes beaux frères et mes belles sœurs.

A tous mes neveux et mes nièces je vous aime tous.

*A mon binôme, mon âme sœur Djamila, qui m'a donné sa joie de vivre communicative et tout son amour aux bons moments. Qui m'a toujours accepté telle que je suis, et m'a si souvent remontée le moral, Pour ces éclats de rire, ces nombreux moments de connivence et une telle amitié.
Et a toute sa famille surtout MINA.*

*A tous mes amis (e) surtout SALIM, KHALED, JOJO, FATMA, Pour tous les bons moments partagés. Pour tant de gentillesse et de disponibilité.
Grâce auxquels ces années ont été ponctuées de moments d'évasion.*

*Et à tous ceux que je ne peux citer, mais qui se reconnaîtront ...
A vous tous, MERCI de tout coeur d'avoir été là et de m'avoir chacun soutenu à votre façon du début jusqu'à la fin de cette longue aventure...J'en dirais bien plus encore, mais les mots ne disent pas tout...*

KHADIDJA.

DEDICACES

A mon papa qui ma toujours soutenu et qui aurait été fier de voir l'accomplissement de mes études, sa présence m'accompagne tous les jours et me rend plus forte. Reçois tout mon amour.

A ma mère pour son affection, sa douceur, sa tendresse, ses encouragements éternels, sans toi rien n'aurait été possible. Merci pour m'avoir soutenu et supporté toutes ces années, ta tâche n'a pas été toujours aisée, aujourd'hui tu es ma source de fierté.

A ma chère sœur DIJO, pour son aide, son soutien permanent et sa présence qui m'a poussé à persévérer et à donner le mieux de moi-même. A ma chère sœur MINA pour ses chaleureux encouragements tout au long de la période de mes études et qui m'as soutenu pendant les moments les plus difficiles.

A mon cher et unique frère LYES qui est pour moi un soutien inestimable. A mon beau frère HAMID pour sa disponibilité, son aide précieuse et efficace.

A mon adorable neveu le mignon HOUSSEM que du succès et du bonheur.

A ma belle nièce SALEMA tu es la princesse de la famille.

A mon étoile BOUCHERA son toi tout est fade.

A mon chouchou SISSINO pour son amour enfantin, que des bêtises.

A mon binôme KHADIDJA dont la gaîté et la joie de vivre rayonnent autour d'elle. Personne ne sait aussi bien que toi m'écouter, me comprendre, et me donner confiance ...ensembles pour toujours.

A SALIM. KHALED. JOJO, FATMA,.....grand merci.

Enfin, à tous ceux qui sont ancrés dans mon coeur, ceux que je ne peux citer et que le manque de place ne permettent pas de les nommer ici.

Merci pour les moments grandioses passés et à venir.

Djamila.

RESUME

Dans le cadre de la maîtrise des résidus d'antibiotiques, tous les acteurs de la filière lait sont concernés et impliqués. Grâce à leur action, aujourd'hui, le risque de présence de résidus à des teneurs supérieures aux normes autorisées est reconnu dans le lait et les produits laitiers.

En effet, la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait peut gravement nuire à la santé publique et la technologie laitière.

La présente étude porte sur la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru d'élevage au moyen du Delvotest SP puis celle des Bêtalactamines et des Tétracyclines par le TwinSensor BT.

- L'analyse des 90 échantillons de laits provenant des élevages de la wilaya de Blida au moyen du Delvotest SP a révélé 11 laits contaminés qui sont représentés par un taux de 12,22%.
- L'analyse des 11 échantillons contaminés, par le TwinSensor BT a montré un taux de positivité de 27,28% pour les Bêtalactamines et de 18,19% pour les Tétracyclines.

Mots clés : Lait cru de mélange, TwinSensor BT, Delvotest SP, Résidus d'antibiotique, Elevage bovin laitier.

SUMMARY

In the control of the antibiotic residues, all the actors of the die milk are concerned and implied. Due to their action, today, the risk of presence of residues with contents higher than the authorized standards is recognized in milk and the dairy products. Indeed, the presence of antibiotic residues in milk can seriously harm the public health and dairy technology.

The present study relates to the research of the antibiotic residues in the raw milk of breeding by means of Delvotest SP then that of Bêtalactamines and Tétracyclines by TwinSensor BT.

- The analysis of the 90 milk samples coming from the breedings of the wilaya of Blida by means of Delvotest SP revealed 11 contaminated milks which are represented by a rate of 12,22%.
- The analysis of the 11 contaminated samples, by TwinSensor BT showed a rate of positivity of 27,28% for Bêtalactamines and 18,19% for Tétracyclines.

Key words: Raw milk of melange, TwinSensor BT, Delvotest SP, antibiotic Residues, dairy bovine breeding.

ملخص

في إطار السيطرة على مخلفات بقايا المضادات الحيوية، جميع العاملين في قطاع الحليب هم معنيون و مشاركون. بفضل مجهوداتهم اليوم، أصبح خطر وجود هذه الرواسب على مستويات أعلى من المسموح و المعترف بها معروفا في الحليب ومنتجات الألبان.

والواقع أن وجود بقايا المضادات الحيوية في الحليب يمكن أن تؤثر تأثيرا خطيرا على الصحة العامة وتكنولوجيا الألبان.

وتركز هذه الدراسة على الكشف عن بقايا المضادات الحيوية في الحليب الطازج باستخدام اختبار دلفوتست سب ثم البيبلكتامين والتتراسكلين من قبل اختبار التوينسونسور.

- تحليل 90 عينة من الحليب من المزارع في ولاية البليدة باستخدام دلفوتست سب أظهرت 11 عينة ملوثة بنسبة 12,22 %.
- تحليل 11 عينة ملوثة باستخدام اختبار التوينسونسور أظهرت إيجابية بمعدل 27,28 % للبيبلكتامين و 18,19 % للتتراسكلين.

الكلمات الرئيسية: الحليب الطازج، التوينسونسور، دلفوتست سب ، بقايا المضادات الحيوية ومنتجات الألبان، وحدات تربية الأبقار الحلوب.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau n° I: Composition du lait en minéraux	4
Tableau n° II: Date de découverte de quelques molécules antibiotiques.....	9
Tableau n° III: Antibiotiques autorisés a but thérapeutique en élevage bovin.....	14
Tableau n° IV: Sensibilité aux antibiotiques (CMI) de germes intervenant dans la fabrication des produits laitiers.....	26
Tableau n°V: Nombre de prélèvement par localité.....	37
Tableau n° VI: Résultats en fonction des localités de la wilaya de Blida.....	38
Tableau n°VII : Répartition des résultats selon la taille de l'élevage.....	42
Tableau n° VIII: Les limites de détection des résidus d'antibiotique par le TwinSensor BT	48
Tableau n °IX : Résultats de la recherche des résidus des Tétracyclines et des Bêtalactamine confondus dans les laits crus contaminés.....	53
Tableau n° X: Résultats de la recherche de résidus des Bêtalactamines dans les laits crus d'élevages contaminés provenant de wilaya de Blida.....	53
Tableau n° XI: Résultats de la recherche de résidus des Tétracyclines dans les laits crus d'élevages contaminés provenant de wilaya de Blida.....	54
Tableau n°XII: Comparaison entre les résultats des Bêtalactamines et les Tétracyclines.....	55

LISTE DES FIGURES

Figure n° 01: Le devenir des antibiotiques dans l'organisme.....	16
Figure n°02: Kit du Delvotest SP.....	33
Figure n°03: Détachement des ampoules.....	34
Figure n°04: Ouverture de la feuille d'aluminium.....	34
Figure n°05: Prélèvement du lait.....	35
Figure n°06: Dépôt du lait dans l'ampoule.....	35
Figure n°07: Incubation des ampoules.....	35
Figure n° 08: Pourcentage de la contamination du lait par les résidus des antibiotiques...39	
Figure n°09: Répartition des résultats positifs en fonction des localités de la wilaya de Blida.....	39
Figure n°10: Répartition des résultats douteux en fonction des localités de la wilaya de Blida.....	40
Figure n°11: Répartition des résultats négatifs en fonction des localités de la wilaya de Blida.....	41
Figure n° 12 : Distribution des résultats selon le nombre des vaches.....	42
Figure n°13 : Matériels utilisés.....	48
Figure n° 14: Bandelette réactif	49
Figure n°15 : Dépôt de lait dans les micropuits.....	50
Figure n° 16: Homogénéisation avec le micro pipette.....	51
Figure n° 17 : Incubation des bandelettes.....	51
Figure n°18: Interprétation des résultats.....	52
Figure n° 19: Pourcentage de contamination du lait cru par les résidus des Bêtalactamines.....	54
Figure n° 20 : Pourcentage de contamination du lait cru par les résidus des Tétracyclines.....	55
Figure n° 21: Comparaison entre les résultats des résidus des Bêtalactamines et les Tétracyclines.....	56

LISTE DES ABREVIATIONS

- µg : Microgramme
- µg/l : Microgramme par litre.
- µl : Microlitre.
- AMM : Autorisation de mise sur le marché.
- ANP : Azote non protéique
- ATB: Antibiotique.
- B: Bétalactamine
- °C : Degré celsius.
- Ca : Calcium
- Cl: Chlore
- Cu: Cuivre
- °D : Degré Dornic.
- DAOA: Denrée alimentaire d'origine alimentaire.
- DSA: Direction des services agricoles.
- E.coli : Escherichia coli
- Fe: Fer
- IM : Intra mammaire.
- I: Iode
- K : Potassium
- l: Litre
- LMR : Limite maximale de résidus.
- Mg: Magnésium
- Na: Sodium
- NaCl: Chlorure de sodium.
- ng/l : Nanogramme par millilitre.
- NOVI: Nouvel observatoire Virbac des inhibiteur
- p: Phosphore.
- PAB: Acide para-amino-benzoïque.
- p²o5: Acide phosphorique.
- ppb : Partie par billion.
- RIA: Radio-immunologique aux récepteurs des antibiotiques.
- STER: Streptococcus.
- TA: Temps d'attente.
- TB : Taux butyreux.
- TP : Taux protéiques.
- UI: Unité internationale
- UFC/ml: Unité formant colonie par millilitre.
- Zn: Zinc

INTRODUCTION

Les antibiotiques sont couramment utilisés chez les animaux domestiques, soit pour guérir ou prévenir les affections. Ils peuvent ainsi générer des résidus dans les denrées alimentaires d'origines animales notamment le lait qui est un aliment important pour le consommateur et constitue l'une des voies d'élimination des médicaments principalement après les traitements intra-mammaires.

Cependant, leur utilisation inconsidérée peut présenter des inconvénients aussi bien pour la santé de l'homme que pour l'industrie laitière.

En effet, La présence de résidus d'antibiotiques dans le lait peut entraîner plusieurs risques pour les consommateurs à savoir : des modifications de la flore intestinale, des effets toxiques ou allergènes et la sélection de bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques (CHATAIGNER et STEVENS, 2002).

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

Aujourd'hui, il est généralement reconnu qu'il ne faut tolérer aucune trace d'antibiotique, aussi légère soit-elle, dans le lait destiné à la consommation humaine.

La réglementation nationale stipule l'absence de résidus d'antibiotiques dans le lait par la loi dictée dans le journal officiel de la république Algérienne (N°35 du 27 Mai 1998). Cependant, elle n'est pas toujours systématiquement appliquée.

C'est pour cette raison que nous avons jugé utile de réaliser cette étude dans la wilaya de Blida, qui vise les objectifs suivants :

- 1) Rechercher les résidus d'antibiotiques dans le lait cru d'élevage par le Delvotest SP.
- 2) Rechercher les résidus d'antibiotiques les plus utilisés notamment les Tétracyclines et les Bêtalactamine par le TwinSensor BT.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 : LE LAIT

1.1. DEFINITION:

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

Le lait destiné à l'alimentation humaine a été défini en 1908, lors du premier congrès international pour la répression des fraudes alimentaire, comme « produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli, proprement et ne pas contenir de colostrum » (LARPENT, 1997).

En 1983, la fédération internationale de laiterie a proposé la définition suivante pour le lait : « produit de la sécrétion mammaire, obtenu par une ou plusieurs traites sans aucune addition ou soustraction » (HANZEN, 1999).

Lorsque il n'y a aucune précision, le terme « lait » sans indication de l'espèce animale de provenance est réservé au lait de vache, tout lait provenant d'une femelle laitière autre que la vache doit être désigné par la dénomination « lait » suivie de l'indication de l'espèce animale dont il provient donnant comme exemple « lait de brebis », « lait de chèvre » (VEISSEYRE, 1975; DEBRY, 2001).

1.2. CARACTERE PHYSIQUE DU LAIT DE VACHE :

Du point de vue physico-chimique, le lait est un produit très complexe. Une connaissance approfondie de sa composition, de sa structure et de ses propriétés physiques et chimiques est indispensable à la compréhension des transformations du lait et des produits obtenus lors des différents traitements industriels (AMIOT et al, 2002).

Le lait est un liquide opaque de couleur blanche, plus au moins jaunâtre selon la teneur en carotène et de sa matière grasse (ALAIS, 1984; FAO, 1995), de saveur légèrement sucrée (due au lactose), d'odeur peu accentuée (ALAIS, 1984; AMIOT et al, 2002), plus prononcée à chaud et capable de fixer d'autres odeurs animales. Son pH est voisin de la neutralité (SABLONNIERE, 2001).

1.3. COMPOSITION CHIMIQUE DU LAIT:

Le lait est riche en lactose, matière grasse, matière protéine, sels minéraux et en vitamines qui sont en solution, ou en suspension dans l'eau (MATHIEU, 1998). Selon DOSOGNE et al (2000), sa composition lui confère des propriétés très intéressantes pour la nutrition humaine.

Cette composition varie selon différents facteurs, les principaux étant l'individualité, la race, la période de lactation, l'alimentation, la saison et l'âge (DOSOGNE et al, 2000; AMIOT et al, 2001).

1.3.1. L'eau:

L'eau reste le constituant le plus important pondéralement avec 900 à 910 g/l soit 86 à 88% (PAYNES, 1999). En proportion, la présence d'un dipôle et de doublets d'électrons libres lui confèrent un caractère polaire, c'est le composé le plus abondant, ou sont dispersés tous les autres constituants du lait, tous ceux de sa matière sèche. Il forme une solution vraie avec les

substances polaires telles que les glucides, les minéraux et une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles du sérum (MATHIEU, 1998; VIGNOLA, 2002).

I.3.2. La matière sèche:

I.3.2.1 Les glucides:

Le lactose est le glucide ou l'hydrate de carbone le plus important du lait puisqu'il constitue environ 40% des solides totaux. D'autres glucides peuvent être présents en faible quantité comme le glucose et les galactoses qui proviendraient de l'hydrolyse du lactose; en outre, certains glucides peuvent se combiner aux protéines. Ainsi, le lait écrémé en contient 52% et la poudre de lactosérum, près de 70% (AMIOT et al, 2002).

I.3.2.2. La matière azotée:

Selon HANZEN (2000), les protéines du lait, dont la teneur moyenne varie de 2,8 à 4,5% avec une valeur moyenne de 3,55% sont constituées d'une fraction d'azote non protéique (ANP) et La matière azotée protéique ou protéine vraie.

I.3.2.2.1. L'azote non protéique (ANP):

Il représente chez la vache 5% de l'azote total du lait. Il est essentiellement constitué par l'urée (33 à 79% de l'azote non protéique du lait). On y trouve également et par ordre d'importance les acides aminés, l'acide urique, l'ammoniac, la créatinine. Il y a une corrélation étroite entre la teneur en urée du lait et celle du sang (HANZEN, 1999).

I.3.2.2.2. Les protéines vraies :

C'est la fraction la plus importante (93 à 95%) qui se différencie de l'ANP par la grosseur de leurs molécules (HANZEN, 1999).

Les caséines ou protéines majeure, appelées également protéines coagulables, sont au nombre de quatre α_1 , α_2 , β , κ . Elles forment près de 80% de toutes les protéines, soit 26g/l, ces caséines forment avec le phosphate de calcium, un complexe appelé micelle (BRULE et LORIENT, 1997; TERRIEN et JOSETTE, 1998).

I.3.2.3. La matière grasse:

La teneur en matière grasse du lait varie selon les espèces et même selon les races chez la vache. Le lait contient environ 35g/l de matière grasse (ANONYME, 1995). La matière grasse du lait est composée à 97.5% de triacylglycérols, le reste étant constitué de phospholipides (0,6%), de diacylglycérols (0,36%), de cholestérol (0,31%), de monoacylglycérol (0,027%) et d'acides gras (0,027%) (CHRISTIE, 1983).

Les acides gras courts sont d'origine mammaire, les longs sont d'origines sanguines et les moyens sont d'origine mammaire soit alimentaire ou corporelle.

Une fois synthétisés dans l'appareil de golgi, les acides gras fusionnent en gouttelettes dont la taille augmente de façon croissante jusqu'à leur exocytose vers la lumière alvéolaire tout en empreintant une partie de la membrane cellulaire. Il s'agit donc d'une sécrétion mérocrine (LE PAGE, 1999). Le taux de matière grasse du lait appelé taux butyreux (TB), est une caractéristique importante du lait. Elle conditionne sa valeur marchande (MATHIEU, 1998).

I.3.2.4. Les matières salines ou sels:

La quantité des minéraux contenus dans le lait après incinération varie de 0,60 à 0,90%. Ils prennent plusieurs formes ; ce sont le plus souvent des sels, des bases, des acides (AMIOT et al, 2002).

Le tableau n° I indique la composition du lait en minéraux.

Tableau n° I: Composition du lait en minéraux (AMIOT et al, 2002).

minéraux	Teneur (mg/Kg)	minéraux	Teneur (mg/Kg)
Sodium (Na)	445	Calcium (Ca)	1180
Magnésium (Mg)	105	Fer (Fe)	0.50
Phosphore (P)	896	Cuivre (Cu)	0.10
Potassium (K)	1500	Iode (I)	0.28
Chlore (Cl)	958	Zinc (Zn)	3.80

Cette composition est sujette à d'importantes variations selon les saisons et l'alimentation des vaches. Ainsi, un lait provenant des vaches en pâturage sera plus stable lors des traitements thermiques puisque sa teneur en citrate sera plus élevée ; ce composé fixe le calcium qui peut avoir un effet déstabilisant (AMIOT et al, 2002).

I.3.2.5. Les Vitamines:

Selon DEBRY (2001), ce sont des molécules plutôt complexes mais de taille beaucoup plus faible que les protéines, de structure très variées ayant un rapport étroit avec les enzymes car elles jouent un rôle de coenzyme associée à une apoenzyme protéique. On classe les vitamines du lait en deux grandes catégories:

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

I.3.2.6. Les Enzymes:

Selon AMIOT et al (2002), les enzymes sont des protéines globulaires spécifiques produites par les cellules vivantes. Elles sont des biocatalyseurs, car elle accélère les réactions biochimiques. Chaque enzyme possède une spécificité absolue à un type de réaction, chaque enzyme est spécifique à un substrat.

Les enzymes sont d'origine diverse, les unes propres au lait, les autres élaborées par les micro-organismes présents dans celui-ci. En règle générale, on distingue les hydrolases (lipases protéines lysozyme phosphatases) et les enzymes d'oxydoréduction (catalase-peroxydases- xanthine oxydase- réductases microbienne).

I.3.3. Composition biologique :

I.3.3.1. Les éléments cellulaires :

Ils sont nombreux et variés. A côté d'éléments épithéliaux on trouve surtout des leucocytes provenant vraisemblablement du sang et de la lymphe. Les divers groupes de leucocytes sont représentés par des Mononucléaires (Monocytes, lymphocytes, polynucléaires) ou granulocytes (VEISSEYRE, 1975).

I.3.3.2. Les micro-organismes du lait:

Le lait est un milieu de culture et de protection pour plusieurs microorganismes, y compris les microorganismes pathogènes pour l'humain (LAMONTAGNE et al, 2002).

Le lait obtenu par la traite n'est pas un produit stérile, il contient, de façon normale, une certaine quantité de micro-organismes, essentiellement des germes saprophytes du pis des canaux galactophores (BROUILLET, 1998).

Les germes présents dans le lait sont de nature diverse « bactéries, levures, moisissures », la variété de la flore est liée à la diversité des sources de micro-organismes. Cependant, il faut retenir que la composition de la flore dépend de l'environnement, des conditions de la production et de l'hygiène de la traite (MONOSALLIER, 1994).

Les micro-organismes du lait sont répartis, selon leur importance, en deux grandes classes : la flore indigène ou originelle et la flore contaminante (LAMONTAGNE et al, 2002).

1.3.3.2.1. La flore indigène ou originelle :

Lorsque le lait provient d'un animal sain et qu'il est prélevé dans des conditions aseptiques, il devrait contenir moins de 5000 UFC/ml. La flore indigène des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis.

Les genres dominants de la flore indigène sont principalement des microorganismes mésophiles (LAMONTAGNE et al, 2002).

1.3.3.2.2. La flore contaminante :

La flore contaminante est l'ensemble des microorganismes ajoutés au lait, de la récolte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération, et d'une flore pathogène (LAMONTAGNE et al, 2002).

a) La flore d'altération :

Causera des défauts sensoriels de goût, d'arômes et d'apparence ou de texture. Les principaux genres identifiés comme flore d'altération sont :

Pseudomonas sp, *proteus sp*, les coliformes, soit principalement les genres *Escherichia* et *Entérobacter*, les sporulées telles que *Bacillus sp*, et *Clostridium sp*, et les moisissures (LAMONTAGNE et al, 2002).

b) La flore pathogène :

La présence de microorganismes pathogènes dans le lait peut avoir trois sources : l'animal, l'environnement et l'homme. Les principaux microorganismes pathogènes associés aux produits laitiers sont: *Salmonella sp*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum* et *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Compylobacter jejuni*, *Shigella sonnei*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Brucella* et certaines moisissures (GELINAS, 1995; LAMONTAGNE et al, 2002).

I.4. LA QUALITE DU LAIT:

La qualité du lait c'est comme la somme de différentes caractéristiques dont le plus évidents sont ces caractéristiques hygiéniques, organoleptiques et nutritionnelles (BOURGEOIS et LEVEAU, 1980).

Le lait serait l'aptitude à être conditionné en lait de consommation ou transformé en divers produit (fromage, dessert lacté) sans difficulté technologiques, afin de concourir à la couverture des besoins nutritionnels des consommateurs en toute sécurité, c'est-à-dire sans véhiculés de germes ou de substances susceptibles d'entraîner des troubles quelque soit la gravité (CAUTY et PERREAU, 2005).

Parmi les composantes de la qualité :

I.4.1. La qualité technologique :

Caractérise l'existence ou le risque d'altération du lait. Cette qualité est jugée insuffisante si le produit contient un nombre de micro-organisme d'altération suffisant pour diminuer sensiblement la qualité organoleptique du produit avant sa date normal de consommation (BOURGEOIS et LEVEAU, 1980).

Cette qualité dépend de la composition chimique (TP, TB) de la qualité bactériologique et de l'aptitude à la transformation (CAUTY et PERREAU, 2005).

Les dangers technologiques requièrent une vigilance particulière au niveau des laiteries.

Selon BROUTIN et al (2005), les origines possibles sont :

- Manque de maîtrise de la pasteurisation: Incohérence du couple temps, température.
- Ferments: contamination par un yaourt ou lait caillé de la veille de mauvaise qualité pendant l'ensemencement, manque de maîtrise de la qualité nécessaire pour l'ensemencement;
- Conditionnement: Possibilité de contamination par le personnel suite à une manipulation sans précaution hygiénique (port de bijoux) soufflage dans les sachets;
- Stockage des produits à l'unité ou dans les circuits de vente à des températures excédant 10° C.

I.4.2. La qualité sanitaire (hygiénique) :

Caractérise le risque pour la santé du consommateur. Cette qualité est jugée défailante si le produit contient une quantité de toxines ou de micro-organismes pathogènes suffisante pour rendre le produit dangereux à consommer ou s'il existe un risque suffisant pour qu'il en soit ainsi (BOURGEOIS et LEVEAU, 1980).

Les risques pour la santé humaine sont liés à l'existence de trois types de danger : les dangers physiques, biologiques et chimiques.

I.4.2.1 Les dangers physiques :

L'utilisation de certains produits ou matériels peut être à l'origine de corps étrangers indésirables dans le lait et les produits transformés. Les spatules en bois, les fouets (avec un manche en bois) sont utilisés dans les unités pour l'homogénéisation et le brassage du lait. Des débris de bois peuvent se retrouver dans le lait ou dans les produits transformés. Par ailleurs, si les pratiques à la traite sont défectueuses et que le lait n'est pas filtré, des grains de sable ou de poils, peuvent le polluer (BROUTIN et al, 2005).

I.4.2.2 Les dangers biologiques :

C'est le danger majeur à maîtriser dans le cadre de la transformation laitière. Les agents infectieux présents dans les aliments peuvent provenir de plusieurs sources: des animaux, de l'environnement et du matériel du personnel de l'unité de production (BROUTIN et al, 2005).

Les dangers regroupant les bactéries les virus et les parasites dangereux pour l'homme (BOURGEOIS et LEVEAU, 1980).

I.5.2.3 Les dangers chimiques :

Sont plus variés et tendent à prendre une importance de plus en plus grande dans les pays à production intensive.

Selon BOURGEOIS et LEVEAU (1980), ces dangers chimiques ont deux origines:

1. Origines intrinsèques : Ce sont des contaminations naturellement présentes dans l'aliment comme les composés allergènes, ou les substances anti-vitaminiques.
2. Origines extrinsèques : Ce sont les polluants de l'environnement (métaux lourds, résidus de pesticides, contamination industriels telle que la dioxine), des résidus de traitements vétérinaires, ou des composés issus d'un accident de transformation.

I.4.3. La qualité organoleptique :

La saveur normale d'un bon lait est douce, agréable et légèrement sucrée, ce qui est principalement due à la présence de matière grasse. Le goût et l'odeur du lait sont un indice important de sa qualité. La présence d'une mauvaise odeur dans le lait et un goût désagréable avec un rancissement, reflète un problème dans la manipulation et la conservation du lait (AMIOT et al ,2002; CAUTY et PERREAU, 2005).

I.4.4. Le paiement selon la qualité :

La qualité du lait a une influence directe sur la qualité des produits laitiers. Par ailleurs, le paiement du lait dépend principalement de sa composition (AMIOT et al, 2002). Les critères évoqués le plus souvent sont le TP et le TB (caractéristiques de composition chimique) et la teneur en germes totaux (qualité bactériologique). Les seuils souhaités pour les critères ayant des impacts défavorables seront évidemment les plus bas possibles. Mais les

exigences peuvent varier d'une laiterie à l'autre suivant le devenir du lait (CAUTY et PERREAU, 2005).

Les modalités de paiement du lait de vache sont déterminées par des conventions passées entre les entreprises laitières et les producteurs (PANAGET, 1994).

Ces conventions sont signées pour une durée d'un an et renouvelable de façon tacite. Le paramètre contenu inhibiteur est inclus dans 'les systèmes de contrôle de la qualité et paiement selon la qualité' dans de nombreux pays européens. Fréquence des examens, sensibilités de détection des méthodes d'essai appliquées et les conséquences pour les producteurs de lait varient d'un pays à l'autre et même dans un pays. En vertu de la législation alimentaire, les résidus de médicaments vétérinaires, parmi lesquels les antibiotiques sont le groupe le plus important, sont à évaluer d'après le concept de la limite maximale de résidus (LMR). D'un point de vue international cette situation est encore plus complexe comme les autorités compétentes du Codex Alimentarius et d'autres (SUHREN, 2002).

CHAPITRE II : LES ANTIBIOTIQUES ET L'ANTIBIOTHERAPIE

II.1. INTRODUCTION:

Le mot même "antibiotique" fut créé en 1889 par Paul VUILLEMIN, qui proposa également le terme "antibioté" pour les micro-organismes qui provoquent l'antibiose.

Un antibiotique est un dérivé produit par le métabolisme de micro-organismes possédant une activité antibactérienne à faible concentration et n'ayant pas de toxicité pour l'hôte.

Cette notion a été étendue aux molécules obtenues par hémisynthèse.

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

Les dates de découverte de quelques molécules sont rappelées dans le tableau n° II.

Tableau n° II: Date de découverte de quelques molécules antibiotiques (MAILLARD et al, 2002)

Micro-organisme	Famille	Molécule	Date de découverte
<i>Penicillium</i>	Pénicillines	Pénicilline	1929
<i>Streptomyces</i>	Aminoglycosides	Streptomycine	1944
		Néomycine	1949
		Kanamycine	1957
		Tobramycine	1967
		Amikacine	1975
	Tétracyclines	Chlortétracycline	1948
		Oxytétracycline	1949
	Quinolones	Acide nalidixique	1962
<i>Cephalosporum</i>	Phénicolés	Chloramphénicol	1946
	Macrolides	Erythromycine	1952
	Céphalosporines	Céphalotine	1954

II.2. DEFINITION:

Un antibiotique est une substance antibactérienne d'origine biologique, c'est à dire produit par des micro-organismes (champignons microscopiques et bactéries) ou de synthèse chimique et qui est capable d'inhiber la multiplication ou de détruire d'autres microorganismes.

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

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

II.3. CLASSIFICATION ET MODE D'ACTION DES ANTIBIOTIQUES:

Les antibiotiques sont classés dans des familles et parfois des groupes dans lesquels les représentants possèdent des caractères voisins ou identiques: la nature chimique et l'origine, le spectre d'action, le mécanisme d'action, les mécanismes de résistance, les effets secondaires (LARPENT et SANGLIER, 1989).

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

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

Ainsi que les principaux antibactériens de synthèse qui sont :

- Les sulfamides (Sulfaguanidine);
- Les quinolones (Flumiquine).

II.3.1. Les bêtalactamines :

Selon PUYT (2002), les bêtalactamines représentent les antibiotiques les plus actifs et les moins toxiques. En fonction de leur origine et de leur structure, deux groupes d'importance inégale sont à distinguer :

-Les pénicillines, produites par des moisissures du genre *pénicillium*.

-Les Céphalosporines, d'importance moindre en médecine vétérinaire de genre *céphalosporinium*.

Le noyau de base est le cycle β lactame. Les antibiotiques de cette famille sont bactéricides.

Ils se répartissent en trois groupes :

- Groupe I : Il comporte le cycle β lactame et un cycle thiazoline (ex: spectre étroits peni M et peni V)
- Groupe II : Il comporte un cycle lactame et un cycle dihydrothiazine (ex: spectres larges peni A),
- Groupe III : Il comporte un noyau limité au cycle β lactame (ex : céphalosporines).

❖ Mécanisme d'action :

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

II.3.2. Les tétracyclines :

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

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

➤ **Cyclines naturelles:**

- Chlorotétracycline (Auréomycine).
- Tétracycline base (Tetracyne).

➤ **Cyclines semi-synthétiques :**

- Oxytétracycline (Terramycine).
- Doxycycline (Vibramycine).

La Doxycycline et la Mincycline ont une meilleure activité in vitro et sont actives sur les souches bactériennes résistantes aux cyclines naturelles. Elles ont, de plus, une meilleure absorption digestive et une plus longue durée d'action.

❖ **Spectre d'activité :**

C'est avec les tétracyclines qu'est apparu le terme "à très large spectre".

Les tétracyclines sont indiquées pour le traitement des *pasteurelloses*, *brucelloses*, *Chamydioses*, *Coxiellses*, *Rickettsioses*, *Mycoplasmes*, *Spirochètes*, *Leptospira* et *Borrelia*.

Ils ont une bonne activité, pour la majorité des bacilles à Gram positif aérobies et anaérobies sporulés. Cependant, la sensibilité in vitro doit être vérifiée.

Elles sont actives sur *Plasmodium falciparum* avec un effet synergique avec la quinine (BRYSKIER, 1999).

❖ **Mécanisme d'action :**

Le mécanisme d'action des tétracyclines réside dans l'inhibition des synthèses protéiques. De nombreuses épreuves expérimentales, notamment en systèmes acellulaires, ont été obtenues.

Le mécanisme intime de cette action paraît être l'inhibition de la fixation du complexe aminoacide-ARNt synthétase sur le complexe ribosome-messager (DUVAL et SOUSSY, 1985; BERGOGNE et DELLAMONICA, 1995).

II.3.3. Les aminosides :

Selon BRYSKIER (1999), ce sont des hétérosides naturels formés par un ou plusieurs glycosides liés à un aminocyclitol. Il existe plusieurs centaines de molécules naturelles et héli-synthétiques. Elles sont classées par UMEZAWA en 1979 puis par BRYSKIER en 1995 en fonction de la structure chimique centrale en trois classes : Streptomine, 2 désoxystreptomine et Streptidine.

❖ **Mécanisme d'action:**

Ils perturbent la synthèse des protéines au niveau de la fraction 30S du ribosome entraînant la destruction bactérienne. Ils sont bactéricides.

❖ **Spectre d'action :**

Le spectre d'action des aminosides est large, agissant sur les bacilles Gram négatifs aérobies notamment les entérobactéries et sur les bacilles à Gram positif (*Listeria*), l'action est inconstante sur les cocci en général. Ils sont actifs sur les *staphylococcus aureus* sécréteurs de pénicillinase, sur les cocci à Gram négatif, *Neisseria meningitidis* et *Neisseria*

gonorrhoeae. Ces antibiotiques sont inactifs sur les streptocoques, pneumocoques les entérocoques et les anaérobies.

II.3.4. Les macrolides :

Selon BOURIN et al (1994), les macrolides sont des antibiotiques fréquemment utilisés en pratique de ville à cause de leur facilité d'emploi. Ils ont un spectre étroit, et sont parfaitement actifs sur les germes intracellulaires. Ils ont une excellente pénétration tissulaire.

❖ Spectre d'activité :

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

- Cocci à Gram positif (*Streptocoques*, *Staphylocoques méti. S.*).
- Cocci à Gram négatif (*Neisseria*, *Moraxella catarrhalis*),
- Bacilles à Gram négatif (*Bordetella*, *Campylobacter* et *l'Helicobacter*),
- Bacilles à Gram positif (*Corynebactéries*, *Bacillus anthracis*, *Erysipelothrix*, *Listéria*),
- Germes anaérobies (*Propionibactérium acnes*, *Eubacterium*),
- Germes intra - cellulaires (*Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydiae*, *Borrelia*).

❖ Mécanisme d'action :

Les macrolides agissent en inhibant la synthèse protéique bactérienne. Ils se fixent sur l'unité 50 S du ribosome et bloquent ainsi la réunion du dernier stade de la synthèse. Ils sont bactériostatiques.

II.3.5. Les quinolones :

Selon BRYSKIER (1999), les quinolones ont une structure générale dérivant de l'acide dihydro 1,4 oxo 4 quinoleine carboxylique. La première molécule des quinolones est Negram (Acide nalidixique). Depuis, plusieurs molécules ont été synthétisées pour exalter le pouvoir antimicrobien et améliorer les caractéristiques pharmacocinétiques.

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

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

❖ Mécanisme d'action :

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

❖ Spectre d'activité :

Les quinolones de 1^{ère} génération ont à peu près le même spectre d'activité dirigé essentiellement contre les bactéries à Gram négatif excepté *Pseudomonas spp.*

II.3.6. Les sulfamides :

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

❖ Mécanisme d'action :

Ils ont une activité bactériostatique. Ils entrent en compétition avec l'acide para-amino benzoïque (PAB) bloquant ainsi l'action de la synthétase.

❖ Spectre d'activité :

Il est théoriquement large:

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

II.3.7. Les antibiotiques polypeptidiques :

Les antibiotiques polypeptidiques sont constitués d'enchaînement d'acides aminés. Ils sont produits par des bactéries du genre *bacillus* ou par d'autres espèces du genre *stréptomyce*. Dans leur structure ils présentent quelques acides aminés. On distingue les polypeptides cycliques à usage parentéral ou local et les polypeptides à usage strictement local (BOURIN, 1994)

❖ Mécanisme d'action :

Ce sont des antibiotiques polypeptidiques, inhibiteurs de la membrane cytoplasmique (BRYSKIER, 1999).

❖ Spectre d'activité:

Ces substances ont un spectre étroit, actif exclusivement contre les bacilles aérobie Gram négatif, dont *pseudomonas aeruginosa* (BRYSKIER, 1999).

II.4. UTILISATION DES ANTIBIOTIQUES EN ELVAGE BOVIN :

Les familles des molécules utilisées en médecine vétérinaire sont les mêmes que celles utilisées en médecine humaine, mais des différences existent entre la pharmacopée humaine et la pharmacopée vétérinaire: en effet, la prise en compte du coût d'un traitement est capitale en production animale, ce qui pousse à privilégier des molécules anciennes, moins chères, telles que les pénicillines et les tétracyclines, qui représentent aujourd'hui encore les antibiotiques les plus utilisés en élevage. Certaines familles anti-bactériennes employées en médecine humaine sont au contraire très peu représentées dans l'arsenal vétérinaire: le ceftiofur et la cefquinome, en effet, se sont les seuls représentants des céphalosporines. De même, la diffusion de molécules nouvelles déjà utilisées en médecine humaine est très restreinte (SCHWARZ et CHASLUS-DANCLA, 2001). Enfin, il faut noter que certains antibiotiques ont été spécifiquement dédiés à un usage vétérinaire, comme l'apramycine ou le florfénicol (CHASLUS-DANCLA, 1999).

D'une façon générale, les grandes familles d'antibiotiques selon EMEA (1999) sont présentées dans le tableau n° III.

Tableau n° III: Antibiotiques autorisés a but thérapeutique en élevage bovin (EMEA, 1999)

Famille	molécule	Voies d'administration
Bêtalactamines	Pénicillines	I, M, T
	Ampicilline/Amoxicilline	O, I, M, U
	Amoxicilline+acide clavulanique	O, I, M
	Isoxazolyl-Pénicillines	M, U, T
Céphalosporines	Cefalexine, ceftiofur	I, M, U
Aminoglycosides	Dihydro/ Streptomycine	I, M, U
	Néomycine	O, M
	Kanamycine	I
	Gentamicine	O, I, M
	Apramycine	O, I
	Spectinomycine	I
	Framycétine	O, I
Tétracyclines	Oxy/ Chlor/ Tétracycline	O, I, M, T, U
	Doxycycline	O
Lincosamides	Lincomycine	I U
Macrolides	Tylosine, Erythro/ Spiramycine	O, I, M
	Tilmicosine	I
Polypeptides	Colistine	O, I, M
	Bacitracine	I
Sulfamides	Sulfaguanidine	O, I, U, T
Sulfamides potentialisés	Sulfaguanidine triméthoprimes +	O, I
Quinolones	Fluméquine	O, I
	Acide oxolinique	O
Fluoroquinolones	Enrofloxacin	O, I
	Marbofloxacin	I
	Danofloxacin	I
Phénicolés	Florfénicol	I
	Thiamphénicol	T
Divers	Novobiocine	M
	Rifampicine	M

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

II.4.1. Utilisation des antibiotiques à but curatif ou préventif :

La maladie bactérienne est considérée comme le dépassement des défenses Immunitaires de l'organisme par une pression infectieuse. Malgré la mise en place de mesures Hygiéniques, vaccinales, ou la sélection génétique d'animaux plus résistants, il faut parfois avoir recours à un traitement antibiotique pour vaincre cette infection c'est:

L'antibiothérapie, L'antibactérien est une aide à apporter lorsque le système immunitaire est trop faible ou la souche infectieuse particulièrement virulente: ce n'est pas lui qui guérit l'animal, mais le système immunitaire (FAROULT et ALNO, 1999).

Les objectifs d'une intervention à but thérapeutique sont donc de limiter la souffrance de l'animal malade, d'éviter la mortalité et, pour les animaux de rente, de rétablir les niveaux de production (lait, viande). Dans le cas de bactéries communes aux animaux et à l'Homme, il s'agit également d'éviter la transmission de ces micro-organismes aux personnes en contact avec l'animal malade (MILLEMANN, 2002).

L'hygiène et les conditions d'élevages sont des éléments capitaux de la prévention des maladies infectieuses (CORPET, 1999). Néanmoins, elles peuvent s'avérer insuffisantes et il faut avoir recours à certaines mesures préventives et notamment à l'administration d'antibiotiques. La métaphylaxie est une mesure mise en place lorsqu'une infection s'est déclarée dans un élevage, et qu'une proportion importante d'animaux est malade. Elle consiste en l'administration à dose curative de l'antibiotique utilisé sur les animaux malades aux animaux sensibles exposés non atteints. Dans cette optique, les objectifs recherchés sont les mêmes que ceux de l'antibiothérapie (En élevage bovin, la métaphylaxie est mise en oeuvre dans les infections contagieuses comme les affections respiratoires ou les entérites néo-natales, qui peuvent se transmettre à l'ensemble de l'effectif sensible très rapidement.

L'antibioprévention est l'administration préventive d'antibiotiques à dose thérapeutique à des individus soumis à un risque infectieux (MILLEMANN, 2002).

Elle est très fréquente en élevage laitier, avec l'application de pommades intramammaires contenant un ou plusieurs antibiotiques lors du tarissement des vaches.

II.4.2. Une utilisation désormais interdite (les additifs antibiotiques):

Les additifs antibiotiques, aujourd'hui interdits, sont des antibactériens utilisés à faible dose pendant toute la croissance des animaux, avec l'objectif d'obtenir un gain de poids maximal en un minimum de temps (MILLEMANN, 2002).

Les animaux produits sous label (label rouge par exemple) ou agriculture biologique ne reçoivent pas d'antibiotique dans l'aliment, les bovins à l'herbage, les vaches laitières non plus (MACKINNON et al, 1985; CORPET, 1999).

II.5. PHARMACOCINETIQUES DES ANTIBIOTIQUES:

II.5.1. Administration des antibiotiques par injection intra mammaire :

Le comportement de l'antibiotique est conditionné par ses caractères physico-chimiques et par le PH du milieu. Après une administration intra mammaire, il va tout d'abord y avoir libération de l'antibiotique dont la rapidité dépend de l'excipient utilisé. Un excipient huileux permettra une libération lente de l'antibiotique, un excipient aqueux permettra une libération rapide. Une libération rapide est recherchée car elle permet d'obtenir rapidement des concentrations élevées dans la mamelle. En suite, il y a solubilisation et diffusion des molécules.

Dans la mamelle en lactation, il existe deux entités: un secteur hydrophile constitué par le lait et un secteur lipophile incluant toutes les structures tissulaire.

Il est également important de signaler que les antibiotiques liés aux constituants mammaires (caséine, débris tissulaires dus à l'inflammation) auront un potentiel de diffusion limité par excès de taille du complexe. L'élimination se fera soit par le lait lors de la traite soit par le sang puis les reins. Les antibiotiques peuvent être essentiellement résorbés par le sang puis éliminés par les reins (ZIVB, 1980; BURGAT-SACAZE et PETIT, 1983; TOUTAIN, 1984; LACOMBE, 1993).

CHAPITRE III : LES CAUSES DE LA PRESENCE DES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES DANS LE LAIT

III.1. INTRODUCTION:

De nombreuses études ont porté sur la détermination des facteurs de risque et l'analyse des causes d'accidents d'inhibition (VIRBAC, 2002). L'origine des résidus dans le lait avait déjà montré que les trois quarts de ceci retrouvés dans le lait des éleveurs pénalisés sont des antibiotiques et que leur présence est liée à une mauvaise utilisation du médicament (LE POUTRE et PETIT, 2000).

Le traitement antibiotique des mammites représente la principale cause de pollution du lait par des résidus d'antibiotiques (SERIE et al, 1995; FABRE et al, 1996; FEDERICCI-MATHIEU, 2000; LE POUTRE et PETIT, 2000).

La pollution d'une grande quantité de lait nécessite une quantité d'antibiotique importante, d'autant plus grande que la LMR est élevée. La recherche d'une contamination directe d'origine mammaire doit être privilégiée (FAROULT et al, 2003).

Aussi, les différentes causes correspondant aux « erreurs » ou « mauvaises pratiques » des éleveurs ont été identifiées (VIRBAC, 2002).

III.2. Les passages accidentels:

Selon ROUSSEL et al (2006), ils sont de très loin la principale origine de problèmes d'inhibiteurs. L'étude réalisée par le NOVI montre la diversité des causes de ce type d'accident, dont il y a plusieurs cas de figure.

- ❖ Concernant les problèmes d'identification des animaux en traitement, les principales anomalies rencontrées sont les suivantes :
 - Les animaux traités ne sont jamais identifiés;
 - les animaux traités sont identifiés mais l'animal perd son bracelet;
 - l'animal était identifié mais le trayeur ne l'a pas vu.

Chaque producteur connaît ses vaches et beaucoup d'éleveurs ne croient pas utile de repérer celles qui sont traitées. Or, quand des antibiotiques se présentent dans le lait, dans la majorité des cas, c'est parce que le producteur a "laissé passer une vache ". Pour éviter tout incident, il est donc essentiel d'identifier les vaches traitées (bracelet à la patte, adhésif, marquage) (CNIEL, 2002).

Les vaches qui viennent juste d'être tarées ou que l'on prépare au vêlage passent parfois à la traite à l'insu de l'éleveur. On pense bien connaître et reconnaître ses animaux, mais en l'absence de marquage ou d'identification, l'erreur d'inattention est très fréquente (CNIEL, 2002).

- ❖ Concernant les problèmes de transmission de consignes ou les erreurs d'inattention, les principaux cas de figure évoqués sont les suivants :
 - Aucun document ne permet au « second trayeur » de savoir quelles vaches ont été traitées et à quel moment, il y a un manque de communication. C'est une des causes de l'augmentation de pollution du lait lors des week-end.
 - Le trayeur a été perturbé pendant la traite (par exemple en présence du contrôleur laitier) (ROUSSEL et al, 2006).
 - Il n'existe pas de rapport écrit des traitements.
 - Détermination imprécise des vaches traitées.
 - Oubli du fait que la vache a été traitée.
 - Communication déficitaire entre le vétérinaire et celle qui le traite.
 - Négligence de mettre de côté tout le lait provenant des quartiers des vaches traitées.
 - Le lactoduc est utilisé comme une source de vidange pour traire les vaches traitées lors de l'utilisation d'un récupérateur de vide pour retenir le lait.
 - Un système de traite séparé n'est pas utilisé pour les vaches traitées.
 - Le système de traite n'est pas nettoyé efficacement lors du passage des vaches traitées aux vaches non traitées.
 - Les vaches tarées ne sont pas séparées du troupeau laitier (TEN HEG, 2007).

III.3. Non-respect des protocoles de traitement en lactation:

Selon ROUSSEL et al (2006), concernant les erreurs lors du traitement des vaches en lactation, deux grands types d'erreurs doivent être distingués:

- Le non-respect du délai d'attente. Soit l'éleveur connaît le délai d'attente « normal » mais considère qu'en le réduisant « cela ne changera rien »; soit il pense le connaître mais fait une erreur (suite à un changement de traitement par exemple).
- Le non-respect de la posologie. L'éleveur augmente soit la dose soit la durée du traitement (en particulier dans le cas de mammites). Pour ce dernier cas, il apparaît que de nombreux éleveurs (et parfois vétérinaires) ne sont pas sensibilisés au fait qu'un changement de posologie (dose ou durée) doit induire une modification du temps d'attente.

Les délais d'attente sont différents d'un produit à l'autre et selon les situations. Il faut respecter scrupuleusement les prescriptions: dose, voie d'administration, durée du traitement. Tout changement d'un de ces paramètres risque de modifier l'élimination du produit (ordonnance du vétérinaire et notice du produit) (CNIEL, 2002).

Donc, pendant toute la durée du traitement et du délai d'attente, il faut rejeter le lait produit par la vache traitée, la tenue de registres clairs et l'identification adéquate des vaches permettent d'éviter les erreurs lors de la traite (LAMONTAGNE et al, 2002).

La prescription, l'administration et l'acquisition de médicaments vétérinaires relève de la responsabilité du vétérinaire. L'éleveur doit respecter strictement les conditions d'utilisation renseignées sur la notice en matière de dosage et de délais d'attente. Le délai d'attente est le laps de temps entre la dernière administration du médicament et la traite des vaches dans le but de livrer le lait à la laiterie. Le respect du délai d'attente est nécessaire pour assurer que la teneur en résidus dans le lait soit inférieure à la valeur de LMR légale (RYCKAERT, 2003).

III.4. Non-respect des protocoles de traitement au tarissement:

Malgré la communication importante qui a eu lieu sur le sujet, les résultats du NOVI montrent que des problèmes d'inhibiteurs sont encore liés au non-respect de la période colostrale (ROUSSEL et al, 2006).

Un accident inhibiteur sur cinq est lié à une inattention sur une vache traitée au tarissement. Il est indispensable d'isoler les vaches tariées (qui sont donc bien identifiées) pour ne pas les traire par erreur (CNIEL, 2002).

Les vaches tariées qui ont été traitées contre le tarissement vèlent avant le délai d'attente indiqué sur l'étiquette-depistage (TEN HEG, 2007).

Les produits intra mammaires de tarissement sont des médicaments à part entière. De plus, ils ont une longue durée de vie dans la mamelle. Le respect des délais d'attente pour ces produits est particulièrement important. Normalement, le respect de la période colostrale réglementaire assure le délai d'attente nécessaire pour ces produits.

La période de retrait du lait après le vêlage (en fait du colostrum) obligatoire est de 7 jours complets. Tout éleveur qui ne respecte pas ce délai légal s'expose à livrer du lait contenant des résidus d'inhibiteurs (CNIEL, 2002).

En cas de raccourcissement de la période sèche (mauvais enregistrement des dates d'insémination, vêlage prématuré), les éleveurs n'allongent pas la période de retrait du colostrum tandis que celle-ci doit normalement être portée à 14 jours (ROUSSEL et al, 2006).

D'après l'enquête réalisée par FABRE et al (1996), dans 625 élevages pénalisés répartis dans les principaux bassins laitiers français, le traitement au tarissement était incriminé dans 24% des cas ; ces chiffres concordent avec ceux d'autres auteurs: 19% (LE POUTRE ET PETIT, 2000) et 24% (VERHNES et VANDAELE, 2002).

III.5. Non-respect des modalités d'utilisation des traitements (hors AMM):

L'usage anormal et hors AMM des médicaments, comme l'administration par voie intramammaire de suspensions destinées à la voie intramusculaire (IM) pour traiter des mammites en lactation (5% des éleveurs d'après FORM (2003)), est également recensé.

Chaque spécialité vétérinaire est définie pour un usage et des conditions d'utilisation très précis : espèce ciblée, voie d'administration, dose, durée de traitement. Certains éleveurs (9 % des cas de l'étude) utilisent en intramammaire des antibiotiques prévus pour la voie intramusculaire (ROUSSEL et al, 2006).

Cette pratique présente plusieurs inconvénients majeurs :

- Le risque d'inhibiteurs : les délais d'attente sont prévus pour la voie intramusculaire et sont totalement inconnus pour une utilisation intramammaire. La voie mammaire entraîne des durées d'excrétion beaucoup plus longues que la voie intramusculaire pour un même produit et la concentration de ce dernier dans le lait est plus importante.
- L'inefficacité : les produits prévus pour la voie intramusculaire ne sont pas adaptés à une diffusion dans la mamelle.

- Le risque de surinfection : pour administrer ces traitements l'éleveur doit utiliser des sondes intra-mammaires qui ne sont pas toujours bien désinfectées.
- Plusieurs problèmes d'inhibiteurs ont été liés à l'utilisation en cours de lactation de produits de tarissement. Ce problème recouvre différentes situations :
 - L'erreur de l'éleveur : celui-ci a confondu un produit de traitement des mammites en lactation et un produit de traitement au tarissement.
 - Le traitement volontaire d'une mammite chronique par un traitement prévu pour le tarissement. Cette pratique consiste à utiliser un produit ayant une très longue durée d'action (ROUSSEL et al, 2006).

La mauvaise connaissance des règles d'utilisation des produits intra-mammaires et des antibiotiques en général, voire, parfois, le non-respect de ces règles en toute connaissance de cause, constitue le risque de présence d'inhibiteurs dans le lait le plus direct et peut-être le plus dangereux. Le nombre d'élevages ne possédant pas ou peu d'ordonnances (39% des cas d'après FORM (2003)) laisse supposer beaucoup d'automédication.

Les produits utilisés par voie générale, voire des pommades, peuvent aussi passer dans le lait. Pour tous les médicaments, il convient de respecter les posologies et les délais d'attente pour livrer le lait (CNIEL, 2002).

III.6. Lait résiduel à l'origine d'une contamination:

Les données disponibles montrent que dans près d'un cas sur six, la cause d'un problème d'inhibition, identifiée par le technicien, est la présence de lait résiduel dans la griffe ou d'utilisation de pot trayeur inadapté (ROUSSEL et al, 2006).

La contamination peut se faire suite à une mauvaise vidange et à une absence de rinçage de la griffe qui vient de traire une vache sous délais d'attente (une cuillère à soupe de lait d'une vache traitée à la pénicilline peut contaminer un tank) (LE POUTRE et PETIT, 2000).

Malgré une bonne utilisation des médicaments et un respect des délais, la pollution du tank par le lait résiduel dans la griffe (8% des cas selon NOVI, FORM (2003)) semble une possibilité souvent négligée par les éleveurs (FABRE et al, 1996).

Le principe de traire en dernier les animaux sous délai d'attente est rarement appliqué (FORM, 2003).

Quand les bidons sont trop petits, le lait des vaches traitées passe parfois dans le tank. Surtout si deux vaches atteintes de mammites sont traitées sur le même bidon (CNIEL, 2002).

L'emploi de certains bidons de dérivation trop petits est également invoqué (7% des cas selon NOVI) (FORM, 2003).

Une contenance de 20L paraît trop juste pour les vaches hautes productrices, le lait ainsi dévié risque de déborder en fin de traite, provoquant alors un reflux de lait, via la griffe, vers les canalisations principales et le tank (FORM, 2003).

CHAPITRE IV: LES RISQUES LIÉS À LA PRESENCE DES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES DANS LE LAIT

IV.1. INTRODUCTION:

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

Selon ECCKMOTTE (1978), l'aspect hygiénique du lait en tant que denrée alimentaire d'origine animale (D. A .O .A), en rapport avec l'antibiothérapie des mammites, relève de la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait à l'origine de :

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

IV.2. Les risques pour la santé du consommateur:

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

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

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

IV.2.1. Les limites maximales résiduelles :

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

IV.2.2. Le temps d'attente :

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

Le respect du temps d'attente doit permettre de commercialiser dans la majorité des cas des denrées qui présentent des concentrations en résidus inférieures ou très proche de la limite maximale de résidus, garantissant ainsi la protection de la santé du consommateur.

Il est établi en fonction de la posologie et de la voie d'administration de l'antibiotique. Toute modification de la posologie ou de la voie d'administration modifiera le délai d'attente du produit (LAMONTAGNE et al, 2002).

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

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

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

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

IV.2.3. Le risque toxicologique :

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

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

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

Les risques toxiques dans ce cas résultent de l'absorption répétée de résidus d'antibiotiques retrouvés dans les aliments et de leur accumulation dans l'organisme humain, c'est pourquoi, la dose ingérée et la nature de l'antibiotique administré jouent un rôle très important. Les manifestations de cette toxicité dépendent de la dose administrée et de la voie d'administration. Ce risque est inexistant en ce qui concerne les résidus d'antibiotiques dans le lait car les quantités retrouvées dans le lait sont toujours trop faibles (LABIE, 1981; GAUDIN, 1999).

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

C'est la raison de l'interdiction du chloramphénicol chez les animaux de rente dont les productions sont destinées à la consommation humaine car les LMR n'ont pas pu être fixées (LABIE, 1981; PUYT, 2002).

Alors que les quinolones, à de fortes doses, présentent une possibilité de l'érosion du cartilage (LABIE, 1981).

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

IV.2.4. Le risque allergique :

Les résidus d'antibiotiques présents dans le lait ne peuvent intervenir qu'en tant qu'éléments déclenchants, compte tenu des faibles quantités incriminées et également du fait que la voie digestive est nettement moins allergisante qu'un contact cutané ou respiratoire (FORM, 2003).

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

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

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

Par ailleurs, les services de santé publique se sont inquiétés de la présence d'antibiotiques dans le lait et les produits laitiers. En particulier, l'observation de graves allergies chez l'homme à la suite de l'administration de pénicilline a fait soupçonner que la présence de pénicilline dans les approvisionnements laitiers pourrait intervenir dans la sensibilisation de la population humaine et déclencher des symptômes de choc allergiques chez des sujets sensibilisés (JEPSON, 1950).

IV.2.5. Le risque bactériologique :

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

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

IV.2.5.1. Sélection de souches bactériennes résistantes:

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

IV.2.5.2. Modification de la microflore intestinale :

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

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

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

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

Ce type de risque ne serait important que pour des doses thérapeutiques et non pour des doses résiduelles qui nous intéressent ici. Il faut d'autre part noter que le tube digestif de l'homme lui-même contribue à rendre ce risque plus au moins important pour différentes raisons:

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

IV.3. Les risques technologiques:

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

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

L'industrie laitière se heurta à des difficultés techniques, surtout dans la fabrication des fromages affinés à pâte dure. Ces difficultés provenaient de l'action inhibitrice des antibiotiques sur le développement normal des levains utilisés en fromagerie. Les bactéries lactiques des levains (*streptococcus cremoris*, *str diacelactis* et *leuconostoc citrovorum*) sont inhibées par divers antibiotiques à faible concentration (ABDUSSALM et al, 1966).

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

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

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

Donc du point de vue de la technologie laitière, les fabrications les plus sensibles sont celles dans lesquelles interviennent les ferments lactiques et les germes d'aromatisation (yaourts,

fromages à caillage acide et à caillage acide présure, crèmes acidifiées, beurres) facilement inhibés par des doses faibles d'antibiotiques (voir Tableau n° IV).

Tableau n° IV: Sensibilité aux antibiotiques (CMI) de germes intervenant dans la fabrication des produits laitiers (LABIE, 1981).

Germe	Pénicilline UI/ml	Streptomycine g/ml	Chloramphenicol g/ml	Chlor-oxy- tétracycline g/ml
<i>Str. Thermophilus</i>	0,0017 à 0,017	0,5 - 5	0,05 - 0,1	0,001 - 0,01
<i>Str. Cremoris</i>	0,05 - 0,1	-	-	-
<i>Lact. Bulgaricus</i>	0,3 - 0,6	-	0,3 - 5,0	0,3 - 0,5
<i>Levains beurrerie</i>	0,017 - 0,17	0,1- 0,2	0,1 - 0,2	0,01 - 0,1
<i>Levains fromagerie</i>	0,05 - 0,2	0,04	0,04	0,02 - 0,25
<i>Bac. Stearothermophilus Var. Calidolactis.</i>	0,001 à 0,008	0,6 - 1	1	0,6 - 1

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

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

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

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

V.1. Importance de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait:

La découverte des premiers antibiotiques a été rapidement suivie de leur utilisation en médecine humaine, puis vétérinaire. Il est très vite apparu que des substances utilisées pour lutter contre des bactéries pathogènes passaient dans le lait et inhibaient le développement des ferments lactique (FABRE et al, 2002).

V.2. Méthodes de détection des résidus d'antibiotiques:

Depuis 1945, on a développé un peu partout dans le monde un nombre impressionnant de méthodes pour la détection des antibiotiques dans le lait (LAMONTAGNE et al, 2002).

Les différentes méthodes de détection des résidus d'antibiotiques sont détaillées comme suit:

V.2.1. Méthodes microbiologiques :

La détection des inhibiteurs de croissance bactérienne est effectuée grâce à une technique microbiologique qui révèle sur des microplaques de baisse du pH du lait, grâce à la fermentation lactique. Plusieurs milliers de prélèvement peuvent ainsi être analysé en une seule journée (VERHNES et VANDAELE, 2002).

Cinquante ans après leur mise au point, les tests microbiologiques restent le plus souvent utilisés pour les contrôles interprofessionnels (FABRE et al, 2002).

V.2.1.1. Méthode officielle :

La première méthode officielle utilisée par les laboratoires inter professionnels jusqu'en décembre 2001, a été définie en 1983. Cette méthode officielle est efficace et sensible, mais néant moins assez difficile à reproduire dans des conditions normales de laboratoire d'un cabinet vétérinaire ou d'une laiterie, elle se réalise en deux étapes (VERHNES et VANDAELE, 2002).

V.2.1.1.1. Phase de dépistage :

Jusqu'au 1^{er} janvier 2002, la recherche des inhibiteurs dans le lait était fondé sur la réalisation d'un test de dépistage de masse, fondé sur l'inhibition en tube d'une souche de *streptococcus thermophilus* qui a été remplacé pour le dépistage par une souche de *streptococcus stearothermophilus* (Delvotest MCS pour le lait de vache et test éclipse pour le lait de chèvre et de brebis) (FABRE et al, 2002).

Le test est déclaré positif quand il n'y a pas d'acidification de l'échantillon. (D'où l'absence de coagulation et absence de virage de l'indicateur coloré) Ce test a pour but de détecter un maximum de substance à un seuil proche, voir inférieur, à leur LMR. Il permet d'analyser d'un grand nombre d'échantillon et de s'en soumettre qu'une fraction à l'épreuve de confirmation (BROUILLET, 2002).

Les laboratoires interprofessionnels ont ainsi adapté Delvotest MCS en dépistage, qui utilise *Bacillus stearothermophilus*. Les échantillons douteux et positifs sont ensuite confirmés par la méthode officielle française (étape de confirmation). Cette nouvelle méthode possède une plus grande sensibilité et un spectre plus large que la méthode officielle.

V.2.1.1.2. Phase de confirmation :

Les échantillons positifs ou douteux à l'épreuve d'acidification sont soumis à une série de trois tests de confirmation fondés. L'inhibition de croissance à proximité de disques imbibés de lait déposés sur des boîtes de pétri, de trois bacillus : *B. stearo thermophilus*, *B. subtilis* et *B. megaterium* (CNERNA, 1981; ANONYME, 1983).

La souche *Bacillus stearothermophilus* permet de détecter plus particulièrement les pénicillines et les tétracyclines. La souche *Bacillus subtilis* détecte préférentiellement les aminosides et les macrolides, tandis que la souche *Bacillus megaterium* détecte plus particulièrement certains sulfamides et antibiotiques dont le chloramphénicol (GAUDIN 1999; GUERIN, 2003).

Pour être considéré comme « pénalisable » le lait d'un producteur devait être positif au test de dépistage et à moins l'un des trois tests de confirmation.

Le test de confirmation à l'aide de *Bacillus megaterium* a été supprimé depuis le 1^{er} janvier 2002 (FABRE et al, 2002).

V.2.1.2. Méthode rapide :

Elle repose sur le même principe que le Delvotest MCS utilisé dans la méthode officielle.

V.2.1.2.1. Le Delvotest :

Il s'agit d'un test de diffusion standard mesurant l'inhibition de la croissance d'un microorganisme *Bacillus stearothermophilus*, variété *Calidolactis* sur milieu solide (JAMES et CULLOR, 1992).

Très utilisé par les laiteries, ce test n'est pas spécifique et offre un large spectre de détection (la plus part des antibiotiques) et une bonne sensibilité vis-à-vis de la pénicilline qui représentent le plus grand risque technologique. Il a actuellement une sensibilité beaucoup plus en rapport avec la nouvelle méthode officielle sur la plupart des antibiotiques.

Il suffit d'ajouter à une ampoule un comprimé de milieu nutritif et 0,1 ml du lait à tester, puis de maintenir dans un incubateur à 64 °C, pendant 2h30, pour reproduire les effets de la dilution et éviter les faux positifs sur lait individuels, le vétérinaire doit prendre soin de relever l'échantillon à tester dans un mélange du lait de vache suspecte (4 à 5 vaches). Le temps et la température d'incubation doivent aussi être respectés. Une lecture du test trop tardive peut aboutir à des faux négatifs (BROUILLE, 2002).

V.2.1.2.2. Copan test :

C'est le test le plus récent, très proche du Delvotest, il utilise aussi *Bacillus stearothermophilus var. calidodactis*, nécessite la même durée et la même température d'incubation, le même réactif coloré, il est prêt à l'emploi. Son milieu gélosé comme le Delvotest MCS, tous les ingrédients pour la réaction. Il se présente sous forme de tubes

unitaires adaptés aux analyses individuelles ou de microplaques pour les analyses collectives (BROUILLET, 2002).

V.2.1.2.3. Le valio :

Le valio 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 (BROUILLET, 2002).

V.2.2. Les tests enzymatiques :

V.2.2.1. Le penzym :

Il s'agit d'un test enzymatique et colorimétrique de recherche rapide de résidus d'antibiotiques de la famille des Bêtalactames (SUHREN, 1996).

Ce test colorimétrique, appelé penzyme, repose sur la capacité des B-lactames d'inhiber une enzyme, la DD-carboxypeptidase responsable de la libération de la D-alanine à partir de l'Acetyl 2-L-Lys-D-Ala. En absence d'antibiotiques la D-alanine est oxydée par la D-amino-oxydase et libère du peroxyde d'oxygène qui en présence d'un indicateur coloré génère une coloration rose. En présence d'antibiotiques, cette réaction colorimétrique est imbibé et le lait demeure blanc Il s'agit d'un test très rapide qui permet de détecter aussi peu que 0,0017 UI de B-lactames en 20 minutes seulement (LAMONTAGNE et al, 2002).

C'est un test très utilisé en premier « screening » par de nombreuses laiteries (BROUILLET, 2002).

V.2.3 Méthodes immuno-enzymatiques :

V.2.3.1. Le Delvo-x-press :

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

Le kit est fourni avec l'ensemble des réactifs nécessaires à la réalisation du test (BROUILLET, 2002).

Il consiste à faire réagir une quantité déterminée de lait avec une quantité précise d'une solution appelée tracer qui a pour fonction de complexer les bêtalactamines. Après un temps de contact suffisant, le mélange est versé dans un tube contenant un enduit qui réagira avec l'excédent de traceur libre. Le complexe bêtalactame/traceur sera éliminé par des lavages successifs. Un révélateur de couleur est alors ajouté afin de détecter le traceur lié à la paroi du tube. L'intensité de la couleur dans le tube est inversement proportionnelle à la concentration de bêtalactamines dans le lait testé. La même procédure est appliquée à un tube standard. La présence ou l'absence de résidus de bêtalactame dans le lait à tester est déterminée en comparant la couleur du tube test à celle du tube standard à l'aide d'un lecteur de densité optique (LARPENT, 1997).

V.2.3.2. 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 bêtalactamines, s'ils sont présents, se lient au récepteur. Pendant la seconde étape d'incubation, le lait migre sur un support immuno-chromatographique (membrane fixée à une bandelette) qui comporte deux bandes de capture. La première bande retient tous les récepteurs qui n'ont pas lié d'antibiotique pendant la première étape, faisant apparaître une coloration rouge intense qui traduit une absence de résidus. En cas de présence de Bêta-lactamine en excès, les complexes récepteurs-antibiotiques formés ne peuvent pas se lier et aucune coloration n'apparaît. La deuxième bande basée sur la fixation d'un anticorps, sert de référence et fait apparaître dans tous les essais une coloration rouge d'égale intensité (GAUDIN et AFSSA, 2005).

V.2.3.3. Le snap test (snap bêtalactamines et le snap tétracycline):

Ils utilisent une méthode immuno-enzymatique, des récepteurs peuvent se lier soit à l'antibiotique contenu dans le lait testé soit aux antibiotiques (Bêtalactamines ou Tétracycline) fixés à la surface du test: Ce sont deux tests rapides, tout à fait adaptés aux analyses individuelles, qui peuvent cependant être beaucoup plus sensibles que le seuil de LMR pour certains antibiotiques (céphalosporine, Tétracycline) (BROUILLET, 2002).

V.2.3.4. MRL tests:

Ce sont des tests rapides permettant de détecter, aux seuils LMR les bêtalactamines ou les tétracyclines après une incubation de 8 mn à 55°C. Ils utilisent le principe de l'immuno-chromatographie sur bandelette qui contient des anticorps et un colorant marqué. Tout à fait adapté à une analyse individuelle, la lecture est très simple et peut être faite sur un lecteur mémorisant (BROUILLET, 2002).

V.2.3.5. Le système charm II:

La compagnie Charm a également développé un test radio-immunologique (RIA) compétitif, utilisant des anticorps spécifiques aux récepteurs des antibiotiques. Ce test extrêmement rapide (10 minutes) permet de détecter de très faibles concentrations d'antibiotiques. Bien que très fiable, ce test demeure spécifique à une seule famille d'antibiotiques. Plus encore, et à cause de l'utilisation d'isotopes radioactifs, il faut faire intervenir du personnel spécialisé. (LAMONTAGNE et al, 2002).

C'est un test de compétition mesuré par radioactivité qui permet une identification précise et un dosage qui peut être calé sur les seuils de LMR. Il nécessite un investissement important mais permet d'identifier l'inhibiteur présent (BROUILLET, 2002).

V.2.3.6. TwinSensor :

TwinSensor BT est un nouveau test récepteur immuno-chromatographique dans un format de bandelette multi-détection d'antibiotiques en une seule opération. Il s'agit d'un dosage des récepteurs permettant la détection simultanée et qualitative de tous les Bêta-lactamines et les

Tétracyclines dans le lait. Ce nouveau test est facile à utiliser, fiable et ne prend que 6 minutes pour obtenir le résultat.

Il détecte la plupart des médicaments au-dessous de la LMR et peut être utilisé *in situ* pour le contrôle quotidien ou dans des laboratoires d'analyse des échantillons de lait (ANONYME, 2007).

V.2.4. Méthodes physico-chimiques :

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour détecter les inhibiteurs et plus particulièrement les antibiotiques : la méthode électrophorétique, la chromatographie, la spectrophotométrie et la spectroscopie de masse (BILLON et SENG HUOR, 1979).

Tous ces tests ont été conçus pour le contrôle de la conformité des laits à la collecte. Leur sensibilité est donc adaptée à des laits de mélange (au moins 5 à 6 vaches).

Les éventuelles modifications physico-chimiques des laits individuelles, surtout liées à l'infection mammaire (présence anormale d'inhibiteurs naturels, modification de pH, de composition chimique), peut entraîner des variations de sensibilité, surtout sur les tests d'inhibition, mais aussi sur les réactions enzymatiques (BROUILLET, 2002).

PARTIE
EXPERIMENTALE

PARTIE I

RECHERCHE DES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES DANS LE LAIT CRU PAR LE DELVOTEST SP

La première partie de notre étude expérimentale a pour objectif de rechercher des résidus d'antibiotiques dans le lait cru récolter des élevages et destiné à la transformation laitière.

I.1. Période et lieu de l'étude :

Nous avons réalisé cette étude au laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences Agro-vétérinaires et biologique de Blida, durant la période s'étalant du 15 janvier au 30 avril 2008 et a porté sur lait cru prélevés à partir des élevages agréés par les services vétérinaires, alimentant le circuit de collecte conventionnés avec les différentes laiteries de la région de Blida.

I.2. Origine des échantillons:

90 échantillons de lait appartenant aux élevages de bovins laitiers, provenant de 14 localités de la wilaya de Blida et localisés dans les régions de Blida, Soumaa, Zaouia, Maramene, Ouled Selama, Bahli, Beni-Mered, Guerouaoue, Cheffa, Bouinane, Ouled Yaiche, Ouled el Alleug, Beni-Tamou, Boufarik ont donc été prélevés.

Le choix des élevages est basé sur la facilité d'accès, la disponibilité et surtout l'esprit coopératif des éleveurs.

Le nombre d'élevages prélevés par localité est rapporté dans le tableau n° V.

Tableau n°V: Nombre de prélèvement par localité

Localités	Nombres de prélèvements	%
Boufarik	17	18,88
Chiffa	15	16,67
Blida	09	10
Guerouaoue	08	8,89
Soumaa	06	6,67
Maremane	06	6,67
Chebli	06	6,67
Ouled Yaich	05	5,55
Bouinane	05	5,55
Mouzaia	05	5,55
Beni-Mered	02	2,22
Zaouia	02	2,22
O E Alleug	02	2,22
Ould Selama	01	1,11
Beni-Tamou	01	1,11

I.3. Les prélèvements de lait:

Les prélèvements de laits crus ont été effectués avec la collaboration des vétérinaires praticiens et par certains vétérinaires collecteurs, à partir des cuves de réfrigérations, contenant la traite de la veille et celle du matin. Ce lait devrait contenir le lait de toutes les vaches en lactation.

Les laits prélevés sont recueillis dans des flacons en plastiques stériles et identifiés (portant la date du prélèvement et la région), d'une capacité de 60 ml, puis sont stockés et acheminés dans une glacière à +4°C vers le laboratoire pour y être immédiatement analysés par le Devotest SP le jour même.

I.4. Matériel :

Le matériel de collecte et l'appareillage du laboratoire sont rapportés en annexe (Annexe n° 01).

- Le kit d'analyse, Devotest 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 stearothermophilus var. calidolactis*) et enrichis en éléments nutritifs de croissance. Les ampoules sont recouvertes d'une feuille d'aluminium.
 - Une seringue calibrée pour le prélèvement de 100µl.
 - 100 Embouts jetables pour le prélèvement des échantillons de laits, fournie avec le kit.

La figure n° 02 illustre le kit du Delvotest SP

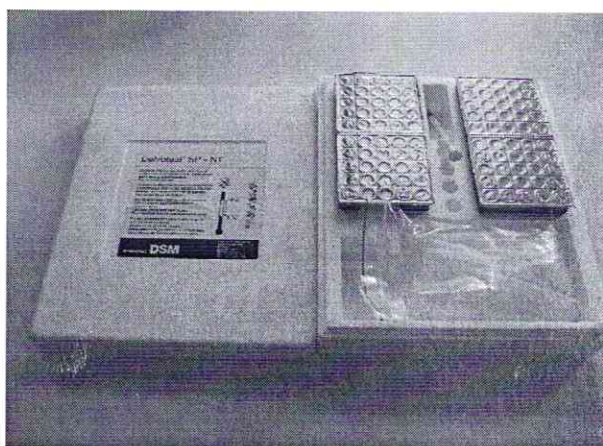


Figure n°02: Kit du Delvotest SP

I.5. Méthode :

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

- Chauffer préalablement les laits crus à analyser pendant 10 mn à 80°C afin d'éliminer tous les inhibiteurs naturels.

- Laver et sécher soigneusement les mains avant de manipuler le kit.
- Séparer le nombre d'ampoules nécessaires à l'aide d'un ciseau, en faisant très attention à la feuille d'aluminium des ampoules adjacentes, ne pas arracher les ampoules (Figure n°03).

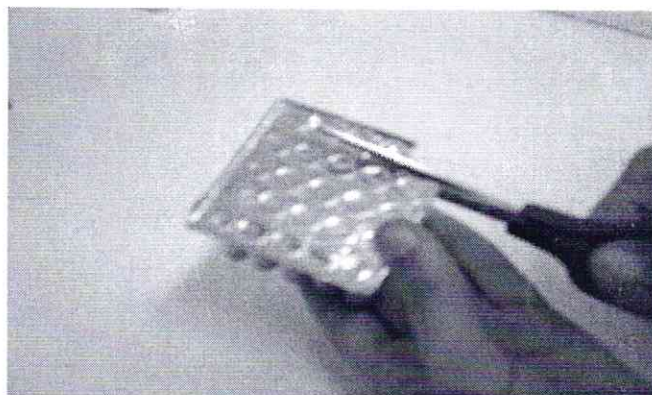


Figure n°03: Détachement des ampoules

- Ouvrir les ampoules en perçant un trou dans la feuille d'aluminium, avec la pointe de la seringue sans embout (Figure n°04). Ne pas manipuler les ampoules de façon brusque, car le milieu gélosé risque d'être décollé. Cela peut affecter la qualité de coloration du test lors de la lecture des résultats.

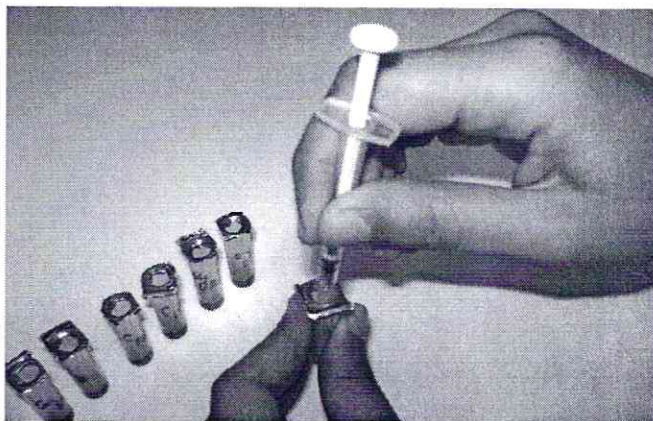


Figure n°04: Ouverture de la feuille d'aluminium

- Placer un embout jetable sur la seringue pour chaque échantillon de lait à tester.
- Prélever 100 μ l de l'échantillon du lait après l'avoir homogénéiser à l'aide de la seringue à embout jetable, plonger d'environ 1cm dans le lait (Figure n°05).

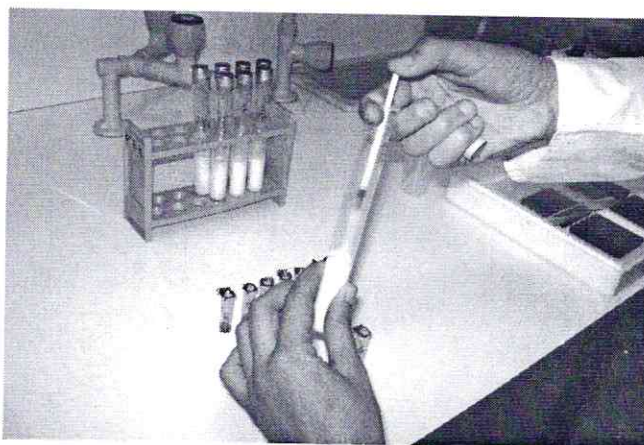


Figure n°05: Prélèvement du lait

- Verser ensuite la totalité de l'échantillon de lait prélevé dans l'ampoule identifiée correspondante, pour cela pressé lentement et complètement le piston pour ajouter le lait à la surface de l'agar (Figure n°06).

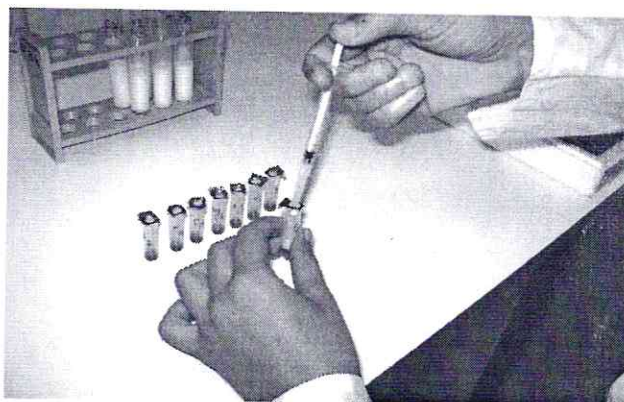


Figure n°06: Dépôt du lait dans l'ampoule

- Couvrir les ampoules avec le parafilm
- Placer les ampoules dans un bain-marie préchauffé à $64^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ pendant 2h 45 mn (Figure n°07). Des températures d'incubations trop faibles ou trop élevées, ainsi que des fluctuations excessives de températures affecteront la durée du test et sa sensibilité.



Figure n°07: Incubation des ampoules

- La lecture doit se faire dans les 2/3 inférieurs de l'agar.
 - Une coloration jaune indique l'absence de substance antibactérienne à une concentration égale ou supérieure au seuil de détection du test.
 - Une coloration jaune/violette indique la présence de substance antibactérienne à une concentration égale ou inférieure au seuil de détection.
 - Une coloration violette indique la présence de substance inhibitrice dans l'échantillon de lait analysé à une concentration égale ou supérieure au seuil de détection.

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

Remarque :

- Un échantillon de lait exempt d'antibiotiques et un échantillon standard de pénicilline (4µg/l ou 4 ppb) sont systématiquement analysés en parallèle pour vérifier le bon déroulement du test.
- Tous les échantillons contaminés sont par la suite congelés pour effectuer la 2^{ème} partie.

I.6. Résultats :

Les laits analysés proviennent des élevages de différentes localités de la wilaya de Blida, regroupés selon les régions agricoles par la DSA de Blida.

I.5.2. Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans les laits d'élevages de la wilaya de Blida :

Les résultats détaillés de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru des élevages sont rapportés dans l'annexe n°03.

Les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans les 90 échantillons de laits crus par rapport aux différentes localités sont rapportés dans le tableau n° VI.

Tableau n° VI: Résultats en fonction des localités de la wilaya de Blida.

Localité	Nombre d'élevage	Positif (+)	%	Douteux (+/-)	%	Négatif (-)	%
Boufarik	17	01	05,8	01	05,88	15	88,44
Chiffa	15	00	00	00	00	15	100
Blida	09	00	00	00	00	09	100
Guerouaoue	08	01	12,5	00	00	07	87,5
Soumaa	06	01	16,66	00	00	05	83,34
Maremene	06	01	16,67	01	16,67	04	66,66
Chebli	06	00	00	02	33,33	04	66,67
Ouled Yaiche	05	00	00	00	00	05	100
Bouinane	05	01	20	00	00	04	80
Mouzaia	05	00	00	01	20	04	80
Beni-Mered	02	00	00	00	00	02	100
Zaouia	02	01	50	00	00	01	50
Oued el Alleug	02	00	00	00	00	02	100
Ould Selama	01	00	00	00	00	01	100
Beni-Tamou	01	00	00	00	00	01	100
Total	90	06	06,67	05	05,55	79	87,78

Les résultats montrent que :

- 79 laits (87,78%) des laits ne sont pas contaminés.
- 11 laits (12,22%) des laits analysés présentent une contamination par les résidus d'ATB dont :
 - 06 échantillons de lait sur 90 analysés, soit 06,67% ont répondu positivement au Devotest SP.
 - 05 échantillons, soit 05,55% sont considérés comme douteux,

La représentation graphique de ces résultats est illustrée dans la figure n° 08.

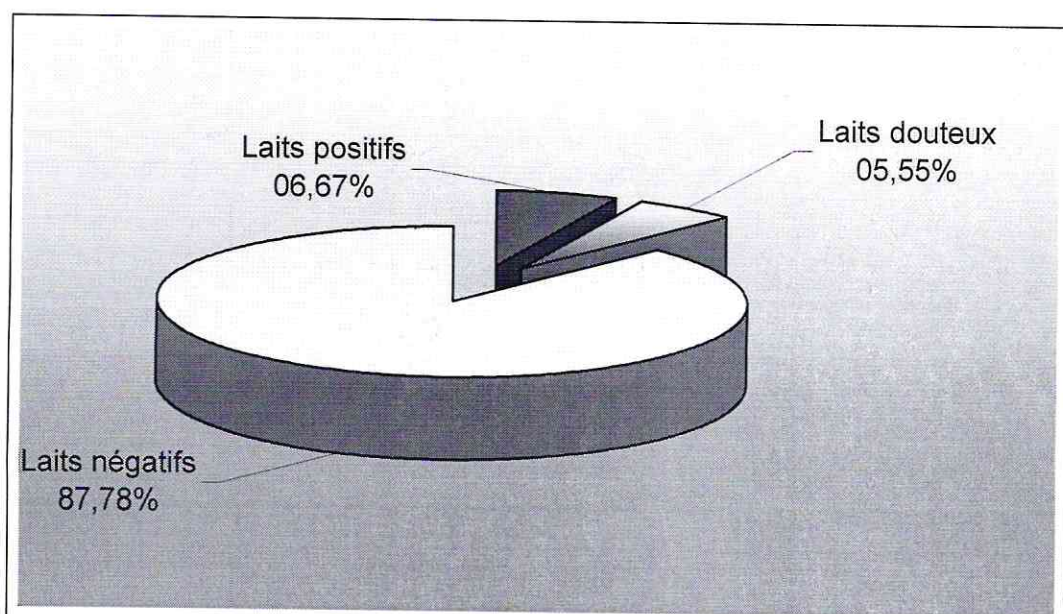


Figure n° 08: Pourcentage de la contamination du lait par les résidus des antibiotiques.

Les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru d'élevage selon les différentes localités de la wilaya de Blida montrent que:

- ❖ Un grand taux de positivité a été enregistré dans la localité de Zaouia (50%) qui n'a été représentée que par deux échantillons, suivie de la localité de Bouinane qui accuse un taux de positivité de 20% (Figure n° 09).

La figure ci-dessous illustre la répartition des résultats positifs en fonction des localités de la wilaya de Blida.

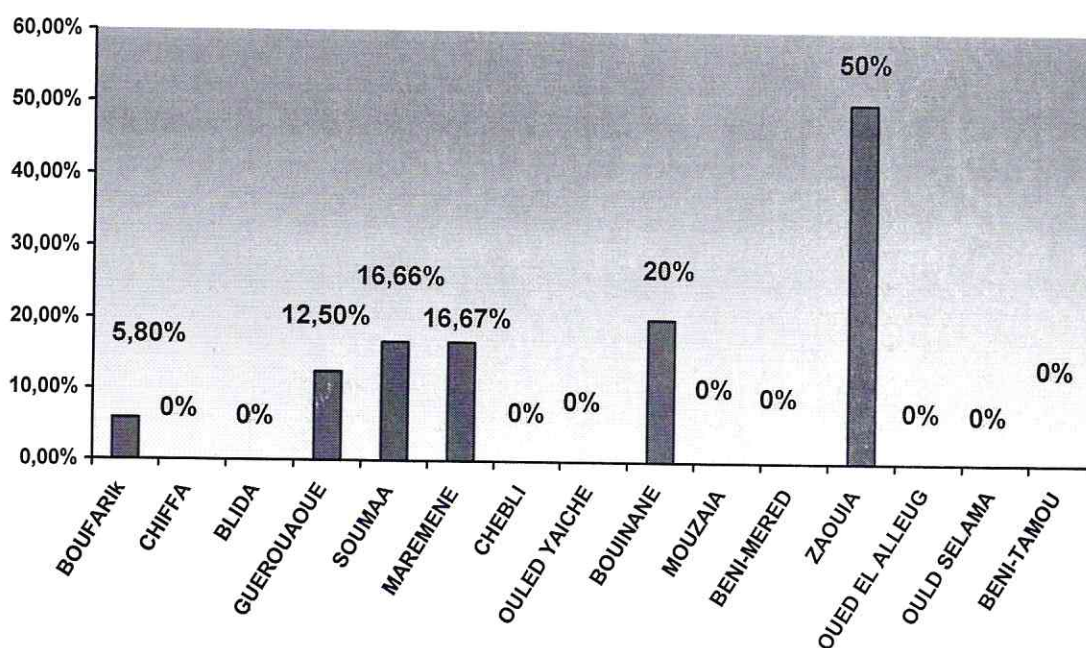


Figure n°09: Répartition des résultats positifs en fonction des localités de la wilaya de Blida.

- ❖ Le plus grand pourcentage des résultats douteux a été enregistré dans la localité de Chebli (33.33%) suivie par la localité de Mouzaia (20%), cependant la plus part des localités n'ont pas présenté de résultats douteux (figure n°10).

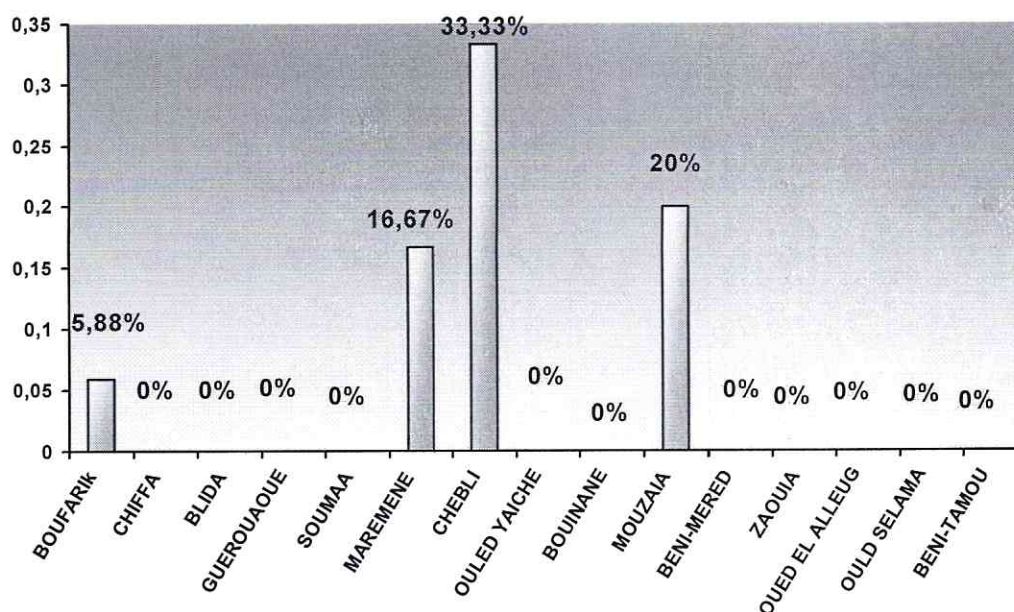


Figure n°10: Répartition des résultats douteux en fonction des localités de la wilaya de Blida. La figure ci-dessus illustre la répartition des résultats douteux en fonction des localités de la wilaya de Blida.

- ❖ Toutes les localités ont enregistré un taux élevé de résultats négatifs, variant de 50% à Zaouia et 100% dans la plupart des localités, dont certaines n'ont été représenté que par un ou deux échantillons (figure n°11).

La figure ci-dessous illustre la répartition des résultats négatifs en fonction des localités de la wilaya de Blida.

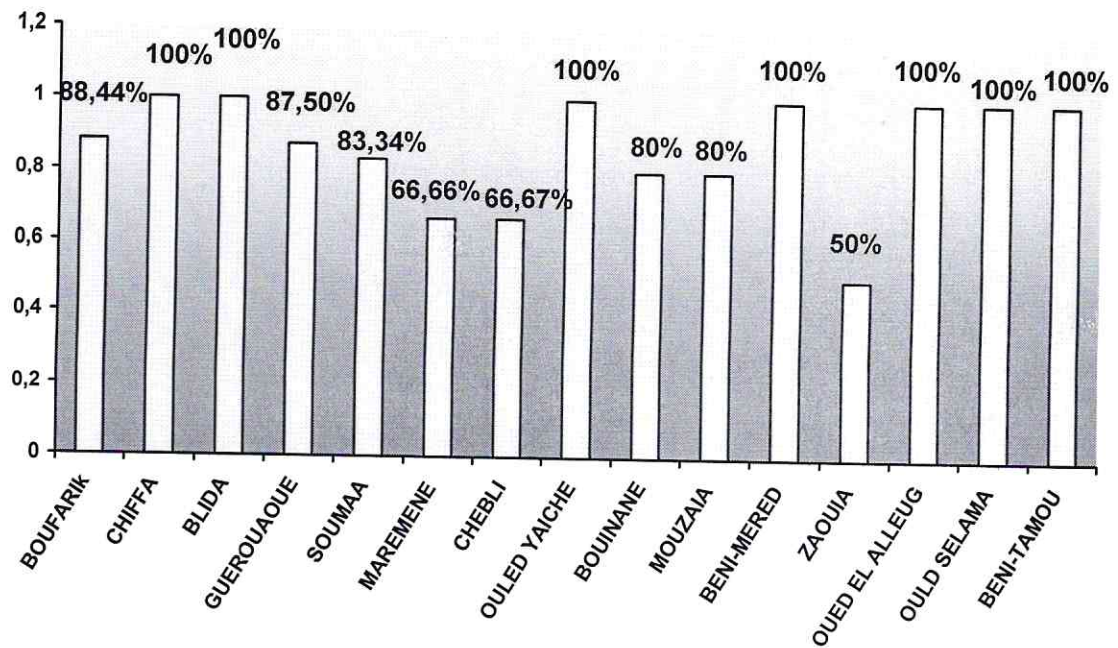


Figure n°11: Répartition des résultats négatifs en fonction des localités de la wilaya de Blida.

I.6.3. Répartition des résultats en fonction de la taille de l'élevage :

D'après une étude statistique (Annexe n° 02), les élevages à partir desquels nous avons prélevé nos échantillons ont été répartis en 02 classes :

- 1) Les élevages ayant un effectif de 01 à 08 vaches.
- 2) Les élevages ayant un effectif de 09 à 68 vaches.

La répartition des résultats obtenus en fonction de la taille de l'élevage est présentée dans le tableau suivant :

Tableau n°VII : Répartition des résultats selon la taille de l'élevage.

Classes de l'élevage	Laits contaminés (positif et douteux)	Laits non contaminés (négatif)	Total
1 à 8 vaches	6	23	29
9 à 68 vaches	5	56	61
Total	11	79	90

La comparaison statistique (Chi-carré de pearson) ou le test d'indépendance n'a pas donné lieu d'une relation entre le nombre de vaches et la présence ou l'absence des résidus d'antibiotiques dans le lait.

I.7. Discussion:

A l'issue de notre première partie expérimentale, basée sur la recherche des résidus d'antibiotique au moyen du Delvotest SP dans le lait cru d'élevage de la wilaya de Blida, nous avons obtenu les résultats suivants:

Les résultats de cette étude sont issus de 90 échantillons analysés au moyen du Delvotest SP pour la wilaya de Blida:

Ils montrent que :

- 11 échantillons sont contaminés par les résidus d'antibiotiques soit un taux de 12,22%, 06 échantillons sont positifs, soit 06,67% et 05 échantillons sont douteux soit un taux de 05,55 %.
- 79 échantillons sont négatifs, soit un taux de 87,78%.

La contamination du lait par les résidus d'antibiotiques est rapportée dans de nombreuses études mais par rapport à des seuils différents:

- Des travaux similaires réalisés sur 136 échantillons de lait par LEBRES et MOUFFOK en 1989 ont montré un taux de positivité de 25% en utilisant la méthode officielle, cette méthode fait intervenir la même souche *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* C 953.
- BADANI en 2004, rapporte un taux de positivité de 28,84% des laits d'élevages analysés.
- OUSSER en 2006, rapporte un taux de positivité de 06,66%, ces résultats semblent être identiques à nos résultats.
- OUZRUT en 2007, rapporte un taux de positivité de 24 % des laits d'élevages analysés.
- L'étude faite par ZINEDINE et al en 2007 en Maroc a montré une contamination de 42,87% des laits crus analysés par la méthode microbiologique.
- OUERTANI en 2003 en Tunisie rapporte un taux de positivité de 40% pour le lait de collecte dont l'analyse est réalisée au moyen du Delvotest SP.
- L'étude faite par SIOUSARRAN en 2003, en Niger, qui avez utilisés le test du yaourt à partir de 06 échantillons de lait prélevé sur le quai de livraison des laiteries a montré un taux de positivité de 67%.
- BONFOH en 2002 rapporte un taux de positivité de 16,7% à Mali.

- Quant à la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait, il y a plusieurs hypothèses considérées comme des causes primordiales qui sont expliqués comme suit:

La première cause de présence d'inhibiteurs dans le lait serait l'utilisation non adéquate des antibiotiques intra-mammaires. Selon l'enquête présentée par le NOVI, 41 % des origines des accidents d'inhibition sont dues à des traitements de mammites en lactation et 29 % au tarissement.

Le traitement antibiotique des mammites représente la principale cause de pollution du lait par des résidus d'antibiotiques. C'est l'administration d'antibiotiques par voie diathélique qui

théoriquement semble présenter le plus de risque. Ainsi, la quantité de lait potentiellement contaminée après une administration, à posologie standard, varie dans un rapport de un à vingt-cinq entre la voie intramusculaire et la voie intramammaire (SERIEYS et al, 1995; FABRE et al, 1996; FEDERICCI-MATHIEU, 2000; LEPOUTRE et PETIT, 2000).

L'enregistrement des traitements administrés fait souvent défauts, ces facteurs de risque sont amplifiés si plusieurs trayeurs sont impliqués. Une mauvaise transmission des consignes, en l'absence de registre des traitements, est à craindre, et ce d'autant plus que le nombre d'intervenants est grand (FORM, 2003).

La contamination par la peau des trayons suite aux opérations de lavage et de trempage des trayons, voire à des soins locaux (gerçures, crevasses).

Le non-respect des protocoles de traitement des produits administrés par voie intramammaire est fréquemment mis en cause, dans 38% des cas selon l'enquête de FABRE et al (1996).

Dans la plupart des cas, il s'agit du non-respect du délai d'attente souvent minoré, par ignorance ou volontairement pour écarter le moins de lait possible. Le non-respect des posologies (augmentation/diminution des doses et/ou rythme d'administration) est également invoqué traduisant, entre autres, un manque de sensibilisation au fait que toute modification des protocoles de traitement induit une modification des délais d'attentes.

L'enquête NOVI réalisée en 2002 montre clairement qu'un déficit de communication est la principale source des accidents rencontrés: dans 60% des élevages, des trayeurs différents interviennent en fonction des traites. Notamment durant les week-end (FORM, 2003)

Il est nécessaire de noter les traitements sur les vaches pour s'en souvenir et transmettre les consignes en cas de changement de trayeur. Il convient de garder également les ordonnances. La conservation de ces informations est indispensable à la bonne conduite du troupeau et correspond aux exigences de traçabilité.

D'autres origines peuvent être mises en cause:

- Du lait, traité avant le délai de 7 jours après vêlage, qui peut alors encore contenir des résidus d'antibiotiques résulte du traitement.
- Contamination volontaire: une pratique, aujourd'hui quasiment révolue, consistait à introduire frauduleusement des antibiotiques ou du peroxyde d'hydrogène dans le lait pour améliorer la qualité bactériologique.
- un taux élevé de laits négatifs, reflète soit un lait exempt de antibiotiques, ou bien il y a présence de résidus d'antibiotiques dans le lait mais ne sont pas détectés par le Delvotest car ils sont inférieurs à son seuil de détection. Le manque de sensibilité à certains antibiotiques du Delvotest SP présente le risque du « faux négatifs ».

Dans notre étude nous avons préchauffé les échantillons de laits au bain-marie à 80°C pendant 10 mn avant la réalisation du test afin d'éliminer les inhibiteurs naturels, celle-ci peut détruire certains antibiotiques réputés être sensibles à la chaleur, tels que la Néomycine, la kanamycine et le chlortétracycline à une proportion de 50% à 60% (BILLON, 1981).

Sachant que, notre étude a été réalisée au cours de la période s'étalant du 15 janvier au 30 avril, cette période n'est pas proche de celle correspondant au pic d'incidence des mammites,

ce qui pourrait être à l'origine d'une présence moins importante des résidus d'antibiotiques dans le lait.

La mauvaise conservation du prélèvement peut permettre la croissance d'une flore de contamination, qui pourra provoquer une acidification du lait ou une destruction de certains antibiotiques (la conservation d'un prélèvement une heure et demi à la température du laboratoire peut faire diminuer de 50% le taux de détection de la pénicilline dans un lait supplémenté avec 0,005 et 0,01UI de cette molécule) (BROUILLET, 1994).

Notre étude statistique (chi-carré de Pearson) ou test d'indépendance, n'a révélée aucune relation entre le nombre de vaches et la présence ou l'absence des résidus d'antibiotiques dans le lait.

Nous avons utilisé le Delvotest qui donne des résultats qualitatifs. Sa sensibilité à détecter les Bétalactamines (pénicillines, ampicillines, amoxicillines, oxacillines) est très élevée par rapport aux autres antibiotiques (LUDGER et al, 1999; BONHFOH et al, 2002). Cependant, pour une analyse quantitative, d'autres investigations sont nécessaires comme la chromatographie en phase liquide (HPLC) pour l'identification des inhibiteurs et la détermination de sa limite maximale résiduelle.

Beaucoup de pays ont promulgué des lois régissant l'utilisation des médicaments à usage vétérinaire et réglementant les résidus de ces médicaments dans les produits alimentaires. En général, ces lois ont le même objectif dans tous les pays, à savoir protéger la santé publique. Cependant, en Algérie leur recherche n'est pas systématique.

Pour toutes ces raisons, il faut avoir dans le domaine vétérinaire une législation régulièrement remise à jour pour garantir une alimentation humaine de qualité en imposant des règles rigoureuses.

I.8. Conclusion :

Les résultats obtenus par l'analyse avec le Delvotest SP des 90 échantillons de lait d'élevage dans les localités de la wilaya de Blida ont révèlés 11 échantillons contaminés représentés par un pourcentage de 12,22%.

Selon l'enquête de BOUAISSA et YAMNAINE (2007), l'utilisation abusive des antibiotiques pour le traitement et la prévention des infections mammaires peut constituer un risque potentiel pour le développement et l'émergence d'antibiorésistances, elle constitue le facteur de risque principal de la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait qui peut porter atteinte à la qualité hygiénique du lait.

Cette présence révèle la grande part de responsabilité des producteurs méconnaissant liées d'une erreur volontaire ou non, de la maîtrise du traitement antibiotiques et les délais d'attente qu'ils engendrent.

PARTIE II

LA RECHERCHE DES RESIDUS DE BETALACTAMINES ET DE TETRACYCLINES DANS LE LAIT CRU PAR LE TWINSENSOR BT

Suite au résultat obtenu par le Delvotest SP sur la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait d'élevage prélevés aux niveau de la wilaya de Blida et qui a révélé la contamination de 11 laits analysés, nous avons envisagé dans cette deuxième partie, d'identifier les deux principales familles d'antibiotiques considérer comme les plus utilisées en médecine vétérinaire, en particulier en élevage bovin laitier et qui ont des répercussions néfastes, tant sur la santé du consommateur que sur l'industrie laitière.

Pour répondre à notre deuxième objectif, nous avons opté pour la recherche des Bêtalactamines et des Tétracyclines dans les laits contaminés, par le TwinSensor TB.

I.1. lieu de l'étude :

Nous avons réalisé cette étude au laboratoire de control du centre de collecte à Tlemcen.

II.2. Echantillonnage :

La recherche des résidus de Bêtalactamine et de Tétracycline a été effectuée sur les 11 échantillons de laits crus contaminés, détectés par le Delvotest SP.

Les laits contaminés sont acheminés dans une glacière à + 4°C vers le laboratoire pour y être immédiatement analysés par le TwinSensor BT.

II.3. Matériel :

Le matériel utilisé est rapporté en annexe (Annexe n ° 01).

- le TwinSensor BT :

C'est un test qui permet de détecter la plupart des antibiotiques notamment les Bêta-actamines et les Tétracyclines au-dessous de la LMR (Limites Maximales de résidus), il peut être utilisé pour le contrôle quotidien dans la ferme, les centres de la collecte, les laiteries, les industries de transformation du lait et même des laboratoires d'analyses.

C'est un test immunologique basé sur des bandelettes dans un format permettant la détection rapide (en 6 min), simultanée des Bêta-lactamines et des Tétracyclines présents dans un échantillon de lait. Il est facile à lire en comparant l'intensité de la couleur des lignes.

Les limites de détection des résidus d'antibiotique sont illustrées dans le tableau suivant:

Tableau n° VIII: Les limites de détection des résidus d'antibiotique par le TwinSensor BT :

Antibiotiques	Twinsensor BT (ng/ml ou ppb)	MRL (ng/ml ou ppb)
Ampicilline	3 - 5	4
Amoxicilline	3 - 6	4
Benzylpenicilline	2 - 3	4
Cefazoline	20 - 25	50
Cefoperazone	2 - 3	50
Ceftiofure	10 - 15	100
Cephapirine	4 - 8	60
Cloxacilline	4 - 8	30
Nafcilline	40 - 50	30
Chlortétracycline	25 - 30	100
Doxycycline	10 - 20	100
Oxytétracycline	30 - 40	100
Tétracycline	40 - 50	100

La réalisation de ce test nécessite (Figure n° 13) :

- 12 coffrets de 8 micro-cuvettes réactives lyophilisées.
- 04 flacons de 24 bandelettes réactives.
- 01 plateau pour les micro-cuvettes.
- 01 micro pipette de 200 µl.
- 96 embouts jetables pour la micro pipettes.
- Standard Pénicillines G 04 ppb.
- Standard Oxytétracycline 100 ppb.
- Incubateur HeatSensor.

**Figure n°13 :** Matériels utilisés

II.4. Méthode :

La technique nécessite deux éléments :

- Le premier élément est un micro-réactif, contenant une certaine quantité de deux récepteurs et des anticorps liés à des particules d'or.
- le deuxième est une bandelette constituée d'un ensemble de membranes où il y a des lignes de capture.

Il existe 3 lignes de capture sur la bandelette. Deux lignes situées sur les deux côtés a droite et a gauche) et une ligne de contrôle central (Figure n° 14).

- La ligne de contrôle est faible et visible tout le temps. L'intensité de la couleur de la ligne de contrôle sert de seuil pour la comparaison des intensités de lignes d'essais.
- La ligne gauche du test est la ligne spécifique pour la pénicilline et la céphalosporine (Bêtalactamines).
- la ligne droite spécifique pour les Tétracyclines.

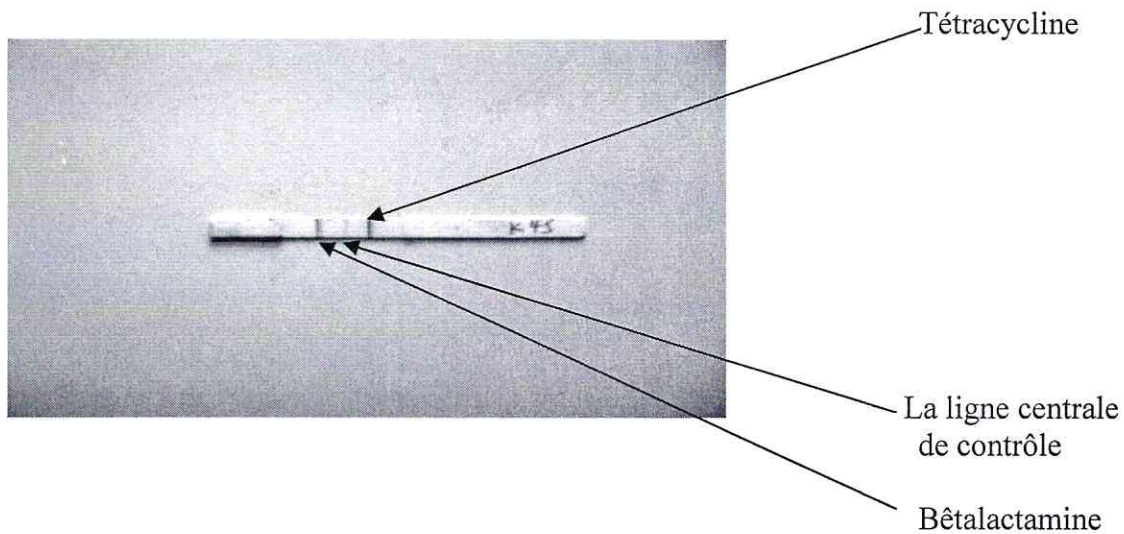


Figure n° 14: Bandelette réactif

a) la procédure :

- Choisir une paille propre et sec pour effectuer l'essai, laver et sécher les mains avant de commencer.
- Connecter l'incubateur (HeatSensor) et attendre jusqu'à ce que la température du bloc chauffant soit stabilisée à 50 °C +/-03 °C. Ce préchauffage prend environ 10 min.
- Avant l'ouverture du réactif, prendre la trousse à l'extérieure du réfrigérateur et attendre jusqu'à ce que la température des réactifs atteint la température ambiante.
- Déterminer le nombre d'échantillon de lait soumis à l'analyse (11) et d'écrire sur chaque flacon un numéro d'identification.

- Après décongélation, l'échantillon du lait doit être liquide et homogène. Il ne peut y'avoir ni de caillots ni de sédimentation. La température idéale de l'échantillon du lait se situe entre + 4 °C et + 20 °C.
- Ouvrir un coffret en plastique et prendre autant de micro-cuvettes que le nombre des échantillons de lait à tester et les mettre directement dans les trous du bloc chauffant qui est réglée à 50°C.

Pour ouvrir un flacon de bandelettes réactives, enlever la bague de sécurité en appuyant sur le bas du tube, ainsi que l'anneau et saisir le bouchon sur le tube avec le pousse. Bien fermés le flacon après chaque utilisation.

- Placer un embout stérile sur la micro pipette et transférer 200 µl. de lait dans chacune des micro-cuvettes (figure n°15).



Figure n°15 : Dépôt de lait dans les micropuits.

- Avec une micro pipette, mélanger le réactif et le lait en aspirant et en rejetant le liquide 05 fois consécutivement de manière à obtenir une solution homogène (Figure n° 16).



Figure n° 16: Homogénéisation avec le micro pipette.

- A chaque fois utiliser des échantillons témoins :
 - Un échantillon de lait exempt de substances inhibitrices représentant le témoin négatif.
 - Un échantillon standard de pénicilline (4 μ l/l ou 4 ppb) et un échantillon standard d'oxytétracycline (100 μ l/l ou 100 ppb) représentant les témoins positifs.

b) L'incubation :

- Première incubation :
Consiste à incuber les micro-puits avec le lait analysé pendant 03 min.

- Deuxième incubation :
Consiste à ajouter les bandelettes réactives dans les micro-cuvettes et incuber pendant 03 min (Figure n°17).



Figure n° 17 : Incubation des bandelettes.

c) La lecture :

Retirer la bandelette et faire la lecture visuelle en interprétant l'intensité de la couleur comme suit (Figure n°18) :

- Vérifier que la ligne centrale de contrôle est nette et complète, si elle n'apparaît pas dans ce cas le test n'est pas interprétable donc il faut refaire un nouvel essai.
- Lorsque la ligne centrale de contrôle est nette, les deux lignes d'essai sont examinées et comparées avec cette dernière.
- Lorsque la ligne test du bas (Bêtalactamine B) et du haut (Tétracycline T) sont plus visibles que la ligne centrale de contrôle, l'échantillon est considéré comme **négatif** c'est à dire ne contient pas ou présente une concentration inférieure au seuil de détection.
- Lorsque les lignes tests (B et T) sont aussi visibles que la ligne centrale de contrôle, l'échantillon est considéré comme **positif** et contient des antibiotiques à une concentration égale ou plus élevée au seuil de détection.
- Absence de ligne B et T indique un échantillon très positif.

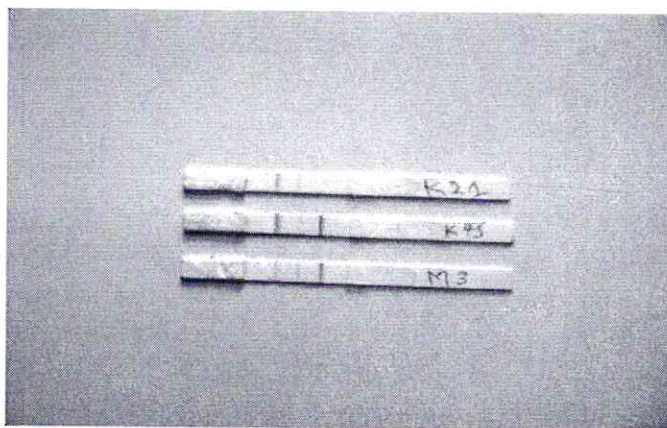


Figure n°18: Interprétation des résultats.

Remarque :

En cas où le test n'est pas bien interprété pour ce qui concerne l'échantillon positif, il faut confirmer par une seconde lecture après 04 minutes.

II.5. Résultats :**II.5.1. Résultats de la recherche des résidus des Bêtalactamines et des Tétracyclines confondus dans les laits crus d'élevages contaminés:**

Les résultats de la recherche des résidus des Bêtalactamines et des Tétracyclines, obtenus par le TwinSensor BT sur les 11 échantillons de laits d'élevages contaminés, sont rapportés dans le tableau ci-après.

Tableau n °IX : Résultats de la recherche des résidus des Tétracyclines et des Bêtalactamine confondus dans les laits crus contaminés.

Elevages contaminés par les résidus d'ATB	Résultats	
	Tétracyclines	Bêtalactamines
N° 08	+	-
N° 14	-	-
N° 45	-	+
N° 50	-	-
N° 56	-	-
N° 59	-	+
N° 66	-	-
N° 67	-	-
N° 76	+	-
N° 80	-	+
N° 85	-	-

+ : Résultat positif, - : Résultat négatif

Les résultats obtenus montrent des réponses positives et négatives aussi bien pour les Bêtalactamines et les Tétracyclines des laits contaminés par les résidus d'antibiotiques.

II.5.1.1. Résultats de la recherche des résidus des Bêtalactamines:

Les résultats de la recherche des résidus des Bêtalactamines enregistrés sur les 11 échantillons de laits crus contaminés provenant des élevages de la wilaya de Blida sont présentés dans le Tableau n° X et la Figure n° 19.

Tableau n° X: Résultats de la recherche de résidus des Bêtalactamines dans les laits crus d'élevages contaminés provenant de wilaya de Blida.

Nombre d'échantillon analysé	Positifs (+)		Négatifs (-)	
	Nombre	%	Nombre	%
11	03	27,28	08	72,72

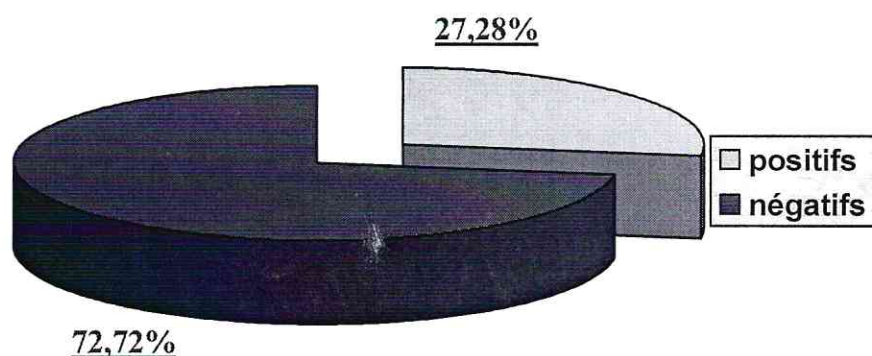


Figure n° 19: Pourcentage de contamination du lait cru par les résidus des Bêtalactamines.

Sur un total de 11 échantillons de lait cru d'élevage contaminés par les résidus d'antibiotiques, nous avons constaté que la contamination par rapport aux Bêtalactamines est la suivante:

- 03 sont positif, soit 27,28%,
- 08 sont négatif, soit 72,72%.

II.5.1.2. Résultats de la recherche des résidus des Tétracyclines :

Les résultats de la recherche des résidus des Tétracyclines enregistrés sur les 11 échantillons de laits crus contaminés provenant des élevages de la wilaya de Blida sont présentés dans le Tableau n° XI et la Figure n°20.

Tableau n° XI: Résultats de la recherche de résidus des Tétracyclines dans les laits crus d'élevages contaminés provenant de wilaya de Blida.

Nombre d'échantillon analysé	Positifs (+)		Négatifs (-)	
	Nombre	%	Nombre	%
11	2	18,19	9	81,81

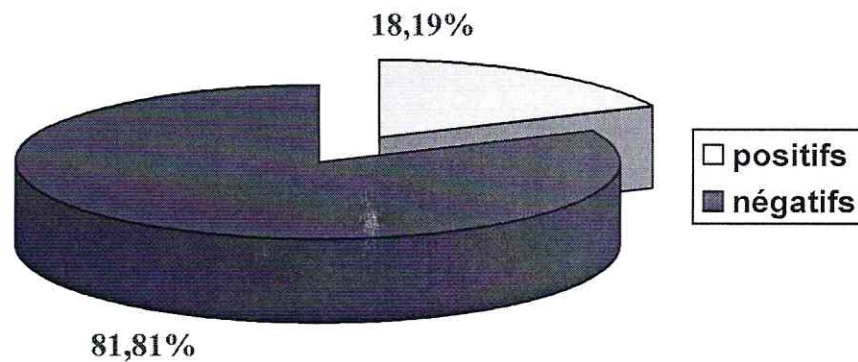


Figure n° 20 : Pourcentage de contamination du lait cru par les résidus des Tétracyclines.

D'après les résultats obtenus de l'analyse du lait d'élevage de la wilaya de Blida nous avons remarqué que sur un total de 11 échantillons, que la contamination par apport aux Tétracyclines est la suivante:

- 02 échantillons sont positifs, soit 27,28 %,
- 09 échantillons sont négatifs, soit 72,72 %.

II.5.I.3. La comparaison entre les résultats des Bêtalactamines et les Tétracyclines:

La comparaison entre les résultats de la recherche des résidus des Bêtalactamines et les Tétracyclines dans les laits crus d'élevages contaminés est illustrée dans le tableau ci-dessous :

Tableau n°XII: Comparaison entre les résultats des bêtalactamines et les tétracyclines

Tétracyclines		Bêtalactamines	
%	%	%	%
Positif	Négatif	Positif	Négatif
18,19	81,81	27,28	72,72

D'après les résultats présentés dans le tableau ci-dessus, nous avons remarqués que le taux de positivité des Bêtalactamines (27,27%) est légèrement supérieur de celui des Tétracycline (18,18%).

La figure n° 21 illustre les résultats comparatifs entre les taux de contamination des laits crus d'élevages, par les résidus des Bêtalactamines et les Tétracyclines.

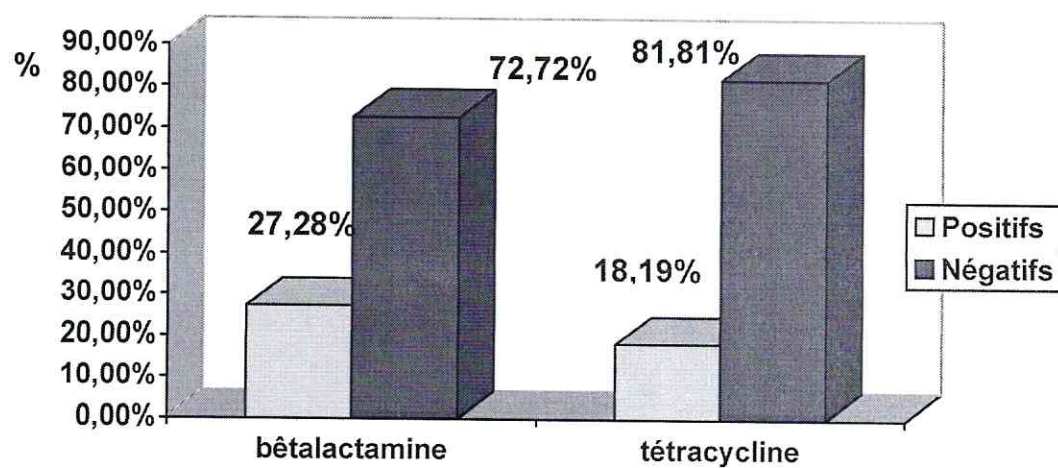


Figure n° 21: Comparaison entre les résultats des résidus des Bêtalactamines et les Tétracyclines.

II.6. Discussion :

Notre étude a pour objectif la recherche des résidus des Bêtalactamines et des Tétracyclines, au moyen du TwinSensor BT dans les laits d'élevages.

L'avantage du test TwinSensor BT utilisé, est la détection des résidus des Bêtalactamines et des Tétracyclines à des seuils au-dessous de la LMR.

Les résultats des analyses effectuées ont présenté des réponses positives et des réponses négatives pour les Bêtalactamines et les Tétracyclines.

II.6.1. Les résultats des Bêtalactamines:

Sur les 11 échantillons contaminés par les résidus d'antibiotiques et analysés par le TwinSensor BT, nous avons trouvé 03 échantillons positifs, soit un taux de 27,72%, et 08 échantillons négatifs, soit 72,72%.

Ces taux sont différents par rapport à ceux obtenus dans l'étude réalisée par BOUAISSA et YAMNAINE en 2007 sur les laits de citernes en utilisant le Rosa Test, et qui rapportent un taux de 62,5% de positivité.

En Kenya, SHITANDI en 2004, rapporte un taux de contamination de 11% par les Bêtalactamines sur les 1109 échantillons de lait analysés.

KRESS et al entre 2003 et 2006 en Allemagne, ont montré que sur les 63 échantillons de laits cru d'élevages contaminés, 95 % l'ont été pour les Bêtalactamines. L'analyse a été faite par le SNAP β -lactame

L'étude faite au Canada en 1985, par RIETER rapporte un taux de 04% de contamination par les Bêtalactamine (RIETER, 1985).

L'étude réalisée par ROMNEE en Belgique en 2006, rapporte un taux de 60% de contamination par les Bêtalactamine.

Les services de santé publique se sont inquiétés de la présence d'antibiotiques dans le lait et les produits laitiers. En médecine humaine, l'allergie est un effet secondaire due notamment aux antibiotiques, causée en particulier par les Bêtalactamines. L'observation de graves allergies chez l'homme à la suite de l'administration de pénicilline appartenant à la famille des Bêtalactamines a fait soupçonner que sa présence dans les approvisionnements laitiers pourrait intervenir dans la sensibilisation de la population humaine et déclencher des symptômes de choc allergiques chez des sujets sensibilisés. Un cas cité par BORRIE et BARRETT (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 jours, soit 500 ml de lait contenant 0,03 unité de pénicillines par millilitre.

Les résidus d'antibiotique sont une préoccupation constante des industriels de la filière laitière, la dépréciation qualitative et quantitative qu'ils provoquent, constituent un véritable fléau :

- 200 à 400 ml de lait d'une vache sous traitement à base de pénicillines peuvent rendre plus de 1000 litres de lait inaptes à la transformation.
- Le contenu de certaines seringues intramammaires de tarissement, à base cloxacilline (les plus utilisées), peut contaminer 50000 litres de lait (au seuil des LMR) (FORM, 2003).

Malgré l'apparition progressive de nouvelles molécules d'antibiotiques, les Bêtalactamines représentent encore les antibiotiques les plus actifs, les moins toxiques et les plus utilisés en clinique.

II.6.2. Les résultats des Tétracyclines:

Sur les 11 échantillons de laits crus contaminés et analysés par le TwinSensor BT, 02 échantillons sont positifs, soit 18,18% et 09 sont négatifs, soit 81,81%.

Nos résultats semblent plus inférieurs que les résultats obtenus par l'étude faite par BOUAISSA et YAMNAINE en 2007, qui révèle un taux de 89,09% de Tétracycline. Et ceux de ROMNEE en Belgique en 2006, qui rapporte un taux de 60%.

En revanche, nos résultats semblent être proche à ceux de l'étude faite au Canada en 1985, qui présente un taux de 25% (REITER, 1985).

Les Tétracyclines (Chlortétracyclines, oxytétracyclines et tétracyclines) sont des antibiotiques bactériostatiques, sont également très utilisés en médecine vétérinaire pour traiter diverses infections bactériennes, cet engouement pour ces molécules peut s'expliquer par:

- Un large spectre d'activité.
- Une faible toxicité.
- Leurs nombreuses indications.
- Une excellente fixation tissulaire.

Elles sont bien résorbées par voie digestive (la voie orale est globalement un mode d'administration peu utilisé chez les ruminants). En ce qui concerne la voie intramammaire, elles sont présentes par exemple dans Mastijet où elles inhibent la croissance de nombreuses bactéries lactiques (Bacilles, streptocoques, entérobactéries). La LMR acceptée dans le lait est de 100 µg/kg.

D'après MARTEL et VANDAELE (1999), il faut exclure la possibilité de sélectionner des résistances directement chez l'homme par la consommation de lait qui contiendrait des résidus d'antibiotiques en quantités inférieures ou égales aux limites maximales de résidus (LMR). On peut également considérer qu'il n'y a pas de risque de modification de la flore du tube digestif si la concentration en antibiotique reste inférieure à la CMI du germe le plus sensible du tube digestif. A titre d'exemple, on sait qu'une dose de 02 mg/jour d'oxytétracycline, comparable à celle que l'on peut ingérer avec des aliments contenant des résidus, ne modifie en rien la microflore fécale, ni dans sa composition ni dans son profil de résistance à la tétracycline. A 20 mg/jour, les entérobactéries sensibles disparaissent mais la flore dominante n'est pas affectée dans sa composition. A 02 g/jour la flore anaérobie

dominante est fortement perturbée, les entérobactéries résistantes et les levures se développent.

D'après les résultats obtenus, nous avons remarqué que le taux de contamination par les Bêtalactamines (27,72%) semble être légèrement plus élevé par rapport à celui des tétracyclines (18,18%), contrairement à l'étude réalisée par BOUAISSA et YAMNAINE en 2007, qui ont utilisés le lait de citerne, il a été constaté que le taux de positivité des résidus des Tétracyclines (98,09%) est plus élevé par rapport à celui des Bêtalactamines (65,46%).

La présence de résultats négatifs ne révèle pas l'absence totale de résidus d'antibiotiques dans le lait car les bandelettes du test TwinSensor BT sont spécifique pour la détection simultanée des Bêtalactamines et des Tétracyclines, quoique il existe d'autres antibiotiques comme les macrolides les sulfamides, les quinolones et les céphalosporines qui ne sont pas détectés par ce test.

En comparaison à d'autres tests rapides, La sensibilité du test TwinSensor BT est très élevée par rapport au Rosa test. Il détecte les deux principaux antibiotiques, à savoir les Tétracyclines et les Bêtalactamines au dessous de la LMR. Sachant que, le seuil de détection de l'oxytétracycline est de 100 + /-5 ppb et 30-40 ppb respectivement par le rosa test et le TwinSensor BT. Et celle des pénicillines est de 4+/-2 ppb et 2 à 3 ppb respectivement pour le rosa test et le twinSensor BT.

La présence de résidus d'antibiotiques dans le lait résulte d'une utilisation régulière (généralement indispensable) de substances médicamenteuses, et le plus souvent d'une erreur, volontaire ou non, dans leurs utilisations.

Parmi tous les résidus pouvant se retrouver dans le lait, se sont les Bêtalactamines et les Tétracyclines qui sont les plus surveillées. Une telle mesure doit être prise sous la pression des consommateurs, des législateurs et des transformateurs laitiers en rapport avec les conséquences potentiels de la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait. Des effet sur la santé publique ont été mise en évidence, notamment sous des aspect cliniques toxicologiques et allergiques, se sont les molécules les plus incriminer souvent utilisées chez les vaches laitières.

Selon OVERBY (1952), la stabilité de la pénicillines est maximale aux environs du pH normal du lait et que l'altération de ce médicaments n'est pas sensiblement diminuée par la pasteurisation. De même, un chauffage momentané du lait à 80°C n'altère pas l'activité biologique des tétracyclines.

La Bêta-lactamine et la Tétracycline sont largement utilisées dans le domaine vétérinaire pour leur effet thérapeutique. Le contrôle efficace des résidus est réglementé et nécessite le recours à des tests de dépistage adaptés aux limites fixées par la loi (LMR), sensible, précise et facile à utiliser

II.7. Conclusion :

La présente étude a permis d'identifier les molécules les plus utilisées sur le terrain à partir de 11 échantillons contaminés. Les résultats montrent que les Bêtalactamines sont présentes dans les laits contaminés avec un taux de 27,28% et les tétracyclines avec un taux de 18,19%.

Cette situation inquiétante témoigne principalement du manque de rigueur législatif et de la mauvaise utilisation des antibiotiques en élevage bovin laitier.

Les protocoles de surveillances doivent être rigoureux et les tests de contrôle doivent être choisis en fonction des contraintes technologiques et économiques en étant bien conscient de leurs limites et des éventuelles discordances avec les contrôles officiels.

CONCLUSION GENERALE

L'antibiothérapie joue un rôle important dans le traitement et la prévention des infections mammaires chez la vache laitière. Le nombre d'antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire ne cesse d'augmenter année en année. Bien que la disponibilité et l'usage de ces antibiotiques diffèrent d'un pays à l'autre, les familles d'antibiotiques demeurent largement utilisées à travers le monde, à savoir les Bêtalactamines dont le chef de file est les pénicillines et les Tétracyclines. Ce sont les groupes d'antibiotiques qui sont souvent retrouvés dans les échantillons de lait analysés.

L'évaluation de la qualité sanitaire et hygiénique du lait cru destiné à la consommation ou à la transformation est essentielle pour la protection du consommateur.

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 et les Tétracyclines qui constituent un risque non négligeable dans les cas d'allergies et le développement d'antibiorésistance 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.

Par conséquent, il est préférable d'impliquer et de renforcer toujours plus les démarches de maîtrise de la sécurité sanitaire et de la qualité du lait. La cohérence et la coordination entre les éleveurs et les vétérinaires doivent permettre de rapprocher, dans ce sens, pratique et réglementation.

La recherche systématique des résidus d'antibiotiques dans les échantillons de lait demeure le seul moyen de prévention qui peut assurer l'innocuité complète des produits. Pour ce faire, il est donc impératif de disposer de méthodes de détection fiables, sensibles et spécifiques.

Le paiement du lait à la qualité devrait impérativement être encouragé et inséré dans les procédures de la certification de conformité du lait afin d'assurer sa qualité qui est destinée aux consommateurs.

Afin d'éviter l'émergence et le développement de la pollution du lait par des résidus d'antibiotiques, il est nécessaire que le traitement des infections soit raisonné et correctement mis en œuvre. C'est un enjeu essentiel pour l'économie de l'élevage, l'efficacité de la transformation, la santé publique ainsi que pour l'image du lait auprès des consommateurs. Par ailleurs, outre ces volets médical, sanitaire et économique des traitements, ceux de la transparence et de la traçabilité sont également d'actualité et ont leur importance tant auprès des acteurs de la filière laitière qu'auprès des consommateurs lesquels demandent de plus en plus d'informations quant aux pratiques d'élevage.

RECOMMANDATION:

A l'issus de notre étude, pour garantir un aliment sain aux consommateurs sans risque pour leur santé, nous recommandons les mesures suivantes:

- Afficher sur un panneau tous les renseignements relatifs aux traitements afin de s'assurer que les trayeurs sont au courant des vaches qui ont été traitées et du délai d'attente convenable.
- Identifier toutes les vaches qui ont été traitées à l'aide de bagues colorées ou de marqueurs de bétail.
- Les vaches subissant un traitement antibiotique lors de tarissement doivent être séparées pour éviter toutes erreurs lors de la traite.
- Confirmer la date du traitement contre le tarissement pour les vaches au vêlage afin de déterminer si le délai d'attente approprié a été respecté.
- Suivre les prescriptions du vétérinaire, ne pas augmenter les doses et les durées du traitement.
- Mettre à l'écart le lait provenant de tous les quartiers des vaches traitées (même si un seul quartier est traité).
- Ne jamais livrer le colostrum dans les 7 jours qui suivent le vêlage.
- Être vigilant en cas de vêlage prématuré.
- Le vétérinaire doit impérativement informer l'éleveur de respecter le délai d'attente du médicament pour éviter tout problème de résidus dans le lait.
- Le vétérinaire doit utiliser des antibiotiques colorés.
- Une politique de surveillance du lait s'impose, elle se base sur un control rigoureux avec des tests de contrôles choisis en fonctions des contraintes technologiques et économiques en étant bien conscient de leurs limites et des éventuelles discordances avec le contrôle officiel.
- Il importe grandement de communiquer aux prés du grand public les risques des résidus d'antibiotiques des denrées alimentaires d'origine animale.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ABDUSSALAM M, STOTVAST D I et ACHARYA R, (1966). Hygiène du lait O.N.V.A et OMS.

ALAIS C, (1984). Science du lait Principes des techniques laitières. Paris, Sepaie^{ème} 4^{ème} Edition, 814p.

AMIOT J, FOURNIER S, LE BEUF Y, PAQUIN P et SIMPSON R (2002). Science et technologie du lait "transformation du lait", chapitre I, pp 1-77.

ANONYME, (1983). Journal officiel de la République Française du 6 octobre.

ANONYME, (1995). A propos de la contamination physique et chimique du lait, l'iode. Institut de l'Élevage.

ANONYME, (2007). Readsensor instructions Chapter II: general user's manual, Readsensor instructions, version 1.2: Pending the upgraded version, 11-38.

BADANI K, (2004). Recherche de résidus d'inhibiteurs dans le lait. Mémoire pour le diplôme de docteur vétérinaire. Université de Blida. P44.

BARATON Y, (2001). Inhibiteurs et autres résidus médicamenteux : les problèmes posés aux entreprises laitières. Sécurité alimentaire et médicaments vétérinaires, ISPAIA de Ploufragan, GIE, GTV, Mai, 49-51.

BEN DEDDOUCHE B, (1985). La recherche des substances antimicrobiennes dans les viandes fraîches, maîtrise en sciences vétérinaires.

BERCHE P, LOUIS J et SIMONET M, (1991). Bactériologie : les bactéries des infections humaines, Éd. Médecine Sciences, Flammarion, Paris,

BERGOGNE B et DELLAMONICA P, (1995). Antibiothérapie en pratique clinique, Ed Masson, Paris, P486.

BILLON J et SENG HUOR T, (1979). Détection des antibiotiques, identification et dosage par la méthode électrophorétique -Le Lait, 1979, 587,361-375

BILLON J, (1981). Recherche, identification et dosage des résidus d'antibiotiques dans le lait. Rec - Méd - Vét. 157 : 169 – 174.

BONFOH B, (2002). Hygiène et qualité du lait et des produits laitiers au Mali. Atelier lait sain pour le Sahel Bamako.

BOUAISSA K et YAMNAINE N, (2007). Recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru par le Rosa test. Mémoire pour le diplôme de docteur vétérinaire. Université de Blida. P 81

- BOISSEAU J et MORETAIN J P, (1983).** Drug excretion by the mammary gland. Vet. Pharmacol. Toxicol. 193-202.
- BORRIE P et BARRETT L, (1961).** Brit. med, J, 2, I 267. Les résidus de désinfectants et d'antibiotiques dans le lait.
- BOURGEOIS C M et LEVEAU J Y, (1980).** Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro alimentaires. Technique et documentation, paris, vol3, pp
- BOURIN M, MICHEL L et ALLAIN H, (1994).** MEDICAMENTS – ANTIBIOTIQUES. Traité de Chimie Thérapeutique Vol 2. Cours de Pharmacologie 3ème Edition.
- BROUILLET P, (1994).** Inhibiteurs dans le lait : La mauvaise utilisation des médicaments. Hors série de la semaine vétérinaire, numéro 3, 16-19.
- BROUILLET P, (1998).** Microbiologie du lait et du fromage. La flore du lait, SNGTV. Paris.
- BROUILLET P, (2002).** Les tests rapides de détection des antibiotiques dans le lait. Bulletin des GTV. 15. Avril – Mai – Juin : 183 – 189.
- BROUTIN C, DIEDHIOU Y, DIENG M, (2005).** Maîtrise de la qualité dans la transformation laitière. Guide de bonnes pratiques d'hygiène. Version validée lors de l'atelier national du 15 novembre 2005.Sénégal.19-31.
- BRULE G et LORIENT J, (1997).** La micelle de caséine et la coagulation du lait, In: le fromage de la science à l'assurance qualité. ECK. A et GILLIS. JC, technique et documentation- Lavoisier, 3^{ème} édition, pp7-41.
- BRYSKIER A, (1999).** Agents antibactériens et antifongiques, Paris : Ellipses; 1216p.
- BURGAT – SACAZE V, (1981).** Risques d'accidents allergiques dus aux résidus. Rec- Méd - Vét. 157 : 187 – 190
- BURGAT – SACAZE V et PETIT C, (1983).** Antibiothérapie intramammaire. Notions pratiques de pharmacocinétique. Rec. Med. Vet. 159 (6), 561-573.
- CAUTY I et PEREAU J M, (2005).** La conduite du troupeau laitier. La qualité du lait: 55-57.
- CHATAIGNER B et STEVENS A, (2002).** Investigation sur la présence de résidus d'antibiotiques dans les viandes commercialisées à DAKAR, projet PACEPA, Rapport de l'Institut Pasteur de DAKAR.
- CHASLUS-DANCLA E, (1999).** Mécanismes de résistance aux antibiotiques. In : Journées Nationales GTV-INRA. Nantes, 26-28 Mai 1999, Groupements Techniques Vétérinaires, 1999, 133-137.

CHRISTIE W W, (1983). The composition and structure of milk lipids, In: Fox, PF, development in dairy chemistry, vol 2, Applied sciences publishers, London, 1-35.

CNERNA, (1981). Instruction pour la détection des antibiotiques dans le lait livré par les producteurs. Revue laitière Française. 385 : 7-25.

CNIEL, (2002). Actualité technique. Détection des résidus d'inhibiteurs. La méthode officielle pour le paiement du lait devient plus précise.

CORPET D E, (1999). Antibiotiques en élevage et résistances bactériennes : vers une Interdiction. Revue Méd. Vét, **150** (2), 165-170.

DEBRY G, (2001). Lait, nutrition et santé. Paris : Technique et documentation.

DOSOGNE H, ARENDT J, GABRIEL A et BURVENICH C, (2000). Aspect physiologique de la sécrétion laitière par la mamelle bovine, Ann. Med. Vet., 144, (6), 357- 382

DUCLUZEAU R, (2000). L'utilisation des antibiotiques en agriculture et les dangers pour le consommateur. Antibiotiques; 2:76-85

DUVAL J et SOUSSY C J, (1985). Abrégés d'antibiothérapie. Paris: Masson, 180p.

ECCKMOTTE M, (1978). Antibiotiques et alimentation humaine. Rev- Méd- Vét.

EMEA, (1999). Antibiotics authorised for Therapy in Food Producing Animals in the UE. In: Antibiotic Resistance in the European Union Associated with Therapeutic use of Veterinary Medicines. Report and Qualitative Risk Assessment by the Committee for Veterinary Medicinal Products. 15p.

FABRE J M, MORETAIN J P, ASCHER F, BROUILLET P et BERTHELOT X, (1996). Les principales causes d'inhibiteurs dans le lait. Résultats d'une enquête dans un millier d'élevages français. Bull. Group.Tech. Vét, 3-B.-522, 27-31.

FABRE J M, MORETAIN J P et 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.

FABRE J M, BOSQUET G et PETIT C, (2006). Comprendre et prévenir les risques de résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale. SNGTV.

FAO, (1995). « Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaines : Alimentation et nutrition », Rome.

FAROULT B et ALNO J P, (1999). Réflexions pour de meilleures pratiques de l'antibiothérapie Vétérinaire. In : Journées Nationales GTV-INRA. Nantes, 26-28 Mai 1999. Groupements Techniques Vétérinaires, 163-164.

FAROULT B, LEPOUTRE D, BROUILLET P et LE PAGE P, (2004). Mammites des bovins (cliniques et subcliniques) : démarches diagnostiques et thérapeutiques. *La*

Dépêche technique, supplément technique n°87 à *La Dépêche* du 20 décembre 2003 au 2 Janvier 2004, 39 p.

FEDERICCI-MATHIEU C, (2000). Résidus dans le lait et sécurité alimentaire : quels risques, Quels moyens de maîtrise ? Bull. Group. Tech. Vét, 7, 99-102.

FORM G, (2003). Les résidus inhibiteurs dans le lait. Evolution des méthodes de détection- Facteurs de risques en région Rhône-alpes. Thèse Méd. Vét. P121

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

GAUDIN P, (1999). Origines et conséquences des substances dites inhibitrices dans la filière lait. Etude au niveau d'un groupe laitier. Thèse pour le diplôme de docteur vétérinaire. Nantes.

GAUDIN V et AFSSA F, (2005). Dossier de reconduction du test Bétastar. Test rapide de détection de résidus actifs d'antibiotiques de la famille des Bétalactamines (pénicillines, céphalosporines) dans le lait.

GELINAS P, (1995). Répertoire des micro-organismes pathogènes transmis par les aliments. Edition Edisem, Sainte Hyacinthe (Québec), P207.

GUERRIN A, (2003). Mise en place d'une démarche de rationalisation du traitement des mammites des vaches laitières des pratiques des éleveurs et des vétérinaires a la mise en place de l'action GTV partenaire en région Rhône-Alpes. Thèse pour le diplôme de docteur vétérinaire. Nantes.

HANZEN CH, (1999). Pathologie de la glande mammaire de la vache laitière: Aspects individuels et d'élevage. 4^{ème} Edition Université de Liège.

HANZEN CH, (2000). Preupédentique et pathologies de la reproduction male et femelle biotechnologie de la reproduction pathologie de la glande mammaire. 3^{ème} et 4^{ème} Edit université de Liège.

JAMES et CULLOR (1992). Test for identifying antibiotic residues in milk : How well do they work .Vet .Med. December, 1235-1241.

JEPSEN A, (1950). Les résidus de désinfectants et d'antibiotiques dans le lait. Nord. Vet. Med. 2, 447.

KRESS C, SEIDLER C, KERP B, SCHNEIDER E. et USLEBER E. (2006). Experiences with an identification program for inhibitor-positive milk samples. *Analytica chimica Acta* 586 (2007) 275-279.

LABIE CH, (1981). Dispositions législatives destinées à éviter la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait. *Rec. Méd. Vét.*, 157 (2), 161-167.

- LACOMBE J F, (1993).** Les antibiotiques dans les traitements des mammites bovines. Bulletin de G.T.V., n°2. 21-28.
- 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.
- LARPENT J P et SANGLIER J J, (1989).** Biotechnologie des antibiotiques. Paris : Masson, 481p.
- LARPENT J P, (1997).** Microbiologie alimentaire. Techniques de laboratoire. Paris : Technique et documentation, 1073p.
- LAURENTIE M et SANDERS P, (2002).** Résidus de médicaments vétérinaires et temps d'attente dans le lait, Bull. Group. Tech. Vét., 2002(15), 197-201.
- LEBRES E et MOUFFOK F, (1989).** Recherche d'antibiotiques et de résidus d'antibiotiques dans les laits. Maghreb vétérinaire. Vol 4. 17 : 5 – 7.
- LEDERER J, (1977).** Encyclopédie moderne de l'hygiène alimentaire. Tome II. Hygiène des aliments. 2^{ème} édition. Edition Maloine, Paris, 310 pages.
- LE PAGE P H, (1999).** Les cellules du lait et de la mamelle. Journées nationales GTV INRA. Nantes. Session : les cellules somatiques du lait, 7-13.
- LEPOUTRE D et PETIT C, (2000).** Maîtrise des résidus dans le lait : le rôle du vétérinaire praticien. Bull. Group. Tech. Vét., 8, 47-51.
- LUDGER G, SUHREN G, KNAPPSTEIN K et PETZ M, (1999).** Detection of incurred cloxacillin residues in Raw milk from mastitis cows. Comparaison of different methods of screening tests.
- MACKINNON J D, BULLING E et HELMUTH R, (1985).** Proceedings of the symposium «Criteria and Methods for the Microbiological Evaluation of growth promoters in animal feeds» Berlin, 14 & 15 novembre 1984, *Vet Med Hefte*, 1985.
- MAILLARD R, LAFONT J-P., MARTEL J L et MAILLARD R, (2002).** L'âge d'or des antibiotiques : la légende du siècle...passé. In. *Antibiothérapie bovine. Acquis et consensus*. Pfizer. Maisons-Alfort : les Editions du Point vétérinaire, 37-46p.
- MARUEJOULS B et GOULARD F, (1999).** Résidus de pesticides dans le lait, des résultats encourageants pour les produits de l'agriculture biologique. Alter Agri, 37, 10-13.
- MARTEL JL et VANDAELE E, (1999).** Epidémiologie de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes chez les bovins. *Point Vét.*, 1999, 30 (198), 15-22.

- MATHIEU J, (1998).** Initiation à la physico-chimie du lait. Edition Lavoisier, Technique et documentation, paris, 220p.
- MILHAUD G, et PERSON J M, (1981).** Evaluation de la toxicité des résidus d'antibiotiques dans le lait. Rec- Méd - Vét. 157 (2) : 179 – 185.
- MILLEMANN Y, (2002).** Antibiorésistances et prescription antibiotique. La Dépêche Technique, 80 (Suppl), 25-29.
- MONOSALLIER, A. (1994).** La prévention des infections intra-mammaires par l'hygiène. Séminaire de la fédération internationale des laiteries, 29-34.
- MOUROT D et LOUSSOUARN S, (1981).** Sensibilité des ferments lactiques aux antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire. Recueil de Médecine Vétérinaire, 175-177.
- OUSSER N, (2006).** Recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru par le Delvotest SP. Mémoire pour le diplôme d'ingénieur d'état en biologie. Université de Blida. P75.
- OUERTANI H, (2003).** Les résidus d'antibiotiques dans le lait. Enquête dans un centre de collecte de la région de Beja. These Doc. ENMV. N°15.
- OUZROUT B, (2007).** Recherche des résidus de substances antibactériennes dans le lait. Mémoire pour le diplôme de docteur vétérinaire. Centre universitaire El-Taref. P73.
- OVERBY A J, (1952).** Les résidus des désinfectants et des antibiotiques dans le lait. Nord. Vet.-Med.4, 993.
- PANAGET A, (1994).** Taux protéique. *Bull. Group. tech. vét.*, 5B, 487, 79-88.
- PAYNES W J A, (1999).** An introduction to animal husbandry in the tropics, 4^{ème} édition. Longman Scientific Technical. New York, pp 752-766.
- PRADALIER A, DRY J et LUCE H, (1980).** Réflexions sur l'allergie médicamenteuse. Con - Méd. 40: 5993 – 6011.
- ⑤ # **PUYT J D, (2002).** Médicaments anti-infectieux en médecine vétérinaire: Base de l'antibiothérapie. ENV Nantes, p201.
- RIETER B, (1985).** Protective proteins in milk. Biological significance and exploitation, International Dairy Federation, Bulletin 191, Bruxelles, Belgique.
- ROMNEE J, (2006).** Le contrôle des antibiotiques dans le lait de ferme: hier et aujourd'hui. Les antibiotiques dans le lait. Quelques chiffres provenant de OI de Battice, pp 61.

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

RYCKAERT I, (2003). Roland Bossuyt, Septembre, 42 QUESTION SUR LE LAIT. P 53 QUESTION 33.

SABLONNIERE B, (2001). Technologie alimentaire. Paris. Ellipses, édition marketing. 189 P.

SACHOT E et, PUYT J D (2001). Les différents calculs du temps d'attente. Point vét; 212; 48-51.

② # **SCHWARZ S et CHASLUS-DANCLA E, (2001).** Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. Vet. Res. 2001, 32, 201-225.

SERIEYS F, MEFFE N, BERNY F, LOPEZ C et BARATON Y, (1995). Facteurs de risques de pollution du lait par des résidus inhibiteurs associés au traitement des mammites. Rencontres Rech. Ruminants, 2, 205-210.

SHITANDI A, (2004). Risk factors and control strategies for antibiotic residues in milk at farm level in Kenya. Doctoral dissertation, 50p.

SIOUSARRAN V, (2003). Hygiène de lait cru en zones urbaines et périurbaines de Niamey, Niger. Rapport de stage. Diplôme d'étude supérieures spécialisées productions animales en région chaudes.

SUHREN G, (1996). Quality criteria in veterinary drug residue analysis. Proceeding of the Euro residue conference, Netherlands, 21-23 May.

SUHREN G, (2002). Hemmstoffe und Tierarzneimittelrückstände 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.)

TEN HEG J, (2007). Dépistage des résidus d'antibiotiques dans les vaches laitières et le lait.

TERRIEN M et JOSETTE F, (1998). Chimie de petit déjeuner, ed: Formation, culture, 5^{ème} édition; pp 304.

TOUTAIN P L, (1984). Traitement des mammites, biodisponibilité des médicaments au niveau de la mamelle. Bulletin des GTV. 3 : 49 – 73.

VEISSEYRE R, (1975). Technologie du lait. 3ème édition, Paris, La maison rustique, 714p.

VIGNOLA CL, (2002). Science et technologie du lait, transformation du lait. Ecole polytechnique de Monterial.

VIRBAC, (2002). Bilan au 22 octobre 2002. Nouvel Observatoire Virbac des Inhibiteurs.

VERHNES R et VANDAELE E, (2002). Détection rapide des inhibiteurs dans le lait. *Point Vét.*, **33** (227), 16-17.

WEISEN J P, (1974). Prophylaxie des mammites 2, dépistage des mammites .Edition Vigot frère.

ZINEDINE A, FAID M et BENLEMLIH M, (2007). Détection des résidus d'antibiotiques dans le lait et les produits laitiers par méthode microbiologique. *REMISE*, voll, N°1, p 1-9.

ZIV G, (1980)a. Pratical pharmacokinetic aspects of mastitis therapy 1: Parental treatment. *Agri- practice*, 277-290.

ZIV G, (1980)c. Pratical pharmacokinetic aspects of mastitis therapy 3: intramammary treatment. *Agri-practice*. 657-670.

ANNEXE n° 01

Matériel de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru par le Devotest SP:

Matériel de collecte :

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

Matériel et appareillage de laboratoire :

- Tubes à essais stériles de 20ml.
- Portoir métallique.
- Ciseaux.
- Bain-marie réglable à 64°C et à 80°C.
- Réfrigérateur.
- Minuterie.
- Lait exempt de substances inhibitrices.
- Lait entier, exempt de substances antibactériennes.
- Solution standard de pénicilline à 4 µg/l ou 4 ppb, réalisée avec le lait exempt de substances inhibitrices.
- Le kit d'analyse, Devotest SP.

Matériel de la recherche des résidus de bêtalactamines et de tétracyclines dans le lait cru par le TwinSensor BT:

- Flacons en plastique avec bouchons stériles de 60 ml.
- Glacière avec pochette de glace pour le transport des échantillons.
- Le kit d'analyse, TwinSensor BT.

ANNEXE n° 02

Test du χ^2 d'indépendance

Principe :

A la base d'un test statistique il y a la formulation d'une hypothèse appelée *hypothèse zéro*. Dans le de notre étude, elle suppose que toutes résultats des résidus d'ATB sont indépendants du nombre de vaches.

Ces données ayant été réparties en classes, il faut

- déterminer le nombre de degrés de liberté du problème à partir du nombre de classes ;
- se donner a priori un risque de se tromper (la valeur 5 % est souvent choisie mais il s'agit plus souvent d'une coutume que du résultat d'une réflexion) ;
- à l'aide d'une table de χ^2 , déduire en tenant compte du nombre de degrés de liberté la distance critique qui a une probabilité de dépassement égale à ce risque ;
- calculer algébriquement la distance entre les ensembles d'informations à comparer.

Si cette distance est supérieure à la distance critique, on conclut que le résultat n'est pas dû seulement aux fluctuations d'échantillonnage et que l'hypothèse nulle doit donc être rejetée. Le risque choisi au départ est celui de donner une réponse fausse lorsque les fluctuations d'échantillonnage sont seules en cause. Le rejet est évidemment une réponse positive dans les tests d'indépendance.

Préparation :

Le test utilisé, le **Chi-carré de Pearson**, s'intéresse à la différence entre la valeur observée O_{ij} (ou valeur empirique) et la valeur attendue s'il y avait indépendance E_{ij} (ou valeur théorique).

$$\chi^2 = \sum_{i,j} \frac{(O_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}}$$

Avec

- O_{ij} la valeur observée
- E_{ij} la valeur attendue sous l'hypothèse d'indépendance.

On a :

$$E_{i,j} = \frac{O_{i+} \times O_{+j}}{N}$$

Où

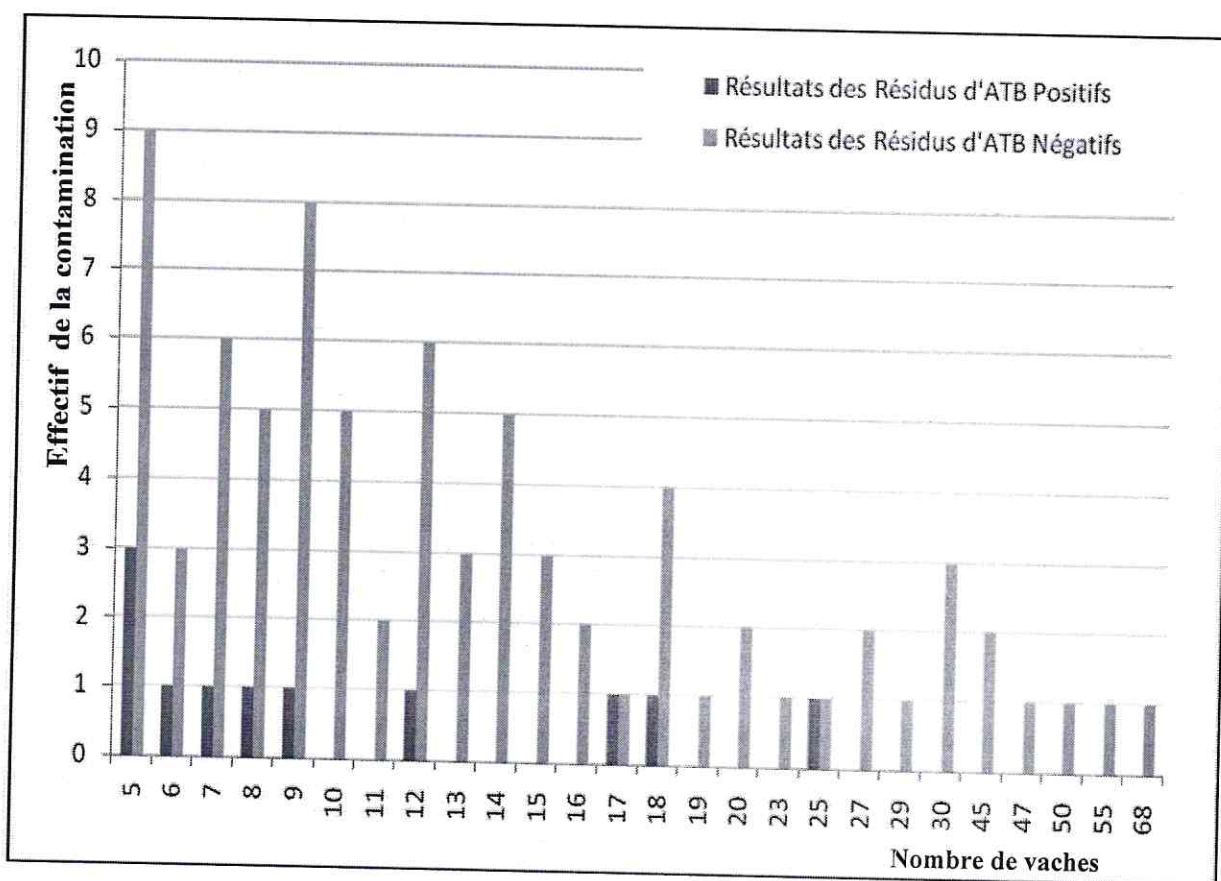
$$O_{i+} = \sum_{j=1}^J O_{ij}$$

Et

$$O_{+j} = \sum_{i=1}^I O_{ij}$$

APPLICATION:

Distribution des résultats des résidus selon le nombre de vaches



Après classification le tableau de répartition observé:

	ATB (+)	ATB (-)	TOTAL
1 à 8 vaches	6	23	29
9 à 68 vaches	5	56	61
TOTAL	11	79	90

Distribution marginale des Résultats des résidus d'ATB:

Résultat	ATB (+)	ATB (-)
Effectif Cumulé	11	79
Probabilité	12%	88%

Distribution marginale de nombre de vaches

Nombre de Vaches	1 à 8	9 à 68
Effectif Cumulé	29	61
Probabilité	32%	68%

Tableau de répartition théorique sous l'hypothèse d'indépendance:

	ATB (+)	ATB (-)
1 à 8 vaches	3,54	25,46
9 à 68 vaches	7,46	53,54

Calcul du degré de liberté :

- ddl = (Nombre de Ligne - 1) x (Nombre de Colonne - 1)
- . ddl = (2 - 1) x (2 - 1) = 1

Calcul du χ^2

$$\chi^2 = \frac{(6 - 3,54)^2}{3,54} + \frac{(5 - 7,46)^2}{7,46} + \frac{(23 - 25,46)^2}{25,46} + \frac{(56 - 53,54)^2}{53,54}$$

$$\chi^2 = 2,87$$

Détermination du χ^2 critique :

A l'aide de la table de χ^2 , on détermine la distance critique correspondant a ddl = 1 et un risque = 5% on trouve

$$\chi^2_{\text{critique}} = 3,84145915$$

Conclusion

La distance calculée (2,87) étant inférieure à la distance critique (3,84), il n'y a pas lieu de mettre en cause l'indépendance des deux variables (nombre de vaches et ATB) avec un risque de se tromper égal à 5%. C-à-d que la présence ou l'absence des résidus d'ATB n'a aucun rapport avec le nombre de vaches

ANNEXE n°03

TABLEAU n° XIII : Résultats détaillés obtenus sur la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru d'élevage par le Delvotest SP.

N° d'ordre	Région	Nombre de vaches	Résultats des résidus d'ATB	N° d'ordre	Région	Nombre de vaches	Résultats des résidus d'ATB
01	Boufarik 01	12	-	46	05	10	-
02	02	13	-	47	06	07	-
03	03	07	-	48	07	06	-
04	04	18	-	49	08	11	-
05	05	05	-	50	Soumaa01	05	+
06	06	09	-	51	02	05	-
07	07	09	-	52	03	05	-
08	08	05	+	53	04	14	-
09	09	09	-	54	05	14	-
10	10	09	-	55	06	05	-
11	11	68	-	56	Maremane 01	05	+/-
12	12	27	-	57	02	30	-
13	13	09	-	58	03	06	-
14	14	17	+/-	59	04	06	+
15	15	07	-	60	05	15	-
16	16	12	-	61	06	08	-
17	17	12	-	62	Chebli 01	08	-
18	Chiffa 01	45	-	63	02	09	-
19	02	13	-	64	03	10	-
20	03	10	-	65	04	30	-
21	04	14	-	66	05	07	+/-
22	05	29	-	67	06	12	+/-
23	06	15	-	68	Ouled yaich 1	05	-
24	07	09	-	69	02	07	-
25	08	07	-	70	03	05	-
26	09	55	-	71	04	13	-
27	10	09	-	72	05	25	-
28	11	08	-	73	Bouinane 01	23	-
29	12	20	-	74	02	19	-
30	13	05	-	75	03	11	-
31	14	07	-	76	04	18	+
32	15	45	-	77	05	16	-
33	Blida 01	30	-	78	Mouzaia 01	05	-
34	02	18	-	79	02	12	-
35	03	15	-	80	03	09	+/-
36	04	47	-	81	04	27	-
37	05	20	-	82	05	17	-
38	06	50	-	83	Beni-mered01	10	-
39	07	08	-	84	02	12	-
40	08	14	-	85	Zaouia 01	25	+
41	09	18	-	86	02	08	-
42	Gueroaoue01	06	-	87	O E A 01	16	-
43	02	18	-	88	02	10	-
44	03	05	-	89	Ouldselama01	12	-
45	04	08	+	90	Beni-tamou01	14	-