



Institut des Sciences
Vétérinaires- Blida

Université Saad
Dahlab-Blida 1-



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

**La recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne
et de crèmerie au niveau de la wilaya d'AIN defla**

Présenté par
MELLAKHI Fadhila
&
TAIBOUNI Lilia

Devant le jury :

Président(e) :	Mr DAHMANI A	MAA	ISVB1
Examineur :	Mr DAHMANI H	MAA	ISVB1
Promotrice :	M ^{elle} TARZAALI D	MAB	ISVB1
Co-promotrice :	M ^{me} TADJINE N	Ingénieur d'état	ISVB1

Année : 2016-2017

REMERCIEMENTS

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

Nous exprimons notre profonde gratitude à notre promotrice M^{elle} **TARZAALI Dalila**, maître assistante à l'université de Blida 1, de nous avoir encadré avec sa cordialité franche et coutumière, nous la remercions pour sa patience et sa gentillesse, pour ces conseils et ces orientations clairvoyantes qui nous ont guidé dans la réalisation de ce travail. Chaleureux remerciement.

Nous tenons à remercier :

Mr Dahmani. A, maitre-assistant à l'université de Blida 1, de nous avoir fait l'honneur de présider notre travail.

Mr Dahmani. H, maitre-assistant à l'université de Blida 1, d'avoir accepté d'évalué et d'examiné notre mémoire.

Nous saisissons cette occasion pour exprimer notre profonde gratitude à l'ensemble des enseignants de l'institut des sciences vétérinaires de Blida.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous ceux qui ont participé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

DEDICACES

Je dédie ce travail :

A la source de la tendresse, ma chère mère.

Au meilleur papa du monde qui m'apprit que la patience est le secret du succès.

A mon cher mari qui m'a aidé pour la réalisation de ce travail.

A ma chère sœur Nouha et mon cher frère Bilal.

A toute ma famille sans exception.

A toutes mes copines : Ahlem, Fethia, Nesrine, Karima, Aicha,.....

A mon cher binôme de ce travail Fadhila.

A tous ceux qui me connaissent de près et loin.

Lilia

DEDICACES

Je dédie ce travail :

A la source de la tendresse, ma chère mère.

Au meilleur papa du monde qui m'apprit que la patience est le secret du succès.

A mon cher mari qui m'a aidé pour la réalisation de ce travail.

A ma chère sœur Nouha et mon cher frère Bilal.

A toute ma famille sans exception.

A toutes mes copines : Ahlem, Fethia, Nesrine, Karima, Aicha,.....

A mon cher binôme de ce travail Fadhila.

A tous ceux qui me connaissent de près et loin.

Lilia

RESUME

Actuellement en Algérie l'utilisation des antibiotiques en pratique vétérinaire est abusive et anarchique. Il s'agit surtout du non respect du délai d'attente et de l'absence de réglementation concernant les limites maximales autorisées des résidus dans les denrées alimentaires d'origine animale destinées à la consommation humaine.

Le lait cru est une des voies d'élimination des résidus d'antibiotiques principalement, ceux utilisés pour le traitement des infections mammaires, ces résidus constituent une préoccupation majeure tant pour les consommateurs sur le plan sanitaire que pour les industriels sur le plan technologique.

Cette étude est basée sur :

- La recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citerne provenant de la wilaya de Media, de Chlef et d'Ain Defla au niveau de la laiterie d'Arib par le Beta star.
- Une recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru provenant de plusieurs communes de la Wilaya d'Ain Defla par le Delvotest SP

Les résultats ont montré la contamination de 50% des laits cru de citernes et 20% des laits crus de crémeries.

La situation actuelle, des laits crus de citernes et de crémeries au niveau de la wilaya d'Ain Defla est à prendre en considération par toutes les filières concernée par la production laitière.

Les mots clés : Lait cru, résidus d'antibiotiques, Beta star, Delvotest, citernes, crémeries.

SUMMARY

We notice in the present time in Algeria, an abusive and anarchic use of the antibiotic in veterinary practice. It is a question of no respect of the waiting time and absence of regulations concerning the maximal limits authorized of residues of antibiotic in animal food for human consumption.

The raw milk is one of the ways of elimination of the antibiotic residues some is their mode of administration, mainly, those used for the treatment of the mastitis. However, these residues constitute a major concern as well for the consumers on the medical level as for the industrialists on the technological level.

This study is based on:

The search for antibiotic residues in raw cistern milk from the wilaya of Média, the wilaya of Chlef and the wilaya of Ain Defla by the Beta star.

-A research for antibiotic residues in raw milk originated from several communes of the Wilaya of Ain Defla by the Delvotest.

The actual situation of milk tanks and creameries in the wilaya of Ain Defla must be taken in consideration by all the concerned dairy production chains.

Key words : raw milk, residues antibiotics, Delvo test SP, Beta star, Dairy, Creamerie.

ملخص

نلاحظ حاليا في الجزائر استعمال مفرط و عشوائي للمضادات الحيوية في التطبيق البيطري يتعلق بشكل خاص بعدم احترام مهلة الانتظار و انعدام التنظيم فيما يخص النهايات القصوى المرخصة لرواسب المضادات الحيوية في المواد الغذائية من أصل حيواني الموجهة للاستهلاك البشري .

الحليب الطازج هو احد طرق التخلص من رواسب المضادات الحيوية مهما كانت طريقة استعمالها، خاصة لعلاج التهابات الضرع الا انا هذه الرواسب تشكل مصدر قلق كبيرا يشغل كلا من المستهلك و ذلك على مستوى الصحي و كذلك الصناعي على المستوى التقني.

الدراسة هذه تستند على :

البحث عن رواسب المضادات الحيوية في الحليب الطازج الأتي من ولاية شلف ,مدية و ولاية عين الدفلى على مستوى ملبنة عريب بواسطة بيتاستار .

البحث عن رواسب المضادات الحيوية في الحليب الطازج الاتي من عدة مقاطعات من ولاية عين الدفلى بواسطة دلفوتاست في مخبر المعهد البيطري بالبلدية .

الكلمات : حليب طازج ,رواسب مضادات حيوية ,مهلة انتظار ,بيتاستار ,دلفوتاست

المفتاحية

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Les principales constantes physiques du lait.....	03
Tableau 2 : Composition du lait en minéraux.....	06
Tableau3 : Classification des antibiotiques selon le type d'activité et le mécanisme d'action.....	11
Tableau 4 : Distribution des échantillons de lait cru.....	28
Tableau 5 : Résultats de la recherche des résidus de bêtalactamines dans les laits de citernes provenant de la wilaya d'Ain Defla.....	31
Tableau 6 : Résultats de la recherche des résidus de bêta-lactamines dans les laits crus de citernes provenant de la wilaya de Chlef.....	32
Tableau 7 : Résultats de la recherche des résidus de bêta-lactamines dans les laits crus de citernes provenant de la wilaya de Médéa.....	33
Tableau 8 : Résultats de la recherche des résidus des bêta-lactamines dans les trois wilayas confondus.....	34
Tableau 9 : Résultats de la recherche des résidus de tétracycline dans les laits de citernes provenant de la wilaya d'Ain Defla.....	35
Tableau 10 : Résultats de la recherche des résidus des tétracyclines dans les laits de Chef.....	36
Tableau 11 : Résultats de la recherche des résidus de tétracycline dans les laits de citernes provenant de la wilaya de Médéa.....	36
Tableau 12 : Résultats de la recherche des résidus des tétracyclines dans les trois wilayas.....	37
Tableau 13 : Comparaison entre les résultats des bêtalactamines et des tétracyclines.....	38

Tableau 14 : Résultats finals de la contamination des laits crus de citernes par les béta-lactamines et des tétracyclines.....	39
Tableau 15 : Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de crémèries de la commune (Milaina).....	47
Tableau 16 : Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de crémèries de la commune (Khemis).....	48
Tableau 17 : Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de crémèries de la commune (Khemis).....	49
Tableau 18 : Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de crémèries de la commune (BIR weld dKhlifa).....	50
Tableau 19 : Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de crémèries des quatre communes confondues.....	51

SOMMAIRE

Introduction.....	01
-------------------	----

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 : Le lait

1.1. Définition du lait.....	02
1.2. Caractères physiques du lait.....	02
1.3. Composition chimique du lait.....	04
1.3.2. Eau.....	04
1.3.2. Matière grasse.....	04
1.3.3. Glucides.....	04
1.3.4. Matière azotée.....	05
1.3.4.1. Protéines.....	05
1.3.4.2. Matières azotées non protéiques(ANP).....	06
1.3.5. Matières salines et sels.....	06
1.3.6. Vitamines.....	07
1.3.7. Enzymes.....	07
1.4. Compositions biologiques.....	07
1.4.1. Cellules du lait.....	07
1.4.2. Microorganismes.....	08
1.5. Caractères physico-chimiques du lait.....	08
1.5.1. Densité.....	08
1.5.2. Point de congélation.....	08
1.5.3. Point d'ébullition.....	08
1.5.4. Acidité du lait.....	09

CHAPITRE 2 : Les antibiotiques

2.1. Historique.....	10
2.2. Définition.....	10
2.3. Caractéristiques des antibiotiques.....	10
2.3.1. Spectre d'action.....	10
2.3.2. Caractères bactériostatique et bactéricide.....	10
2.3.3. Pharmacocinétique des antibiotiques.....	12
2.3.3.1. Absorption.....	12
2.3.3.2. Distribution.....	12
2.3.3.3. Biotransformation.....	13
2.3.3.4. Elimination.....	13
2.4. Utilisation des antibiotiques dans l'élevage bovin.....	14
2.4.1. Utilisation des antibiotiques à titre curatif ou préventif.....	14
2.4.2. Utilisation des antibiotiques comme facteurs de croissance.....	15

CHAPITRE 3 : Résidus d'antibiotique et les risques associés

3.1. Résidus d'antibiotique.....	16
3.1.1. Définition.....	16
3.1.2. Limite maximale des résidus.....	16
3.1.3. Délai d'attente.....	17
3.1.3.1. Définition.....	17
3.1.3.2. Modalités de détermination du temps d'attente.....	17
3.2. Risques présentés par les résidus.....	17
3.2.1. Risques pour la santé publique.....	17
3.2.1.1. Problème d'allergie.....	18
3.2.1.2. Risques toxiques.....	18
3.2.1.3. Acquisition de la résistance.....	18

3.2.2. Risques pour la santé animale.....	19
3.2.3. Risques technologiques.....	19

CHAPITRE 4 : Méthodes de détection des résidus d’antibiotique dans le lait

4.1. Importance de la recherche des résidus d’antibiotique dans le lait.....	20
4.2. Méthodes de détection des résidus d’antibiotique.....	20
4.2.1. Méthodes microbiologiques.....	20
4.2.2. Méthodes officielles.....	20
4.2.3. Méthodes rapides.....	22
4.2.3.1. Delvotest.....	22
4.2.3.2. Copan test.....	22
4.2.3.3. Le valiot 101.....	23
4.2.4. Tests enzymatiques.....	23
4.2.4.1. Le penzyme.....	23
4.2.4.2. Le lumac.....	23
4.2.5. Méthodes immuno –enzymatiques.....	23
4.2.5.1. Delvo-X-press.....	23
4.2.5.2. Béta star.....	24
4.2.5.3. Snap test.....	24
4.2.5.3. MRL test.....	25
4.2.5.5. Le système charm II.....	25
4.2.5.6. Twinsenser.....	25
4.2.6. Méthodes physico-chimiques.....	25

PARTIE EXPERIMENTALE

Volet I : Recherche des résidus d’antibiotiques dans le lait cru de citerne

1. Période et lieu de stage.....	27
----------------------------------	----

2. Matériels et méthodes.....	27
3. Résultats.....	31
4. Discussion.....	41

Volet II : Recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de crèmerie

1. Période et de stage.....	43
2. Matériels et méthodes.....	43
3. Résultats.....	47
4. Discussion.....	53

Conclusion.....	54
------------------------	-----------

Recommandations.....	55
-----------------------------	-----------

Références bibliographiques

Annexes

1. Liste des abréviations
2. Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de crèmerie des 04 communes confondues de la wilaya d'Ain Defla

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Kit utilisé.....	28
Figure 2 : Distribution du lait dans le flacon de récepteur.....	29
Figure 3 : Introduction de bandelette.....	30
Figure 4 : La lecture immédiate.....	30
Figure 5 : Méthode de lecture.....	30
Figure 6 : Pourcentage des laits crus contaminés par les bêta-lactamines dans la wilaya d'Ain Defla.....	31
Figure 7 : Pourcentage des laits crus contaminés par les bêta-lactamines dans la wilaya de Chlef.....	32
Figure 8 : Pourcentage des laits crus contaminés par les bêta-lactamines dans la wilaya de Médéa.....	33
Figure 9 : Taux de contamination des laits crus par les résidus des bêta-lactamines dans les trois wilayas.....	34
Figure 10 : Pourcentage des laits contaminés par les tétracyclines dans la wilaya d'Ain Defla.....	35
Figure 11 : Pourcentage des laits contaminés par les tétracyclines dans la wilaya de Chlef.....	36
Figure 12 : Pourcentage des laits contaminés par les tétracyclines dans la wilaya de Médéa.....	37
Figure 13 : Pourcentages des résidus des tétracyclines dans les trois wilayas.....	38
Figure 14 : Pourcentage des résidus des tétracyclines et des bêta-lactamines.....	39
Figure 15 : Taux de contamination des laits crus des trois wilayas.....	40
Figure 16 : Kit du Delvotestsp.....	43

Figure 17 : Prélèvement du lait cru.....	44
Figure 18 : Distribution du lait dans l'ampoule.....	44
Figure 19 : Emplacement des ampoules dans l'incubateur.....	45
Figure 20 : Résultats négatifs.....	45
Figure 21 : Résultats douteux.....	45
Figure 22 : Résultats positifs.....	46
Figure 23 : Témoins du test.....	46
Figure 24 : Taux de contamination des laits crus de crémèries de (Miliana) par les résidus d'antibiotiques.....	48
Figure 25 : Taux de contamination des laits crus de crémèries de lac (Khemis) par les résidus d'antibiotiques.....	49
Figure 26 : Taux de contamination des laits crus de crémèries de (Khemis) par les résidus d'antibiotiques.....	50
Figure 27 : Taux de contamination des laits crus de crémèries de (BirweldKhlifa) par les résidus d'antibiotiques.....	51
Figure 28 : Taux de contamination des laits crus de crémèries des quatre communes confondues par les résidus d'antibiotiques.....	52

LISTE DES ABREVIATIONS

AFC : Antibiotiques Facteurs de Croissance.

ANP : Azote Non Protéique.

Cl: Chlore.

DES : Dose Sans Effet.

DJA : Dose Journalière Acceptable.

FAO : Food and Agriculture Organization.

g/L : Gramme par litre.

K: Potassium.

LMR : Limites Maximales des Résidus.

Mg: Magnesium.

ml: Millilitre .

Na : Sodium.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

OIE : Office Internationale des Epizooties.

P: Phosphor .

PMN : Polymorphonuclear.

RIA : Radio-Immunologique.

WHO : World Health Organization.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La filière laitière est aujourd'hui parmi les secteurs alimentaires dominée, leur développement nécessite une véritable prise en compte de la maîtrise des risques sanitaires pour garantir la santé du consommateur et la qualité des produits qui lui sont destinés.

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 quel que soit la gravité (**Yvan et Touitou , 1993**).

La présence des résidus antibiotiques dans le lait cru est un des paramètres d'altération de la qualité sanitaire du lait cru. ils doivent être une source de préoccupation des pouvoirs publics, surtout lorsqu'on connaît leurs effets néfastes sur la santé humaine (antibiorésistance, problèmes allergiques) et sur la technologie laitière (pertes économiques) (**Cautyl et Pereau, 2003**).

En effet, la présence de résidus inhibiteurs 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).

Dans ce contexte, nous avons réalisé notre étude expérimentale au niveau de la laiterie d'**Arib** qui a pour but de contrôler la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citernes provenant de la wilaya d'Aïn Defla .

Nôtre étude a pour objectif :

- La recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citernes de la laiterie d'Arib.
- La recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de crémèries de la wilaya d'Ain Defla.

1.1. Définition du lait

Le lait est un produit naturel de la sécrétion de la glande mammaire ; c'est un complexe nutritionnel qui contient plus de 100 substances différentes qui sont en solution, en émulsion ou en suspension dans l'eau (**Lederer, 1977**).

C'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 (**Larpen, 1996**).

Le lait destiné à l'alimentation humaine a été défini en 1908, lors du premier congrès international pour la répression des fraudes alimentaires, 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 » (**Bourgeois et Gariépy, 1977**).

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. Caractères physiques du lait cru

Sur le plan physique, le lait est à la fois une solution (lactose, sels minéraux), une suspension (matières azotées) et une émulsion (matières grasses) (**Anonyme 1, 2006**).

Le lait est un liquide opaque, plus au moins jaunâtre selon la teneur en carotène de sa matière grasse. Sa saveur est douce et son odeur faible, mais identifiable. Le pH est légèrement acide (**FAO /OMS, 2000**) (Voir tableau 1).

CHAPITRE 1 : Le lait cru

Tableau 1 : Les principales constantes physiques du lait (Lupien, 1995)

Constantes	Moyennes	Valeurs Extrêmes
Densité du lait entier à 20°C	1,031	1,028-1,033
Densité de la matière grasse	-	0,94-0,96
pH à 20°C	6,6	6,6-6,8
Acidité triturable (°Doronic) ^a	16	15-17
Point de congélation (°C)	-	-0,520 -0,550
Chaleur spécifique du lait entier à 15°C	0,940	-
Tension superficielle du lait entier à 15°C (dynes /cm)	50	47-53
Viscosité du lait entier à 25°C (centpoises)	1,8	1,6-2,1
Conductivité électrique à 25°C (siemens) ^b	45×10^{-4}	$40-50 \times 10^{-4}$
Point d'ébullition (°C)	-	100,17-100,15
Potentiel d'oxydoréduction	0,25V	+0,20- +30
Point de fusion des graisses (°C)	36	26-42

A : 1°D=0,1gr d'acide lactique /Litre

b : autre fois mohs

Du point de vue physique, le lait est un milieu hétérogène dans lequel trois phases distinctes coexistent (Lupien ,1995 ; Pougheon et Goursaud ,2001).

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

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

L'émulsion (**4,2%**), qui peut donner naissance à la crème, une couche de globules gras rassemblés à la surface du lait par effet de gravitation.

1.3. Composition chimique du lait cru

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. 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**).

1.3.2. Matière grasse

La majorité des matières grasses du lait sont les triglycérides (97 à 98%). Les 2 à 3% représentés par des phospholipides et du cholestérol, estérifié ou non, la presque totalité de la matière grasse est contenue dans des globules gras en suspension dans le lait cru. Ces globules gras présentent un diamètre variant de 2 à 12µm, avec une moyenne générale de 4µm (**Fontaine, 1992**), les globules gras dans le lait sont en émulsion de type "huile dans l'eau" (**Maur, 1990**).

La matière grasse du lait a une importance considérable dans l'industrie laitière, puisque c'est l'un des paramètres de base du paiement du lait par les producteurs (**Mevius et al., 1999**)

1.3.3. 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**).

1.3.4. Matière azotée

Selon LUQUET (**Maur ,1979**), on distingue deux types de matières azotées dans le lait:

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

1.3.4.1. Protéines

Elles constituent avec les sels la partie la plus complexe du lait. Leur importance tient à plusieurs raisons : quatrième groupe de substances par son abondance après l'eau, le lactose et les matières grasses (**Puyt et Guérin-FaubleéV, 2006**).

On distingue deux grands groupes de protéines dans le lait : les caséine et les protéines (**Anonyme 2, 2003**).

Les caséines ont une teneur de 27 g/l ; elles se répartissent sous forme micellaire de phosphocaseinate de calcium et elles sont facilement dégradées par toutes protéolytique (**Mevius et al., 1999**)

Les protéines solubles du lactosérum se répartissent entre (**Mevius et al., 1999**) :

- Les albumines : β lactoglobuline : 3 g
 - ✓ Lactalbumine : 1,2 g
 - ✓ Sérum albumine : 0,4 g
- Les globulines : Immunoglobulines : 0,7 g
 - ✓ Lacto-transferrine : 0,3 g
- les enzymes : Lipase, protéase, phosphatase alcaline,
 - ✓ Xanthine-oxydase, lactoperoxydase

La majeure partie des protéines du lait est naturellement synthétisée dans les cellules sécrétoires de la glande mammaire. Cependant certaines proviennent de plasmocytes spécialisés, d'autres du sang (**Fontaine M, 1992**).

1.3.4.2. Matières azotées non protéiques (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 (**Anonyme 3, 2007**).

1.3.5. 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° 2 indique la composition du lait en minéraux.

Tableau 2: 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**).

1.3.6. 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.

1.3.7. 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).

1.4. Composition biologique

Un lait, même recueilli aseptiquement et provenant d'un animal parfaitement sain, contient toujours des cellules parmi lesquelles on distingue :

1.4.1. Cellules du lait

Comme tout liquide biologique, le lait même normal, contient des cellules somatiques, elles sont de nature hétérogène, parmi lesquelles il y a les cellules d'origine sanguines (PMN, macrophages et les lymphocytes) impliquées essentiellement dans les défenses immunitaires de la mamelle, le lait contient également les cellules épithéliales qui proviennent de la desquamation de l'épithélium glandulaire ou des canaux lactifères ces dernières ne jouent aucun rôle physiologique particulier (**Rupp, 2000**). La présence des cellules somatiques ne

présente, elle-même, aucun pouvoir pathogène ou toxique mais elle est le signe révélateur d'existence de germes ou de produits indésirables (**Badinand , 1994**).

1.4.2. Micro-organismes

Le lait contient peu de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 5 000 germes/ml) (**Hermier, Lerois et Weber, 1992**). Il s'agit essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores microcoques, streptocoques lactiques et lactobacilles. D'autres microorganismes peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade. Ils sont généralement pathogènes et dangereux du point de vue sanitaire (**Larpen, 1996**).

1.5. Caractères physico-chimiques du lait

1.5.1. Densité

Le lait est deux fois plus visqueux que l'eau (**Veisseyre, 1975**), sa densité à 15°C varie de 1,028 à 1,035 pour une moyenne de 1,032.

On peut donc affirmer qu'un écrémage du lait augmentera sa densité et qu'un mouillage ou une addition d'eau la diminuera (**Amiot et al 2002**).

1.5.2. Point de congélation

Le point de congélation du lait est légèrement inférieur à celui de l'eau puisque la présence de solide solubilisé abaisse le point de congélation. Il peut varier de -0,530°C à -0,575°C avec une moyenne à -0,55°C (**Amiot et al 2002**).

Un point de congélation supérieur à -0,530°C permet de soupçonner une addition d'eau au lait. On vérifie le point de congélation du lait à l'aide d'une cryoscopie (**Amiot et al, 2002**).

1.5.3. Point d'ébullition

Comme pour le point de congélation, le point d'ébullition subit l'influence de la présence des solides solubilisés. Il est légèrement supérieur au point d'ébullition de l'eau, soit **100,5°C**. Cette propriété physique diminue avec la pression (**Amiot et al., 2002**).

1.5.4. Acidité du lait

Dès sa sortie du pis de la vache, le lait démontre une certaine acidité appelée (*acidité apparente*) ou (*acidité naturelle*) du lait. Elle varie entre 0,13 et 0,17 % d'équivalent d'acide lactique. Le lait cru ne contient qu'environ 0,002 % d'acidité lactique (**Amiot et al., 2002**). Un lait frais a une acidité de 18 °D (**Anonyme 4, 1997**).

2-1-Historique :

Le 3 septembre 1928, Alexander Fleming, de retour de vacances, constate que les boîtes de Pétri, où il faisait pousser des staphylocoques, ont été envahies par des colonies cotonneuses d'un blanc verdâtre, *Penicillium notatum* (**Bergogne-Bérézin et Dellamonica, 1999**).

Parallèlement sont préparés en 1935, les sulfamides, le premier groupe d'antibactériens artificiels. Par la suite de nombreux autres antibiotiques ont été isolés à partir de champignons inférieurs, mais aussi et surtout des bactéries telluriques (genre Actinomycètes, Bacillus ...) les plus productrices d'antibiotiques, les tétracyclines sont découvertes dans les années 1950 (**Puyt et Guerin-Faublé, 2006**).

2.2. Définition

Un antibiotique est une substance antibactérienne d'origine biologique, c'est-à-dire produite par des micro-organismes (champignons microscopiques et bactéries) ou de synthèse chimique et qui est capable d'inhiber spécifiquement la vitalité d'autres micro-organismes par un mécanisme particulier jouant sur les mécanismes vitaux du germe (**Gauthier, 2006**).

2.3. Caractéristiques des antibiotiques

2.3.1. Spectre d'action

Il est différent pour chaque famille d'antibiotique. Un antibiotique peut avoir un spectre d'activité large ou étroit, les antibiotiques à large spectre peuvent agir sur un grand nombre de bactéries différentes, à gram⁺ et à gram⁻, alors que ceux à spectre étroit n'agissent que sur les bactéries à gram⁺ ou à gram⁻ (**Cheyamol et al., 1999**).

2.3.2. Caractères bactériostatique et bactéricide

Correspond à l'arrêt de la prolifération ou la destruction des bactéries. Le tableau ci-dessous résume les principales familles des antibiotiques.

CHAPITRE 2 : Les antibiotiques

Tableau 3 : Classification des antibiotiques selon le type d'activité et le mécanisme d'action
(Anonyme 5, 2016) :

Famille d'antibiotique	Type d'activité	Mécanisme d'action
Beta-lactames : Pénicilline Amoxicilline Ceftiofur	Bactéricide sur les bactéries en prolifération.	Inhibition de la synthèse de paroi bactérienne.
Aminosides : Streptomycine Gentamicine Néomycine Spectinomycine	Bactéricide sur les bactéries en prolifération et au repos.	Inhibition de la synthèse des protéines.
Macrolides : Erythromycine Tylosine Spiramycine Kitasamycine Josamycine Tilmicosine	Bactériostatique sur les bactéries en prolifération.	Inhibition de la synthèse des protéines bactériennes.
Lincosamides : Lyncomycine	Bactériostatique sur les bactéries en prolifération.	Inhibition de la synthèse des protéines bactériennes.
Pleuromutilines : Tiamulin	Bactériostatique sur les bactéries en prolifération.	Inhibition de la synthèse des protéines bactériennes.
Phenicoles : Chloramphénicol Florepénicole	Bactériostatique sur les bactéries en prolifération.	Inhibition de la synthèse des protéines bactériennes.
Tétracyclines : Tétracycline Oxitétracycline	Bactériostatique sur les bactéries en prolifération.	Inhibition de la synthèse des protéines bactériennes.

CHAPITRE 2 : Les antibiotiques

Doxycycline		
Inhibiteurs de folate : Sulfonâmes Trémitoprim	Bactériostatique sur les bactéries en prolifération.	Modification du métabolisme énergétique.
Nitrofuranes : Furazolidone Furaldatone	Bactéricide\bactériostatique sur les bactéries en prolifération et au repos.	Inhibition de la réplication de l'ADN bactérien.
Polmyxines : Colistine	Bactéricide sur les bactéries au repos.	Inhibition de la synthèse de membrane cytoplasmique.
Quinolones : Acide oxolonique Fluor quinolones	Bactéricide sur les bactéries au repos et en prolifération.	Inhibition de la réplication de l'ADN bactérien.

2.3.3. Pharmacocinétique des antibiotiques

C'est l'étude qualitative et quantitative du devenir d'un médicament après son administration à l'organisme (**Anonyme 6 , 2006**) c'est à dire que la pharmacocinétique rapporte ce que l'organisme fait au médicament ; elle étudie comment le corps absorbe, distribue, métabolise et excrète ce dernier (**Anonyme 7, 2002**) .

Pour éradiquer une infection, l'antibiotique doit parvenir à son site d'action dans la cellule ou dans les liquides extra/péri cellulaire à des concentrations adéquates. On distingue classiquement quatre étapes pharmacocinétiques :

2.3.3.1 Absorption :

Permettre le passage du médicament du site d'administration vers la circulation générale ensuite au site de l'infection, ce passage est en fonction à la fois des propriétés de la molécule et des modalités d'administration (**Apelbaumet, 1989**).

2.3.3.2. Distribution

Après la résorption, le médicament se trouve dans le sang et va être transporté dans tous les tissus, il subit une étape sanguine de transport au cours de laquelle il est véhiculé vers les différents tissus (**Borin M et Joliet P, 1999**). En règle générale, on observe deux fractions du

principe actif dans le sang, une fraction liée aux protéines plasmatiques et une fraction libre qui diffuse dans les organes et les tissus et on observe alors une fixation tissulaire, les principes actifs dont la fixation tissulaire la plus importante laisseront en général le plus de résidus (Jaussaud, 2002).

2.3.3.3. Biotransformation

C'est l'ensemble des réactions biochimiques en générale enzymatiques ayant pour effet de modifier la structure des substances introduites dans l'organisme (Fantaine, 1992). Les biotransformations représentent un phénomène majeur dans le processus de formation des résidus : elles conditionnent en effet en grande partie la persistance des substances médicamenteuses dans l'organisme des animaux traités et dans les denrées issues de ces animaux (Jaussaud, 2002).

2.3.3.4. Elimination :

- Voies d'élimination :

L'élimination est la dernière phase du devenir du médicament, elle s'effectue par différente voie : par voie rénale, dans les urines, Par voie biliaire dans les matières fécales, par élimination dans œufs, par élimination lactée dans le lait.

-Élimination lactée :

Les études de la pharmacocinétique classique comprennent des dosages du principe actif dans le sang et ou dans le lait sans tenir compte des concentrations atteintes au sein du parenchyme mammaire. Des études plus récentes réalisées sur des mamelles isolées ont montré une certaine diffusion des antibiotiques dans le

Parenchyme mammaire, de nombreux facteurs peuvent modifier le comportement pharmacocinétique des substances administrées (Gehring et Smith, 2006). L'excrétion mammaire des antibiotiques varie en fonction de plusieurs facteurs :

- **Principe actif :**

Le passage dans le lait d'une molécule administrée par voie parentérale est très variable et cela dépend de sa disponibilité dans le sang, de son état d'ionisation (fonction du pKa de la substance et du pH du milieu) et de sa liposolubilité. Les antibiotiques bases faibles seront moins ionisés au pH du lait (6,6-6,8) et diffuseront beaucoup mieux que les acides faibles.

CHAPITRE 2 : Les antibiotiques

Les antibiotiques qui ont une forme non ionisée avec un coefficient de partage élevé, c'est-à-dire une plus grande liposolubilité, passeront mieux que les acides faibles (**Brouillet, 1994**).

- **Posologie et excipient :**

L'influence de l'excipient sur la durée des résidus dans le lait est beaucoup plus importante que celle de la dose administrée, en cas d'administration parentérale les excipients huileux entraînent une élimination plus longue qu'un excipient aqueux et en cas d'administration mammaire l'excipient détermine le délai d'attente dans la plupart des cas (**Moretain, Jp et Roudaud, B, 1985**).

- **Voie d'administration :**

Le changement de la voie d'administration peut modifier la concentration d'antibiotique dans le lait, pour la voie parentérale l'administration intraveineuse ou intra péritonéale entraîne une durée d'élimination plus courte que la voie intra musculaire (**Brouillet, Pl, 1984**). L'administration intra mammaire est couramment utilisée chez les vaches laitières.

Après administration intra mammaire dans le trayon du quartier infecté, il peut y avoir passage partiel de l'antibiotique dans les quartiers non traités selon deux mécanismes de passage :

- ✓ Par diffusion transeptale locale ou par les anastomoses vasculaires. Les antibiotiques les plus liposolubles et les moins liés aux protéines, sont les plus aptes à cette diffusion passive locale.
- ✓ Par passage des antibiotiques dans la circulation sanguine générale et diffusion dans les quartiers non traités. Ce phénomène dépend des capacités de transfert de l'alvéole vers la circulation générale et de la circulation générale vers la mamelle. L'importance du passage des antibiotiques dans le lait des quartiers non traités dépendent des propriétés physico-chimiques de l'antibiotique employé. Les substances neutres se répartissent de façon égale dans le sang et dans le lait, les substances acides ont un transfert faible alors que les bases se retrouvent en concentration supérieur dans le lait par rapport à leur concentration dans le sang (**Fiscus-Mougel, 1993**).

2.4. Utilisation des antibiotiques dans l'élevage bovin

2.4.1. Utilisation des antibiotiques à titre curatif ou préventif :

CHAPITRE 2 : Les antibiotiques

Au cours de leur vie, les animaux doivent parfois être traités avec des médicaments destinés à prévenir ou à guérir certaines maladies. Il arrive que des résidus de ces médicaments aboutissent dans des produits alimentaires (viande, lait ou oeufs, par exemple) provenant d'animaux producteurs d'aliments tels que bovins, ovins, volailles et poissons (**Châtaigner et Stevens, 2005**).

En France ce sont les antibiotiques qui représentent la première cause d'inhibiteurs dans le lait (**Fabre et al., 2000**), et les pics d'antibiotiques sont dus aux traitements par voie intramammaire plutôt qu'aux traitements par voie générale (**Sérieys, 2004**).

Il importe de souligner à nouveau que tout usage d'antibiotique même justifié et judicieux, entraîne éventuellement le développement ou la sélection de souches microbiennes résistantes, il ne faut donc pas seulement imputer le développement de l'antibiorésistance à des pratiques inappropriées ou abusives. Les antibiotiques sont en fait le seul groupe de médicament qui lorsqu'administrés à quelques individus peuvent avoir un impact sur des populations entières (**Weiss et al., 2011**).

2.4.2. Utilisation des antibiotiques comme facteurs de croissance (AFC)

Depuis 1950, l'augmentation de la productivité en élevage a été rendu possible à la suite de l'implantation de plusieurs pratiques, comme l'utilisation des antibiotiques pour prévenir ou guérir les maladies. Un autre usage des antibiotiques a fait son apparition dans les années 1960, soit leurs emploi à titre facteurs ou promoteurs de croissance (Institut national de la santé publique de Québec). Les AFC sont utilisés à des concentrations très faibles, le but n'étant pas d'éliminer systématiquement une bactérie ou un groupe de microorganisme en particulier, mais plutôt de maintenir une concentration constante d'antibiotique de manière à influencer en permanence la flore intestinale (**FAO\OIE\WHO., 2003**). Le règlement n°1831\2003 du 22\11\2003 de la commission européenne prévoyait la suppression définitive de l'usage des antibiotiques comme additifs en alimentation animale à la fin de l'année 2005 et c'est en 2006 que l'usage d'antibiotiques en tant qu'additifs en vue d'améliorer la croissance et les performances des animaux était banni dans l'union européenne (**Guillemot, 2006**).

CHAPITRE 2 : Les antibiotiques

CHAPITRE 2 : Les antibiotiques

partie bibliographique

3.1. Résidus d'antibiotique

3.1.1. Définition

Les résidus sont définis comme toutes substance pharmaco-logiquement active, qu'il s'agit de principes actifs, d'excipients ou de métabolites présents dans les liquides et les tissus des animaux après administration des médicaments, et susceptibles d'être retrouvé dans les denrées alimentaires d'origine animale, il s'agit des traces indésirables susceptibles de nuire à la santé humaine (**Kolbener et al., 2005**).

3.1.2. Limite maximale des résidus

C'est la concentration maximale en résidus (LMR) résultant de l'utilisation d'un médicament vétérinaire considéré comme sans risque sanitaire pour le consommateur et qui ne doit pas être dépassé dans ou sur les denrées alimentaires. Les LMR sont calculées en prenant compte de la santé du consommateur, le risque toxicologique, le risque microbiologique et surtout le risque économique d'inhibition de la transformation du lait (**Fabre et al., 2006**).

La fixation des LMR est obligatoire pour tous les principes actifs qui entrent dans des médicaments administrés aux animaux de production. La fixation de la LMR s'appuie sur les notions suivantes :

1-La dose sans effet (DES) :

C'est la plus forte dose ingérée régulièrement et à long terme qui ne produit aucun effet décelable chez l'animal d'expérience, les résultats sont ensuite extrapolés à l'homme (**Puyt, 2003**).

2-La dose journalière acceptable (DJA) :

Est calculée à partir de la dose sans effet, elle représente la quantité totale de substance que l'homme peut ingérer chaque jour pendant toute sa vie sans qu'il en résulte d'inconvénients pour sa santé, elle est exprimée en mg/kg par jour (**Puyt., 2003**).

3.1.3. Délai d'attente

3.1.3.1. Définition

Selon la directive 81\851\CEE émise par la communauté européenne, le temps d'attente est défini comme le délai entre la dernière administration à l'animal de l'antibiotique et le moment où celui-ci ne présente plus de résidus dans ses tissus ou dans ses productions (**Guillemot et al., 2006**). Le respect de ce temps d'attente permet de commercialiser les denrées qui présentent des concentrations inférieures ou proches de la LMR garantissant la protection de la santé du consommateur (**Ryckaert et al., 2003**).

3.1.3.2. Modalités de détermination du temps d'attente

Le temps d'attente est calculé en utilisant les résultats des études pharmacocinétiques de déplétion des résidus, réalisées sur un nombre suffisant d'animaux, recommandé par la ligne directrice (**Milhaud .G, Pinault .L, 1999**).

- **La méthode classique**

Consiste à fixer comme temps d'attente le délai nécessaire pour que tous les tissus, de tous les animaux d'essai présentent une teneur en résidus inférieure à la LMR fixée pour chacun d'eux. Certains états ajoutent un délai complémentaire de sécurité si par exemple on constate une grande variabilité des cinétiques de déplétion entre les animaux (**Milhaud .G, Pinault .L, 1999**).

- **La nouvelle méthode proposée**

Cette nouvelle méthode utilise une approche statistique se basant sur des principes de pharmacocinétique bien établis. Il est possible de déterminer le temps d'attente par une analyse de régression linéaire du log de la concentration en fonction du temps, cette méthode nécessite un nombre d'animaux plus élevé que la première (**Milhaud .G et Pinault .L, 1999**).

3.2. Risques présentés par les résidus

3.2.1. Risques pour la santé publique

3.2.1.1. Problème d'allergie

Le risque d'allergie est très faible si la LMR est respectée. En médecine humaine l'allergie est un effet secondaire reconnu des antibiotiques et en particulier des beta-lactames (car ces dernières sont à la fois très immunogènes et souvent utilisées) (**Fabre et al., 2006**). La réponse immunitaire allergique comporte deux phases : la phase sensibilisante et la phase déclenchante, ces deux phases nous permettent de distinguer deux particularités chez les antigènes :

-L'allergénicité d'un antigène qui correspond à sa capacité à induire la production d'immunoglobulines spécifiques de type E(IgE).

-L'immunogénicité d'un antigène qui correspond à sa capacité à être reconnu par certaines structures cellulaires et ainsi provoquer une réaction de type allergique chez les individus sensibilisés (**Fiscus-Mougel, 1993**).

3.2.1.2. Risques toxiques

La toxicité des antibiotiques est limitée, le cas de la toxicité fréquent cité est celui du chloramphénicol (**Guy et al, 2004**). Qui a été responsable d'anémies aplasiques chez l'homme, et l'utilisation vétérinaire de cette molécule est désormais interdite un peu partout dans le monde (**Fabre et al, 2006**).

3.2.1.3. Acquisition de la résistance

Toute utilisation d'antibiotique en médecine vétérinaire ou en médecine humaine accroît les risques d'apparition de bactéries résistantes, les risques les plus grands sont associés à certaines pratiques d'administration des antibiotiques comme celles qui consistent à administrer simultanément le produit à tout un troupeau, à administrer le produit de façon prolongée, ou de sur utiliser un même antibiotique. Aucun lien direct n'a été établi entre l'usage d'antibiotiques comme stimulateurs de croissance dans les élevages et les antibio-résistances apparues chez les humains. Cependant des chercheurs étudient la possibilité qu'un tel lien puisse exister (**Klotins, 2006**).

CHAPITRE 3 : Résidus d'antibiotiques et les risques associés

3.2.2. Risques pour la santé animale

Les antibiotiques utilisés en thérapeutique possèdent en règle générale une faible toxicité, ceci les différencie des antiseptiques externes qui ne peuvent en aucun cas être employés par voie générale, néanmoins certains antibiotiques présentent une forte toxicité générale qui empêche leurs emplois dans beaucoup d'espèces animales. C'est le cas des antibiotiques ionophores (monensin) qui présente une toxicité cardiaque majeure. En dehors des toxicités directes d'organes spécifiques à chaque antibiotique, toute antibiothérapie doit faire craindre au praticien surtout deux types d'effets indésirables, une perturbation de la flore digestive et des échecs thérapeutiques par sélection de résistance (**Puyt et al., 2006**).

3.2.3. Risques technologiques

La présence des résidus des antibiotiques dans le lait présente des conséquences néfastes pour la technologie laitière de fabrication de produits fermentés. Ces conséquences néfastes résultent essentiellement de l'inhibition partielle ou totale des phénomènes de fermentation bactérienne nécessaires à la fabrication de nombreux produits laitiers. Les fabrications les plus sensibles sont celles où interviennent les ferments lactiques et les germes d'aromatisation : yaourt, fromage, crème et beures maturés. En effet même une faible quantité d'antibiotique suffit en général à inhiber ces ferments (**Fiscus-mougel, 1993**). Les bactéries lactiques sont très sensibles à des doses très faibles des antibiotiques. La présence de résidus d'antibiotiques inhibent de manière partielle ou totale la croissance de ces ferments et se traduit de nombreux accidents (**Fabre et al., 2006**). Les accidents les plus connus sont les défauts de coagulation du lait, l'insuffisance de l'égouttage et les risques de prolifération incontrôlée de germes gazogènes, insensibles aux antibiotiques (**Labie, 1981**). Par conséquent un lait contenant des résidus d'antibiotiques n'est apte à la transformation (**Broutin et al., 2005**). Les résidus sont responsables de grandes pertes financières qui se répercutent tout le long de la filière laitière (**Abidi, 2004**). D'après des recherches, un seul traitement intra-mammaire peut rendre inutilisable plus de 100 000 litres de lait (**Fabre et al., 2006**).

CHAPITRE 3 : Résidus d'antibiotiques et les risques associés

4.1. 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**).

4.2. 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:

4.2.1 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 prélèvements peuvent ainsi être analysés 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**).

4.2.2. Méthode officielle

C'est une méthode biologique basée sur le principe d'inhibition de bactéries lactiques en présence d'un agent inhibiteur que l'on ne connaît pas. C'est la seule méthode qui permet, en cas de résultat positif, de sanctionner les producteurs dont le lait est régulièrement contrôlé (3-4 fois/mois) par les laboratoires interprofessionnels de contrôles du lait, indépendants des industries du lait (**Brouillet, 1994**).

Elle se déroule en deux temps :

1- Phase de dépistage

Jusqu'au 1^{er} janvier 2002, la recherche des inhibiteurs dans le lait était fondée 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.

2. Phase de confirmation

C'est une méthode qui permet de confirmer la présence d'une substance interdite ou posant des problèmes en transformation, ainsi que d'identifier la substance ou de moins sa famille **(Fabre, Moretain et Berthelot, 2002)**. Elle consiste à tester des échantillons douteux ou positif sur (02) boîtes de pétri différentes, sur (02) géloses ensemencées, l'une avec *Bacillus stearothermophilus*, détecte plus particulièrement les pénicillines et les tétracyclines, l'autre avec *Bacillus subtilis*, détecte préférentiellement les aminosides et les macrolides. Des disques de papier filtre de 5 à 6 mm de diamètre sont stérilisés dans une boîte de pétri en verre. Ils sont imprégnés des divers échantillons de lait en les maniant stérilement à la pince et en les trempant dans un tube contenant les échantillons. Après les avoir égouttés, on les place à la surface du milieu ensemencé **(Brouillet, 1994 ; Guiraud, 2003)**.

Au cours de l'incubation les antibiotiques éventuellement présents dans le lait diffusent dans la gélose et inhibent la croissance de l'organisme test **(Cnera et Lapied, 1981)**. Il en résulte la formation d'une zone transparente autour du disque Si le diamètre de cette zone d'inhibition est supérieur à 10 mm, le résultat est positif **(Brouillet, 1994 ; Beerens et Luquet ,1987)**.

CHAPITRE 4 : Méthodes de détection des résidus d'antibiotiques dans le lait

Certains pays se contentent de réaliser une seule analyse (le dépistage) et la confirmation peut consister en une reprise du test avec *B. stearothermophilus* (Fabre, Moretain et Berthelot, 2002).

4.2.3. Méthode rapide

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

4.2.3.1. 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 (Brouillet, 2002).

4.2.3.2. 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 micr oplaques pour les analyses collectives (Brouillet, 2002).

4.2.3.3. Le valiot 101 (Sanofi Bio-industries)

Le valiot T101 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. Le révélateur d'acidification et aussi un réactif coloré qui passe du bleu au jaune. La sensibilité du test avait l'avantage d'être très voisine de la méthode qui vient d'être abandonnée (**Brouillet, 2002**).

4.2.4. Tests enzymatiques

4.2.4.1. Le penzym (U.C.B Productions)

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**).

4.2.4.2. Le lumac

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

4.2.5. Méthodes immuno-enzymatiques

4.2.5.1. 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

CHAPITRE 4 : Méthodes de détection des résidus d'antibiotiques dans le lait

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 (Larpen, 1997).

4.2.5.2. 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).

4.2.5.3. Snap Test

Le Snap Bêtalactamines et Snap Tétracycline utilisent une méthode immuno-enzymatique. Le test utilise des récepteurs immunologiques conjugués à une enzyme qui se lient spécifiquement soit à l'antibiotique contenu dans le lait testé soit aux antibiotiques (bêtalactamines ou tétracyclines) fixés à la surface du test (Brouillet, 2002 ; Reybroeck, 2003).

4.2.5.4. 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**).

4.2.5.5. 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**).

4.2.5.6. 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 8, 2007**).

4.2.6. 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

CHAPITRE 4 : Méthodes de détection des résidus d'antibiotiques dans le lait

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 expérimentale

VOLET I : Recherche des résidus d'antibiotique dans le lait cru de citerne

Notre travail a pour objectif de rechercher les résidus d'antibiotique dans le lait cru destinés à la transformation provenant de la wilaya d'**Ain defla, Chlef** et **Médéa**.

1. Période et lieu de stage

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire microbiologique de la laiterie d'**Arib**, situé à **Ain defla**. Durant une période s'étalant du 19-12-2016 jusqu'au 03-04-2017.

2. Matériels et méthodes

2.1. Matériels

2.1.1. Matériels biologiques

- Lait cru de citernes de la laiterie d'arib

2.1.2. Matériels laboratoires

- Des flacons en verre stériles.
- Louche en acier.
- **kit d'analyse**

Le test beta star combo c'est une méthode de type « *Receptor assay* » pour la recherche rapide des résidus d'antibiotique de la famille des bêta lactamines et des tétracyclines.

Le coffret contient (**Figure 1**) :

- 25 flacons de récepteur.
- Un flacon blanc contenant 25 bandelettes.
- Une seringue en 25 embouts.
- Incubateur (fond plat) régulé à $47,5\text{ C}^0$ ($-/+ 0,1\text{ C}^0$).



Figure 1 : Kit utilisé.

2.2. Méthode

2.2.1. Prélèvement du lait

30 échantillons de lait cru ont été prélevés directement à partir de camions de citernes provenant des élevages. Le lait collecté est prélevé dans des flacons stériles et identifié portant le nom de la région correspondante (**Tableau 04**).

2.2.2. Origine des échantillons

Tableau 4 : Distribution des échantillons de lait cru

Régions	Nombre d'échantillons
Ain defla	19
Chlef	06
Médéa	05
Total	30

2.2.3. Technique d'analyse

Les étapes de l'opération sont les suivantes :

- Sortir un flacon de récepteur du coffret et s'assurer que tout le lyophilisat se trouve au fond du flacon.

PARTIE EXPERIMENTALE : Volet I

Remarque : pour faire descendre le lyophilisat au fond du flacon frapper délicatement le flacon sur une surface solide.

- Enlever la capsule et le bouchon du flacon de récepteur.
- Placer un embout neuf sur la seringue.
- Prélever 0,2 ml de lait à tester.
- Distribuer les 0,2 ml de lait dans le flacon de récepteur (**Figure 2**).



Figure 2 : Distribution du lait dans le flacon de récepteur.

- Reboucher le flacon et agiter doucement afin de dissoudre tout le lyophilisat.
- Mettre le flacon dans un des puits de l'incubateur stabilisé à la température $47,5\text{C}^{\circ}$.
- Au bout de 2 minutes, les mains sèches et propres, ouvrir le flacon blanc et prendre une bandelette et l'introduire dans le flacon, laissé en incubation à $47,5\text{C}^{\circ}$.
- 3 minutes après retirer la bandelette et la lecture sera immédiates.

PARTIE EXPERIMENTALE : Volet I



Figure 3 : Introduction de bandelette.

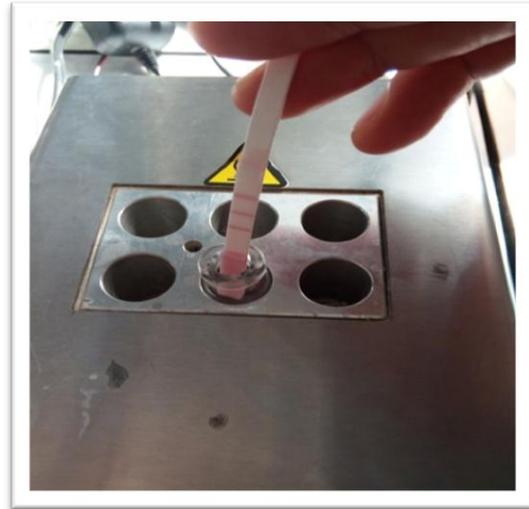
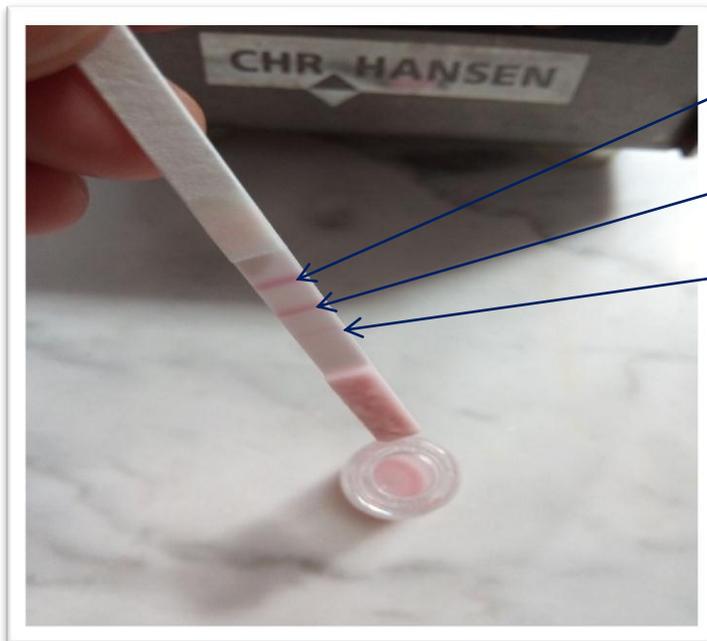


Figure 4 : La lecture immédiate.

- La lecture :



Bande de bêta lactamine

Bande de référence

Bande de tétracycline

Figure 5 : Méthode de lecture

- L'apparition d'une bande de même couleur que la bande de référence désigne une réaction négative. La non apparition de la bande désigne une réaction positive

(Figure 5).

3. Résultats

3.1. Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de citernes de la laiterie d'arib

Les résultats obtenus sur les analyses du lait de citernes de la laiterie d'arib, provenant de trois wilayas (Ain Defla, Clef et Méda) sont représentés comme suit :

3.1.1. Résultats de la recherche des bêta-lactamines

3.1.1.1. Wilaya d'Ain Defla

Le tableau 5 et la figure 6 représentent les résultats de la recherche des bêta-lactamines dans les laits crus de citernes de la commune d'ain Defla.

Tableau 5 : Résultats de la recherche des résidus de bêtalactamines dans les laits de citernes provenant de la wilaya d'Ain Defla.

N° de collecteurs	Nombre de prélèvement	Résultats			
		Positifs	%	négatifs	%
I	05	01	20	04	80
II	06	0	0	06	100
III	08	01	12,5	07	87,5
Total	19	2	10,52	17	89,47

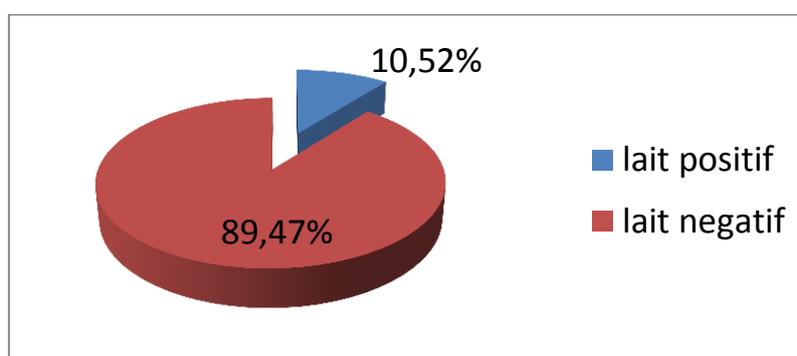


Figure 6 : Pourcentage des laits crus contaminés par les bêta-lactamines dans la wilaya d'Ain Defla.

Sur les 19 échantillons testés, 02 sont positifs avec un pourcentage de 10,5%, et 17 sont négatifs avec un pourcentage de 89,47%.

PARTIE EXPERIMENTALE : Volet I

3.1.1.2. Wilaya de Chlef

Le tableau 6 et la figure 7 représentent les résultats de la recherche des bêta-lactamines dans les laits crus de citernes de la commune de Chlef.

Tableau 6 : Résultats de la recherche des résidus de bêta-lactamines dans les laits crus de citernes provenant de la wilaya de Chlef.

N° de collecteurs	Nombre de prélèvement	Résultats			
		Positifs	%	négatifs	%
I	04	01	25	03	75
II	02	0	0	02	100
Total	06	01	16,66	05	83,33

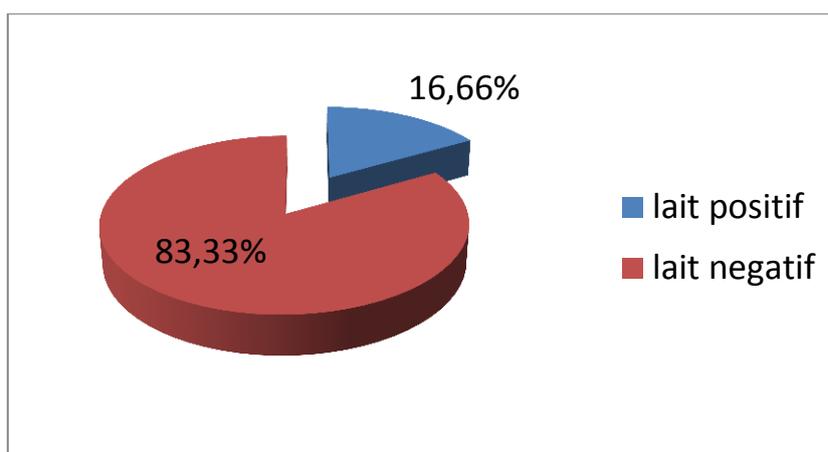


Figure 7 : Pourcentage des laits crus contaminés par les bêta-lactamines dans la wilaya de Chlef.

06 échantillons testés révèlent, 01 positif avec un pourcentage de 16,66% et 05 négatifs avec un pourcentage de 83,33%.

3.1.1.3. Wilaya de Médéa

Le tableau 7 et la figure 8 représentent les résultats de la recherche des bêta-lactamines dans les laits crus de citernes de la commune de Médéa.

PARTIE EXPERIMENTALE : Volet I

Tableau 7: Résultats de la recherche des résidus de bêta-lactamines dans les laits crus de citernes provenant de la wilaya de Médéa.

N° de collecteurs	Nombre de prélèvement	Résultats			
		Positifs	%	négatifs	%
I	03	0	0	03	100
II	02	0	0	02	100
Total	05	0	0	05	100

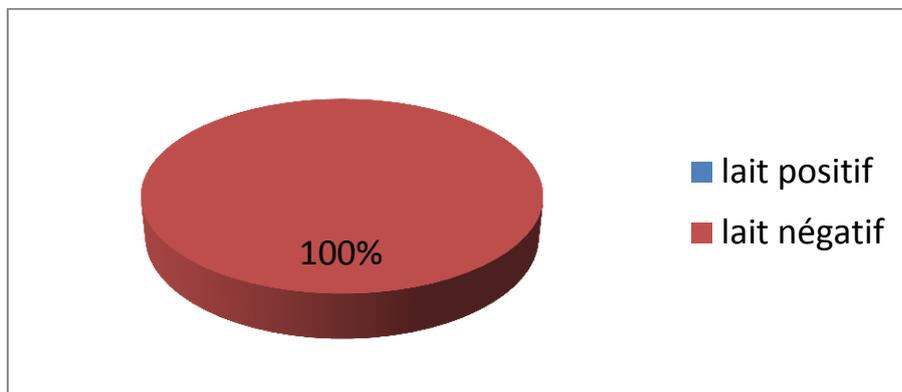


Figure 8 : Pourcentage des laits crus contaminés par les bêta-lactamines dans la wilaya de Médéa.

05 échantillons provenant de la wilaya de Médéa révèlent une négativité à 100% pour les bêta-lactamines.

3.1.1.4. Résultats confondus des trois wilayas

Les résultats de la recherche des bêta-lactamines dans les laits crus de citernes dans les trois communes confondus sont rapportés dans la figure V et le tableau 8.

PARTIE EXPERIMENTALE : Volet I

Tableau 8 : Résultats de la recherche des résidus des bêta-lactamines dans les trois wilayas confondues.

Wilayas	Nombre de prélèvement	Résultats			
		Positifs	%	négatifs	%
Ain Defla	19	02	10,52	17	89,47
Chlef	06	01	16,66	05	83,33
Médéa	05	0	0	05	100
Total	30	03	10	27	90

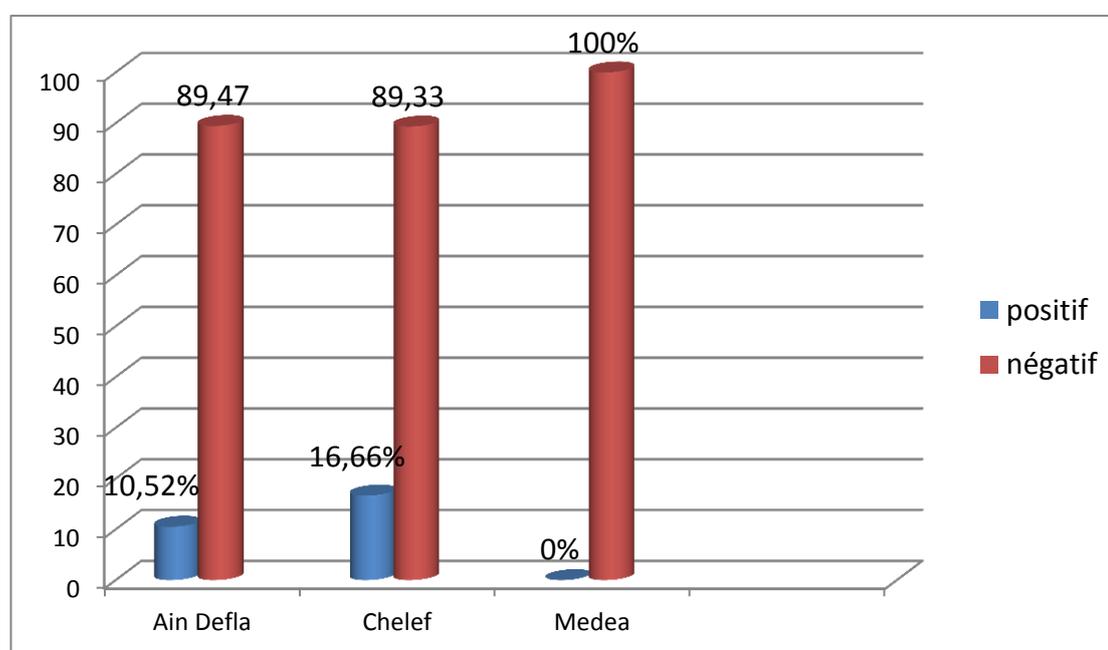


Figure 9 : Taux de contamination des laits crus par les résidus des bêta-lactamines dans les trois wilayas.

Nous constatons que les taux positifs les plus élevés sont notés dans la wilaya de chlef, soit un taux de 16,66%, suivie par Ain Defla avec un taux de 10,52%. Alors que les laits crus de la wilaya de Médéa n'ont présentés aucune contamination.

3.1.2. Résultats de la recherche des tétracyclines

3.1.2.1. Wilaya d'Ain Defla

PARTIE EXPERIMENTALE : Volet I

Les résultats de la recherche des tétracyclines dans les laits crus de citernes de la commune d'Ain Defla sont présentés dans le tableau 9 et la figure 10.

Tableau 9 : Résultats de la recherche des résidus de tétracycline dans les laits de citernes provenant de la wilaya d'Ain Defla.

N° de collecteurs	Nombre de prélèvement	Résultats			
		Positifs	%	négatifs	%
I	05	04	80	01	20
II	06	0	0	06	100
III	08	03	37,5	05	62,5
Total	19	07	36,84	12	63,16

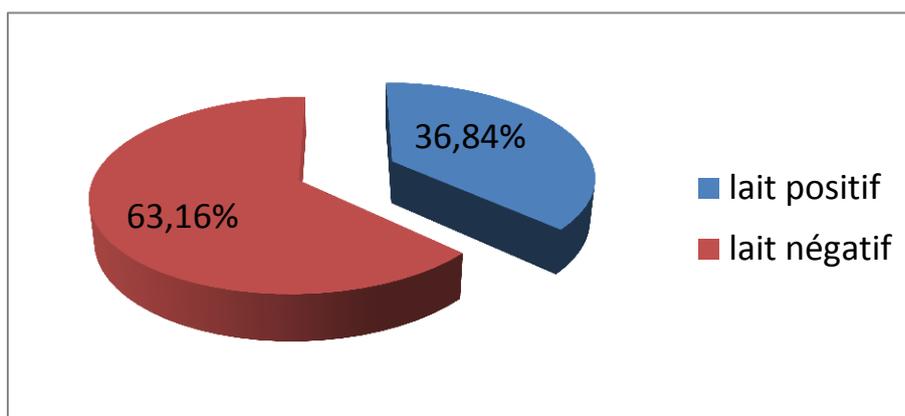


Figure 10 : Pourcentage des laits contaminés par les tétracyclines dans la wilaya d'Ain Defla.

19 échantillons testés révèlent, 07 positifs avec un pourcentage de 36,84% et 12 négatifs avec un pourcentage de 63,16%.

3.1.2.2. Wilaya de Chlef

Les résultats de la recherche des tétracyclines dans les laits crus de citernes de la commune de Chlef sont présentés dans le tableau 10 et la figure 11.

PARTIE EXPERIMENTALE : Volet I

Tableau 10 : Résultats de la recherche des résidus des tétracyclines dans les laits de Chelef.

N° de collecteurs	Nombre de prélèvement	Résultats			
		Positifs	%	Négatifs	%
I	04	02	50	02	50
II	02	01	50	01	50
Total	06	03	50	03	50

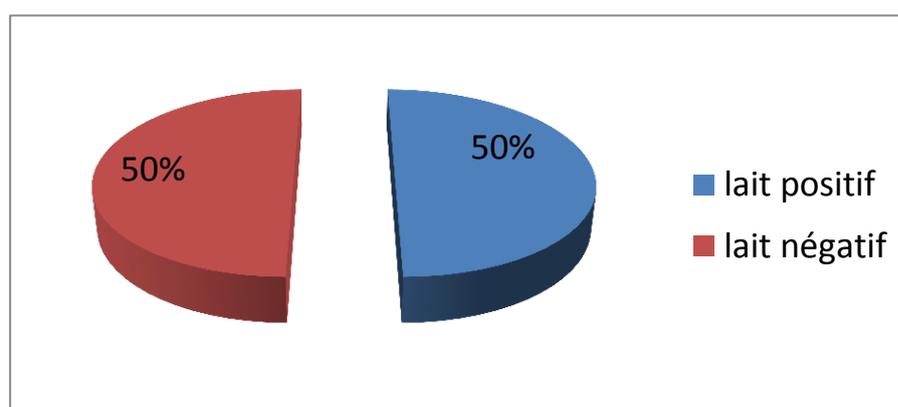


Figure 11 : Pourcentage des laits contaminés par les tétracyclines dans la wilaya de Chlef.

06 échantillons testés révèlent que 50% des laits analysés sont contaminé par les tétracyclines.

3.1.2.3. Wilaya de Médéa

Les résultats de la recherche des tétracyclines dans les laits crus de citernes de la commune de Médéa sont présentés dans le tableau 11 et la figure 12.

Tableau 11 : Résultats de la recherche des résidus de tétracycline dans les laits de citernes provenant de la wilaya de Médéa.

N° de collecteurs	Nombre de prélèvement	Résultats			
		Positifs	%	négatifs	%
I	03	03	100	0	0
II	02	01	50	01	50
Total	05	04	80	01	20

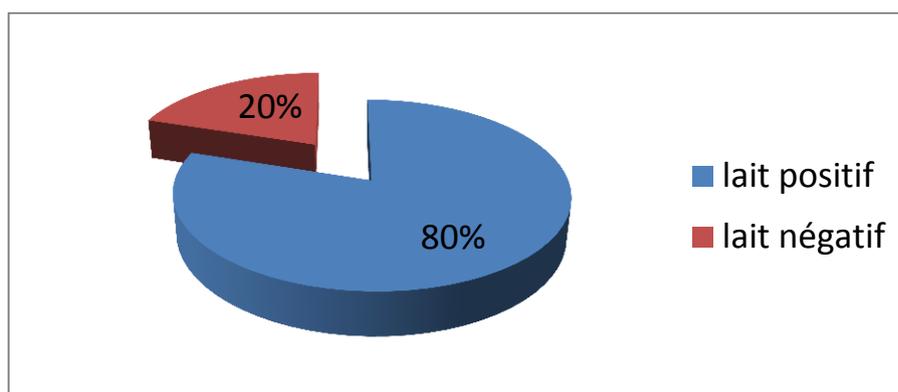


Figure 12 : Pourcentage des laits contaminés par les tétracyclines dans la wilaya de Médéa.

80% des laits crus de citernes analysés sont contaminés par les tétracyclines.

3.1.2.4. Résultats confondus de la recherche des résidus de tétracyclines des trois wilayas :

Les résultats de la recherche des tétracyclines dans les laits crus de citernes dans les trois communes confondus sont rapportés dans la figure 13 et le tableau 12.

Tableau 12: Résultats de la recherche des résidus des tétracyclines dans les trois wilayas.

Wilaya	Nombre de prélèvement	Résultats			
		Positifs	%	Négatifs	%
Ain Defla	19	07	36,84	12	63,16
Chlef	06	03	50	03	50
Médéa	05	04	80	01	20
Total	30	14	46,66	16	53,33

PARTIE EXPERIMENTALE : Volet I

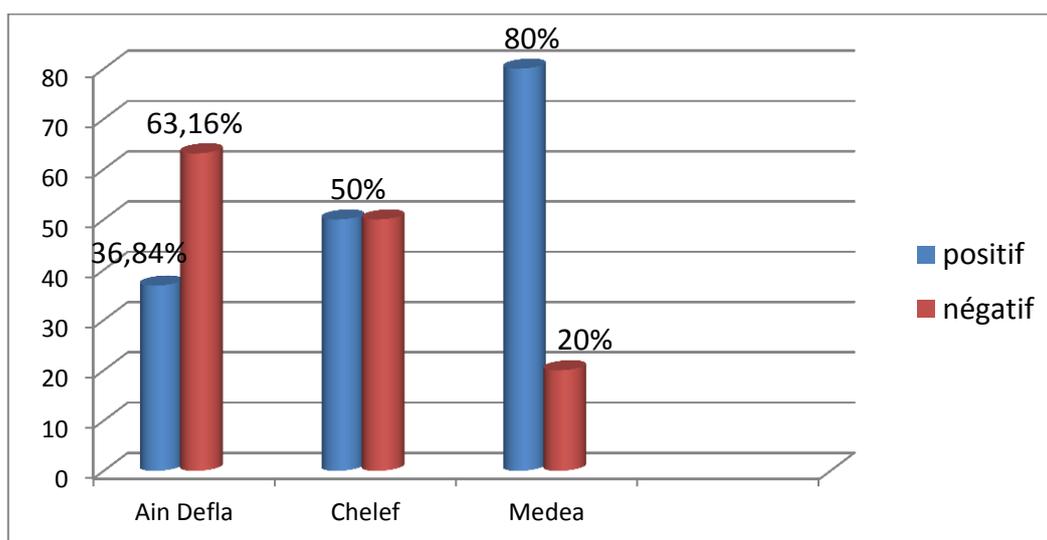


Figure 13 : Pourcentages des résidus des tétracyclines dans les trois wilayas.

Nous avons constaté que le taux de contamination par les tétracyclines le plus élevé a été enregistré au niveau de la wilaya de Médéa, soit 80%. Suivie par la wilaya d'Ain Defla et Chelef, soit respectivement un taux de contamination de 80% et 63,16%.

3.1.3. Comparaison entre les résultats des bêta-bactamines et des tétracyclines

La comparaison entre les résultats des résidus des bêta-lactamines et des tétracyclines est présentée dans le tableau 13 et la figure 14.

Tableau 13 : Comparaison entre les résultats des bêta-lactamines et des tétracyclines

Bêta-lactamines		Tétracyclines	
Positif (%)	Négatif (%)	Positif (%)	Négatif (%)
10	90	46,66	53,33

PARTIE EXPERIMENTALE : Volet I

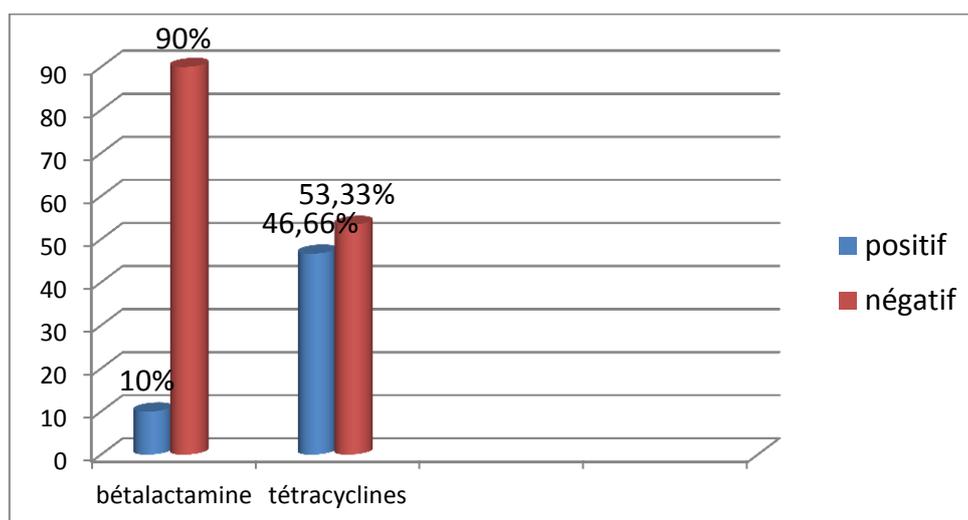


Figure 14 : Pourcentage des résidus des tétracyclines et des bêta-lactamines.

Nous avons constaté que le taux de positivité des résidus des tétracyclines (46,66%) est plus élevé par rapport à celui des bêta6lactamines (10%).

3.1.4. Résultats finals

Les résultats finals de la contamination des laits crus de citernes par les bêta-lactamines et des tétracyclines sont présentés dans la figure et le tableau suivants.

Tableau 14 : Résultats finals de la contamination des laits crus de citernes par les bêta-lactamines et des tétracyclines.

Nombre des résultats	Taux de positivité	%	Taux de négativité	%
30	15	50	15	50

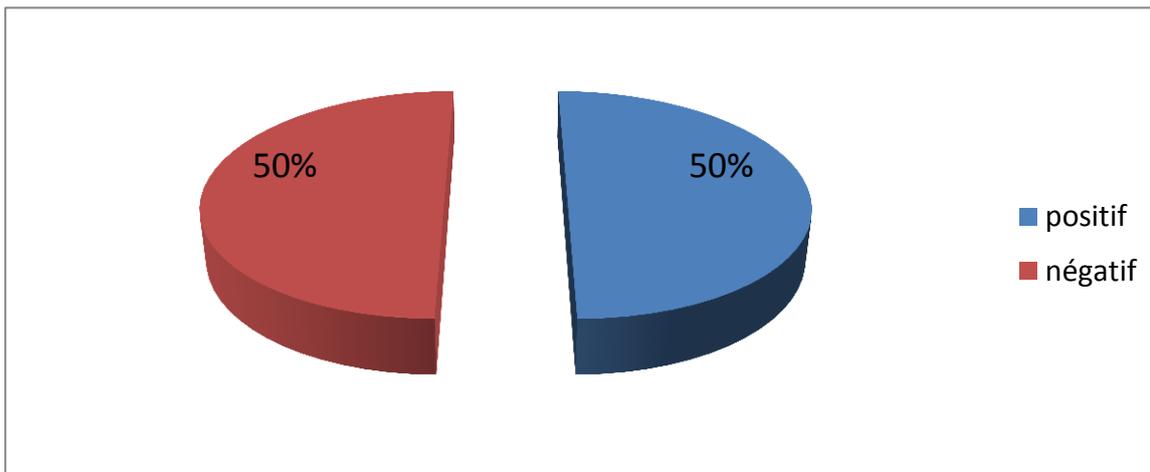


Figure 15 : Taux de contamination des laits crus des trois wilayas.

-D'après le tableau et la figure 15 on a constaté que le taux de positivité et de négativité des laits crus testés est identique (50%).

DISCUSSION

Notre étude portée sur la recherche des résidus des bêtalactamines et des tétracyclines dans le lait cru à l'aide du test bêta S.T.A.R combo.

Les résultats obtenus révèlent des réponses positives et autres négatives pour les deux antibiotiques.

- **Les résultats des Bêtalactamines**

Notre étude montre que sur 30 échantillons testés, 03 échantillons sont positifs, soit 10% et 27 sont négatifs, soit 90%. Contrairement à nos résultats, des études ont été réalisées par **Kress et al entre 2003-2005** montrent un taux de positivité élevé, soit 95% pour 63 échantillons testés.

Le pourcentage obtenu (10%) n'exclut pas l'utilisation accrue des bêta-lactamines vue leur faible toxicité.

- **Les résultats des Tétracyclines**

Nous avons constaté que sur 30 échantillons testés, 46.66% sont positifs et 53.33% sont négatifs. Cela montre que les Tétracyclines sont l'un des groupes d'antibiotique les plus utilisés en médecine vétérinaire à raison de leurs large spectre d'activité, de leurs faible toxicité et leur bonne diffusion tissulaire.

Après une interprétation des résultats le pourcentage de positivité des Tétracyclines (46.66%) et plus élevé par rapport à celui des Beta-lactamine (10%), vu l'utilisation accrue de cette molécule en médecine vétérinaire.

- **Les résultats finals**

Au cours de notre étude, nous avons constaté que 30 échantillons de lait testés 50% est considéré comme un lait sain ne contient ni des résidus de Tétracycline ni de Bêtalactamine, mais ce lait peut être contaminé par autre antibiotiques comme les Aminosides, les Polypeptides et les Phénicoles car le test Beta S.T.A.R Combo ne détecte que les Bêtalactamines et les Tétracyclines et 50% des échantillons sont positifs dans ce cas le lait est contaminé soit par les résidus de Bêtalactamines soit par les résidus de Tétracyclinessoit les deux en même temps.

PARTIE EXPERIMENTALE : Volet I

- Notre étude est proche de l'étude qui a été faite par **ZINEDINE et al en 2007** en Maroc qui a montré une contamination de 42,87% des laits crus analysés par la méthode microbiologique.
- Notre résultat positif (28.33%) est plus élevé que celui rapporté par **OUSSER en 2006** réalisé sur 50 échantillons sur le lait de citerne à l'aide de Delvotest qui révèle 12% de lait positif.

Par conséquent :

La présence de résidus d'antibiotique dans le lait constitue un risque technologique très grave pour la transformation du lait par les entreprises laitières sans oublier le grand risque pour la santé publique et surtout l'acquisition de la résistance aux antibiotiques.

Pour ces raisons il faut respecter la réglementation nationale qui stipule l'absence des résidus d'antibiotique dans l'alimentation (journal officiel de la république algérienne N^o 35 du 27-05-1998).

Volet II: Recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de crèmerie par le Delvotest SP.

Cette partie consiste à rechercher les résidus d'antibiotiques dans le lait cru récolter à partir des crèmeries, destiné à la consommation humaine au niveau de la wilaya d'Ain Defla.

1. Période et lieu de stage

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire microbiologique de la laiterie d'**Arib**, situé à **Ain Defla**. Durant le mois d'avril (2017),

2. Matériels et méthodes

2.1. Matériels

2.1.1. Matériels biologiques

- Lait cru de crèmeries de la wilaya d'Ain Defla (Miliana, Khemis, Ain Defla, Bir weld khelifa).

2.1.2. Matériels de laboratoires

- Des flacons en verre stériles.
- **kit d'analyse**

Le coffret contient (**Figure 16**) :

- ✓ **100** ampoules renfermant un milieu gélosé violacé, recouvertes d'une feuille d'aluminium.
- ✓ **100** embouts jetables pour le prélèvement du lait.

Le petit matériel : un incubateur régulé à $64\text{ C}^0 (+ - 0,5)$.



Figure 16 : Kit du Delvotest sp.

PARTIE EXPERIMENTALE : Volet II

1.1. Méthode

1.1.1. Prélèvement du lait

Les prélèvements sont réalisés à partir des cuves de réfrigérateur de lait destiné à la vente au niveau des crémeries, le lait recueilli dans des flacons en plastiques stériles et identifiés (portant le nom de la commune, le numéro de la crémérie et d'échantillon).

1.1.2. Origine des échantillons

20 échantillons de laits crus de crémeries proviennent de quatre communes (Miliiana, Khemis, Ain Defla et Bir weld khelifa) de la wilaya d'Ain Defla.

1.1.3. Technique d'analyse

Les étapes de l'opération sont les suivantes :

- Après avoir homogénéisé le lait, prélever à l'aide d'un embout 0,1 ml de lait (Figure 17).
- Versé le lait prélevé dans l'ampoule identifié correspondante (Figure 18).



Figure 17 : Prélèvement du lait cru



Figure 18 : Distribution du lait dans l'ampoule.

- Couvrir les ampoules avec l'aluminium.
- Placer les ampoules dans l'incubateur réglé à 64 C⁰ et les laisser en incubation pendant 3 heures (Figure 19).

PARTIE EXPERIMENTALE : Volet II



Figure 19 : Emplacement des ampoules dans l'incubateur.

- La lecture se fait dans les 2 /3 inferieurs de la gélose.
- ✓ La coloration jaune indique l'absence des antibiotiques à une concentration égale ou supérieure au seuil de la détection du test (Figure 20).

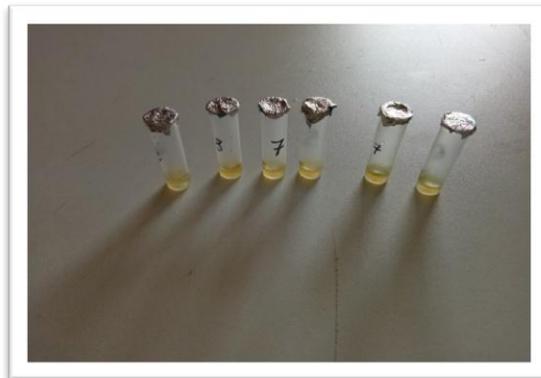


Figure 20 : Résultats négatifs.

- ✓ Une coloration jaune violette indique la présence des antibiotiques à une concentration égale ou inférieure au seuil de détection (Figure 21).

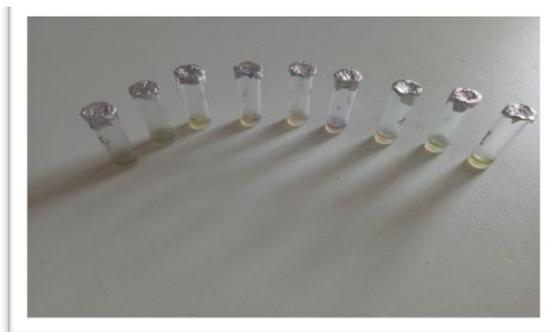


Figure 21 : Résultats douteux.

PARTIE EXPERIMENTALE : Volet II

- ✓ La coloration violette indique la présence des antibiotiques à une concentration égale ou supérieure au seuil de détection (Figure 22).



Figure 22 : Résultats positifs.

Remarque : 2 échantillons sont analysés, le premier est exempt des antibiotiques et le deuxième standard de pénicilline, sont considérés comme témoin du test (Figure 23).



Figure 23 : Témoins du test

3. Résultats

3.1. Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de crémèries de la wilaya d'Ain Defla.

Les résultats obtenus (Annexe 1) sur les analyses du lait cru de crémèries de la wilaya d'Ain Defla, provenant de quatre communes (Miliana, Khemis, Ain Defla, Bir weld Khlifa) sont représentés comme suit :

3.1.1. Miliana

Le tableau 15 et la figure 24 représentent les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans les laits crus de crémèries de Miliana.

Tableau 15: Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de crémèries de la Milina.

	Echantillons analysés	
	Nombre de prélèvement	%
Positif	01	20
Négatif	01	20
Douteux	04	60
Total	06	100

PARTIE EXPERIMENTALE : Volet II

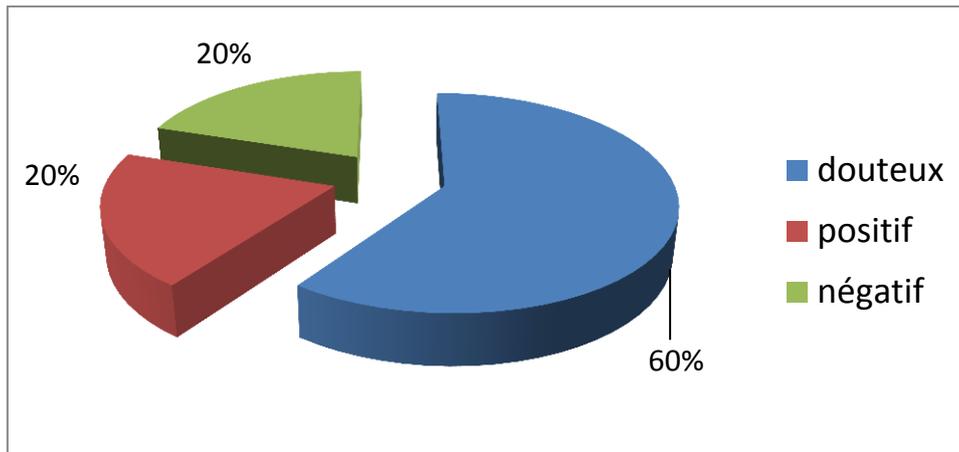


Figure 24 : Taux de contamination des laits crus de crémèries de Miliana par les résidus d'antibiotiques

06 échantillons analysés dont 01 positif avec un pourcentage de 20% et 01 négatif avec un pourcentage de 20% et 04 douteux avec un pourcentage de 60%.

3.1.2. Khemis

Le tableau 16 et la figure 25 représentent les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans les laits crus de crémèries de Khemis.

Tableau 16 : Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de crémèries de Khemis.

	Echantillons analysés	
	Nombre de prélèvement	%
Positif	01	25
Négatif	01	25
Douteux	02	50
Total	04	100

PARTIE EXPERIMENTALE : Volet II

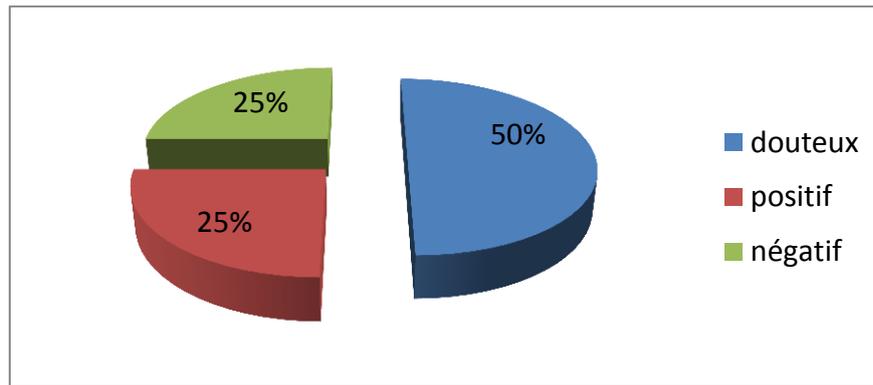


Figure 25 : Taux de contamination des laits crus de crémèries de Khemis par les résidus d'antibiotiques

Sur les 04 échantillons analysés, 01 positif avec un pourcentage de 25% et 01 négatif avec un pourcentage de 25% et 02 douteux avec un pourcentage de 50%.

3.1.3. Ain Defla

Le tableau 17 et la figure 26 représentent les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans les laits crus de crémèries d'Ain Defla.

Tableau 17 : Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de crémèries d'Ain Defla.

	Echantillons analysés	
	Nombre de prélèvement	%
Positif	02	33,33
Négatif	03	50
Douteux	01	16,67
Total	06	100

PARTIE EXPERIMENTALE : Volet II

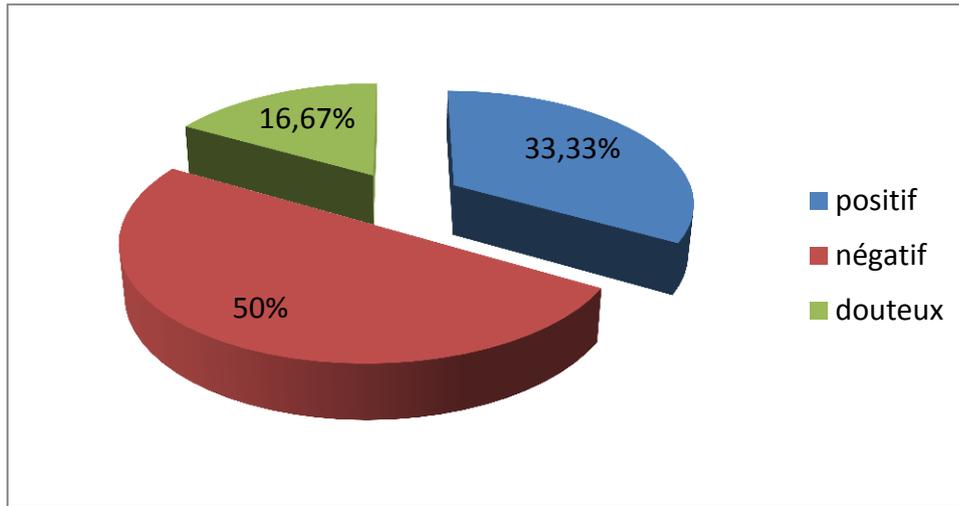


Figure 26 : Taux de contamination des laits crus de crémèries d’Ain Defla par les résidus d’antibiotiques

06 échantillons analysés dont 02 positifs avec un pourcentage de 33,33% et 03 négatifs avec un pourcentage de 50% et 01 douteux avec un pourcentage de 16,67%.

3.1.4. Bir weld Khlifa

Le tableau 18 et la figure 27 représentent les résultats de la recherche des résidus d’antibiotiques dans les laits crus de crémèries de la Bir weld Khlifa.

Tableau 18 : Résultats de la recherche des résidus d’antibiotiques dans le lait cru de crémèries de BIR weld Khlifa.

	Echantillons analysés	
	Nombre de prélèvement	%
Positif	00	00
Négatif	02	50
Douteux	02	50
Total	04	100

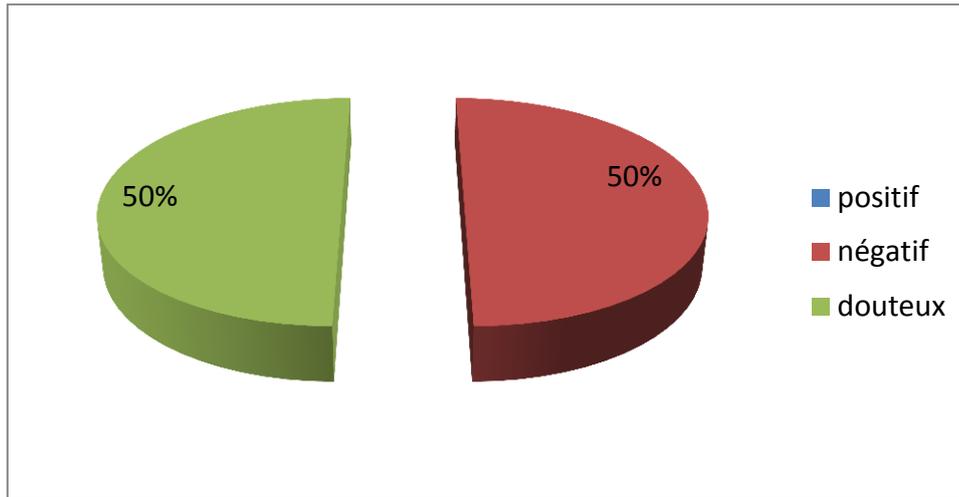


Figure 27 : Taux de contamination des laits crus de crémeries de Bir weld Khelifa par les résidus d'antibiotiques

-04 échantillons analysés dont 02 négatifs avec un pourcentage de 50% et 02 douteux avec un pourcentage de 50% et aucun test n'est révélé positif.

3.1.5. Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques des quatre communes confondues

Les résultats détaillés de la contamination des laits de crémeries des quatre communes confondues sont présentés dans l'annexe 1.

Le tableau 19 et la figure 28 représentent les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans les laits crus de crémeries des quatre communes confondues.

Tableau 19 : Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de crémeries des quatre communes confondues.

Résultats	Nombre de prélèvement	Pourcentage(%)
Positif	04	20
Négatif	07	35
Douteux	09	45
Total	20	100

PARTIE EXPERIMENTALE : Volet II

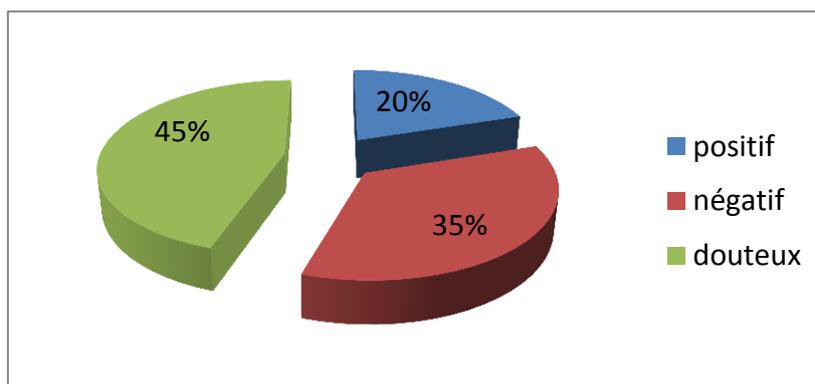


Figure 28 : Taux de contamination des laits crus de crémèries des quatre communes confondues par les résidus d'antibiotiques

20 échantillons testés révèlent 04 échantillons positifs avec un pourcentage de 20%, 07 échantillons négatifs avec un pourcentage de 35% et un taux élevé des laits douteux (45%).

DISCUSSION

La deuxième partie de notre recherche est basée sur la recherche des résidus d'antibiotique dans le lait cru provenant des crémeries de 04 régions de la wilaya d'Ain Defla. Les résultats sont issus de 20 échantillons analysés à l'aide du Delvotest SP.

Ils montrent que :

- 07 échantillons sont négatifs avec un pourcentage de 35%.
- 04 échantillons positifs avec un pourcentage de 20%.
- 09 échantillons douteux avec un pourcentage de 45%.

La contamination du lait par les résidus est rapportée par plusieurs chercheurs :

- Nos résultats sont proches à celles rapportés par OUZROUT en (2007) dont le taux de positivité est de 24% des laits provenant des élevages.
- Des recherches ont été réalisées par BADANI en 2004 rapportent un pourcentage de positivité de 28,84%.
- L'étude d'OUSSER réalisée sur 50 échantillons de lait cru de citerne à l'aide de delvotest SP rapporte la contamination de 12% des laits analysés.

La contamination du lait cru par les résidus d'antibiotiques peut être probablement expliquée par plusieurs hypothèses :

Le non-respect des délais d'attentes (l'éleveur ne connaît pas ou ne respecte pas les règles d'utilisation des médicaments).

L'utilisation des antibiotiques à titre curatifs dont l'objectif majeur est d'éradiquer l'infection, d'obtenir la guérison des animaux cliniquement malades, d'éviter leur mortalité et de restaurer leur production.

La présence de résidus d'antibiotiques dans les laits de crémeries reflète l'utilisation des antibiotiques dans les fermes, sans respect du délai d'attente par les éleveurs et le non-respect de la dose prescrite dans la notice par certains vétérinaires.

PARTIE EXPERIMENTALE : Volet II

CONCLUSION

CONCLUSION

La présence des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires notamment le lait cru, est parmi les paramètres d'altération de la qualité sanitaire du lait cru.

La santé humaine peut se trouver compromise par la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait cru par des risques toxicologiques, allergiques et de la résistance, c'est pour cela, nous nous sommes intéressées dans le cadre de notre travail à l'estimation de la contamination du lait cru de citernes et de crémèries.

Cette étude révèle la contamination de la moitié des citernes analysées dont la plupart l'étaient pour les tétracyclines et moins pour les bêta-lactamines et presque le quart des crémèries contrôlées par les résidus d'antibiotiques. Ce qui reflète l'utilisation accrue de ces derniers, ce qui constitue un risque non négligeable aux industries et aux consommateurs, dans ce cas la responsabilité des producteurs, liée au non-respect de délai d'attente et celle du vétérinaire dans le non-respect de la dose prescrite est engagé.

A notre niveau, notre échantillonnage n'est pas suffisant, ce qui ne nous permet pas de conclure définitivement sur la qualité réelle du lait cru de citerne de la laiterie et de crémèries, car il faudrait sans doute effectuer des analyses sur un nombre d'échantillons beaucoup plus important avec une durée de stage plus longue.

RECOMMANDATIONS

RECOMMANDATIONS

Pour maîtriser les risques et éviter les accidents de contamination du lait cru par les résidus d'antibiotiques, il est de maitre en œuvre quelques bonnes pratiques :

- Identifier systématiquement et marquer visuellement tous les animaux traités, y compris les animaux taris.
- Enregistrer tous les traitements dans le cahier sanitaire et conserver les ordonnances.
- Bien connaître les exigences d'utilisation des médicaments employés, et se conformer à la prescription du vétérinaire.
- Bien transmettre les consignes en cas de changement de trayeur.
- Ecarter le lait de tous les quartiers pendant tous le délai d'attente.
- Respecter la période colostrale (pas de livraison avant le septième jour suivant le vêlage).
- Sur les animaux taris bien vérifier le délai d'attente appliqué en cas de durée de tarissement courte ou de vêlage avant terme.
- Le vétérinaire doit informer l'éleveur de respecter le délai d'attente du médicament.
- Le vétérinaire doit utiliser des antibiotiques colorés.
- Un contrôle rigoureux doit être imposé avec des tests de contrôle choisis en fonction des contraintes technologiques et économiques.
- Faire systématiquement une recherche des résidus d'antibiotiques de toutes les citernes ainsi que le lait cru de crèmerie.
- Il faut informer le grand public sur les risques des résidus d'antibiotique des denrées alimentaires d'origine animale.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **ABIDI, K., (2004)** «Résidus d'antibiotiques dans le lait de boisson». Thèse : Médecine vétérinaire École nationale de médecine vétérinaire de Sidi Thabet, Tunisie, 6-23p.
- **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».
- **AMIOT J., FOURNIER., LEBEUF Y., PAQUIN P ET SIMPSON R (2002)** «Composition, propriétés physico-chimiques, valeurs nutritives, qualité technologique du lait », in : vignola c.l « science et technologie du lait :transformation du lait »,école polytechnique de montreal, 1,73.
- **ANONYME 1, (2006)** «Lait » encyclopedie libre ,doc 3 page 34 .
- **ANONYME 2, (2003)** « Antibiotiques. les antibiotiques sont de précieux alliés à préserver », page 24-32.<http://www.simv.org/publications/guide-medicament/p24-32.pdf> (consulter le 10-03-2017).
- **ANONYME 3, (2007)** «Readsensor instructions chapitre ii: generaluser'smanual, readsensorinstructions, version 1.2: pending the upgraded version, 11-38 ».
- **ANONYME 4, (1997)** «Encyclopedia,universalis»,France.
- **ANONYME 5, (2016)** «La vie vétérinaire –la classification, le type d'activité, mécanisme d'action, spectre d'activité ». <http://www.aminevet.blogspot.com/2016/03/classification-antibiotique/html>. (Consulter le 28-01-2017).
- **ANONYME 6, (2006)** «Pharmacocinétique et modalités d'administration des antibiotiques». <http://www.infectiologie.com/site/medias /JNI/JNI06/IDE/ati1-Saux.Pdf.origine> (consulter le 02-02-2017).
- **ANONYME 7, (2002)** «Pharmacologie générale : définition et origine des antibiotiques, cours, Université catholique de Louvain pharmacologie et pharmacothérapie des anti infectieux». <http://www.anti infectieux. org /anti infectieux/PLG/PLG-définition-origine-AB.html> (Consulter le 15-12-2016).
- **APELBAUMET, (1989)** «Diététique et nutrition. Ed Maison paris, 427 p».
- **BADANI, K (2004)**«Recherche de résidus d'inhibiteurs dans le lait. Mémoire pour le diplôme de docteur vétérinaire. Université de Blida. P44».

- **BADINAND F (1994)** « Maitrise du taux cellulaire du lait », rec., med, vet, 170(6/7), 419-427.
- **BEAL ET SODINI (2003)** « Fabrication de yaourt et de lait fermenté », ed tec et doc 6315 p16.
- **BEERENS, H. ET LUQUET, F. M., (1987)**, «Guide pratique d'analyse microbiologique des laits et des produits laitiers », lavoisier, tech & doc, paris, 124-137.
- **BERGOGNE-BEREZIN. E ET DELLAMONICA. P., (1999)** «Antibiothérapie en pratique clinique.Édition MASSON, p. 2-13».
- **BILLON J ET SENG HUOR T, (1979).** «Détection des antibiotiques, identification et dosage par la methode electrophoretique -le lait, 587,361-375»
- **BOURGEOIS J ET GARIEPY Y. (1977)** « Précis de pharmacologie ».
- **BOURIN, M ET JOLIET, P., (1999)** «Pharmacologie générale et pratique. 3^{ème} édition, 16-25p».
- **BROUILLET P, (2002).** «Les tests rapides de détection des antibiotiques dans le lait. bulletin des gtv. 15. avril – mai – juin : 183 – 189».
- **BROUILLET, P., (1994)** « Maîtrise de la présence d'inhibiteurs dans le lait », Rec.Méd.Vét. n° 170 (6/7), 445-455p.
- **BROUILLET, P., (2002)**, « Les tests rapide de detection des antibiotiques dans le lait », bull des group.tech.vet., n°15, 183-189.
- **BROUILLET, PL.,(1984)** « Maitrise de la présence d'inhibiteurs dans le lait, Rec, med, vet 445-455p».
- **BROUTI, C ET al ., (2005)** «Maîtrise de la qualité dans la transformation laitière Guide de bonnes pratiques d'hygiène, 29-31p».
- **CAUTYI ET PEREAU J. M., (2003)** «La conduite du troupeaulaitier»edt:france, agricole, p62.288».
- **CHATAIGNER, B. ET STEVENS, A., (2002)**, «Investigation sur la presence de residus d'antibiotiques dans les viandes commercialisees a dakar », projet pacepa, rapport de l'institut pasteur de dakar. 66 p
- **CHATAIGNER, B. STEVENS, A., (2005)** «Investigation sur la présence de résidus d'antibiotiques dans les viandescommercialisées à Dakar,Institut Pasteur de Dakar, p. 6-9».
- **CHEYMOL,G ET DUTICL, 1999** «Pharmacologie intégrée». Université S,A, 60p.

- **CNERNA., (1981)**, «Instruction pour la detection des antibiotiques et des sulfamides dans les laits livrés par les producteurs ». revue laitière française, n° 1073, in petransxieme, d. et lapied, l., « la qualité bactériologique du lait et des produits laitier, analyses et tests », 2eme édition, lavoisier, tech Édudoc, paris, (1981), 228 p.
- **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- 382p».
- **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. BOUQUET, M. ET PETIT,C (2006)**«Comprendre et prévenir les risques des résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animales, 25-47p ».
- **FABRE, J.M. GARDEY, L, LHERBETTE, L. DE BOISSESON, M. BERTHELOT, X. (2000)** «Détection des résidus de céfalexine dans le lait en cas d'allongement de la durée du traitement par voie intra mammaire». Revue de médecine vétérinaire, n°151, 965-968p.
- **FANTAINÉ, (1992)** «Vade mecum du vétérinaire, formulaire vétérinaire de pharmacologie, de thérapeutique et d'hygiène, 15^{ème} édition 106-119p, volume 1 ».
- **FAO /OMS ., (2000)**.Codex Alimentarius : «Lait et produits laitiers ».ed : 2.fao- oms .,rome ,136 p.
- **FAO/OIE/WHO, (2003)** «Joint FAO/OIE/WHO expert works on non human antimicrobial usage and antimicrobial resistance». http://www.who.int/food_safety/publication/micro/nov2003en/ (Consulter le 06-03-2017).
- **FISCUS-MOUGEL, F. (1993)**«Les résidus d'antibiotique dans les denrées d'origine, évaluation et maîtrise».
- **FONTAINE M. (1992)** « Vade-mecum du vétérinaire, formulaire vétérinaire de pharmacologie, de thérapeutique et d'hygiène », 15eme édition, page 106 119. volume 1.
- **GAUDIN, V ET AFSS, F., (2005)**. «Dossier de reconduction du test bétastar. test rapide de détection de résidus actifs d'antibiotiques de la famille des bêta lactamines (penicillines, céphalosporines) dans le lait.
- **GAUTHIER. E., (2006)** «Les antibiotiques : l'envers du miracle, 1-3 p». <http://agora.qc.ca/mot.nsf/Dossiers/Antibiotique>. (Consulter le 03-12-2016).

- **GEHRING, SMITH (2006)** «An overview of factors affecting the disposition of intramammary preparation used to treat bovine mastitis». Revue: Journal of Veterinary Pharmacology and Therapy (2006), n°29, p. 237-241.
- **GUILLEMOT, M, ET AL (2006)**«Usage vétérinaire des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquence pour la santé humaine». Document AFSSA (Agence Française de la Sécurité sanitaire des Aliments, 49-55p.
- **GUIRAUD, J.P.**, (2003), «Microbiologie alimentaire», edit dunod, paris, 387-413p».
- **JAMES ET CULLOR (1992)**. «Test for identifying antibiotic residues in milk : how well do they work .vet .med. december, 1235-1241p».
- **JAUSSAUD, P. (2002)** «Cours de pharmacologie, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon».
- **JEHL, F. ET LEVEIQUE, D., (1989)**, «Pharmacocinetique clinique appliquee aux antibiotiques autres que les aminosides» in le minor, I. et veron, m., « bacteriologie medicale », 2eme edition flammarion, 465-480.
- **KÖLBENER. P ET al (2005)** «Résidus de médicaments vétérinaires, Manuel suisse des denrées alimentaires, Chapitre 55, 1p».
- **LABIE LABIE ,CH (1981)** «Dispositions législatives destinées à éviter la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait». Revue : recueil de médecine vétérinaire, n°157, p. 161-167.
- **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., (1997)**. «Microbiologie alimentaire techniques de laboratoire. paris: technique et documentation, 1073p».
- **LARPENT J.P (1996)** « Lait et produits laitiers non fermentes »
BOURGEOIS, C.M., MESCLE, J.F. ET ZUCCA, J « Microbiologie alimentaire tome i » : aspect microbiologique de la securite et de la qualite des aliments. edit lavoisier tech&doc, paris, p 671.
- **LARPENT, J.P (1996)**. «Lait et produits laitiers non fermentés » . in bourgeois , c.m.,mescle ,j.f.et zucca ,j. microbilogie alimentaire tome i : aspect microbiologique de la securite et de la qualite des aliments. edit lavoisier tech & doc ,paris ,p671.
- **LEDERER J, (1977)** «Encyclopédie moderne de l'hygiène alimentaire. Tome ii. Hygiène des aliments. 2ème édition. Edition maloine, paris, 310 pages.
- **LUPIEN (1995)** « Le lait et produits laitiers dans la nutrition humain », roue, fao, p 272.

- **MAIRE, P., BARBAUT, X., THALABARD, JC., MENTRE, F. ET JELLIFFE, RW., (1989),** « Pharmacocinetique clinique appliquee aux antibiotiques » in le minor, I. et veron, m., «bacteriologie medicale » 2eme edition flammarion, 479-518.
- **MARTINEZ, E., ET WILBERT SHIMODA., (1988),** «Liquid chromatographic determination of tetracycline residues in animal feeds », j.assoc. off. anal.chem., 71-3.
- **MATHIEU J, (1998)** «Initiation à la physico-chimie du lait. edition lavoisier, technique et documentation, paris, 220p».
- **MAUR N. (1990)** « Vade-mecum des antibiotiques », 5eme edition, page 13-73.
- **MEVIUS. D-J, RUTTER.J-M, HART.C-A, IMBERECHTS.H, KEMPF. G, LAFONT. JP, LUTHMAN. J, MORENO. M-A, PANTOSTI. A, POHL.P AND WILLADSEN. C-M. (1999)** “Antibioticresistance in the european union associated with therapeutic use of veterinary medicines”. report and qualitative riskassessment by the committee for veterinary medicinal products, page 1-57. editions le point vétérinaire 2001.
- **MORETAIN, JP ET ROUDAUD, B. (1985)** «étude de l’élimination des résidus d’antibiotique dans le lait».
- **MOUILLET, L., (1991),** «Dosage des antibiotiques » in multon, j.l., « technique d’analyse des constituants alimentaires », tome iv, 2eme edit, lavoisier, tech doc, paris, apria, 319-332.
- **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».
- **OUZROUT, B (2007)** «Recherche des résidus de substances antibactériennes dans le lait. Mémoire pour le diplôme de docteur vétérinaire. Centre universitaire El-Taref. P73».
- **POCHARD, M.F., (1987),** «Determination des residus de chloramphenicol par chromatographie liquide haute performance en phase inverse», journal of chromatography., 21, 806-808.
- **POUGHEON S ET GOURSAUD J (2001)** « Le lait et ca constituants : caractere physico-chimique.in : lait, nutrition et sante », ed tec & doc, paris, p 441.
- **PUYT, J. GUERIN, D ET FAUBLE, V (2006)** «Médicaments anti infectieux en médecine vétérinaire, base de l’antibiothérapie, édition 2006, 1-26p».
- **PUYT, J.D (2003)** «Des résidus de médicament très surveillés». Revue : Réussir Lait Élevage, Réussir Bovins Viande : Dossier spécial médicaments Vétérinaires, Décembre 2003.
- **PUYT. J-D, GUERIN-FAUBLEE. V., (2006)** «Médicaments anti-infectieux en médecine vétérinaire. Bases de l’antibiothérapie.Edition 2006, page 1-27».

- REYBROECK, W., «Residus d'antibiotiques dans le lait : utilisation des kits»
 - ROBERT, F., BOUILLOUX, JP. ET DENOROY, L., (1991), « L'électrophorese capillaire : principe et application », ann.biol.clin., n° 49, 137-148.
 - RUPP, R ., (2000) « Analyse genetique de la resistance aux mammites chez les ruminants laitiers », these de doctorat de l'institut national agronomique, paris, grinon,2000.
 - RYCKAERT ET AL (2003) «42 questions sur le lait, édition IMP Bruxelles, septembre, 2003, 13-56p».
- MILHAUD, G. PINAULT, L (1999)«Législation de la pharmacie vétérinaire. Editions le point vétérinaire.Chapitre III : évaluation des médicaments vétérinaires : Autorisation de Mise surle Marché (AMM), limites maximales de résidus (LMR), page 25-40. Editions Lepoint vétérinaire 2001».
- KLOTINS, K (2006)«Utilisation des antibiotiques comme stimulateurs de croissance: controverse et solutions».
- <http://www.omafra.gov.on.ca/french/livestock/animalcare/amr/facts/05-042.htm>
(consulter 22-03-2017).
- SERIEYS, F (2004) «Antibiothérapie des infections mammaires quelle(s) voie(s) de traitement ?». Revue : Bulletin des GVT, n°24, Mars-Avril, 2004, p. 42-45.
 - SUHREN G, (1996) « Qualitycriteria in veterinarydrugresidueanalysis. proceeding of the euro residue conference, netherlands, 21-23 may».
 - VEISSEYRE R (1975) « Technologie du lait constitution, recolte, traitement et transformation du lait, 3eme ed, la maison rustique, paris, p4-363».
 - VEISSEYRE R, (1975). «Technologie du lait. 3eme edition, paris, la maison rustique, 714p».
 - VERHNES R ET VANDAELE E, (2002). «Détection rapide des inhibiteurs dans le lait. Point vét., 33 (227), 16-17».
 - VIGNOLA CL, (2002). «Science et technologie du lait, transformation du lait. ecole polytechnique de monterial».
 - WEISS, K. BLAIS, R. FORTIN, A. LATIN, S.ET GAUDET, M 2011 «Impact of multiprongededucationstrategy on antibioticprescribing in Québec, Canada, 2011».
 - ZINEDINE A, FAID M et BENLEMLIH, M., (2007). Détection des résidus d'antibiotiques dans le lait et les produits laitiers par méthode microbiologique. *REMISE*, vol1, N°1, p 1-9.

ANNEXE 1

Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de crèmerie des quatre communes confondues de la wilaya d'Ain Defla

Tableau 1 : Résultats de la recherche des résidus d'antibiotique dans le lait cru des
crémèries des quatre communes de la wilaya d'Ain Defla.

Commune	Crèmerie	Résultats	
		Prélèvement1	Prélèvement 2
Miliana	1	Négatif	Douteux
	2	Douteux	Douteux
	3	Douteux	positif
Khemis	1	Positif	Douteux
	2	Douteux	Négatif
Ain Defla	1	Positif	Négatif
	2	Négatif	Négatif
	3	Positif	douteux
Bir weld Khelifa	1	Douteux	Douteux
	2	négatif	négatif