

# UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA

Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires et Biologiques  
Département des Sciences Vétérinaires

## MEMOIRE DE MAGISTER

Spécialité: Sciences vétérinaires

Option : Physiologie de la gestation et de la lactation

Recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru

Par

**TARZAALI Dalila**

Devant le jury composé de

A. BOUYOUCHEF	Professeur, Univ. de Blida.	Président
A. BERBER	Maître de Conférences, Univ. de Blida.	Examineur
M. BACHIR-PACHA	Maître de Conférences, Univ. de Blida.	Examineur
A. NIAR	Professeur, Univ. de Tiaret.	Examineur
D. GUETARNI	Professeur, Univ. de Blida.	Promoteur

Blida, juin, 2009

## RESUME

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

La présente étude s'articule sur trois volets, une enquête<sup>1</sup> réalisée auprès des vétérinaires praticiens autour de l'utilisation des antibiotiques en élevage bovin laitier, la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru d'élevages<sup>2</sup> au moyen du Delvotest SP et une étude visant à mettre en évidence la relation "NCT et résidus d'antibiotiques dans le lait cru d'élevages"<sup>3</sup>.

L'enquête fondé sur un questionnaire a permis de montrer que l'infection mammaire est l'une des pathologies les plus fréquemment rencontrées sur le terrain, les vétérinaires praticiens utilisent les antibiotiques dans tous les cas, et pour la plupart, pendant une durée moyenne de 3 jours et plus. Leur choix se fait sur la base de l'efficacité montrant que les Bêtalactamines occupent la première place et que les éleveurs traitent eux même, la majorité sont au courant du délai d'attente mais ne le respectent pas pour des raisons économiques.

Les résultats de l'analyse de 216 échantillons de lait cru destiné à la laiterie de Beni-Tamou provenant des élevages situés dans les wilayas de Blida, Alger et Tipaza ont montré une contamination de plus d'un quart des laits d'élevages (26,39%).

La relation "NCT et résidus d'antibiotiques dans le lait cru d'élevages" existe bel et bien. Les laits contaminés par les résidus d'antibiotiques proviennent bien des élevages à TCT élevés et de ce fait d'une situation sanitaire préoccupante.

Par conséquent, il est temps de mettre en place des mesures pour améliorer la qualité du lait, en l'occurrence le paiement du lait soit par des primes soit par des pénalités. Ceux-ci auraient pour conséquence une augmentation de la production de lait (meilleure santé du cheptel) et moins de risques pour la santé du consommateur.

**Mots clés** : lait cru, élevage, résidus d'antibiotiques, cellules somatiques, Delvotest SP.

## SUMMARY

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.

The present study is articulated on three shutters, an investigation <sup>1</sup> carried out near the veterinary surgeons experts around the use of antibiotics in dairy bovine breeding, the research of the antibiotic residues in the raw milk of breeding <sup>2</sup> by Delvotest SP and a study aiming at highlighting relation " NCT and antibiotic residues in the breeding raw milk " <sup>3</sup>.

The investigation by questionnaire made it possible to show that the mastitis is one of the pathologies most frequently met on the ground; the veterinary surgeons experts use antibiotics in all the cases, and for the majority, for 3 days and more. Their choice is done on the basis of effectiveness showing that Bêtalactamines occupy the first place and that the stockbreeders even treat by them, the majority knows about the withdrawal period but do not respect it for economic reasons.

The results of the analysis of 216 raw milk samples intended for the dairy of Beni-Tamou coming from the breeding located in the wilayas from Blida, Algiers and Tipaza showed a contamination of a little more of the quarter of breeding milks (26,39%).

Relation "NCT and antibiotic residues in the breeding raw milk" exist indeed. The milks contaminated by the antibiotic residues come much breeding with consequent high TCT with an alarming medical situation.

Consequently, it is time to set up measurements to improve quality of milk, in fact the payment of milk on the basis of penalty and premium. It would have as a

consequence an increase in the production of milk (better health of the livestock) and less health risks of the consumer.

**Key words:** raw milk, breeding, residues antibiotics, somatic cells, Delvotest SP.

## ملخص

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.

تمت دراستنا في ثلاث مراحل، أجرينا في المرحلة الاولى تحقيقا عند البيطرة الممارسين حول استعمال المضادات الحيوية عند الماشية ، في المرة الثانية قمنا باستعمال اختبار الدلفوتاست س ب للبحث في الحليب الطازج عن رواسب المضادات الحيوية و دراسة ثالثة حول تسليط الضوء على العلاقة بين عدد الخلايا الجسمية و الرواسب المضادات الحيوية .

تبين لنا من خلال تحليل الاستبيان ان التهاب الضرع هو من الأمراض الاكثر انتشارا و ان استعمال المضادات الحيوية من طرف البيطرة تكون في غالب الاحيان في كل حالة لمدة ثلاثة ايام او اكثر، اختيارهم يكون على حسب الفعالية. الشيء الذي يضع البطلكتامين في المرتبة الاولى كما تبين ان المربين يستعملون المضادات الحيوية بانفسهم و ان الاغلبية منهم على علم بزمان الانتظار الا انهم لا يحترمونه لاسباب اقتصادية.

اظهرت نتائج تحليل 261 عينة حليب الواردة من المزارع الواقعة في ولاية البليدة ، الجزائر و تيبازة و الموجهة لملينة بني تاموا ان ربع العينات ملوث (26,39%).  
العلاقة بين عدد الخلايا الجسمية في الصهاريج ورواسب المضادات الحيوية موجودة بالفعل. الحليب الملوث برواسب المضادات الحيوية مصدره المزارع التي تحتوي على نسبة عالية من الخلايا الجسمية في الصهاريج، الناتجة عن موقف صحي جدير بالاهتمام

و لذا حان الوقت لوضع تدابير لتحسين نوعية الحليب ، من بينها دفع قيمة الحليب على أساس الاقساط و العقوبات، الشيء الذي يساهم في رفع انتاج الحليب (أفضل صحة للقطيع) و يحفض صحة المستهلك.

الكلمات المفتاحية : حليب طازج ، ماشية ، رواسب المضادات الحيوية ، خلايا جسمية ، دلفوتاست س ب.

## REMERCIEMENTS

Avant tout, je remercie Dieu tout puissant de m'avoir aidé et donné la foi et la force pour achever ce travail.

J'exprime ma profonde gratitude à mon promoteur **Monsieur D. GUETARNI**, Professeur à l'Université Saad DAHLEB de Blida, pour avoir été disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire, pour son aide et son soutien. Chaleureux remerciements.

J'adresse mes sincères remerciements:

### À **Monsieur A. BOUYOUCEF**

Professeur à l'Université Saad DAHLEB de Blida, pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de ce mémoire. Hommages respectueux.

### À **Monsieur A. BERBER**

Maître de Conférences, à l'Université Saad DAHLEB de Blida, qui m'a fait l'honneur de prendre part à ce jury. Sincères remerciements.

### À **Monsieur BACHIR-PACHA**

Maître de Conférences, à l'Université Saad DAHLEB de Blida pour avoir accepté très aimablement de faire partie de ce jury de mémoire.

### À **Monsieur A. NIAR**

Professeur, à l'Université de Tiaret d'avoir bien voulu participer au jury de ce mémoire.

À **Madame BOUAARFATINE** et **Monsieur MADANI**, ainsi que l'ensemble de l'équipe de la laiterie de Beni-Tamou, pour m'avoir accueilli au sein de leur organisme et m'avoir permis de réaliser mon étude. Avec une pensée particulière à Messieurs **MEGHAOUZEL**, **AMOURA** et **BELHABRECH**.

A tous mes amis, **DECHICHA, SAADAOUI, TADJINE, GHEZAL, BRAHIMI, BENHAMOUDA, ABADA, BERDAOUI, DJELATA, KEBBAL, KHERBOUCHE, OUSSER, BAAZIZE, AMMI, GUEMRA, AMARA, AMROUCHE, LOUNES, MEKLATI, SAHRAOUI, MEKADMI, BEROUEL, GHERBI.** Pour leur précieuse aide durant toutes ces années et pour tous les bons moments partagés.

A tous les vétérinaires et étudiants, pour leur aide précieuse pour la réalisation de l'enquête.

A tous les éleveurs et collecteurs, pour leur participation et l'aimabilité de leur accueil.

A mes parents, pour m'avoir soutenu et encouragé toutes ces longues années afin de me permettre de réaliser un rêve d'enfance malgré la longueur et la difficulté du chemin. Pour partager maintenant ce moment de bonheur, un seul merci même infini ne suffit pas, je vous dédie ce mémoire. Avec tout mon amour.

A mes frères et ma sœur, pour tous les bons moments passés ensemble, et ceux qui suivront... !

A mes neveux et nièces, avec toute ma tendresse.

A ma grand-mère, **MOUIMA**, je lui dédie ce mémoire, j'aurais tellement aimé que tu sois encore là.

A vous tous, **MERCI** de tout cœur d'avoir été là et de m'avoir chacun soutenue à votre façon du début jusqu'à la fin de cette longue aventure. J'en dirais bien plus encore, mais les mots ne disent pas tout.

## TABLE DES MATIERES

RESUME

REMERCIEMENTS

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

INTRODUCTION

1. LE LAIT	17
1.1. Définition	17
1.2. Caractéristiques physico-chimiques du lait	17
1.3. Composition du lait de vache	18
1.3.1. Composition chimique du lait	18
1.3.2. Composition biologique	24
1.4. La qualité du lait	26
1.4.1. La qualité technologique	27
1.4.2. La qualité sanitaire (hygiénique)	27
1.4.3. La qualité organoleptique	28
1.4.4. Aspects réglementaires et institutionnels	28
2 LES SUBSTANCES INHIBITRICES DU LAIT	32
2.1. Introduction	32
2.2. Les différents types d'inhibiteurs	32
2.2.1. Les inhibiteurs naturels	33
2.2.2. Les résidus de médicaments	35
2.2.2.1. Les antibiotiques et sulfamides « les anti-infectieux »	36
2.2.2.2. Les antiparasitaires	36
2.2.3. Les antiseptiques et désinfectants	37
3 ANTIBIOTIQUE ET ANTIBIOTHERAPIE	39
3.1. Introduction	39

3.2. Notions générales sur les antibiotiques	39
3.3. Importance	40
3.4. Activité antibactérienne	40
3.5. Utilisation des antibiotiques en élevage bovin	42
3.6. Pharmacocinétiques des antibiotiques	45
3.6.1. L'absorption	46
3.6.2. La distribution	46
3.6.3. La biotransformation	46
3.6.4. L'élimination des médicaments	47
3.6.4.1. L'élimination lactée	47
3.6.5. Les facteurs de variation de l'excrétion mammaire	49
3.6.6. Origine de la contamination du lait	54
3.6.6.1. Principales erreurs commises par les éleveurs	54
4 LES CONSEQUENCES LIES À LA PRESENCE D'INHIBITEURS DANS LE LAIT	57
4.1. Introduction	57
4.2. Les risques pour la santé publique	57
4.2.1. Risques toxicologiques	58
4.2.2. Risques allergiques	60
4.2.3. Risques bactériologiques	61
4.3. Risques technologiques	64
4.3.1. Importance des micro-organismes en technologie laitière	64
4.3.2. Sensibilité des ferments aux antibiotiques	64
4.3.3. Conséquences de l'inhibition des ferments	65
5. LES METHODES DE DETECTION DES RESIDUS INHIBITEURS DANS LE LAIT	67
5.1. Introduction	67
5.2. Les méthodes micro biologiques	67
5.2.1. La méthode officielle	67
5.2.2. Les tests de détection rapides	69
5.2.2.1. Le delvotest (Gist-Brocrcdes)	69
5.2.2.2. Le Copan test P et S100	72

5.2.2.3. Le valiot 101 (sanofi Bio-industries)	72
5.2.2.3. Test au yaourt	72
5.3. Méthodes physico-chimiques	72
5.3.1. Méthodes enzymatiques	73
5.3.2. Les méthodes immuno-enzymatiques	73
5.3.3. Dosage par fluorimétrie	74
5.3.4. Dosage par bioluminescence	75
5.3.5. Spectrophotométrie	75
5.3.6. L'électrophorèse capillaire	75
5.3.7. Chromatographie liquide haute performance (CHLP)	75
5.3.8. Autres techniques	76
6. PARTIE EXPERIMENTALE	77
6.1. VOLET I : Enquête par questionnaire	77
6.1.1. Matériel et méthodes	77
6.1.1.1. Modalité du recueil des données	77
6.1.1.2. Les données collectées	77
6.1.1.3. Traitement des données	78
6.1.2. Résultats	79
6.1.3. Discussion	94
6.2. VOLET II: Recherche des inhibiteurs dans le lait cru	97
6.2.1. Matériel et Méthodes	97
6.2.2. Origine des échantillons	97
6.2.3. Les prélèvements de lait	98
6.2.6. Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans les laits d'élevages	106
6.2.6.1 Elevages de la wilaya de Blida	106
6.2.6.2 Elevages de la wilaya d'Alger	110
6.2.6.3 Elevages de la wilaya de Tipaza	114
6.2.6.4 Résultats des laits d'élevages des trois wilayas confondus	117
6.2.7. Discussion	118

6.3. VOLET III : Relation entre la concentration des cellules somatiques et la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait.	124
6.3.1. Matériel et Méthodes	124
6.3.2. Origine des échantillons	125
6.3.3. Les prélèvements de lait	125
6.3.4. Conditionnement et acheminement	125
6.3.5. Dénombrement des cellules somatiques du lait	125
6.3.6. Recherche des résidus d'antibiotiques par le Delvotest SP	129
6.3.7. Résultats	130
6.3.7.1 Résultats du comptage cellulaire dans les laits d'élevages de la Wilaya de Blida	130
6.3.7.2. Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans les laits d'élevages de la wilaya de Blida	131
6.3.7.3. Confrontation des résultats de l'analyse des laits d'élevages par le Coulter Counter et le Delvotest SP en fonction du seuil retenu	132
6.3.8. Discussion	135
CONCLUSION	137
RECOMMANDATIONS	138
REFERENCES	
APPENDICES	
A Liste des symboles et des abréviations	
B Questionnaire à l'intention des praticiens vétérinaires	
C Traitement des données du questionnaire	
D Matériel et réactifs utilisés dans le volet II et III	
F Sensibilité du Delvotest SP aux antibiotiques.	
F Résultats de la recherche des inhibiteurs dans les laits crus d'élevages	

## LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 3.1.	Schéma général du devenir des xénobiotiques dans l'organisme	45
Figure 5.1.	Le Delvotest P ou SP	70
Figure 6.1.	Ancienneté professionnelle des vétérinaires Interrogés	80
Figure 6.2.	Fréquence de l'intervention des vétérinaires en élevage bovin laitier	81
Figure 6.3.	Fréquence de l'utilisation des antibiotiques par les vétérinaires praticiens en élevage bovin laitier	82
Figure 6.4.	Fréquence des pathologies infectieuses traitées par les antibiotiques	83
Figure 6.5.	La fréquence de prescription des antibiotiques par les vétérinaires	84
Figure 6.6.	La répartition des molécules d'antibiotiques selon les familles	86
Figure 6.7.	Les motifs du choix de l'antibiotique utilisé	87
Figure 6.8.	Le respect ou non des doses prescrites par les vétérinaires praticiens	88
Figure 6.9.	Pourcentage des réponses concernant la rupture de stock des antibiotiques	89
Figure 6.10.	Pourcentage des réponses concernant l'utilisation des antibiotiques par les éleveurs par voie injectable	90
Figure 6.11.	Pourcentage des réponses concernant l'utilisation des antibiotiques par les éleveurs par voie locale	90
Figure 6.12.	La connaissance du délai d'attente par les éleveurs	91
Figure 6.13.	Le respect du délai d'attente par les éleveurs	92
Figure 6.14.	Justifications du non respect du délai d'attente par les éleveurs	93
Figure 6.15.	Présentation du kit Delvotest SP 5 pack	99
Figure 6.16.	Découpage de la feuille d'aluminium et détachement du Bloc	100
Figure 6.17.	Détachement de la feuille d'aluminium	101
Figure 6.18.	Dépôt du comprimé nutritif dans la cupule	101
Figure 6.19.	Dépôt de l'échantillon de lait dans la cupule ou puit	101

Figure 6.20. Couverture du bloc	102
Figure 6.21. Incubation du bloc à 64°C+/- 0,5°C	102
Figure 6.22. Résultats observés sur le bloc après incubation	103
Figure 6.23. Chauffage des échantillons de laits à 80°C+/-1°C pendant 10 minutes	104
Figure 6.24. Refroidissement des échantillons	104
Figure 6.25. Résultats finaux de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait d'élevage de la wilaya de Blida	109
Figure 6.26. Résultats finaux de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait d'élevage de la wilaya d'Alger	114
Figure 7.27. Résultats finaux de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait d'élevage de la wilaya de Tipaza	116
Figure 6.28. Résultats des laits d'élevages des trois wilayas confondus	117
Figure 6.29. Prélèvement de 9,8 ml de l'échantillon	127
Figure 6.30. Addition de 0,2 ml de formol à 3,5 %	127
Figure 6.31. Incubation à 60°C pendant 30 mn	127
Figure 6.32. Prélèvement de 0,1 ml du lait fixé	128
Figure 6.33. Addition de 9,9 ml de la solution électrolyte	128
Figure 6.34. Incubation à 80 °C pendant 10 mn	128
Figure 6.35. Représentation graphique des résultats comparatifs entre les cellules somatiques et les résidus d'antibiotiques dans le lait cru	134
Tableau 1.1. Constituants majeurs des matières salines du lait de vache (g/litre)	22
Tableau 1.2. Teneurs en oligo-éléments du lait de vache (µg/litre)	23
Tableau 3.1. Association d'antibiotiques	41
Tableau 3.2. Antibiotiques autorisés à but thérapeutique en élevage Bovin	43
Tableau 4.1. Quelques micro-organismes utilisés en technologie laitière et leurs propriétés	64
Tableau 5.1. Concentrations de certains agents désinfectants et nettoyeurs donnant un résultat positif au test Delvotest	71
Tableau 6.1. Répartition des molécules selon les familles	85
Tableau 6.2. Répartition des échantillons en fonction de leur origine	98

Tableau 6.3. Résultats préliminaires du test pour les laits des élevages de la wilaya de Blida	106
Tableau 6.4. Résultats de confirmation du test pour les échantillons de laits des élevages de la wilaya de Blida	117
Tableau 6.5. Résultats finaux de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait des élevages de la wilaya de Blida	108
Tableau 6.6. Résultats préliminaires du test pour les laits des élevages de la wilaya d'Alger	110
Tableau 6.7. Résultats de confirmation du test pour les échantillons de laits des élevages de la wilaya de d'Alger	111
Tableau 6.8. Résultats finaux de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait des élevages de la wilaya d'Alger	112
Tableau 6.9. Résultats préliminaires du test pour les laits des élevages de la wilaya de Tipaza	114
Tableau 6.10. Résultats de confirmation du test pour les échantillons de laits des élevages de la wilaya de Tipaza	115
Tableau 6.11. Résultats finaux de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait des élevages de la wilaya de Tipaza	116
Tableau 6.12. Résultats des élevages des trois wilayas confondus	117
Tableau 6.13. Les résultats du comptage cellulaire des échantillons de lait analysés	130
Tableau 6.14. Distribution des élevages en fonction des NCT	131
Tableau 6.15. Résultats de l'analyse des laits d'élevages par le Delvotest SP	132
Tableau 6.16. Confrontation des résultats de l'analyse des laits d'élevages par le Coulter Counter et le Delvotest SP en fonction du seuil retenu	132

## INTRODUCTION

Le lait a une image d'aliment pur, équilibré et sain. Chez tous les mammifères, il assure à lui seul la couverture de tous les besoins alimentaires des nouveau-nés. Il peut être conditionné en lait de consommation ou transformé en divers produits (fromage, dessert lacté) sans difficulté technologique, afin de concourir à la couverture des besoins nutritionnels des consommateurs en toute sécurité, c'est à dire sans véhiculer de germes ou de substances susceptibles d'entraîner des troubles quelque soit la gravité. La présence de résidus inhibiteurs dans le lait notamment, les antibiotiques, principalement après les traitements intra-mammaires largement utilisés pour prévenir ou traiter les mammites, est un critère majeur de mauvaise qualité, elle peut avoir des répercussions aussi bien sur la santé humaine que dans l'industrie laitière.

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 [215]. De même, de la présence de substances inhibitrices dans le lait, à une certaine concentration, résulte une inhibition partielle ou totale des phénomènes fermentaires d'origine bactérienne nécessaire à la fabrication de la plupart des produits laitiers. L'inhibition des ferments par les résidus antibiotiques peut prendre de multiples aspects, touchant, à la fois, la qualité du produit fini en fin de chaîne de production et le rendement de fabrication [26, 69].

En Algérie, le problème causé par les inhibiteurs est à craindre car les quantités de lait frais sont encore insuffisantes pour se permettre de rejeter les laits contenant des antibiotiques et ceci malgré les grandes tentatives de relance du secteur de l'élevage laitier et malgré l'intervention massive et stimulante de l'état dans le secteur laitier. La production laitière nationale ne couvre que près de 50% des besoins nationaux, elle est passée de  $1.500.10^6$  litres en 2000 à  $2.100.10^6$

litres en 2006 [50], alors que les besoins de consommation en lait et produits laitiers sont estimés actuellement à 3,2 milliards de litres [216]. Face à un tel déficit de la production nationale de lait cru, et afin d'assurer la couverture de la demande croissante engendrés par la pression démographique, l'état s'est tourné vers les importations du lait en poudre.

A ce jour, peu de travaux ont été menés sur la présence des résidus inhibiteurs dans les denrées animales notamment le lait. Leur recherche n'est pas intégrée dans un véritable programme de surveillance, malgré un cadre réglementaire bien défini.

Pour palier à cette carence, pour que le lait et les produits laitiers soient exempts de toutes traces d'inhibiteurs lors de leur mise sur le marché, nous avons entamé le présent travail en nous fixant les objectifs suivants :

- 1) Récolter les informations sur l'utilisation des antibiotiques en élevage bovin grâce à une enquête auprès des praticiens vétérinaires basée sur un questionnaire.
- 2) Rechercher les inhibiteurs dans le lait cru des élevages bovins laitiers agréés par les services vétérinaires, alimentant la laiterie de Beni-Tamou qui est considérée comme un des pôles laitiers de la région centre.
- 3) Rechercher la relation entre la concentration des cellules somatiques et la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait cru.

## CHAPITRE 1

### LE LAIT

#### 1.1. Définition :

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

Légalement, le lait destiné à l'alimentation humaine a été défini en 1909 par le congrès international de la répression des fraudes comme suit: « Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum». Le lait sans indication de l'espèce animale de provenance correspond au lait de vache [2, 3, 4]. Par la suite, la fédération internationale de laiteries a proposé en 1983 la définition suivante pour le lait : « produit de la sécrétion mammaire normale, obtenu par une ou plusieurs traites sans aucune addition ou soustraction» [5].

La vache assure de très loin la plus grande part de la production mondiale (90%) [6, 7], ce lait est le produit laitier le plus consommé et le plus étudié en nutrition humaine [8].

#### 1.2. Caractéristiques physico-chimiques du lait :

C'est un liquide deux fois plus visqueux que l'eau, opaque, de saveur légèrement sucrée, d'odeur peu accentuée, blanc plus ou moins jaunâtre selon la teneur en  $\beta$ -carotène de la matière grasse, il a une odeur peu marquée mais reconnaissable. Son goût variable selon les espèces animales est agréable et douceâtre [9].

Du point de vue physique, le lait est un milieu hétérogène dans lequel trois phases distinctes coexistent [10, 11] :

- La phase aqueuse, qui contient l'eau (87% du lait) et les produits solubles pouvant donner naissance au lactosérum (lactose, sels, protéines solubles, composés azotés non protéiques, biocatalyseurs tels que vitamines hydrosolubles ou enzymes).
- La suspension colloïdale micellaire (2,6%), qui peut donner naissance au caillé obtenu par la coagulation des caséines suite à l'action de micro-organismes ou d'enzymes.
- L'émulsion (4,2%), qui peut donner naissance à la crème, une couche de globules gras rassemblés à la surface du lait par effet de gravitation.

### 1.3. Composition du lait de vache :

#### 1.3.1. Composition chimique du lait :

Le lait est un fluide biologique de composition complexe. Il est constitué d'eau et de sels, de lactose, de protéines et de lipides. La plupart de ces composants sont apportés à la mamelle par le flux sanguin. Une partie est synthétisée sur place par les lactocytes et excrétée dans le lait [12]. On retrouve encore dans le lait quelques bactéries et des cellules ainsi que divers produits témoins de leurs métabolismes y compris la lactoferrine et des enzymes. Parfois, la présence de polluants ou de contaminants rend ce lait non conforme voire impropre à la consommation [13].

La composition du lait varie selon différents facteurs liés aux animaux, les principaux étant l'individualité, la race, la période de lactation, l'alimentation, la saison et l'âge [14].

##### 1.3.1.1. Eau :

L'eau reste le constituant le plus important pondéralement avec 900 à 910 g/l soit 86 à 88% [15] où sont dispersés tous les autres constituants de sa matière sèche. Il forme une solution vraie avec les glucides, les minéraux et une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles du sérum [11, 14, 16].

### 1.3.1.2. Les glucides :

Dans le lait de vache, les glucides sont représentés essentiellement par le lactose, c'est l'élément le plus abondant après l'eau. C'est l'élément déterminant de la quantité de lait produite par la mamelle (50g de lactose s'accompagnent de 900g d'eau) [5, 16] et joue un rôle important en tant que substrat de fermentation et aussi en tant qu'élément nutritionnel dans les produits laitiers [17].

D'autres sucres sont également présents mais seulement à l'état de traces. Ceux sont notamment les polyacides contenant du glucose et des glucides azotés tel que la N-acétylglucosamine [18].

### 1.3.1.3. Les lipides " matière grasse" :

Le lait de vache contient naturellement entre 3,6% et 4,5% de matière grasse. C'est le second constituant de la matière sèche du lait après le lactose. Elle confère au lait entier la moitié de la valeur énergétique. Les lipides sont dispersés dans le lait sous forme de globules lipidiques inclus dans une membrane dérivés des cellules sécrétoires de la glande mammaire et de diamètre compris entre 2 et 6  $\mu\text{m}$ .

La membrane des globules lipidiques protège de la lipolyse résultant de l'attaque des enzymes présentes dans le lait cru. Cette membrane native, qui empêche l'attaque des lipases, est composée de 60% de lipides (dont plus de 20% de phospholipides) et 40% de protéines. Elle représente environ 2% de la masse totale du globule [19].

La majorité des lipides est représentée par des triacylglycérols (TAG) qui se trouvent pour 98% dans les globules lipidiques. Outre les TAG, on trouve des monoacylglycérols (MAG) et des diacylglycérols (DAG) dans les globules gras du lait, ces glycérides partiels sont considérés comme étant des produits intermédiaires de la biosynthèse des TAG. Les autres classes lipidiques sont représentées par des phospholipides, des glycosphingolipides et des stérols, présentés par le cholestérol [20].

Ces lipides d'origine laitière ne soulèvent pas l'objective particulière sur le plan nutritionnel et sont une source de vitamines A, D, et E [21].

#### 1.3.1.4. Matière azotée :

Les matières azotées du lait constituent un ensemble complexe dont la teneur totale avoisine 35 g/l [10, 22].

Selon LUQUET [23], on distingue deux types de matières azotées dans le lait:

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

##### 1.3.1.4.1. Les matières azotées non protéiques (ANP) :

Elles ne constituent malgré leur grand nombre qu'une partie peu abondante du lait environ 1,5g par litre [5]. L'ANP représente 3 à 7% de l'azote total dont 36 à 80% d'urée [11]. Cette fraction joue un rôle important dans la croissance des bactéries [1]. Le reste étant constitué de petites molécules azotées dont des acides aminés libres, des peptides et des bases organiques [5, 24].

##### 1.3.1.4.2. Les protéines :

C'est la fraction la plus importante (93 à 95%) qui se différencie de l'ANP par la grosseur de leurs molécules [25]. Leur importance tient à plusieurs raisons: quatrième groupe de substance par son abondance après l'eau, le lactose et les matières grasses. Elles possèdent de remarquables qualités nutritionnelles [5] et fournissent 12% de l'apport énergétique total [21].

On les classe, d'après leur solubilité dans l'eau et leur stabilité, en deux catégories :

- Les différentes caséines qui sont en suspension colloïdale, qui se regroupent sous forme de micelles et qui précipitent sous l'action de la présure ou lors de l'acidification à un pH d'environ 4,6; elles forment près de 80% de toutes les protéines présentes dans le lait [17, 14, 24]. Les principales protéines dans les micelles sont les caséines  $\alpha_{S1}$ ,  $\alpha_{S2}$ ,  $\beta$ (bêta) et  $\kappa$  (kappa). Il existe également une  $\gamma$ -caséine qui est formée par l'hydrolyse de la  $\beta$ -caséine par la plasmine [14].

- Les protéines du lactosérum qui sont en solution colloïdale et qui précipitent sous l'action de la chaleur [14]. Elles représentent 15 à 28 % des protéines du lait de vache. Les plus abondantes ont les propriétés des albumines et des globulines ; il y a aussi les protéoses - peptones issues de la protéolyse par la plasmine de la caséine  $\beta$  [11]. Ces substances ne sont normalement présentes qu'en faibles quantités [26].

#### 1.3.1.5 Les enzymes :

Ceux sont des substances organiques, de nature protidique, produites par des cellules ou des organismes vivants et agissent comme catalyseurs dans les réactions biochimiques. Environ 60 enzymes ont été répertoriées dans le lait dont 20 sont des constituants natifs [27]. En fonction de leurs propriétés, ces enzymes peuvent jouer un rôle très important [28] :

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

#### 1.3.1.6. Matière minérale et saline :

Les matières minérales totales du lait de vache exprimées en cendres représentent en moyenne 7,2 g/litre [29] ont un rôle fondamental d'un point de vue nutritionnel et technologique.

#### 1.3.1.6.1. Macro-éléments :

Les éléments minéraux majeurs du lait se caractérisent par une grande constance de leur concentration dont les faibles variations sont dues à des facteurs génétiques ou physiologiques, mais relativement peu à des facteurs nutritionnels ou écologiques [29].

Le tableau 1.1 représente les constituants majeurs des matières salines du lait de vache (g/litre).

Tableau 1.1. Constituants majeurs des matières salines du lait de vache (g/litre) [26].

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

#### 1.3.1.6.2. Oligo-éléments:

Ils sont présents à des taux voisins du milligramme voire du microgramme par litre (Tableau 1.2). Les teneurs en oligo-éléments peuvent être variables selon les conditions environnementales [29].

Tableau 1.2. Teneurs en oligo-éléments du lait de vache ( $\mu\text{g/litre}$ ) [30].

Oligo-éléments	Teneurs	Oligo-éléments	Teneurs
Aluminium	600-1 000	Fluor	70-200
Arsenic	<50	Iode	10-300
Bore	150-300	Manganèse	10-30
Brome	150	Mercure	<1
Cadmium	<1	Molybdène	70
Chrome	15-30	Plomb	2-10
Cobalt	0,5	Sélénium	10-30
Cuivre	20-40	Silicium	1 000-6 000
Etain	100-1 000	Strontium	350
Fer	200-500	Zinc	3 000-6 000

Les uns qualifiés de normaux ou de naturels (cuivre, fer et zinc) passent des cellules lactogènes dans les canaux et citernes de la mamelle comme le lactose ou les caséines. Les autres dits de contamination ou de pollution (plomb et mercure) sont apportés au lait, après sa sortie du pis, par les ustensiles ou l'atmosphère. Bien que présents dans le lait en quantités infimes, leur intérêt nutritionnel pour l'homme est capital car ils peuvent être toxiques au dessus d'une certaine concentration [5].

#### 1.3.1.7. Les vitamines:

Ceux sont des molécules complexes mais de taille beaucoup plus faible que les protéines. De structure très variée mais en étroit rapport avec les enzymes, elles jouent un rôle de coenzyme associée à une apoenzyme protéique. POUGHEON et GOURSAUD [11] classent les vitamines en deux catégories: les vitamines hydrosolubles (B et C) de la phase aqueuse du lait et les vitamines liposolubles (A, D, E et K) associées à la matière grasse ; certaines sont au centre du globule gras et d'autres à sa périphérie. Elles sont en quantités variables dépendant de facteurs exogènes (race, alimentation, radiations solaires) [21].

### 1.3.2. Composition biologique :

Tout lait normal, à la sortie de la glande mammaire, comporte des cellules et des germes.

#### 1.3.2.1. Les cellules :

Comme tout liquide biologique, le lait même normal, contient des cellules somatiques, elles sont de nature hétérogène [31].

La concentration cellulaire d'un lait normal issu d'une vache non infectée, est inférieure à 100 000 cellules/ml et ne dépasse que rarement le seuil des 300 000 cellules/ml [32]. Elles proviennent principalement du sang et du tissu mammaire. Celles ci ne présentent par elles même aucun pouvoir pathogène ou toxique, mais elles sont le signe d'un désordre dans la sécrétion lactée, lui-même pourvoyeur de produits indésirables. En effet, les cellules somatiques sont riches en enzymes et pourraient entraîner une dégradation des constituants du lait au cours de sa conservation. De ce fait, les taux leucocytaires du lait servent au paiement du lait et au diagnostic du type d'infection mammaire [33].

L'utilisation de la microscopie électronique a permis de distinguer quatre catégories principales [34].

##### 1.3.2.1.1. Les cellules épithéliales :

Souvent en amas, elles proviennent de la desquamation des épithéliums des canaux galactophores et des acinis et sont souvent en partie lysées. Leur taille, leur morphologie, leur noyau et le contenu de leur cytoplasme les font souvent confondre avec les macrophages. Les deux représentent plus des deux tiers de toutes les cellules somatiques d'un lait normal [33].

##### 1.3.2.1.2. Les lymphocytes :

Les lymphocytes, cellules de petite taille à gros noyau dense, de type B ou T, participent aux réactions immunitaires et à la production d'anticorps [33]. Ils

constituent environ le quart (25%) de la population des cellules présentes dans le lait issu de vaches saines [35].

#### 1.3.2.1.3. Les macrophages :

Ceux sont de grosses cellules arrondies dont le cytoplasme contient un appareil enzymatique très développé. Leur pouvoir phagocytaire vis à vis des globules gras, des débris cellulaires et des bactéries est intense, mais bien moins efficace que celui des leucocytes [33].

#### 1.3.2.1.4. Les leucocytes polynucléaires neutrophiles :

Leur rôle est essentiel dans la défense contre les infections par phagocytose et lyse des bactéries. Dans le lait sain, ils ne représentent moins de 11% des cellules [33] et constituent le type cellulaire dominant lors d'infections intra-mammaires [36]. L'afflux massif de ces cellules du sang vers la mamelle entraîne une importante augmentation du nombre total des cellules somatiques dans le lait et peuvent présenter le type majoritaire (90%) [32].

#### 1.3.2.2. Les micro-organismes:

Aliment complet par excellence, le lait est un milieu de culture pour plusieurs micro-organismes, y compris les micro-organismes pathogènes pour l'homme [37]. 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). Il s'agit essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores: microcoques, streptocoques lactiques et lactobacilles [38, 39].

La présence d'agents pathogènes dans le lait peut s'expliquer par une infection de l'animal par d'autres animaux ou par l'homme (brucellose, salmonellose, la staphylococcie et la listériose) [40] ou sa contamination par l'environnement, le matériel de traite et de stockage [41].

Les bactéries, généralement, majoritaire de la flore totale peuvent être classées en deux grands groupes, flore non pathogène et flore pathogène [42].

#### 1.3.2.2.1 Flore non pathogène :

En général, 93 % des laits contiennent [43] :

- Moins de 50 000 germes totaux/ml, où la flore psychrotrophe reste généralement dominante (3 000 bactéries/ml).
- Les flores lactiques et thermo-résistantes sont présentes à des niveaux moyens de l'ordre de 1 000 bactéries/ml.
- Les teneurs moyennes en flore coliformes sont inférieures à 500 bactéries/ml.

Cette flore constitue la flore de transit sans grande conséquence pour les conservations ou les transformations ultérieures du lait [42].

#### 1.3.2.2.2. La flore pathogène:

Les principaux microorganismes pathogènes associés aux produits laitiers sont: *Salmonella sp*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum* et *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Compylobacter jejuni*, *Shigella sonnei*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Brucella* et certaines moisissures [37, 44].

#### 1.4. La qualité du lait :

Le lait est un aliment équilibré et sain. Cependant, la qualité nutritionnelle, hygiénique et organoleptique du produit est l'affaire de toute une filière. La maîtrise de la qualité du lait est d'autant plus indispensable qu'elle conditionne, le prix perçu et la marge par litre de lait [45].

Les consommateurs demandent de plus en plus aujourd'hui que les éleveurs produisent un lait de qualité sans cesse améliorée. De nombreux plans de maîtrise se sont développés. La plupart des modifications nécessaires à l'amélioration de la qualité hygiénique du lait passent par un changement des pratiques d'élevage comme l'hygiène et la technique de traite ou la conduite du tarissement [46].

Parmi les composantes de la qualité :

#### 1.4.1. La qualité technologique :

Elle caractérise l'existence ou le risque d'altération du lait. Cette qualité est jugée insuffisante si le produit contient un nombre de micro-organisme d'altération suffisant pour diminuer sensiblement la qualité organoleptique du produit avant sa date limite de consommation [47]. Cette qualité dépend de la composition chimique (TP, TB), de la qualité bactériologique et de l'aptitude à la transformation [48].

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

#### 1.4.2. La qualité sanitaire (hygiénique) :

Elle caractérise le risque pour la santé du consommateur. Cette qualité est jugée défailante si le produit contient une quantité de toxines ou de micro-organismes pathogènes suffisante pour rendre le produit dangereux à consommer ou s'il existe un risque suffisant pour qu'il en soit ainsi [47].

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

##### 1.4.2.1 Les dangers physiques:

L'utilisation de certains produits ou matériels peut être à l'origine de corps étrangers indésirables dans le lait et les produits transformés. Les spatules en bois, les fouets (avec un manche en bois) sont utilisés dans les unités pour l'homogénéisation et le brassage du lait. Des débris de bois peuvent se retrouver dans le lait ou dans les produits transformés. Par ailleurs, si les pratiques à la traite sont défectueuses et que le lait n'est pas filtré, des grains de sable ou de poils, peuvent le polluer [49].

#### 1.4.2.2 Les dangers biologiques :

C'est le danger majeur à maîtriser dans le cadre de la transformation laitière. Les agents infectieux présents dans les aliments peuvent provenir de plusieurs sources : les animaux, l'environnement et le matériel du personnel de l'unité de production [49]. Les dangers regroupant les bactéries, les virus et les parasites dangereux pour l'homme [47].

#### 1.5.2.3 Les dangers chimiques :

Sont plus variés et tendent à prendre une importance de plus en plus grande dans les pays à production intensive. Selon BOURGEOIS et LEVEAU [47], ces dangers chimiques ont deux origines :

1. Origine intrinsèque : Ceux sont des contaminants naturellement présents dans l'aliment comme les composés allergènes, ou les substances anti-vitaminiques.
2. Origine extrinsèque : Ceux sont les polluants de l'environnement (métaux lourds, résidus de pesticides, contaminants industriels tel que la dioxine), les résidus de traitements vétérinaires, ou les composés issus d'un accident de transformation.

#### 1.4.3. La qualité organoleptique :

La saveur normale d'un bon lait est douce, agréable et légèrement sucrée, ce qui est principalement due à la présence de matière grasse. Le goût et l'odeur du lait sont un indice important de sa qualité. La présence d'une mauvaise odeur dans le lait et un goût désagréable avec un rancissement, reflète un problème dans la manipulation et la conservation du lait [14, 48].

#### 1.4.4. Aspects réglementaires et institutionnels :

Un dispositif législatif et réglementaire, relatif aux spécifications et à la présentation du lait cru de consommation, a été mis en place. Les principaux

textes sont rapportés dans l'arrêté inter-ministériel du 29 Safar 1414 correspondant au 18 août 1993, particulièrement :

Article 6 : Le lait ne doit pas :

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

En outre, le lait ne doit pas subir :

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

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

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

Article 8 : Le lait doit répondre aux spécifications suivantes:

- Germes totaux. : Maximum deux (02) millions;
- Salmonelle : absence;
- Stabilité à l'ébullition : stable;
- Acidité en grammes d'acide lactique/litre: maximum 1,8;
- Densité : 1030 - 1034;
- Matières grasses : 34 grammes par litre au minimum.

Malgré ce dispositif, la réglementation n'est pas toujours appliquée et plusieurs anomalies sont souvent rencontrées, au niveau des élevages laitiers, les mesures d'hygiène ne sont pas souvent appliquées et la chaîne du froid n'est pas respectée.

Par conséquent, le lait peut être contaminé par les micro-organismes et l'usage direct d'antimicrobiens sans respect des délais d'attente se traduit par la présence de résidus dangereux pour la santé humaine et néfaste pour l'industrie de transformation [50].

Le contrôle laitier est un ensemble de procédures pouvant permettre de développer considérablement la production laitière. Il a fait ses preuves, depuis longtemps, dans de nombreux pays [18]. Il est basé sur le paiement du lait à la qualité en appliquant le système de primes et pénalités tenant compte de critères qui changent d'un pays à un autre.

Les critères évoqués le plus souvent sont le TP et le TB (caractéristiques de composition chimique) et la teneur en germes totaux (qualité bactériologique). Les seuils souhaités pour les critères ayant des impacts défavorables seront évidemment les plus bas possibles. Mais les exigences peuvent varier d'une laiterie à l'autre suivant le devenir du lait [48].

En Belgique, et en ce qui concerne la composition du lait, la détermination de la teneur en matière grasse et de la teneur en protéines se fait au moins six fois par mois. Lors de la détermination de la qualité du lait, il est tenu compte de 6 critères :

- Le nombre de germes : 2 fois par mois (norme : <100 000 cellules/ml)
- Le nombre de cellules : 1 fois par mois (norme : <400 000cellules/ml)
- Les substances inhibitrices : Lors de chaque fourniture (norme : absence)
- La propreté visible : 1 fois par mois (norme : suffisante)
- Le point de congélation : 1 fois par mois (norme : <-0,512°C)
- Les traces de désinfectants : 4 fois par an (norme : absence)

En Algérie, le lait cru produit localement est distribué à travers deux circuits [50, 51, 52] :

- 1) Le circuit formel : Il est identifié comme "circuit de collecte". Le lait a pour origine les élevages agréés subissant un contrôle sanitaire systématique. Il est destiné aux laiteries où il subit une pasteurisation ou une transformation. Les laiteries utilisent actuellement, au moins 20% de la production nationale pour leurs besoins, ce déficit est compensé par l'importation de la poudre de lait.
- 2) Le circuit informel : Le lait a pour origine les élevages de petite taille et ceux non agréés ne subissant aucun contrôle sanitaire et le lait est destiné aux crémeries ou autoconsommé. Il échappe à tout contrôle sanitaire et hygiénique. Ce circuit occupe encore une place importante, puisqu'il assure environ le tiers de la consommation total du lait.

Le lait est payé en fonction du taux de matières grasses <sup>(1)</sup>, du point de congélation <sup>(2)</sup> et occasionnellement en fonction des résidus d'antibiotiques <sup>(3)</sup>. Le 1<sup>er</sup> critère reflète la nature de l'alimentation, le 2<sup>ème</sup> permet de vérifier si le mouillage est pratiqué et le 3<sup>ème</sup> critère, appliqué dans certaines laiteries seulement, permet le cas échéant de ne pas utiliser le lait pour sa transformation fromagère.

## **CHAPITRE 2**

### **LES SUBSTANCES INHIBITRICES DU LAIT**

#### 2.1. Introduction :

L'apparition des inhibiteurs dans les décrets et les lois est récente, on parle notamment d'antibiotiques à partir de 1966. D'ailleurs, les professionnels ont adopté une définition globale pour les inhibiteurs, qui est la suivante [53] : « c'est l'ensemble des substances capables d'inhiber à faible concentration le processus vital des micro-organismes et dont la présence dans le lait a pour effet de ralentir ou de bloquer les fermentations, sur lesquelles reposent un certain nombre de procédés de fabrication ».

Cette notion de faible concentration est très importante [54]. Les bactéries lactiques sont sensibles à de très faibles doses d'antibiotiques, les streptocoques lactiques peuvent être inhibés par des concentrations inférieures à 10 UI/ml de pénicilline, alors que les doses administrées à une vache sont de 10 millions d'unité dans le muscle ou d'un million dans la mamelle. La livraison du lait de vache ainsi traitée peut rendre positive une analyse faite sur une citerne de stockage de 50.000 à 100.000 litres de lait [55].

La présence d'inhibiteurs dans le lait, qu'elle que soient leurs origines, a deux effets possibles, la première est d'empêcher le développement d'une flore pathogène nuisant au fonctionnement de la mamelle, la deuxième est de ralentir ou bloquer les procédés de fabrication utilisés dans les industries laitières.

#### 2.2. Les différents types d'inhibiteurs :

Selon leurs origines les substances inhibitrices se retrouvant dans le lait peuvent être classées en trois grandes catégories [56] :

- Les inhibiteurs naturels;
- Les résidus de médicaments;
- Les antiseptiques et désinfectants.

### 2.2.1. Les inhibiteurs naturels :

Le lait cru possède des propriétés bactériostatiques envers les germes de contamination, empêchant en particulier tout développement microbien dans les deux premières heures qui suivent la traite et ayant une action sur les bactéries lactiques et les bactéries pathogènes. Le lait de vache est particulièrement actif [56]. Même s'ils ne sont pas négligeables, ils ne posent que peu de problèmes en technologie [57, 58].

#### 2.2.1.1. Le système lactoperoxydase - thiocyanate - peroxyde d'hydrogène :

Le système peroxydase a un effet bactéricide sur de nombreux germes pathogènes et un effet bactériostatique sur certains Gram<sup>-</sup>, tels les streptocoques lactiques et les lactobacilles thermophiles. Cette différence de sensibilité semble dépendante de la structure et de la composition de la membrane cellulaire [59].

Pour que le système soit actif, trois composants doivent être présents [56] : la lactoperoxydase est une enzyme naturellement présente dans le lait de vache, à la concentration moyenne de 70 mg/l.

- Le thiocyanate vient de la catalyse de thiosulfates ou glucosides présents dans l'alimentation des vaches, sa concentration dans le lait est variable.
- Le peroxyde d'hydrogène est le composant limitant, produit à partir de l'oxygène dissous dans le lait grâce à l'action des bactéries lactiques qui ne possèdent pas de catalase, entraînant leur auto destruction.

La lactoperoxydase (LP), par elle-même, n'a pas d'effet bactériostatique ou bactéricide. Elle catalyse l'oxydation du thiocyanate (SNC<sup>-</sup>) par le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) cellulaire [59]. Cette réaction aboutit à la formation de l'ion hypothiocyanate OSCN<sup>-</sup> substance antibactérienne qui tue de nombreuses espèces de micro-organismes ou inhibe leur prolifération [5]. En effet, il stoppe la glycolyse en bloquant l'action de certaines enzymes nécessaires à l'utilisation du glucose par les bactéries. La glycolyse étant la principale voie de production de sources énergétiques pour les bactéries, la on comprend ainsi l'activité inhibitrice de ce système [58, 60].

### 2.2.1.2. Les immunoglobulines :

On entend par là, des protéines sériques bien définies qui possèdent l'activité des anticorps. Leurs principes actifs seraient surtout des gammaglobulines [61]. Ce sont des anticorps capables d'agglutiner plusieurs sortes de bactéries et de spores, ce sont les principales substances antibactériennes du lait cru. [11]. Cependant, toutes les Ig du lait ne proviennent pas directement du sang; une partie est synthétisée dans la glande mammaire [7]. Les immunoglobulines, qui ne sont pas en concentration très élevée dans le lait de vache normal, filtrent plus facilement dans le lait de mammite et dans le colostrum [62]. Elles sont détruites par un chauffage de 20 secondes à 82°C [4, 56]. Les agglutines peuvent provoquer des accidents lors de transformations fromagères, ainsi elles peuvent retarder l'acidification et modifier la texture du caillé appelé lainure [58, 60, 63].

### 2.2.1.3. Les autres inhibiteurs naturels :

Ils ont des propriétés anti-microbiennes, mais sont présentes à des doses qui ne permettent pas une forte activité inhibitrice.

#### 2.2.1.3.1. Les leucocytes :

Issus du système immunitaire local de la mamelle [57] ont eu aussi un pouvoir anti-microbien, ils possèdent un système peroxydase thiocyanate analogue à celui du lait [56].

#### 2.2.1.3.2. La lactoferrine et transferrine :

La transferrine est une protéine du plasma sanguin ( $\beta_1$  – globuline), tandis que la lactoferrine est sécrétée par la glande mammaire [59]. Elles peuvent inhiber ou ralentir la multiplication bactérienne [64]. Leur affinité pour le fer fait que ces molécules sont chargées de capter toutes traces de fer libéré dans l'organisme et d'empêcher par ferriprivation le développement de germes pathogènes et la destruction tissulaire [65].

Le lait de vache est pauvre en lactoferrine et en transferrine (20-200 ug/ml) [66, 67]. Cependant, ces métalloprotéines sont en concentration plus élevées dans le colostrum et le lait de mammite [60]. Les bactéries lactiques sont peu exigeantes en fer ce qui limite l'efficacité de la lactoferrine [57, 58].

#### 2.2.1.3.3. Lysozymes :

Polysaccharidase basique, le lysozyme est capable d'hydrolyser la muréine, le principal constituant de la paroi des bactéries Gram<sup>+</sup>. Il entraîne donc l'éclatement des bactéries Gram<sup>+</sup> et joue ainsi un rôle bactéricide envers elles, beaucoup moins sur les Gram<sup>-</sup>. Le lysozyme est thermostable et résistant au pH acides [59]. Le lait de vache contient trop peu pour qu'il joue un rôle notable [4].

#### 2.2.1.3.4. Les acides gras libres (AGL) :

Ils ont un pouvoir inhibiteur qui s'ajoute au reste, surtout dans les laits subissant l'action des lipases (actifs à basses températures et thermorésistants) [56]. D'autres substances inhibitrices ont été signalées en très faible quantité dans le lait ou le colostrum : properdine, conglatinine, protéine liant la vitamine B12 et l'acide folique [4].

Les inhibiteurs naturels sont pour la plupart d'entre eux, détruits par la chaleur, ils ne peuvent avoir une action inhibitrice que sur les produits au lait cru ou pasteurisé et c'est en partie pour cette raison que le lait UHT (ultra haute température) représente un meilleur milieu de culture pour les bactéries lactiques [68]. Leur présence pourra interférer sur les tests de détection des résidus médicamenteux dans le lait cru, si le protocole ne prévoit pas un préchauffage de l'échantillon, et risque d'engendrer des résultats faussement positifs [58, 60, 63].

#### 2.2.2. Les résidus de médicaments :

Les médicaments sont à l'origine de la grande majorité des tests positifs en laiterie [69]. En médecine vétérinaire, les principes actifs susceptibles d'engendrer des résidus inhibiteurs sont ceux qui possèdent des propriétés antibiotiques et antifongiques. Ce sont les deux seules familles de médicament à avoir été

incriminées comme perturbateurs des procédés de fabrication en technologie laitière et fromagère [3].

Notons que les conservateurs (mercurothiolate de sodium) ont parfois été soupçonnés eux aussi de propriétés inhibitrices. Une étude a cependant montré qu'à leur concentration maximale prévue par la pharmacologie française (de l'ordre de 0,004%), les méthodes officielles de détection des inhibiteurs restent négatives [53].

#### 2.2.2.1. Les antibiotiques et sulfamides « les anti-infectieux » :

Les anti-infectieux, et surtout les antibiotiques sont très largement employés pour combattre les germes pathogènes des animaux de rente et notamment les vaches laitières. De nombreuses spécialités vétérinaires contiennent des antibiotiques ou sulfamides et sont d'ailleurs souvent utilisées de manière abusive malgré les lois en vigueur. Toutes ces molécules après administration, sont soit détruites, soit éliminées par les fèces, par l'urine ou par le lait et quelque fois par les trois à la fois. L'élimination d'anti-infectieux par le lait est souhaitée lorsque les germes pathogènes visés sont situés dans la mamelle. C'est donc cette élimination lactée que le vétérinaire ou le producteur doit contrôler afin que les conséquences technologiques soient évitées [58, 60, 63].

En effet ils représentent de loin le plus grand risque, les bactéries lactiques sont particulièrement sensibles aux antibiotiques utilisés pour le traitement des mammites et en particulier la pénicilline [57].

La présence d'antibiotiques est devenue la cause la plus fréquente de l'inhibition du développement des ferments lactiques dans les industries de transformation [70].

#### 2.2.2.2. Les antiparasitaires :

Les anthelminthiques sont souvent incriminés. Leur activité antimicrobienne, ou celle de leurs métabolites, n'a jamais été démontrée. Pour un certain nombre d'entre eux, il a été prouvé que leurs résidus, éliminés dans le lait,

n'avaient pas de pouvoir inhibiteur (oxyclozamide, métobin, albendazole, thiabendazole, lévamisole, fébandazole, oxfendazole, thiophanate etyl) [71, 72].

On note cependant quelques cas où la coïncidence d'un traitement anthelminthique et d'un accident de fabrication fromagère ont été observés, ceci serait dû à une action antifongique de certains résidus d'anthelminthiques [73].

Les antiparasitaires couramment utilisés chez la vache laitière ne posent donc pas de problème de résidus inhibiteurs. Le délai d'attente qui leur est imposé, quand il existe, l'est essentiellement pour des raisons toxicologiques (risques de santé publique).

### 2.2.3. Les antiseptiques et désinfectants :

Les antiseptiques et les désinfectants sont des substances chimiques qui permettent de détruire ou d'inactiver les microorganismes se trouvant sur des tissus vivants (antiseptiques) et sur des surfaces inanimées (désinfectants) [74].

#### 2.2.2.3.1 Antiseptiques :

Ce sont essentiellement les substances chimiques contenues dans les produits d'hygiène utilisés au moment de la traite qui risquent de poser des problèmes de résidus. Pour l'instant la désinfection des trayons ne peut se faire qu'après la traite et ne vise que la prévention de certaines mammites. Elle est réalisée par trempage ou pulvérisation avec des solutions antiseptiques à base d'iodophores, d'hypochlorites et de chlorhexidine, le lavage des trayons avant la traite suivante, selon les recommandations classiques, les élimine en évitant toute contamination du lait [56].

#### 2.2.2.3.2. Désinfectants :

L'emploi de désinfectants chimiques est devenu, dans bien des cas indispensable en hygiène laitière, de grosses quantités de désinfectants sont utilisées pour nettoyer les trayons et les pis des animaux et pour assainir les machines à traire et autres ustensiles laitiers [75].

Les détergents ne peuvent être détectés qu'en quantités très excessives, car les résidus, qui en résultent, sont des ions physiologiquement présents dans le lait (ions sodium, potassium, phosphates, acétates), leur toxicité pour le consommateur et les micro-organismes laitiers est nulle. En revanche, les conséquences potentielles de la présence de résidus de désinfectants et antiseptiques sont plus importantes. Ainsi les hypochlorites ont des propriétés inhibitrices, mais là encore à des concentrations improbables très supérieures à celles qui entraînent une modification de la saveur rédhibitoire, il faudrait par exemple 10% d'une solution de rinçage à 200 ppm d'hypochlorites de sodium (eau de javel) pour entraîner une inhibition des streptocoques lactiques [3, 56, 76].

Par ailleurs, certains travaux ont montré que des traces éventuelles de désinfectant dans le lait ne peuvent pas interférer avec les antibiotiques pour donner un résultat positif plus marqué (synergie) [77].

Le problème des inhibiteurs dans le lait semble pouvoir se limiter, au moins en première approche, à celui des résidus antibiotiques, car :

- Les inhibiteurs naturels n'assurent qu'une inhibition temporaire et sont très vite saturés ou inactivés après la traite, ils sont détruits par la pasteurisation.
- Les antiseptiques sont aisément détectables à leurs concentrations inhibitrices par modification des propriétés organoleptiques du lait.
- Les antiparasitaires, aux doses usuelles, n'ont aucune propriété antibactérienne.

## **CHAPITRE 3**

### **ANTIBIOTIQUE ET ANTIBIOTHERAPIE**

#### 3.1. Introduction :

Les antibiotiques représentent, de très loin, la classe des médicaments la plus employée, en médecine humaine comme en médecine vétérinaire. Les termes de « thérapeutique antibiotique » ou d' « antibiothérapie » traduisent cet usage très important, qui, s'il est justifié du fait de l'efficacité remarquable de ces composés dans la lutte contre les maladies infectieuses, doit s'effectuer de manière rationnelle [78].

#### 3.2. Notions générales sur les antibiotiques :

La première question qui se pose, lorsqu'on veut parler d'antibiotique, est la définition de ce terme. Il dérive de « antibiose », utilisé en 1889 par VUILLEMIN pour désigner les phénomènes d'antagonisme entre organismes vivants, par opposition à symbiose; et c'est WAKSMAN qui, après 1940, a développé l'usage du nom « antibiotique », on admet généralement que ce sont des « composés chimiques naturels produits par des micro-organismes, qui ont la propriété d'inhiber la croissance, et même de détruire, d'autres micro-organismes », et ceci à de faibles concentrations [79, 80]. Cette notion a été étendue aux molécules obtenues par hémisynthèse, ou par synthèse totale [81, 82].

Cependant, l'usage fait que l'on nomme antibiotique, toute substance d'origine naturelle ou synthétique possédant une activité antibactérienne et qui n'est pas toxique pour l'homme ou l'animal [83].

### 3.3. Importance :

L'importance des antibiotiques et des antibactériens de synthèse est considérable en médecine en raison de leur efficacité pour combattre les infections bactériennes humaines ou animales associée en général à une faible toxicité. Ces médicaments ont révolutionné le pronostic d'un certain nombre de maladies autrefois incurable (tuberculose, brucellose) et largement contribué à l'essor de l'élevage. Elles constituent la première classe de médicaments utilisés en médecine vétérinaire. Leur importance tient également au risque présenté par les antibio-résistances bactériennes. Leur utilisation en médecine vétérinaire peut avoir des répercussions considérables d'un point de vue de l'hygiène publique. C'est pourquoi, compte tenu de leur très large utilisation, la prescription d'antibiotiques doit être aussi limitée que possible [84].

### 3.4. Activité antibactérienne :

L'étude de l'activité antibactérienne des antibiotiques in vitro sur des cultures bactériennes, permet de définir certaines notions fondamentales en matière d'antibiothérapie [78].

#### 3.4.1. Spectre d'activité d'un antibiotique :

C'est l'ensemble des agents infectieux sensibles à l'action d'un antibiotique donné [85]. Il est différent pour chaque famille d'antibiotique, bien qu'il puisse se regrouper, en partie ou en totalité, avec celui d'autre antibiotique, c'est ainsi que les mêmes germes peuvent être sensibles à plusieurs antibiotiques à la fois.

Certains germes sont plus sensibles à certains antibiotiques que d'autres, et c'est en cherchant les germes sensibles qu'on arrive à établir le spectre d'activité de l'antibiotique [86, 87].

Certains antibiotiques sont actifs sur un faible nombre de bactéries, généralement à Gram positif ou à Gram négatif. On parle d'antibiotiques à spectre étroit. Les antibiotiques à spectre large sont ceux à activité plus étendue aussi bien sur les bactéries à Gram positif qu'à Gram négatif [88].

### 3.4.1. Effets bactériostatique et bactéricide :

En fonction de leur type d'activité, on distingue classiquement les antibiotiques bactériostatiques et bactéricides (Tableaux 3.1). Cette action s'apprécie in vitro par le dénombrement de la population bactérienne après mise en culture en présence de l'antibiotique aux concentrations sériques habituellement [88].

Tableau 3.1 : Associations d'antibiotiques [85].

Groupe I : Bactéricides	Groupe II : Bactériostatiques
B-lactamines	Macrolides
Aminosides	Acide fusidique
Polypeptidiques	Tétracyclines
Vancomycine	Chloranphenicol
	Lincomycine
	Sulfamides

Les membres du groupe I ont des effets additifs et peuvent être synergiques dans leur effet bactéricide (exemple : pénicillines + streptomycines). Les membres du groupe II peuvent avoir des effets bactériostatiques additifs mais ne sont jamais synergiques ; ils peuvent en principe antagoniser l'effet bactéricide des membres du groupe I [85].

### 3.4.2. La concentration minimale inhibitrice (CMI) :

L'activité antibactérienne se mesure in vitro par diverses méthodes. La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) est la méthode la plus répandue qui a aujourd'hui le mérite d'être parfaitement standardisée, ce qui permet la comparaison de valeurs provenant de laboratoires différents [84].

La concentration minimale inhibitrice (CMI) correspond à la concentration minimale d'antibiotique qui inhibe la croissance visible du germe après un temps de contact avec l'antibiotique de 12 à 18 heures (4 µg/ml) [89, 90]. Elle permet d'apprécier le degré de sensibilité d'un germe à l'action d'un antibiotique déterminé [78].

Dans une même espèce bactérienne, toutes les souches n'ont pas la même sensibilité à un antibiotique donné. L'évaluation globale de la sensibilité d'un antibiotique à une espèce bactérienne est donnée par la CMI 50 ou la CMI 90, qui représente la sensibilité de 50 ou de 90 % des souches courantes d'une même espèce à un antibiotique donné [88].

### 3.5. Utilisation des antibiotiques en élevage bovin :

Les familles des molécules utilisées en médecine vétérinaire sont les mêmes que celles utilisées en médecine humaine, mais des différences existent entre la pharmacopée humaine et la pharmacopée vétérinaire : en effet, la prise en compte du coût d'un traitement est capitale en production animale, ce qui pousse à privilégier des molécules anciennes, moins chères, telles que les pénicillines et les tétracyclines, qui représentent aujourd'hui encore les antibiotiques les plus utilisés en élevage [91]. Il faut noter que certains antibiotiques ont été spécifiquement dédiés à un usage vétérinaire, comme l'apramycine ou le florfénicol [92].

D'une façon générale, les grandes familles d'antibiotiques [93] sont présentées dans le tableau 3.2.

Tableau 3.2 : Antibiotiques autorisés à but thérapeutique en élevage bovin [93].

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

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

### 3.5.1. Utilisation des antibiotiques à but curatif ou préventif :

La maladie bactérienne est considérée comme le dépassement des défenses Immunitaires de l'organisme par une pression infectieuse. Malgré la mise en place de mesures Hygiéniques, vaccinales, ou la sélection génétique d'animaux plus résistants, il faut parfois avoir recours à un traitement antibiotique pour vaincre cette infection c'est l'antibiothérapie, l'antibactérien est une aide à apporter lorsque le système immunitaire est trop faible ou la souche infectieuse particulièrement virulente : ce n'est pas lui qui guérit l'animal, mais le système immunitaire [94]. Les objectifs d'une intervention à but thérapeutique sont donc de limiter la souffrance de l'animal malade, d'éviter la mortalité et, pour les animaux de rente, de rétablir les niveaux de production (lait, viande). Dans le cas de bactéries communes aux animaux et à l'Homme, il s'agit également d'éviter la transmission de ces micro-organismes aux personnes en contact avec l'animal malade [95].

L'hygiène et les conditions d'élevages sont des éléments capitaux de la prévention des maladies infectieuses [96]. Néanmoins, elles peuvent s'avérer insuffisantes et il faut avoir recours à certaines mesures préventives et notamment à l'administration d'antibiotiques. La métaphylaxie est une mesure mise en place lorsqu'une infection s'est déclarée dans un élevage, et qu'une proportion importante d'animaux est malade. Elle consiste en l'administration à dose curative de l'antibiotique utilisé sur les animaux malades aux animaux sensibles exposés non atteints. Dans cette optique, les objectifs recherchés sont les mêmes que ceux de l'antibiothérapie. En élevage bovin, la métaphylaxie est mise en oeuvre dans les infections contagieuses comme les affections respiratoires ou les entérites néo-natales, qui peuvent se transmettre à l'ensemble de l'effectif sensible très rapidement.

L'antibioprévention est l'administration préventive d'antibiotiques à dose thérapeutique à des individus soumis à un risque infectieux [95].

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

### 3.5.2. Une utilisation désormais interdite (les additifs antibiotiques) :

Les additifs antibiotiques, aujourd'hui interdits, sont des antibactériens utilisés à faible dose pendant toute la croissance des animaux avec l'objectif d'obtenir un gain de poids maximal en un minimum de temps [95].

Les animaux produits sous label (label rouge par exemple) ou agriculture biologique ne reçoivent pas d'antibiotique dans l'aliment, les bovins à l'herbage, les vaches laitières non plus [96, 97].

### 3.6. Pharmacocinétiques des antibiotiques :

Les antibiotiques restent un élément cardinal de la thérapie en médecine vétérinaire rurale. Un nombre important de nouveaux produits est arrivé ces dernières années sur le marché et une recherche approfondie de la pharmacocinétique de ces médicaments, a permis de révéler certains faits intéressants [98]. Selon FONTAINE [99], le terme de métabolisme des médicaments, on parle également du devenir ou sort d'une substance désigne, l'ensemble des phénomènes physico-chimiques et biochimiques qui régissent le cheminement de ces substances dans l'organisme (Cf. Figure 3.1).

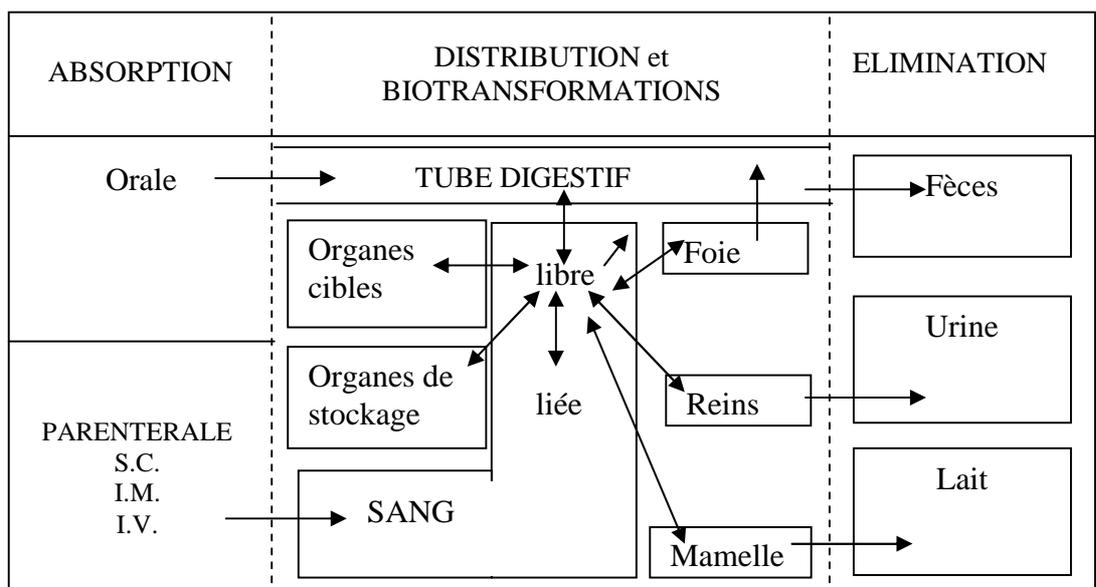


Figure 3.1 : Schéma général du devenir des xénobiotiques dans l'organisme [84].

Ces phases sont interdépendantes et interagissent pour déterminer la pharmacocinétique du médicament depuis son absorption jusqu'à son élimination, la progression d'un médicament dans un organisme vivant consiste essentiellement en des transferts à travers des membranes cellulaires : épithélium intestinal, paroi vasculaire, cellules des organes cibles, épithélium des tubules rénaux [78].

### 3.6.1. L'absorption :

L'absorption correspond au transfert du principe actif depuis son lieu d'administration vers le secteur plasmatique [86]. Un médicament peut être administré par différentes voies : entérales (orale, rectale), parentérales (percutanée, sous-cutanée, intramusculaire, intraveineuse) [100] ainsi que la voie intra-mammaire (diathélique) qui est largement utilisée dans le traitement et la prévention des mammites. C'est la voie qui assure la plus haute concentration en antibiotiques dans la mamelle, et la moins contraignante pour l'éleveur. Injecté dans un seul quartier, l'antibiotique pourrait se retrouver dans un quartier voisin [77]. L'absorption nécessite le franchissement des membranes biologiques qui peut se faire selon plusieurs mécanismes : (filtration (très petites molécules); transport actif; diffusion passive) [86].

### 3.6.2. La distribution :

Après résorption, le médicament se trouve dans le sang et va être transporté dans tous les tissus [101]. Ils sont véhiculés dans le sang, soit libre dans le plasma, soit liés à des protéines plasmatiques particulièrement les albumines ou à des éléments cellulaires [101, 102, 103]. Seule la fraction libre peut diffuser dans les organes et tissus notamment la mamelle où elle pourra être efficace contre les germes pathogènes.

### 3.6.3. La biotransformation :

Au cours de leur passage dans l'organisme, la plupart des médicaments subissent diverses modifications de leur structure chimique du fait de l'intervention

de nombreux systèmes enzymatiques. Le foie est le principal lieu de ce métabolisme. Le plus souvent, les transformations métaboliques inactivent le médicament mais c'est parfois l'inverse qui se produit. Certains médicaments ne sont pas du tout métabolisés et traversent tels quels l'organisme qui les reçoit [101, 104, 105].

Il existe essentiellement quatre principaux types de biotransformations : l'hydrolyse, l'oxydation, la réduction et la conjugaison, qui aboutissent généralement à des métabolites plus polaires et plus hydrosolubles, susceptibles d'être éliminés plus rapidement que la molécule initiale [101, 104].

#### 3.6.4. L'élimination des médicaments :

Les médicaments subissent dans l'organisme des transformations plus ou moins complètes, si bien qu'ils sont éliminés en partie sous forme intacte et en partie sous forme de métabolites. L'excrétion rapide des médicaments est de règle, par divers émonctoires : rein, foie, intestin, poumon, elle fait appel aux mêmes processus généraux que la résorption et la diffusion [106], une autre voie d'élimination des métabolites, le lait, pose un problème identique de résidus et de temps d'attente à celui de la viande et des abats [107].

##### 3.6.4.1. L'élimination lactée :

L'élimination lactée est particulièrement importante à considérer en médecine vétérinaire, sur le plan de l'hygiène alimentaire (résidus médicamenteux dans le lait et les produits laitiers). En général, le pourcentage de la dose administrée par voie générale éliminé dans le lait est relativement faible (inférieur à 1% en 24%); pour certains médicaments, il peut néanmoins poser de réels problèmes sur le plan hygiénique ou technologique [78].

##### a) Élimination des antibiotiques administrés par voie parentérale :

Les médicaments sont excrétés dans le lait par diffusion passive. Les paramètres qui vont conditionner la quantité transférée sont toujours les mêmes [101].

Les mécanismes de passage des substances du sang (pH: 7,4) vers le lait dont le pH est nettement plus acide (pH: 6,6) obéissent aux règles de traversée membranaires [78]. L'épithélium qui sépare le plasma du lait a les caractères d'une membrane lipoprotéique. La concentration d'un médicament dans le lait sera de ce fait fonction de sa concentration dans le plasma (le gradient de concentration (sang maternel-lait) est important), de son poids moléculaire (les composés de poids moléculaire inférieur à 800-1000 diffusent le mieux) et de son degré de liposolubilité dans les matières grasses du lait (les substances liposolubles quelque soit le pH passent également de façon notable l'épithélium de la glande mammaire) [78, 101, 102, 107].

Les bases faibles de bonne liposolubilité, comme les macrolides (spiramicines, tylosine) et les tétracyclines sont les molécules qui diffusent le mieux dans le lait d'une mamelle saine. La diffusion des acides faibles, comme les pénicillines et les sulfamides, est augmentée dans un lait de mammite, au pH diminué par rapport au lait sain. Si l'on veut limiter la diffusion, il faut éviter des pics de concentration trop importants (par exemple ceux suivant les injections IV rapides) et préférer des formes galéniques à libération prolongée [103].

Une fois passée dans le lait, la fraction libre a trois devenir possibles selon ses propriétés et les conditions du milieu [108] :

1. Elle reste sous forme libre dans la phase aqueuse (efficace contre les germes localisés dans la mamelle),
2. Elle se fixe aux protéines du lait (lactalbumine, caséine), débris, tissus,
3. Elle diffuse dans les globules gras.

b) Elimination des antibiotiques administrés par voie diathélique :

L'intérêt des seringues à usage intra-mammaire, en plus de permettre une forte concentration antibiotique au site infectieux [108], réside dans l'adjonction à l'antibiotique d'excipients lacto-miscibles, optimisant la diffusion du ou des principes actifs dans le parenchyme mammaire, sans biotransformation de la molécule active. Cette diffusion varie néanmoins selon la nature de la molécule

administrée : les pénicillines sont retrouvées à 90% dans le lait des deux traites suivant l'administration, les macrolides seulement à hauteur de 25 à 45 % [109]. Lors d'administration intra-mammaire, la quasi-totalité, de l'antibiotique est éliminé par le lait; néanmoins, la résorption d'une certaine proportion est possible, par passage du lait vers le sang [78].

La résorption systémique des antibiotiques par la mamelle, même si elle est mineure par rapport à l'élimination lactée, conduit à leur diffusion dans l'ensemble de l'organisme, en particulier dans les quartiers non traités. Cette diffusion peut également être directe, par voie transeptale (entre deux quartiers controlatéraux) [110]. Ceci explique que pour le traitement d'un quartier, c'est l'ensemble du lait produit qui est susceptible de contenir des résidus antibiotiques et qui est donc impropre à la collecte pendant tout le temps d'attente de la spécialité utilisée.

La plupart des antibiotiques se retrouvent dans le lait suite à une administration parentérale. Mais le produit actif doit traverser de nombreuses barrières avant d'arriver au contact des germes qui ont envahi la glande mammaire. La clairance mammaire est alors très faible.

La voie parentérale sera en général peu utilisée pour les mammites cliniques courantes ; par contre, vu son utilisation dans le traitement de toute maladie infectieuse, les problèmes qu'elle pose par la présence de résidus dans le lait est au moins aussi importante que la voie intra-mammaire [77].

### 3.6.5. Les facteurs de variation de l'excrétion mammaire :

L'excrétion mammaire d'antibiotique varie en fonction de plusieurs facteurs :

#### 3.6.5.1. Le principe actif :

Le passage dans le lait d'une molécule administrée par voie parentérale dépend essentiellement de son état d'ionisation (fonction du pka de la substance et du pH du milieu) et de sa disponibilité [56]. Les molécules ionisées sont très hydrophiles et ne peuvent pas diffuser dans les lipides. Le passage des molécules non ionisées dans les phases lipidiques dépend de leur lipophilie. Les différents

secteurs aqueux de l'organisme n'ont pas le même pH, le degré d'ionisation d'une molécule varie donc selon les secteurs [111].

Le passage de la barrière mammaire se fait plus facilement sous la forme non ionisée du fait de son caractère lipophile marqué. Les molécules hydrosolubles diffuseront très mal à travers cette barrière lipophile, tandis que les liposolubles (non ionisées au pH sanguin) passeront aisément dans le lait.

Les antibiotiques bases faibles seront moins ionisés au pH du lait (6,6 - 6,8) et diffuseront beaucoup mieux que les acides faibles. 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.

Après injection parentérale on retrouvera plus facilement dans le lait, les tétracyclines, les macrolides (spiramycine, erythromycine, tylosine). Les bêtalactamines, acides faibles, se retrouvent en quantité plus faibles, des substances comme la colistine ne se retrouvent pratiquement pas dans le lait [56].

Pour un même antibiotique, sa durée d'élimination dans le lait peut être très différente selon sa présentation (pénicilline procaine : 5 jours, pénicilline benzathine : 20 à 30 jours); il faut donc toujours se référer aux données de l'AMM (Autorisation de Mise au Marché) de produit concerné et jamais à celles d'un produit voisin [112].

#### 3.6.5.2. L'excipient :

La nature, huileuse ou aqueuse, de l'excipient contenu dans la spécialité antibiotique, de même que la présence ou non d'épaississants, ont des effets inconstant sur la durée d'excrétion de résidus [113].

Pour les produits injectés par voie parentérale, les excipients huileux entraînent une élimination beaucoup plus longue qu'en excipient aqueux. Une pénicilline procaine en excipient huileux aura une durée d'excrétion, majorée de 125 % par rapport à la même pénicilline en milieu aqueux [114, 115]. Pour les produits injectés dans la mamelle, le rôle de l'excipient est essentiel, c'est lui qui, dans la plupart des cas, détermine le délai d'attente [56].

Dans les seringues à usage intra-mammaire, le ou les principes actifs antibiotiques sont mis en suspension sous forme d'une crème plus ou moins consistante, l'excipient et en règle générale une huile végétale ou minérale, comparable avec la stabilité des antibiotiques (souvent peu stables en milieu aqueux), à laquelle sont parfois adjoints des absorbants (stéarate d'aluminium par exemple) qui ralentissent le relargage du principe actif par l'excipient (dans les traitements hors lactation). Ainsi les excipients qui conduisent aux éliminations les plus rapides sont ceux qui possèdent une bonne capacité de dispersion dans l'eau et une viscosité moyenne; les excipients très visqueux et faiblement dispersibles dans l'eau engendrent des éliminations plus lentes [108]. L'influence de l'excipient sur la durée de la présence de résidus dans le lait est beaucoup plus importante que celle de la dose d'antibiotiques administrée [116].

Avec une utilisation conforme et le respect d'un délai minimal de 4 à 5 semaines de tarissement, les antibiotiques résiduels au moment du vêlage sont rapidement éliminés dans les premières traites; en cas de vêlage prématuré, le lait peut contenir encore trop de résidus au delà de la période colostrale de 7 jours (14 jours sont conseillés dans ce cas pour la majorité des produits) et être source d'inhibiteurs chez les éleveurs non attentifs à ce risque.

#### 3.6.5.3. La posologie :

La posologie utilisée exerce une influence relativement limitée, en particulier la répétition des traitements à intervalles réguliers n'entraîne pas de variation du délai d'attente après la dernière administration; tout se passe comme s'il existait un phénomène de saturation de la mamelle [116]. La répétition journalière ne fait que décaler d'autant la durée d'élimination des résidus antibiotiques [116, 117, 118].

En revanche la quantité de résidus engendrés par un traitement est directement corrélée à la quantité de principe actif administrée [119]. L'augmentation de la dose semble entraîner un allongement systématique de la durée d'excrétion pour les antibiotiques injectés par voie parentérale [56].

Pour les produits injectés dans la mamelle, l'augmentation de la quantité de pommade, à même excipient et quantité d'antibiotique égale, entraîne un allongement important du délai d'attente [116], cette constatation est extrêmement importante dans la mesure où certains éleveurs sont parfois tentés d'administrer plusieurs seringues simultanément, ce qui constitue un grand facteur de risque d'inhibiteur.

#### 3.6.5.4. La voie d'administration :

Le changement de la voie d'administration peut modifier la concentration d'antibiotique retrouvée dans le lait et la durée de son élimination. D'une manière générale, on remarque que la voie mammaire entraîne des durées d'excrétions beaucoup plus longues que la voie intramusculaire pour un même produit et sa concentration dans le lait est beaucoup plus importante. En conséquence les délais d'attentes prévus pour des préparations devant être injectées par voie transcutanée sont sans aucune signification si on utilise la voie intra-mammaire; ces produits ne doivent pas être infusés dans la mamelle. L'administration par voie intra-veineuse ou intra-péritonéale entraîne généralement une durée d'élimination plus courte que par voie intramusculaire [56].

#### 3.6.5.5. Selon l'animal :

Il existe une variation individuelle très importante dans les quantités de résidus trouvées dans le lait de vaches ayant reçus un même traitement à la même posologie [116].

##### **a) Influence du niveau de production :**

Les taux résiduels sont toujours plus élevés chez les femelles faibles productrices que chez les grandes laitières, en raison de phénomène de dilution et de l'augmentation de la vitesse d'élimination par des quantités de lait importantes [116, 120]. C'est pourquoi les contrôles de l'interprofession laitiers ne s'effectuent que sur l'ensemble d'une collecte dit « lait de tank », correspond à 5 ou 6 traites selon la fréquence des ramassages.

**b) Influence du stade de lactation :**

Le stade de lactation est également un facteur pouvant influé sur la vitesse d'élimination des résidus dans le lait [121].

Lorsque le traitement est fait pendant la lactation, la traite élimine une grande partie de l'antibiotique présent dans la mamelle. L'administration doit être renouvelée. Lors de traitement au moment du tarissement, l'involution de la glande mammaire pourrait au contraire avoir un effet de concentration [108].

**c) Influence de l'état de la mamelle :**

La diffusion des antibiotiques dans le lait varie sensiblement en fonction de son pH (d'autant plus abaissé que l'inflammation est aigue) [109].

Les mammites entraînent des modifications du pH et de la composition du lait, les processus de filtration entre le sang et le lait sont également modifiés, à cause des modifications des membranes biologiques lors de l'inflammation.

D'une manière générale, dans les laits de mammites, les macrolides diffusent moins bien et la pénicilline beaucoup mieux que dans un lait sain (Ceci est surtout lié à l'élévation du pH) [56]. Cependant, il semble que l'effet de l'inflammation n'influence guère sur la quantité d'antibiotique excrétée, une éventuelle augmentation de concentration due à une meilleure diffusion étant compensée par la diminution de production lactée généralement associée à la mammite [109].

La pharmacocinétique des antibiotiques, quelle que soit leurs voie d'administration, explique l'importance de respecter un délai d'attente après un traitement, afin de pouvoir commercialiser le lait sans risque de concentration en résidus inhibiteurs dommageable. Elle montre notamment comment certaines pratiques d'élevage (non respect des délais, des indications de l'AMM élimination du lait du seul quartier traité) constituent de forts facteurs de risque de contamination de la production de lait par des résidus inhibiteurs.

### 3.6.6. Origine de la contamination du lait :

Depuis plusieurs années, des enquêtes sont menées dans les élevages où des inhibiteurs ont été détectés. De plus, une initiative privée anime un réseau de surveillance (NOVI : Nouvel Observatoire Virbac des Inhibiteurs) qui collecte auprès d'entreprises volontaires les résultats d'enquêtes effectuées chez des producteurs pénalisés [122]. L'enquête réalisée avec le GTV de la région Rhône-Alpes [69], auprès d'éleveurs détectés positifs a confirmé que ce sont bien les antibiotiques qui représentent la principale source de contamination du lait (87,5% des cas). Au cours de cette enquête, les antiparasitaires et les conservateurs n'ont jamais été suspectés.

#### 3.6.6.1. Principales erreurs commises par les éleveurs :

Les erreurs commises par les éleveurs constituent une source importante de contamination du lait. Elles peuvent être résumées de la manière suivante [123] :

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

#### 3.6.6.1.1. La mauvaise utilisation du médicament :

Des études sur l'origine de résidus dans le lait avaient déjà montré que les trois quarts de résidus retrouvés dans le lait des éleveurs pénalisés sont des antibiotiques et que leur présence est liée à une mauvaise utilisation du médicament [124].

Cette mauvaise utilisation se manifeste par les traitements inadaptés non conformes aux exigences de l'AMM [56].

- Le non respect des protocoles de traitement des produits administrés par voie intra-mammaire est fréquemment mis en cause, dans 38% des cas selon l'enquête de FABRE et al [125].
- Le non respect de la dose est régulièrement constaté. Augmenter la dose lors d'une injection ou doubler une administration par voie intra-mammaire vont allonger systématiquement la durée d'élimination dans le lait [56] traduisant, entre autres, un manque de sensibilisation au fait que toute modification des protocoles de traitement induit une modification des délais d'attente.
- L'usage anormale et hors AMM des médicaments, comme l'administration par voie intra mammaire de suspension destinée à la voie intramusculaire (IM) pour traiter des mammites en lactation, est également recensé. Le délai d'attente est inconnu mais il est fréquent qu'on applique le délai prévu pour la voie IM, ce qui est tout à fait inadéquat. De même, l'emploi de spécialité destinée au tarissement pendant la lactation a été rencontré [122].

#### 3.6.6.1.2. Le non respect du délai d'attente :

Il est encore trop souvent constaté alors que dans la plupart des cas il est connu de l'éleveur [56]. Ceci peut être dû essentiellement à :

- Un acte volontaire de la part de l'éleveur par ignorance des risques réels d'un tel acte.
- Un défaut de communication entre le vétérinaire et l'éleveur.

#### 3.6.6.1.3. L'absence d'identification des animaux :

L'absence d'identification des animaux traités, pouvant être traités par un autre trayeur qui n'a pas en connaissance du traitement, est un problème constant, surtout pour les traitements hors lactation, c'est une des causes de l'augmentation des pollutions des laits lors du week-end. Les bracelets ou rubans permettant de repérer les animaux traités sont maintenant largement diffusés sur le terrain, mais ne sont pas toujours utilisés par les éleveurs. D'après FORM [126], l'enquête NOVI réalisée en 2002 montre clairement qu'un déficit de communication est la principale source des accidents rencontrés dans 60% des élevages, des trayeurs différents interviennent en fonction des traites, notamment durant les week-ends.

#### 3.6.6.1.4. Défaut d'hygiène du matériel :

Une mauvaise vidange est une absence de rinçage de la griffe qui vient de traire une vache sous délais d'attente (une cuillerée à soupe de lait d'une vache traitée à la pénicilline peut contaminer un tank) sont régulièrement mises en causes et dans ce cas l'éleveur, qui trait à part l'animal traité; est persuadé de respecter le délai d'attente [56, 125].

Le principe de traire en dernier les animaux sous délai d'attente est rarement appliqué. L'emploi de certains bidons de dérivation trop petits est également invoqué : une contenance de 20 litres paraît trop juste pour les vaches hautes productrices, le lait ainsi dévié risque de déborder en fin de traite, provoquant alors un reflux de lait, via la griffe, vers les canalisations principales et le tank.

## **CHAPITRE 4**

### **LES CONSEQUENCES LIES À LA PRESENCE D'INHIBITEURS DANS LE LAIT**

#### 4.1. Introduction :

Après administration à un animal d'un médicament, ce dernier subit le plus souvent une métabolisation qui a pour objet, en fait de favoriser son élimination et dans une très large mesure sa détoxification. En général, la très grande majorité du produit parentéral et de ses métabolites sont excrétés par l'urine et dans les matières fécales. Cependant, on peut trouver de tels produits dans le lait et dans d'autres denrées alimentaires d'origine animale. Néanmoins, il est certain que les quantités de résidus seront dans l'immense majorité des cas, faible [127].

Au début, les résidus d'antibiotiques dans le lait ont été recherchés car ils posaient des problèmes technologiques dans le processus de transformation du lait [121]. Maintenant la détection des inhibiteurs est incluse essentiellement dans la définition de la qualité du lait et le risque associé à ces résidus est pris en compte dans le cadre de la protection de la santé des consommateurs.

#### 4.2. Les risques pour la santé publique :

La santé de l'homme est directement liée à son environnement et en particulier à la nature et la qualité de son alimentation. Les médicaments vétérinaires, dans la mesure où ils peuvent interférer avec celle-ci au travers des résidus présents dans les denrées d'origine animale (notamment le lait) provenant des animaux traités, posent donc un problème de santé publique [127, 128].

D'après LAURENTIE et SANDERS [129], les réflexions sur les résidus et les soucis de protéger la santé des consommateurs ont abouti au développement de deux concepts complémentaires :

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

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

a. Les limites maximales résiduelles :

La limite maximale de résidus est la concentration maximale en résidus, résultant de l'utilisation d'un médicament vétérinaire, que la communauté européenne considère sans risque sanitaire pour le consommateur et que ne doit pas être dépassée dans ou sur les denrées alimentaires [129].

b. Le temps d'attente :

Le temps d'attente (TA) est défini dans la directive 81/851/CEE (1990). Il correspond « au délai entre la dernière administration de la spécialité à des animaux sous les conditions normales d'emploi et la production de denrées alimentaires issues de ces animaux, afin de garantir que ces denrées ne contiennent pas de résidus en quantités supérieures aux LMR ». Le respect du temps d'attente doit permettre de commercialiser dans la majorité des cas des denrées qui présentent des concentrations en résidus inférieures ou très proche de la limite maximale de résidus, garantissant ainsi la protection de la santé du consommateur. Il est établi en fonction de la posologie et de la voie d'administration de l'antibiotique. Toute modification de la posologie ou de la voie d'administration modifiera le délai d'attente du produit [37].

Les résidus inhibiteurs peuvent être à l'origine d'accidents d'hypersensibilités, de risques toxiques et de risques microbiens [130].

4.2.1. Risques toxicologiques :

Différents auteurs se sont posés la question de savoir si l'administration répétée de petites doses d'antibiotiques aux animaux d'élevages ne faisait pas courir un risque de formation de substances toxiques chez l'animal d'abord, chez le consommateur ensuite [131].

Les effets de toxicité directe sont d'importance secondaire en matière de pharmacovigilance car ces risques sont bien connus et n'apparaissent pas dans

les conditions normales d'emploi du médicament [132]. D'une façon générale, les risques toxiques dépendent de la dose ingérée, de la nature de l'antibiotique, de leur absorption au niveau du tube digestif et de leur résistance aux principaux procédés de conservation des aliments [130].

Si les médicaments vétérinaires peuvent évidemment laisser des résidus dans les denrées des animaux traités, il est à souligner que ces résidus sont quantitativement toujours très faible et que leur présence n'est pas forcément synonyme de toxicité [133]. Personne ne s'est intoxiqué, personne ne s'intoxiquera en consommant une ou plusieurs fois dans sa vie, d'une manière non répétitive, une denrée contenant des résidus [127]. Par contre, l'ingestion régulière de faible quantité de la même substance puisse entraîner à la longue, par effets cumulatifs, des manifestations toxiques : atteinte organique insidieuses diverses [134, 135] :

- Les aminoglycosides (stréptomycines, kanamycines) sont difficilement absorbés par voie digestive et ils n'apparaissent pas sous forme de résidus lorsqu'ils sont administrés per os [130].
- Dans le cas des pénicillines, les experts concluent que «les effets toxiques peuvent seulement apparaître qu'après des doses extrêmement élevées » [136].
- Les macrolides se caractérisent par une absorption digestive facile mais leur toxicité est faible ; aussi ils ne posent pas de problème de résidus lorsqu'ils sont utilisés comme additifs dans l'alimentation des animaux [130].
- Le chloramphénicol, rapidement absorbé par l'organisme, peut se trouver dans les denrées alimentaires et cela représente un danger car cette substance peut être la cause, même à des doses infra thérapeutiques, d'accident chez le consommateur [130]. Avec cette molécule, deux manifestation sont possibles [136, 137, 138]:
  - L'erythroblastopénie : c'est une anémie dose dépendante et réversible.
  - L'aplasie médullaire : c'est une atteinte des trois lignées cellulaires des cellules sanguines (les thrombocytes, les leucocytes, les hématies).
- Les tétracyclines sont plus dangereuses, car, après leur absorption digestive, elles se fixent dans le tissu osseux et le système nerveux. Ces substances sont surtout toxiques pour le foetus et le nourrisson chez qui elles déterminent des

troubles nerveux par l'hypertension intracrânienne, des troubles de la croissance et des troubles dentaires par suite de leur pouvoir complexant à l'égard du calcium [130].

#### 4.2.2. Risques allergiques :

Les allergies alimentaires, constituent une forme particulière, proche de la forme extrême du choc anaphylactique, il a été montré que seuls les individus génétiquement prédisposés et préalablement susceptible de réagir ultérieurement à des doses très faibles. Cette probabilité existe en ce qui concerne le lait, mais demeure extrêmement faible [139]. Le schéma général d'une réaction allergique est toujours le même pour qu'une allergie ou hypersensibilité se déclare, il faut que l'organisme ait été en contact au moins deux fois avec l'allergène. Un premier contact sensibilisant qui permet à l'organisme de reconnaître l'allergène, un deuxième contact déclanchant qui va provoquer la crise [73].

Les résidus antibiotiques présents dans le lait ne peuvent intervenir qu'en tant qu'élément déclanchant [140]. En raison des quantités faibles de résidus permises dans la nourriture, la sensibilisation par ces résidus dans les aliments est considérée comme pratiquement impossible. Théoriquement, la présence de résidus dans les denrées d'origines animales pourrait provoquer des réactions allergiques chez un individu déjà sensibilisé. Néanmoins, les quantités semblent trop faibles pour provoquer des symptômes allergiques si la valeur de LMR n'est pas dépassée [141]. Les résidus antibiotiques utilisés en thérapeutique animale sont parfois incriminés en allergologie humaine. Le plus souvent mis en cause sont les pénicillines, suivie des sulfamides et dans une bien moindre mesure, d'autres familles comme les tétracyclines ou spiramycine [73]. Les divers antibiotiques se comportent comme des haptènes et après couplage avec des protéines, ils sont capables d'induire la formation d'anticorps responsables des états graves d'hypersensibilité. La pénicilline est décomposée dans l'organisme et donne naissance à deux types de dérivés, sans pouvoir antibiotique, mais susceptible de se fixer, chacune à leur manière, sur les protéines et de donner ainsi des complexes antigéniques. Dans le cas de la pénicilline, c'est le noyau 6 amino-pénicillinique qui joue le rôle d'allergène [130].

Les manifestations allergiques imputables aux résidus d'antibiotiques sont peu fréquentes et peu graves [142] se caractérise le plus souvent, par une symptomatologie variée : dermatose, manifestations respiratoires, réactions articulaires, troubles digestifs, réactions oedémateuses du type oedème de Quincke, mais aussi, des quelques cas graves, par un choc anaphylactique mortel [130]. Quelques cas seulement d'allergie à la pénicilline, suite à la consommation de produits laitiers, ont été déclarés dans le monde au cours des dernières décennies [140]. Les services de santé publique se sont inquiétés de la présence d'antibiotiques dans le lait et les produits laitiers, en particulier, l'observation de graves allergies chez l'homme suite de l'administration de pénicilline, ce fait soupçonne que la présence de pénicilline dans les approvisionnements laitiers pourraient intervenir dans la sensibilisation de la population humaine et déclencher des symptômes de chocs allergique chez les sujets sensibles [75].

#### 4.2.3. Risques bactériologiques :

La question qui se pose est de savoir si l'ingestion de faibles doses d'antibiotiques présents dans les denrées alimentaires d'origines animales peut entraîner l'apparition de phénomènes d'antibio-résistance dans la flore naturelle de l'homme. Avant de trouver une réponse à cette question, il est nécessaire d'indiquer quelques éléments qui doivent être pris en compte pour évaluer l'action éventuelle des résidus d'antibiotiques sur la flore digestive humaine [135]. La résistance d'une bactérie à un antibiotique peut être naturelle ou acquise.

L'apparition d'une résistance acquise, celle qui nous intéresse au premier chef ici, peut être due à :

- Une mutation de l'ADN chromosomique, phénomène rare et spontané non induit par un anti-infectieux, qui ne joue ici que le rôle d'agent de sélection. Ce n'est pas cette modalité que des résidus d'antibiotiques contenus dans le lait peuvent intervenir de façon majeure.
- Un plasmide (ADN extrachromosomique) de résistance, transmissible d'une bactérie à une autre par transduction (intermédiaire d'un virus bactériophage) ou par conjugaison (passage d'un plasmide d'une bactérie à une autre par contact) y

compris entre bactérie d'espèces différentes. On considère que 80% à 90% des souches bactériennes résistantes en santé humaine relèvent de cette cause [143].

- Transposons: ce sont des gènes porteurs de caractères de résistances, capables de se déplacer d'un réplicon (plasmide ou chromosome) à un autre. L'inversion de ces gènes mobiles dans un réplicon se fait par le phénomène dit de « transposition ». La majorité des transposons identifiés jusqu'ici sont issus de plasmides de résistance [144].

L'antibiotique n'induit pas la formation de plasmide et n'intervient pas dans le passage d'un gène à l'autre. L'antibiotique sélectionne les germes porteurs des plasmides qui permettent de lui résister. Ces porteurs de plasmides sont susceptibles dans certaines circonstances de transférer leur antibio-résistance à des germes pathogènes notamment pour l'homme. Sur un germe déterminé la pression de sélection ne sera notable que si l'antibiotique existe dans le milieu à une concentration supérieure ou égale à la CMI et si cette concentration se maintient pendant un temps suffisant [135]. Les résidus d'agents antimicrobiens dans les denrées d'origine animale à des concentrations supérieures aux LMR pourraient contribuer à l'apparition de résistance des bactéries chez l'homme. Cependant, les observations enregistrées jusqu'à présent montrent que ce risque est faible [141,145].

Les antibiotiques peuvent influencer la flore intestinale de deux manières [141] :

1. En modifiant sa composition par une inhibition sélective de composants déterminés : la flore intestinale peut être modifiée après administration orale d'antibiotique, néanmoins, il n'est pas facile d'évaluer l'influence de quantités faibles d'antibiotiques sous forme de résidus dans les produits animaux. Il n'y a donc pas de preuves scientifiques que des concentrations en résidus inférieures à la LMR, puissent affecter sérieusement la flore intestinale en modifiant sa composition par une inhibition sélective.
2. En favorisant ou en sélectionnant des micro-organismes résistants. Autre chose est de la sélection d'une flore résistante.

Mais ce type de risque ne serait important que pour des doses thérapeutiques et non pour les doses résiduelles qui nous intéressent ici. D'autre part il faut noter

que le tube digestif de l'homme lui-même contribue à rendre ce risque plus ou moins important pour différentes raisons [77] :

- Dilution des résidus par les autres ingesta et surtout par l'ensemble des sécrétions (environ huit litres par jour) gastriques, salivaires et intestinales.
- Au contraire, pour les antibiotiques non résorbés dans les parties initiales du tractus digestif, c'est le phénomène de concentration qui prévaut dans les parties distales. L'influence sur la flore digestive sera dans ce cas très importante, et notamment lorsque l'on sait que la flore digestive est surtout présente dans les parties terminales (caecum, colon, rectum).
- Certaines enzymes peuvent inactiver la molécule du principe actif.
- L'anaérobiose est moins propice que l'aérobiose, les concentrations minimales inhibitrices étant donc en général supérieures à celles obtenues in vitro.
- Le pH est un facteur très important de l'activité des antibiotiques. Ainsi, les pénicillines sont détruites dans l'estomac, les aminosides sont plus actifs en milieu alcalin, les tétracyclines en milieu acide.
- Certaines parties des molécules peuvent se fixer sur les protéines fécales, n'étant alors plus disponibles pour l'activité antibiotique.

Les principales raisons de l'accroissement de l'antibio-résistance des micro-organismes en médecine humaine, sont à rechercher dans les pratiques médicales humaines. Recours de plus en plus fréquent à l'antibiothérapie auto médication massive, non respect des traitements prescrits, augmentation du nombre de personnes immunodéficientes, développement des maladies graves dues à des bactéries opportunistes [140]. L'OMS, l'OIE et 14 autres organisations internationales gouvernementales et non gouvernementales ainsi que des sociétés professionnelles ont élaboré un cadre de recommandations pour réduire l'abus et le mauvais usage des antimicrobiens sur les animaux destinés à l'alimentation dans le but de protéger la santé humaine [146].

### 4.3. Risques technologiques :

#### 4.3.1. Importance des micro-organismes en technologie laitière :

Les technologies laitières reposent en partie sur l'utilisation de bactéries lactiques. Celles-ci sont responsables de l'acidification de lait qui permet la coagulation des caséines, elle participe au développement des arômes dans de nombreux produits laitiers surtout les yaourts [3, 56].

Tableau 4.1 : Quelques micro-organismes utilisés en technologie laitière et leurs propriétés [26,18].

<b>Genre</b>	<b>Bactérie</b>	<b>Propriété</b>
<i>Streptococcus</i>	<i>S. thermophilus</i>	Acidification et maturation des fromages (flore spécifique du yaourt).
	<i>S. lactis</i> <i>S. cremoris</i>	Coagulation spontanée.
	<i>S. diacetylactis</i>	Ferment d'arôme (crèmerie et beurrerie).
<i>Leuconostoc</i>	<i>L. citroyorum</i>	Ferment d'arôme (crèmerie et beurrerie).
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. bulgaricus</i>	Acidifiant puissant (flore spécifique du yaourt agent responsable de la viscosité).
	<i>L. lactis</i> <i>L. helveticus</i>	Maturation des fromages et acidification.
	<i>L. casei</i>	Maturation des fromages.
	<i>L. caucasicus</i>	Fermentation du kéfir.

#### 4.3.2. Sensibilité des ferments aux antibiotiques :

Même si la souche de ferment lactique n'est pas très sensible à l'action de l'antibiotique, son activité fermentaire peut être fortement ralentie. MOUROT et LOUSSOUARN [147], ont effectué des expériences sur le *Streptococcus thermophilus*. Il apparaît qu'il est nettement moins sensible aux aminosides qu'aux pénicillines. On retrouve lors de ces expériences le problème majeur rencontré par les laiteries, ainsi, de très faibles concentrations de pénicillines (0,05 ppm)

ralentissent de façon significative la fermentation lactique, 0,1 à 0,2 ppm stoppent l'acidification et 0,01 ppm annulent la production d'arôme [77].

Les manifestations dues aux inhibiteurs sont diverses mais toutes ciblées sur les phénomènes liés aux bactéries et ferments lactiques. Ces conséquences technologiques dépendent de deux facteurs :

#### 4.3.2.1 La dose résiduelle d'inhibiteur dans le lait collecté :

Le lait collecté auprès des éleveurs est acheminé vers les entreprises laitières ou il est mélangé dans des récipients de très grand volume. De ce fait, la présence de résidus dans le lait mélangé tombe ainsi au dessous de LMR (limite maximale de résidus) et comme de plus, le seuil de détection des tests est proche de LMR pour la plupart des molécules, le lait de tank est forcément négatif [148]. Cependant pour la transformation laitière, la présence d'inhibiteurs dans le lait est très redoutée pour des raisons technologiques. Ceci, même à des concentrations très faibles. Il a été démontré que 10 litres de lait d'une vache traitée pouvaient perturber la fabrication de 86 000 litres de lait et de rendre positive à la détection une citerne de 200 000 litres de lait de mélange [149].

#### 4.3.2.2. La sensibilité des germes lactiques utilisés vis-à-vis des antibiotiques :

Cette sensibilité varie selon les germes et les antibiotiques. La croissance des bactéries peut être inhibée par de très petites quantités d'antibiotiques et elles sont très sensibles à la plupart des antibiotiques utilisés pour le traitement des mammites, en particulier ceux de la famille des bêtalactamines et surtout la pénicilline [56].

#### 4.3.3. Conséquences de l'inhibition des ferments :

La présence de substances inhibitrices dans le lait, à une certaine concentration résulte une inhibition partielle ou totale des phénomènes fermentaires d'origine bactérienne nécessaire à la fabrication de la plupart des produits laitiers (Tableau 4.1). L'inhibition des ferments par les résidus

antibiotiques peut prendre de multiples aspects, touchant à la fois à la qualité du produit fini en fin de chaîne de production et au rendement de fabrication [26]. Les accidents les plus courants sont les défauts de coagulation du lait, l'insuffisance de l'égouttage et les risques de prolifération incontrôlée de germes gazogènes, insensibles aux antibiotiques (coliformes, bacilles, clostridium) [56, 150].

Les traitements par la chaleur (pasteurisation, stérilisation, upérisation, dessiccation) comme l'adjonction de pénicilline n'ont pratiquement aucun effet inactivant sur les résidus d'antibiotiques, la pénicilline peut aussi se trouver à partir de lait cru ou traité par la chaleur, aussi bien dans les produits de transformation laitière (lait fermenté, beurre, fromage) que dans la poudre de lait.

## **CHAPITRE 5**

### **LES METHODES DE DETECTION DES RESIDUS INHIBITEURS DANS LE LAIT**

#### 5.1. Introduction :

Depuis 1945, on a développé un peu partout dans le monde un nombre impressionnant de méthodes pour la détection des antibiotiques dans le lait [37]. Les premiers tests de recherche des inhibiteurs dans le lait sont apparus peu de temps après les premières utilisations d'antibiotiques en élevages laitiers. La 1<sup>ère</sup> méthode officielle a été définie en 1983 [55].

Aujourd'hui, il existe différentes méthodes de détection de résidus inhibiteurs.

#### 5.2. Les méthodes micro biologiques :

Les méthodes de détection les plus couramment employées sont celles utilisant la sensibilité de certaines souches bactériennes vis à vis d'un ou de plusieurs antibiotiques [151].

Il existe deux catégories de méthodes microbiologiques :

- La méthode officielle, seule reconnue au niveau des laboratoires interprofessionnels et garante du paiement du lait à la qualité;
- Les méthodes utilisant des tests rapides commerciaux.

##### 5.2.1. La 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 [56].

Elle se déroule en deux temps :

#### 5.2.1.1. Epreuve d'acidification (dépistage) :

Jusqu'au 1<sup>er</sup> 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 remplacée pour le dépistage par une souche de *streptococcus stearothermophilus* variété *calidolactis*, souche C 953 comme organisme-test (Delvotest MCS pour le lait de vache et test éclipse pour le lait de chèvre et de brebis) [148, 152, 153]. 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 supérieur, à leur LMR [55, 148, 151]. Tous les échantillons positifs ou douteux doivent être soumis à une épreuve de confirmation par la méthode de diffusion en gélose [56, 151].

C'est une méthode de réalisation simple peuvent être en partie automatisée mais qui demande un certain temps (2h 30 en étuve) [56].

#### 5.2.1.2. Epreuve 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 [148]. Elle consiste à tester des échantillons douteux ou positif sur 2 boites de pétri différentes, sur 2 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 boite 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 [56, 154]. Au cours de l'incubation les antibiotiques éventuellement présents dans le lait diffusent dans la gélose et inhibent la croissance de l'organisme test. Il en résulte la formation d'une zone transparente autour du disque [155]. Si le diamètre de cette zone d'inhibition est supérieur à 10 mm, le résultat est positif [56, 156].

Certains pays se contentent de réaliser une seule analyse (le dépistage) et la confirmation peut consister en une reprise du test avec *B. stearothermophilus* [148].

#### 5.2.2. Les tests de détection rapides :

La méthode officielle ne permet pas de préciser la nature de la substance inhibitrice incriminée. Par ailleurs elle est longue à mettre en œuvre (16-18h pour les épreuves de confirmations). Les impératifs de fabrication en industrie amènent les laiteries à utiliser d'autres tests, non officiels, plus rapides, de façon à tester les laits de grand mélange et à pouvoir lancer rapidement la chaîne de fabrication [55].

Un certain nombre de tests sont à leur disposition, leurs seuils de détection peuvent être sensiblement différents de ceux de la méthode officielle, le choix sera déterminé par les impératifs techniques de la fabrication et les entreprises recherchant [56].

##### 5.2.2.1. Le delvotest (Gist-Brocades) :

C'est le test le plus utilisé, plusieurs versions sont proposées, qui permettent de le mettre en œuvre soit en laboratoire, soit à la ferme, il est livré sous forme de kits normalisés qui rendent son utilisation très simple [55].

C'est un test biologique simple, standardisé, fondé sur la multiplication d'un germe, *Bacillus stearothermophilus* var *calidolactis* C 953 révélé par un indicateur coloré de pH [55, 56]. Pour effectuer le test, il suffit d'ouvrir une ampoule contenant en nombre standardisé les spores de bactéries dans un milieu gélosé, d'y ajouter un comprimé de milieu nutritif à l'aide d'une pince afin d'éviter tous risques de contaminations et 0,1 ml de lait à tester au moyen d'une pipette à embout jetable. Les ampoules sont fermées par du ruban adhésif et maintenues 02h30 dans un incubateur à 64 +/- 1°C pour la détection des antibiotiques (Delvotest P) ou 02h 45 pour la détection des antibiotiques et des sulfamides (Delvotest SP) [55].

Si le lait ne contient aucune substance, le milieu nutritif vire du violet au jaune en raison de la production d'acide par le germe. Les inhibiteurs éventuellement présents dans le lait empêchent la croissance du germe et la production d'acide, dans ce cas, la couleur de l'indicateur de pH ne vire pas [157] (Cf. Figure 5.1).

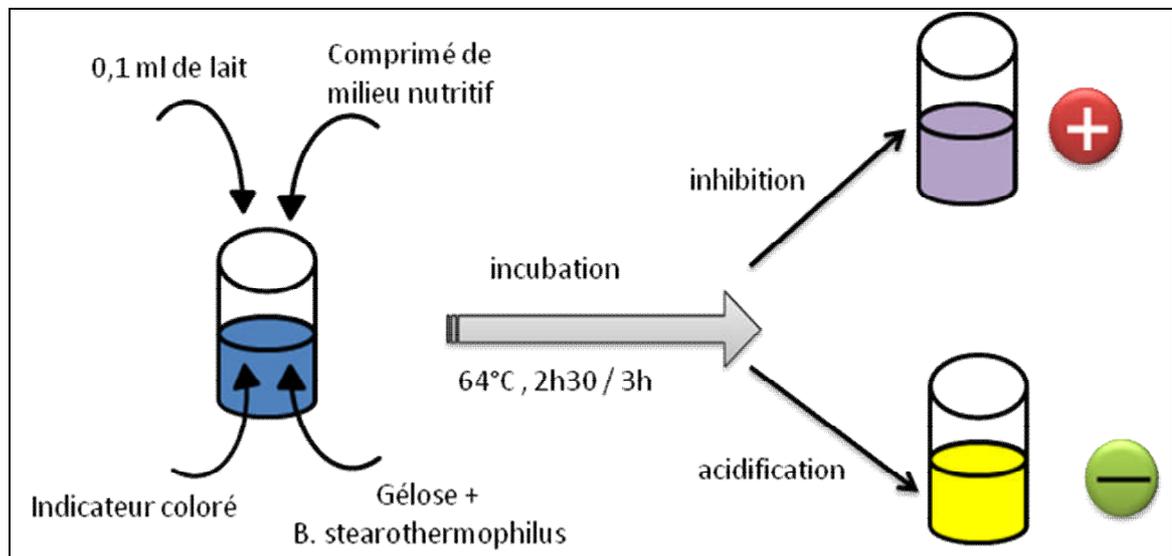


Figure 5.1 : Le Delvotest P ou SP [55].

Pour être certain que les conditions de test sont optimales, et pour déterminer la meilleure durée d'incubation, un test témoin sera effectué en même temps que les échantillons de lait seront analysés. Ce témoin sera composé de lait dépourvu de substance inhibitrice. Pour optimiser la sensibilité du Delvotest, le résultat doit être la au moment où le test témoin, réalisé à partir d'un lait sans antibiotiques, vire au jaune pale. Quand le coloris violet des deux tiers inférieurs du test disparaît, le moment est propice à la lecture. A cet instant, la couleur du test n'est par totalement jaune, mais jaune pale. Si l'incubation est prolongée, le jaune sera de plus en plus prédominant [152]. La couleur du test sera entre le jaune et le violet quand la concentration de l'inhibiteur voisine le seuil de sensibilité du test.

a) Sensibilité :

Très utilisé par les laiteries, ce test n'est pas spécifique et offre un large spectre de détection, il a actuellement une sensibilité beaucoup plus en rapport avec la nouvelle méthode officielle (Delvotest MCS) sur la plupart des antibiotiques. Il est particulièrement sensible vis à vis des pénicillines qui

représentent le plus grand risque technologique, des céphalosporines et des sulfamides. Les résidus d'autres substances (tétracyclines, macrolides, aminoglycosides) sont également détectables dans le lait, mais pas au niveau de leur LMR respective [157]. Néanmoins, pour reproduire les effets de la dilution et éviter les faux positifs sur des laits individuels chargés en inhibiteurs naturels, le vétérinaire doit prendre soin de prélever l'échantillon à tester dans un mélange du lait de la vache suspecte et de 5 à 6 autres vaches. Le temps (2h30 à 3h) et la température (64°C) d'incubation doivent aussi être respectés, une lecture du test trop tardive peut aboutir à des faux négatifs [55]. La possibilité d'une réaction positive fautive due à la contamination par un produit de nettoyage ou un désinfectant ne se vérifie que pour des fortes concentrations finales dans le lait est tellement faible qu'elle n'influe pas sur le résultat des tests. En général le Delvotest est inhibé à des concentrations de produits supérieures à 0,1%(100 ppm) ou plus (Tableau 5.1).

Tableau 5.1 : Concentrations de certains agents désinfectants et nettoyeurs donnant un résultat positif au test Delvotest ([55]).

<b>Agents désinfectants</b>	<b>Dose minimale</b>
Chlore actif	200 ppm
Iode	150 ppm
Peroxyde d'hydrogène (30%)	600 ppm
Bromure d'ammonium quaternaire	100 ppm
Chlorure d'ammonium quaternaire (5%)	10000 ppm
Acide phosphorique	500 ppm
Dichloro-isocyanurate de potassium	100 ppm
Chlorure de mercure	10 ppm
Dichromate de potassium	20 ppm
Azide de sodium	50 ppm

Des agents de concentration, utilisés pour conserver le lait en vue d'analyses ultérieures, rendent le lait impropre aux tests [152].

#### 5.2.2.2. Le Copan test P et S100 :

Ce test est le plus récent et très proche du Delvotest, il utilise aussi *Bacillus stearothermophilus var calidolactis*, il est prêt à l'emploi, son milieu gélosé contient, comme le Delvotest MCS, tous les ingrédients pour la réaction, il nécessite la même durée (2h30 ou 3h) et la même température (64+/-0,5) d'incubation et le même réactif coloré ([55]. Il est également un test microbiologique à large spectre de détection, qui permet de détecter des résidus de bêtalactamine et d'autres substances [157].

#### 5.2.2.3. 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 [55].

#### 5.2.2.3. Test au yaourt :

Le test est assez simple, consiste à vérifier la coagulation du laitensemencé avec un yaourt. Il utilise le principe de variation du pH (fermentation) et de la coagulation lors de la fabrication du yaourt.

Un litre de lait cru est mélangé à un yaourt frais et le mélange est incubé entre 35 et 40 °C pendant 3 à 4 heures. Si le lait ne caille pas, on peut suspecter la présence d'inhibiteurs de la fermentation.

### 5.3. Méthodes physico-chimiques :

Ces techniques de recherche des antibiotiques se sont considérablement développées ces dernières années [151].

### 5.3.1. Méthodes enzymatiques :

#### 5.3.1.1. Le penzym (U.C.B Productions) :

C'est un test enzymatique et colorimétrique qui permet une recherche rapide de résidus d'antibiotiques de la famille des bêtalactamines (pénicilline et céphalosporines) [55]. Ce test repose sur la capacité des  $\beta$ -lactamines d'inhiber une enzyme, la DD-Carboxypeptidase responsable de la libération de la D-alanine à partir de l'acétyl-L-Lys-D-Ala-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'antibiotique, cette réaction colorimétrique est inhibée et le lait demeure blanc [37].

#### 5.3.1.2. Le lumac :

Il s'agit d'un test rapide (35 mn) basé sur l'ATP-métrice. 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.

### 5.3.2. Les méthodes immuno-enzymatiques :

Le dosage immuno-enzymatique fait intervenir un mécanisme de compétition entre l'antibiotique à doser et l'antibiotique couplé enzyme (marquage enzymatique) face à un anticorps spécifique [151, 158].

#### 5.3.2.1. Delvo X Press (Gist-Brocades) :

C'est un test rapide. En moins de 10 mn ce test détecte une large gamme de résidus d'antibiotiques de type  $\beta$ -lactamine présents dans le lait, c'est un test qualitatif basé sur le dosage de l'excès d'un réactif spécifique [152]. Ce test consiste à faire réagir une quantité de lait avec une quantité précise d'une solution appelée « tracer » qui a pour fonction de complexer les bêtalactamines.

#### 5.3.2.2. Le Betastar :

Le Betastar est un test immunologique, rapide, spécifique des bêtalactamines, fondé sur l'emploi d'un récepteur spécifique lié à des particules d'or. Tout à fait adapté à une analyse individuelle, c'est un test très simple d'emploi, la lecture s'effectue sur des bandelettes [55].

#### 5.3.2.3. Le 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 lie spécifiquement soit à l'antibiotique contenu dans le lait testé soit aux antibiotiques (bêtalactamines ou tétracyclines) fixés à la surface du test [55,157].

#### 5.3.2.4. Charm MRL Test :

Ceux sont des tests qui utilisent le principe de l'immuno-chromatographie sur bandelette qui contient des anticorps et un colorant marqué [55]. Ils sont rapides permettant de détecter, aux seuils LMR les bêtalactamines (Charm MRL), les tétracyclines (Charm Rosa) ou les sulfamides (SASM Rosa) [157].

#### 5.3.2.5. Charm Test II :

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 [55]. Ce test extrêmement rapide (10 mn) permet de détecter de très faible concentration d'antibiotiques (0,5 à 80 ppb) [37].

#### 5.3.3. Dosage par fluorimétrie :

C'est une technique de dosage par immunofluorescence dont le principe consiste en un marquage de l'antibiotique à la fluorescéine. Le dosage est réalisé par compétition en présence d'antibiotique non marqué et d'un antisérum

spécifique. La mesure s'effectue par fluorimétrie en lumière polarisée ou non [151, 158].

#### 5.3.4. Dosage par bioluminescence :

L'ATP (adenosine triphosphate) produit par des cellules bactériennes est transformée en ADP (adenosine diphosphate), en présence de luciférase. L'émission photonique, qui accompagne la réaction, est mesurée par un photomètre. Cette technique implique donc une étape bactériologique [151].

#### 5.3.5. Spectrophotométrie :

Utilisée dans les spectres ultra violet, visible et infrarouge, elle permet l'identification et le dosage de la pénicilline (limite de détection : 10 µg/g), de la streptomycine et des tétracyclines [151].

#### 5.3.6. L'électrophorèse capillaire :

L'électrophorèse capillaire est une méthode récente de séparation et de quantification des antibiotiques [159]. Elle reprend les aspects fondamentaux de l'électrophorèse classique (migration d'une molécule chargée sous l'influence d'un champ électrique). Cette méthode offre une fiabilité comparable à celle de la CHLP [160].

#### 5.3.7. Chromatographie liquide haute performance (CHLP) :

Cette technique est actuellement très utilisée pour la détection et le dosage de la plupart des antibiotiques [151]. L'apparition d'équipements de plus en plus performants et autorisés en fait une technique tout à fait adaptée à l'analyse de routine [160]. Dans de nombreuses méthodes, l'extraction des antibiotiques est suivie d'une purification (sur colonne séphalex par exemple) avant séparation par CHLP [161, 162]. Elle nécessite généralement des étapes de déprotéinisation et d'extraction préalables [158]. Elle fait intervenir les différences d'affinité de composition d'un mélange entre la solution dans laquelle ils migrent (phase

mobile) et un support granuleux contenu dans une colonne (phase stationnaire) [160].

#### 5.3.8. Autres techniques :

D'autres méthodes physico-chimiques peuvent être utilisées pour détecter les inhibiteurs et plus particulièrement les antibiotiques, la titrimétrie, la polarographie, la résonance magnétique nucléaire, la spectrométrie de masse, l'électrophorèse à haute tension [152].

Au début des années 90, les couplages de la chromatographie liquide avec des détecteurs de masse de type quadripolaire (CL/SM) ont fait leur apparition [163]. Ce couplage combine à la fois une information structurale sur l'analyse générée par le spectromètre de masse et le pouvoir de séparation de la chromatographie liquide [164].

Les méthodes microbiologiques sont les plus couramment utilisées par tous les laboratoires de contrôles. L'association des techniques électrophorétiques et de détection microbiologiques a permis de réaliser un progrès important aussi bien au niveau de la fiabilité que sur le plan de la sensibilité du dosage. L'utilisation des méthodes physico-chimiques est liée au type de matériel dont disposent les laboratoires et à la complexité des problèmes à résoudre [151].

## **6. PARTIE EXPERIMENTALE**

### **6.1. VOLET I : ENQUETE PAR QUESTIONNAIRE**

En guise d'approche préliminaire de la question relative au problème des résidus d'antibiotiques dans le lait destiné à la transformation et à la consommation, il a été jugé pertinent de procéder à une enquête par questionnaire sur l'utilisation des antibiotiques en élevages bovins laitiers auprès des vétérinaires praticiens des différentes régions du pays.

#### **6.1.1. Matériel et méthodes :**

##### **6.1.1.1. Modalité du recueil des données :**

Les informations ont été recueillies par le biais d'un questionnaire (Voir Appendice B), tiré à 400 exemplaires et distribué comme suit :

- Aux vétérinaires praticiens de proximité par nous même.
- Aux vétérinaires des différentes régions du pays par :
  - Les étudiants du département des sciences vétérinaires.
  - Lors du Salon International de la Production et de la Santé Animale (SIPSA).
  - Le biais des distributeurs de produits vétérinaires.

##### **6.1.1.2. Les données collectées :**

Le travail de collecte des données actuelles du terrain sur l'utilisation des antibiotiques a été réalisé durant l'année 2006.

Les informations recueillies par ce questionnaire, composé de 13 questions, réparties en 06 rubriques:

- L'ancienneté dans la profession.
- La fréquence de l'intervention du praticien en élevage bovin laitier.

- L'utilisation des antibiotiques dans les différentes pathologies bovines (fréquence et durée du traitement).
- Les principaux antibiotiques utilisés dans l'élevage bovin laitier.
- Les différents arguments sur lesquels est basé le choix de l'antibiotique.
- Le respect ou non de la dose de prescription de l'antibiotique par les vétérinaires et le respect ou non du délai d'attente par les éleveurs.

De façon générale, ce questionnaire, constitué à la fois de questions fermées et ouvertes a fait appel pour certaines questions au système des choix multiples, le vétérinaire n'ayant qu'à cocher la case correspondante à son choix, ce système présente l'intérêt de permettre une meilleure exploitation ultérieure des données obtenues.

Avant d'être validé, le questionnaire a été testé auprès de trois vétérinaires permettant ainsi la vérification de la compréhensibilité et l'utilité des questions.

#### 6.1.1.3. Traitement des données :

##### 6.1.1.3.1. Saisie des données :

L'ensemble des données recueillies ont été saisies et stockées dans un fichier Microsoft Excel.

##### 6.1.1.3.2. Analyses statistiques :

Le traitement des données a été restreint à une analyse statistique descriptive sans réalisation de tests statistiques.

Un cas particulier de traitement des données concerne les questions à réponses multiples pour lesquelles les réponses ont été hiérarchisées en 1<sup>er</sup>, 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> choix: des scores ont été calculés en additionnant les produits du nombre de réponses obtenues et du coefficient associé au choix (coefficient 3 pour le 1<sup>er</sup> choix, coefficient 2 pour le 2<sup>ème</sup> choix et coefficient 1 pour le 3<sup>ème</sup> choix).

Si par exemple, la réponse R d'une question à choix multiples a été choisie x fois en 1<sup>er</sup> choix, y fois en 2<sup>ème</sup> choix et z fois en 3<sup>ème</sup> choix, alors le score de R est :

$$\text{Score (R)} = 3x + 2y + 1z$$

### 6.1.2. Résultats :

Sur les 400 exemplaires distribués, nous n'avons pu récupérer que 264, soit 66,0%.

Après collecte des questionnaires remplis, nous les avons classés selon les réponses obtenues pour chacun des paramètres traités, les résultats ont été mis dans des tableaux comportant le nombre et le pourcentage des réponses que nous avons joint en Appendice C.

Le traitement des données du questionnaire est rapporté par question :

#### 6.1.2.1. Question n° 1: **Vous exercez dans la wilaya de?**

Les 264 questionnaires ont été récoltés à partir de 34 wilayas se trouvant dans le territoire national, soit un taux de 70,83%, touchant les différentes localités s'y trouvant dans les wilayas du Centre, de l'Est, de l'Ouest et du Sud du pays.

#### 6.1.2.2. Question n° 2: **Vous exercez depuis?**

Nous avons remarqué que les vétérinaires ayant répondu au questionnaire ont une expérience professionnelle allant de 27 à 1 ans ou moins. Ces résultats nous ont permis de distinguer les catégories suivantes :

- Catégorie 1 : praticiens cumulant un nombre d'années de pratique allant de 1 à 5 ans.
- Catégorie 2 : praticiens cumulant un nombre d'années de pratique allant de 6 à 10 ans.
- Catégorie 3 : praticiens cumulant un nombre d'années de pratique allant de 11 ans et plus.

Ainsi, nous pouvons noter que, sur un total de 264 vétérinaires qui ont répondu, la répartition des taux de réponses par ancienneté est la suivante :

- Catégorie 1 [1 à 5 ans] : 98 réponses, soit 37,12%.
- Catégorie 2 [6 à 10] : 81 réponses, soit 30,68%.
- Catégorie 3 [≥ 11] : 85 réponses, soit 32,20%.

La répartition en fonction de l'ancienneté dans la profession est illustrée dans la figure 6.1.

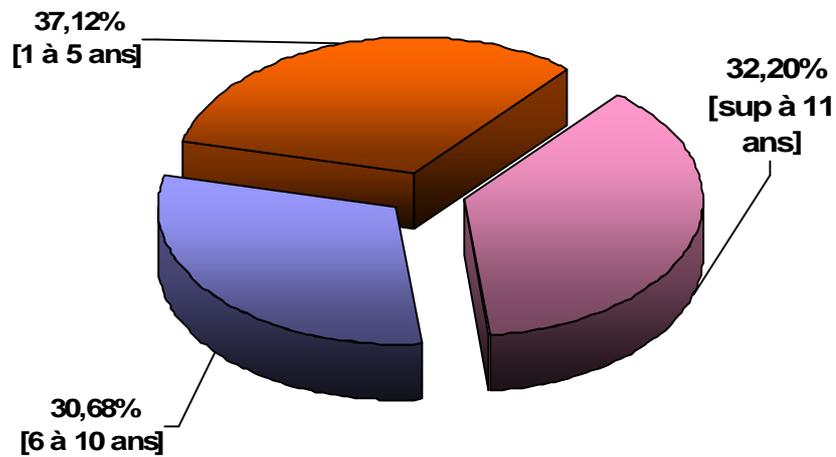


Figure 6.1 : Ancienneté professionnelle des vétérinaires interrogés.

#### 6.1.2.3. Question n° 3: **Vous intervenez en élevage bovin laitier :**

Nous avons constaté que plus que la moitié des vétérinaires interrogés, soit 57,20% interviennent plusieurs fois par semaines en élevage bovin laitier alors que 06,44% des vétérinaires interviennent selon d'autres éventualités à savoir selon la demande et la saison.

La Fréquence de l'intervention des vétérinaires en élevage bovin laitier est représentée dans la figure 6.2.

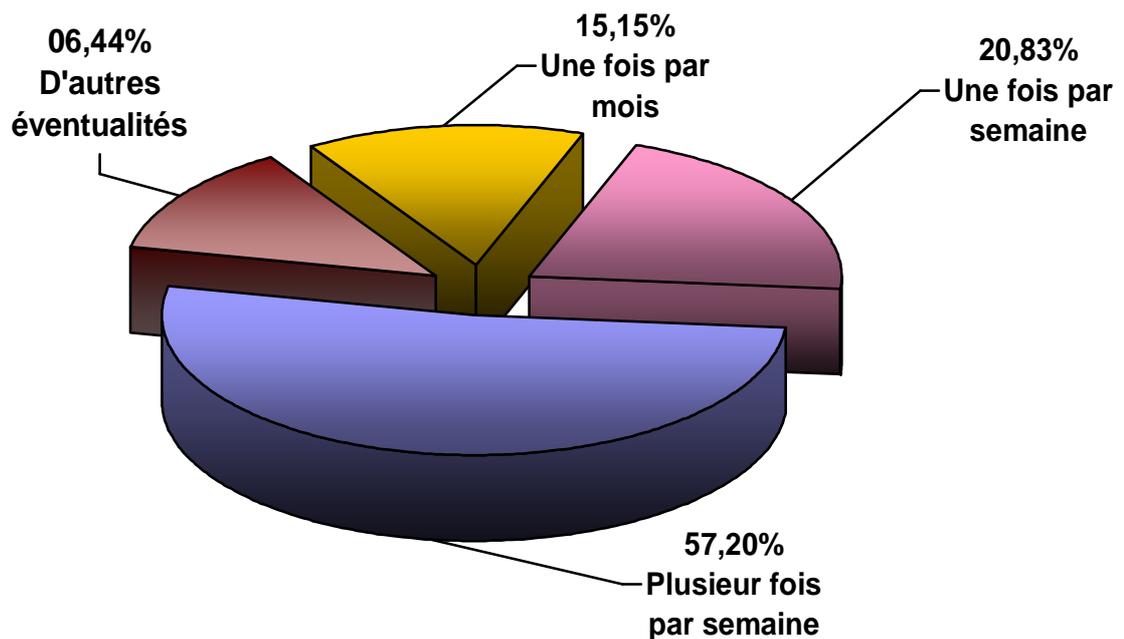


Figure 6.2 : Fréquence de l'intervention des vétérinaires en élevage bovin laitier.

#### 6.1.2.4. Question n° 4: **Vous utilisez des antibiotiques :**

Selon les réponses, 28,03% des vétérinaires utilisent les antibiotiques une fois sur deux, alors que 21,59% d'entre eux les utilisent dans tous les cas et seulement 06,06% les utilisent que très rarement. Pour les autres éventualités sont pour la plupart en relation avec les cas. Par ailleurs 02,65% des vétérinaires n'ont pas répondu à cette question.

La fréquence de l'utilisation des antibiotiques par les vétérinaires praticiens en élevage bovin laitier est représentée dans la figure 6. 3.

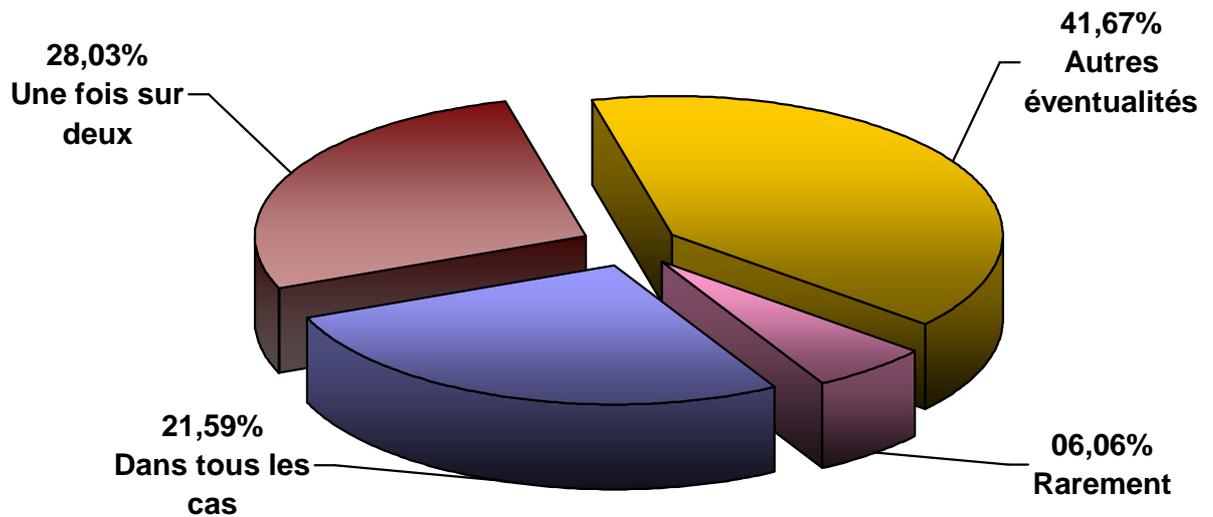


Figure 6.3 : Fréquence de l'utilisation des antibiotiques par les vétérinaires praticiens en élevage bovin laitier.

**6.1.2.5. Question n° 5: Parmi les pathologies infectieuses traitées par les antibiotiques, quelles sont celles qui vous sont les plus fréquentes?**

Nous avons constaté que la maladie infectieuse la plus fréquemment rencontrée sur le terrain et traitée par les antibiotiques est l'infection respiratoire avec un score de 617, soit un taux de 26,50%, ensuite l'infection mammaire avec un score de 581, soit un taux de 24,95% puis l'infection gynécologique avec un score de 452, soit 19,41%. Les infections de l'appareil locomoteur et digestif ont respectivement un score de 332 et 326, soit 14,25% et 13,99% respectivement.

La fréquence des pathologies infectieuses traitées par les antibiotiques est représentée dans la figure 6.4.

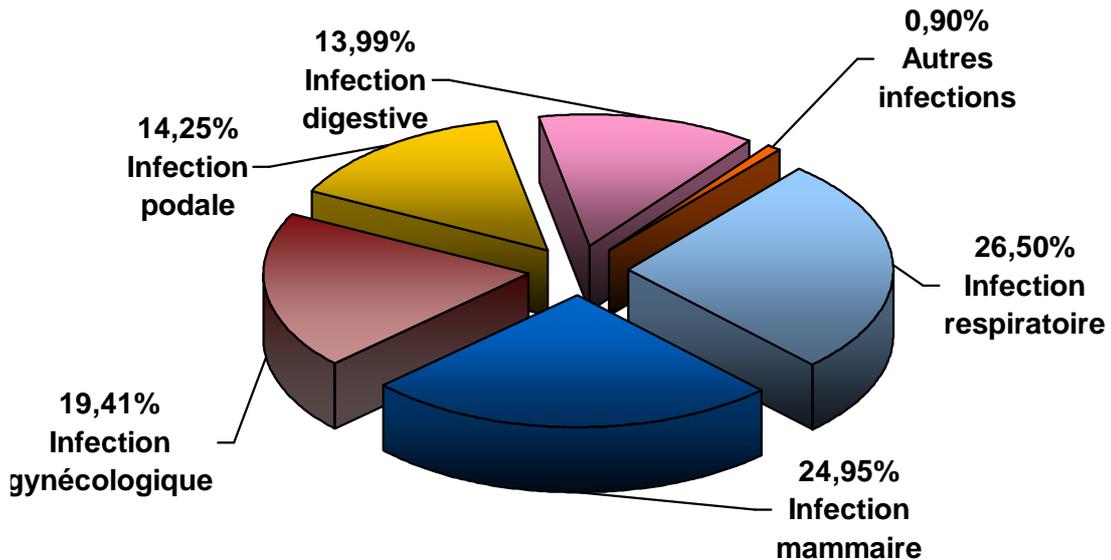


Figure 6. 4 : Fréquence des pathologies infectieuses traitées par les antibiotiques.

#### 6.1.2.6. Question n° 6: **Combien de jours en moyenne prescrivez-vous des antibiotiques?**

Nous avons remarqué que 39,40% des vétérinaires interrogés traitent les mammites avec les antibiotiques pendant une durée moyenne de 3 jours, 09, 19% d'entre eux les traitent pendant plus de 5 jours et 02,65% des vétérinaires interrogés n'ont donné aucune réponse concernant les traitements des mammites.

Par ailleurs 25% des vétérinaires interrogés traitent les différentes autres pathologies par les antibiotiques pendant une durée moyenne de 3 jours, 12,50% d'entre eux les traitent pendant plus de 5 jours et 11,74% des vétérinaires interrogés n'ont donné aucune réponse concernant les traitements des autres pathologies.

#### 6.1.2.7. Question n° 7: **Quel antibiotique prescrivez-vous en première intention par ordre de fréquence?**

Nous avons constaté que les fréquences de prescription varient considérablement d'une molécule à l'autre, l'oxytétracycline et la pénicilline sont de loin, les molécules les plus utilisées et représentent respectivement un score de 620 et 548, soit un taux respectif de 16,53% et 14,61%.

Inversement, d'autres molécules ne sont qu'exceptionnellement utilisées telle que la floranphenicole ou l'oléandomycine qui ne représentent qu'un score de 01 chacun, soit 0,03%.

La fréquence de prescription des antibiotiques par les vétérinaires est illustrée dans la figure 6.5.

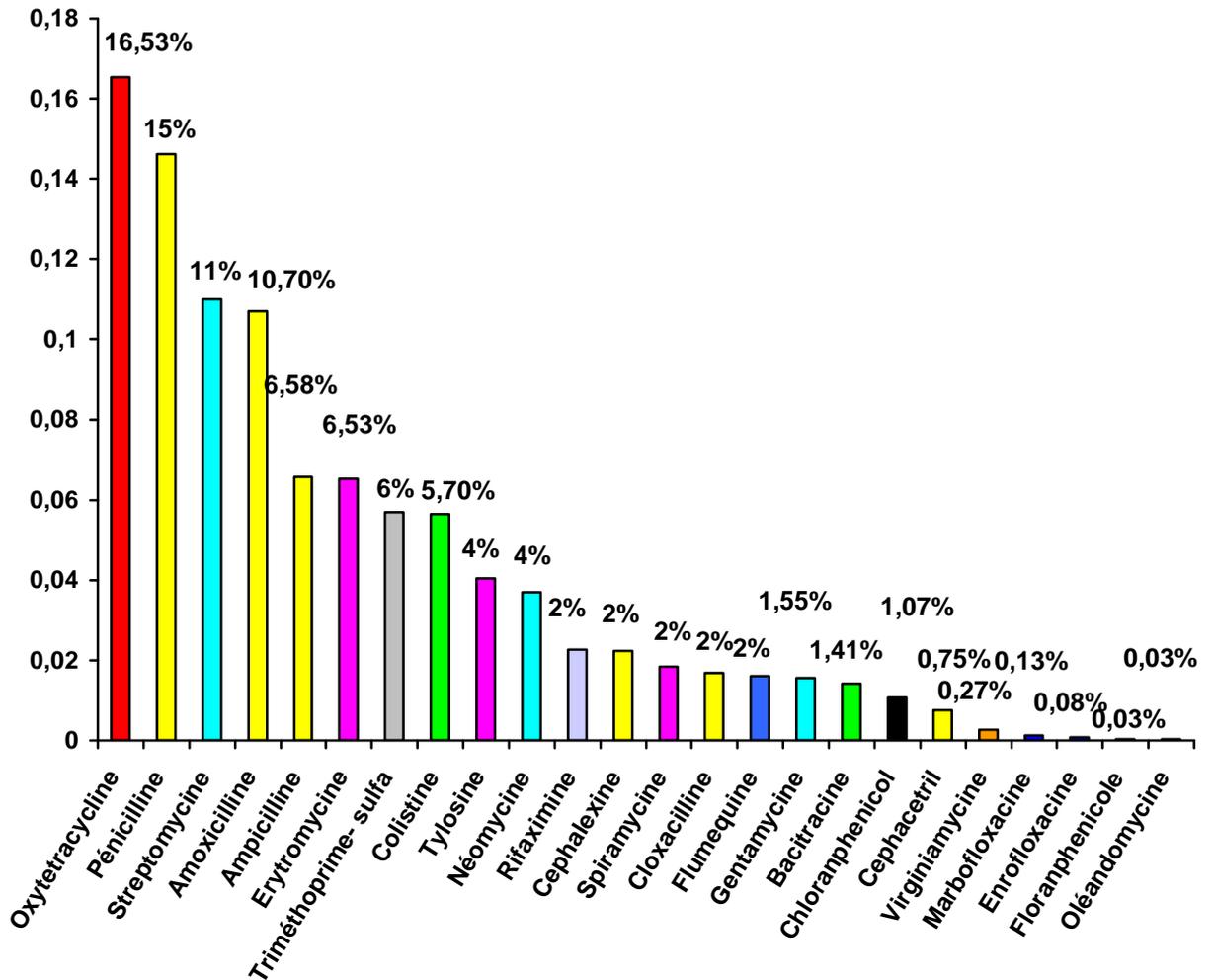


Figure 6.5 : La fréquence de prescription des antibiotiques par les vétérinaires.

Les résultats présentés dans le tableau 6.1 montrent que 09 familles sont utilisées le plus souvent par les vétérinaires praticiens en élevage bovin laitier.

Tableau 6.1 : Répartition des molécules selon les familles.

Famille	Molécules actives	Score	Score total	%
Bêtalactamines	Pénicilline	548	1371	36,55
	Amoxicilline	401		
	Ampicilline	247		
	Cephalexine	84		
	Cloxacilline	63		
	Cephacetril	28		
Tétracyclines	oxytétracycline	620	620	16,54
Aminosides	Streptomycine	411	608	16,21
	Néomycine	139		
	Gentamycine	58		
Macrolides	Erytromycine	245	469	12,50
	Tylosine	154		
	Spiramycine	69		
	Oléandomycine	01		
Polypeptides	Colistine	212	265	07,06
	Bacitracine	53		
Sulfamides	Triméthoprim-sulfa	214	214	05,70
Lincosamides	Rifaximine	85	85	2,26
Quinolones	Flumequine	60	68	01,81
	Marbofloxacin	05		
	Enrofloxacin	03		
Phénicol	Chloranphenicol	40	41	01,1
	Floranphenicol	01		
Synergistines	Virginiamycine	10	10	0,26

De même, en termes de familles, les bêtalactamines restent la première famille d'antibiotiques utilisées tout en restant la plus prépondérante. Les tétracyclines, représentées par l'oxytétracyclines sont la famille d'antibiotiques qui arrive en 2<sup>ème</sup> place. Ces deux familles sont suivies par les aminosides et les macrolides.

La figure 6.6 illustre la répartition des molécules d'antibiotiques selon les familles.

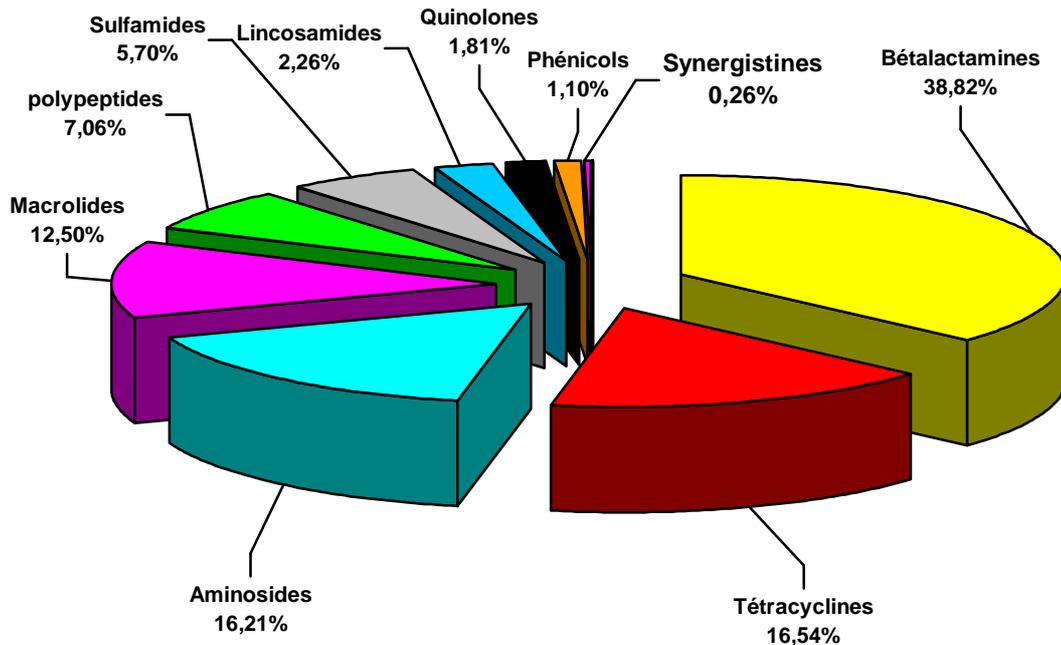


Figure 6.6 : La répartition des molécules d'antibiotiques selon les familles.

**6.1.2.8. Question n° 08: Sur quel argument vous faites le choix des antibiotiques que vous prescrivez?**

D'après les réponses des vétérinaires praticiens, il ressort que le choix de l'antibiotique se fait selon :

- L'efficacité pour les 249 vétérinaires, soit 94.32%.
- Le délai d'attente plus court pour 110 vétérinaires, soit 41.66%.
- La disponibilité pour les 93 vétérinaires, soit 35.23%.
- Le coût pour les 80 vétérinaires, soit 30,30%.
- La facilité de l'utilisation pour les 62 vétérinaires, soit 23,48%.
- D'autres éventualités ont été citées par 28 vétérinaires, soit 10,60%, à savoir : L'antibiogramme, le type d'infection, le synergisme et le spectre d'action large de certains antibiotiques.

La somme des pourcentages est supérieure à 100%, car certains vétérinaires ont fourni doubles réponses à cette question.

Les motifs du choix de l'antibiotique utilisé sont rapportés par la figure 6.7.

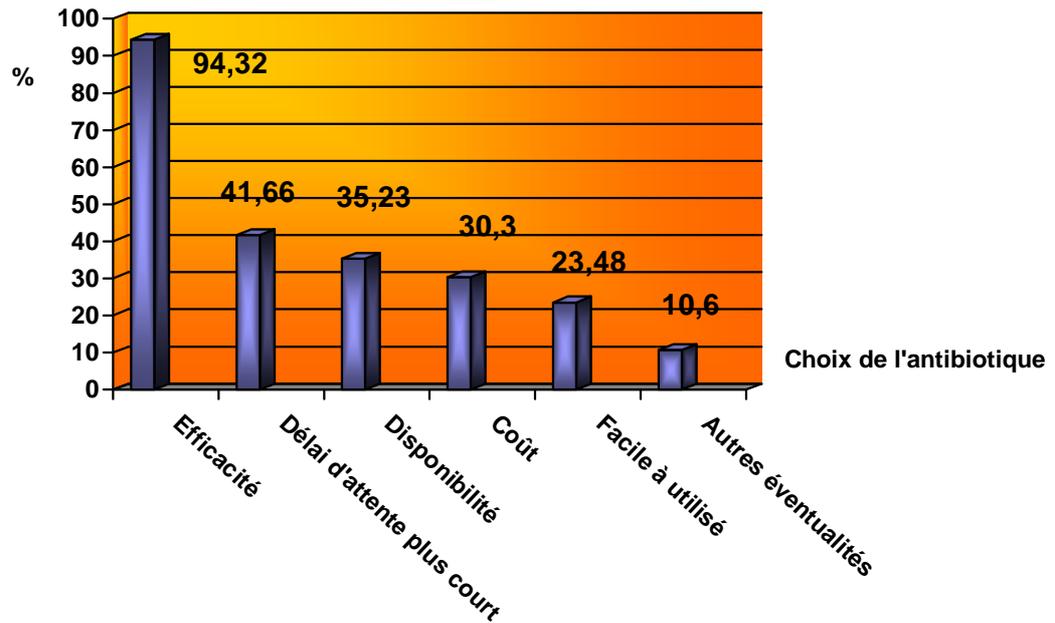


Figure 6. 7 : Les motifs du choix de l'antibiotique utilisé.

#### 6.1.2.9. Question n° 09: Respectez-vous la dose prescrite sur la notice de chaque antibiotique ?

Nous avons constaté que 188 des vétérinaires interrogés, soit 71,21% respectent la dose des antibiotiques prescrit, alors que 76 d'entre eux, soit 28,79% ne la respectent pas.

La figure 6.8 illustre la fréquence des vétérinaires qui respectent ou non la dose de prescription des antibiotiques.

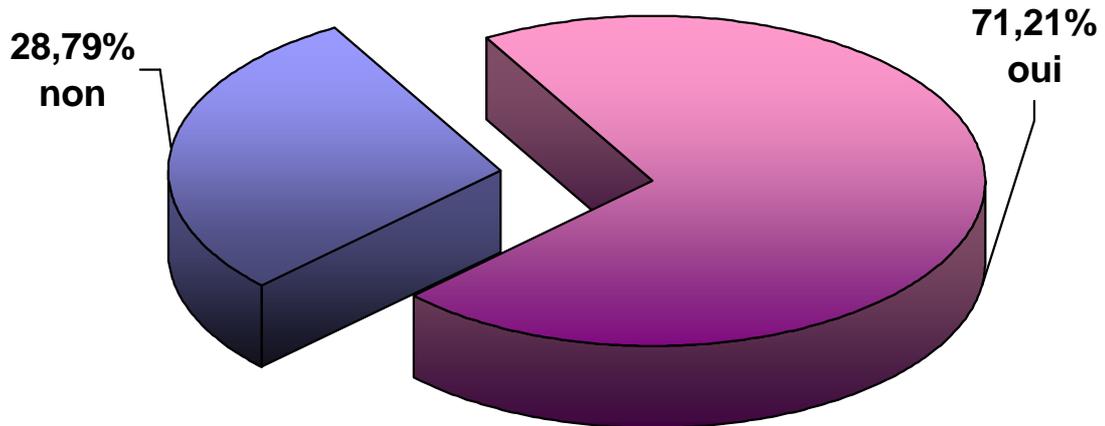


Figure 6. 8 : Le respect ou non des doses prescrites par les vétérinaires praticiens.

La justification des réponses négatives est différente d'un praticien à l'autre :

- 37 vétérinaires utilisent une dose d'attaque afin d'avoir une meilleure efficacité.
- 07 vétérinaires affirment qu'ils ne font pas confiance à certains antibiotiques notamment les molécules génériques.
- 12 vétérinaires attestent qu'ils augmentent la dose selon l'état de l'animal (la gravité du cas).
- 03 vétérinaires augmentent la dose pour éviter les injections quotidiennes à cause de la distance.
- 08 vétérinaires augmentent la dose dans les cas d'antibio-resistance.
- 09 vétérinaires n'ont donné aucune réponse.

#### 6.1.2.10. Question n° 10: Avez-vous des ruptures de stock des antibiotiques?

Les réponses montrent que :

- 109 vétérinaires, soit 41,28% n'ont jamais eu de rupture de stock.
- 135 vétérinaires, soit 51,13% n'ont eu de rupture de stock que rarement.
- 12 vétérinaires, soit 04,54% n'ont eu de ruptures de stock qu'une fois par mois.

- 05 vétérinaires, soit 01,90% n'ont eu de ruptures de stock qu'une fois par semaine.
- 03 vétérinaires n'ont pas donné de réponses.

Le pourcentage des réponses concernant la rupture de stock des antibiotiques est rapporté par la figure 6.9.

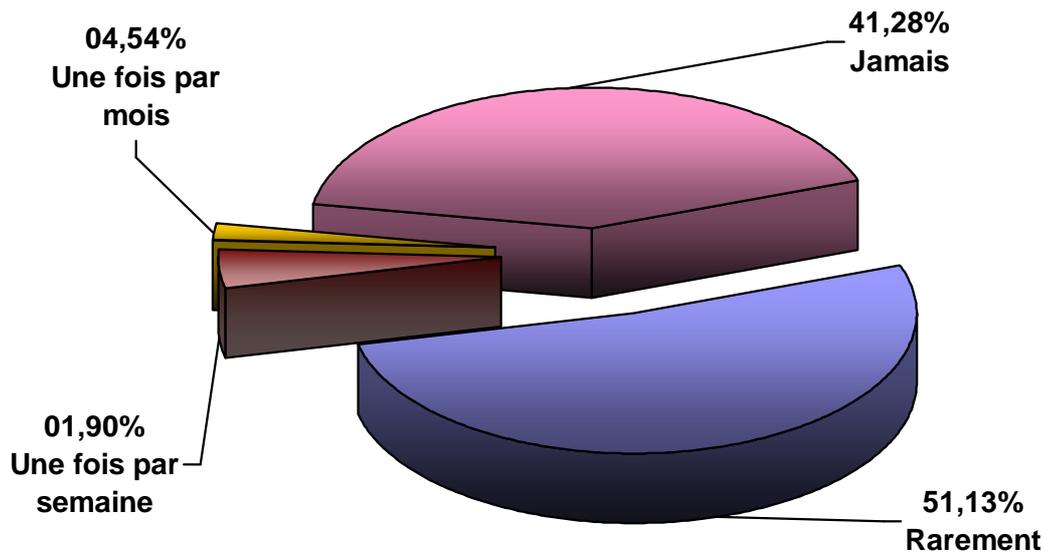


Figure 6.9 : Pourcentage des réponses concernant la rupture de stock des antibiotiques.

#### 6.1.2.11. Question N° 11 : Est-ce que vos éleveurs traitent par eux même ?

Pour les traitements effectués par voie injectable, 33,33% des vétérinaires interrogés pensent que les éleveurs ne traitent jamais ou rarement par eux même, par ailleurs, seulement 06,06% des vétérinaires pensent que les éleveurs traitent toujours par eux même.

Pour les traitements effectués par voie locale, 44,69% des vétérinaires interrogés pensent que les éleveurs traitent souvent par eux même, alors que 14,77% des vétérinaires pensent que les éleveurs ne traitent jamais par eux même.

La figure 6.10 représente le pourcentage des réponses concernant l'utilisation des antibiotiques par les éleveurs par voie injectable au traitement injectable effectué par les éleveurs.

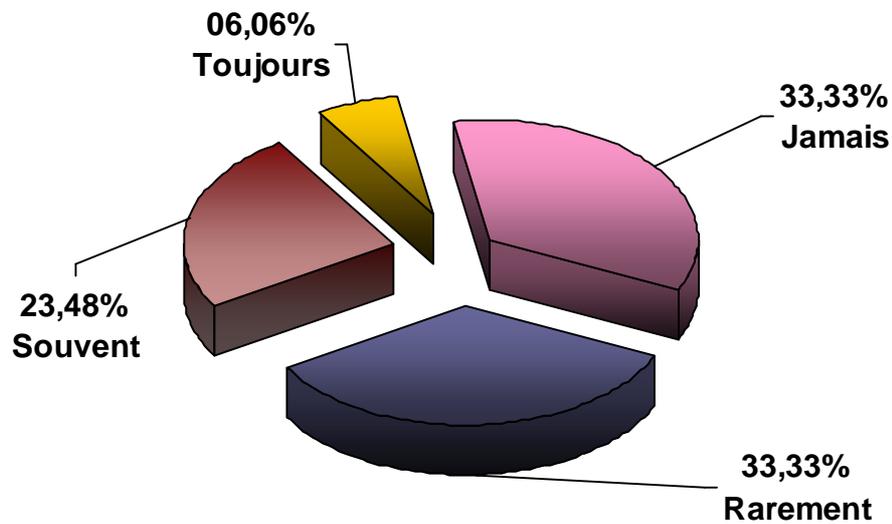


Figure 6.10 : Pourcentage des réponses concernant l'utilisation des antibiotiques par les éleveurs par voie injectable.

La figure 6.11 représente le pourcentage des réponses concernant l'utilisation des antibiotiques par les éleveurs par voie locale.

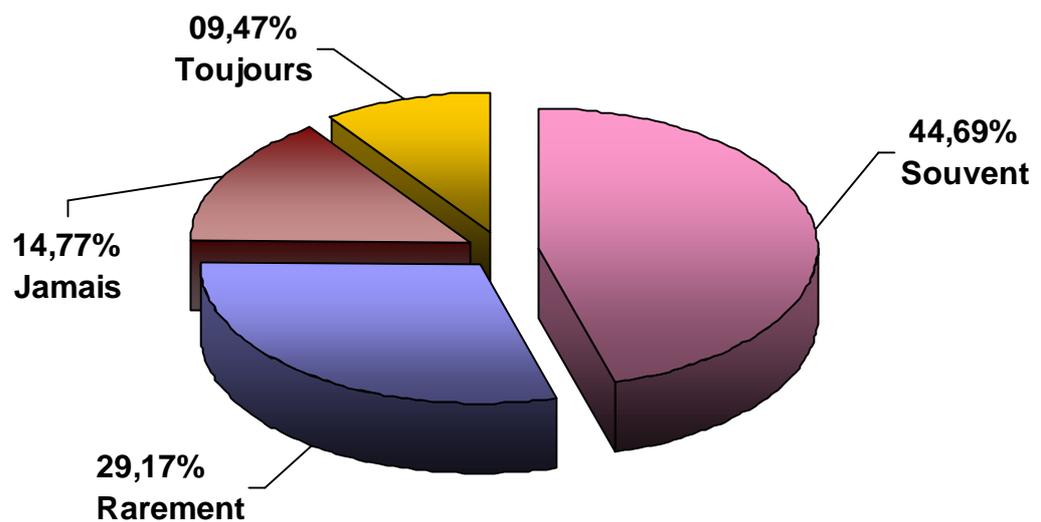


Figure 6.11 : Pourcentage des réponses concernant l'utilisation des antibiotiques par les éleveurs par voie locale.

#### 6.1.2.12. Question n° 12: Vos éleveurs sont au courant du délai d'attente?

Les réponses des vétérinaires relatives à la connaissance du délai d'attente par les éleveurs montrent que :

- 152 vétérinaires, soit 57,57% avancent que la majorité de leurs éleveurs sont au courant du délai d'attente.
- 91 vétérinaires, soit 34,47% pensent que ce n'est que quelques un qui sont au courant.
- 17 vétérinaires, soit 06,44% trouvent qu'aucun de leurs éleveurs n'est au courant.
- 03 autres vétérinaires, soit 01,14% affirment que tous leurs éleveurs sont au courant du délai d'attente.
- 01 seule vétérinaire, soit 0,38% n'a pas donné de réponse.

La connaissance du délai d'attente par les éleveurs est rapportée dans la figure 6. 12.

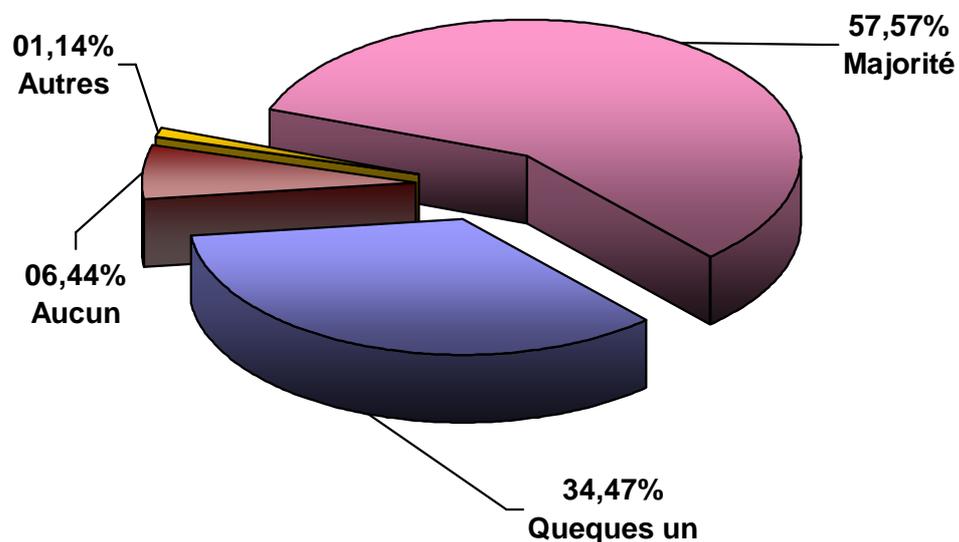


Figure 6. 12 : La connaissance du délai d'attente par les éleveurs.

**6.1.2.13. Question 1.13: Est-ce que l'éleveur suit vos recommandation par rapport au délai d'attente, c'est-à-dire ne commercialise pas le lait?**

Les réponses obtenues par les vétérinaires praticiens interrogés sur le respect du délai d'attente par les éleveurs montrent que :

- 138 vétérinaires, soit 52,27% affirment que leurs éleveurs respectent le délai d'attente.
- 110 vétérinaires, soit 41,66% confirment que leurs éleveurs ne respectent pas le délai d'attente.
- 16 vétérinaires, 06,06% n'ont pas eu d'avis car ils ignoraient si l'éleveur respectait le délai d'attente ou pas.

Le respect du délai d'attente par les éleveurs est rapporté dans la figure 6. 13.

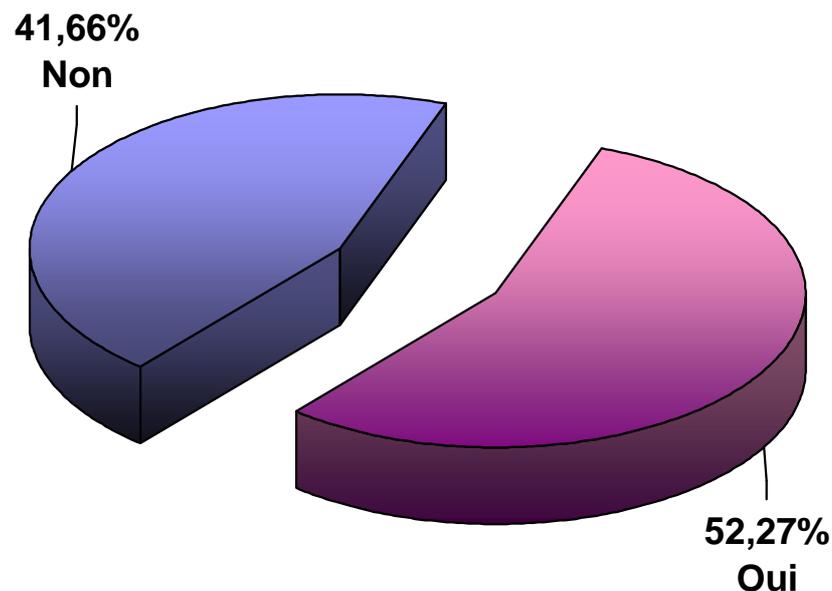


Figure 6. 13 : Le respect du délai d'attente par les éleveurs.

La justification des 110 réponses négatives est différente d'un vétérinaire à l'autre :

- 49 vétérinaires, soit 44,54% affirment que la raison pour la quelle l'éleveur ne respecte pas le délai d'attente est purement économique.

- 23 vétérinaires, soit 20,01% évoquent l'inconscience de l'éleveur vis-à-vis du risque sur la santé publique.
- 11 vétérinaires, soit 10% impliquent le non control par les laiteries.
- 03 vétérinaires, soit 02,73% incluent le manque d'information et de la vulgarisation.
- 02 vétérinaires, soit 01,82% mêlent la négligence de certains éleveurs.
- 02 vétérinaires, soit 01,82% relient le non respect du délai d'attente par les éleveurs au fait qu'ils ne sont pas agréés.
- 24 vétérinaires, soit 21,81 n'ont pas donnés de justification.

La somme des pourcentages est supérieure à 100%, car certains vétérinaires ont fournis doubles réponses à cette question.

La figure 6.14 représente les justifications des non respects des délais d'attente par les éleveurs.

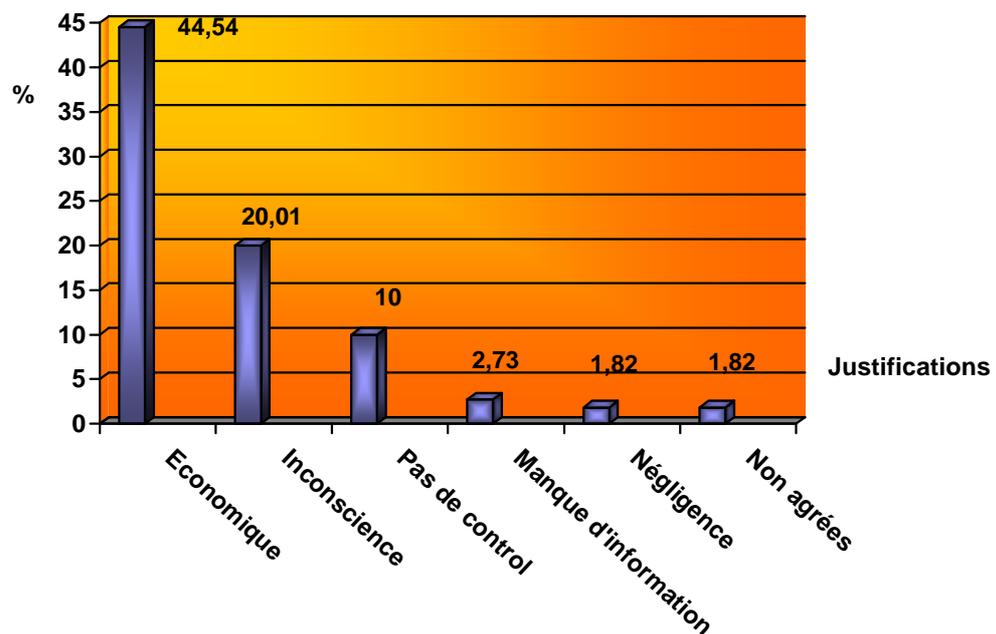


Figure 6. 14 : Justifications du non respect du délai d'attente par les éleveurs.

### 6.1.3. Discussion :

L'enquête par questionnaire a montré que les praticiens vétérinaires n'étaient pas habitués aux sondages permettant de faire le constat d'une situation sur laquelle ils intervenaient quotidiennement.

Par rapport aux réponses obtenues, il en ressort que :

- Les antibiotiques sont fréquemment utilisés en élevages bovins laitiers. (21,59% des vétérinaires les utilisent dans tous les cas et 28,03% d'entre eux les utilisent une fois sur deux). Nos résultats sont proches de ceux rapportés par RAHAL et al [165] qui sont de 38% et 45%, respectivement.
- Les infections respiratoires et mammaires (26,50 et 24,95%, respectivement) sont les pathologies les plus fréquemment traitées avec une période moyenne de traitement de 03 jours dans la majorité des cas. Cependant, une prolongation de l'antibiothérapie à 05 jours est utilisée dans les cas graves ou en cas d'antibio-résistance.
- Sur un panel de 24 molécules différentes d'antibiotiques utilisées par les praticiens vétérinaires de terrain, l'oxytétracycline (16,53 %) et la pénicilline (14,61 %) représentent à elles seules plus du 1/4 de l'ensemble. Cette domination peut s'expliquer par plusieurs raisons : l'efficacité du produit reste un critère très important pour le choix des antibiotiques (94,32%), associé au délai d'attente plus court (41,66%) ainsi que le large spectre d'action de ces molécules, la disponibilité et le coût moins cher. Nos résultats sont proches de ceux rapportés par RAHAL et al [165] qui ont constaté que l'efficacité associée à la disponibilité du produit restent les critères de choix. BENDALI et al [166] rapportent que le céphalonium et la cloxacilline sont de loin, les molécules les plus utilisées en élevage bovin laitier en France. Le large spectre d'action qu'ont ces molécules contre les pathogènes explique l'utilisation fréquente de ces produits. Le choix doit plutôt se raisonner en fonction de l'activité pharmacocinétique des molécules sur l'espèce bactérienne suspectée et/ou diagnostiquée. En terme de familles, les Bêtalactamines restent la première famille d'antibiotiques utilisée tout en restant la plus prépondérante (38,82%). Ajoutée à celle des

tétracyclines, représentées par l'oxytétracycline (16,54%) elles cumulent à elles deux plus de la moitié des parts consommées lors des traitements.

- 28,79% des vétérinaires praticiens interrogés ne respectent pas la dose prescrite dans la notice pour plusieurs raisons. Les causes inhérentes à ce problème sont la concentration de l'antibiotique (la dose utilisée n'est pas suffisante), la première injection débute toujours par une dose d'attaque, la nature du produit est-ce la molécule mère ou bien le générique. Certains attestent qu'ils augmentent la dose selon l'état de l'animal (la gravité du cas), d'autres c'est pour éviter les injections quotidiennes à cause de la distance, quelques uns le font dans les cas d'antibiorésistance. L'administration simultanée de 2 seringues n'améliore en aucune manière les chances de guérison. De plus, si la dose est augmentée, le délai d'attente doit l'être également; Cependant, il apparaît que de nombreux vétérinaires ne sont pas sensibilisés au fait qu'un changement de posologie (dose) doit induire une modification du temps d'attente, d'où un risque de résidus d'inhibiteurs dans le lait.
- La majorité des vétérinaires n'ont pas de problème de stock d'antibiotiques, 41,28% n'ont jamais eu de rupture et 51,13% ne l'ont eu que rarement, du fait que les stocks sont régulièrement renouvelés. Ces résultats diffèrent de ceux obtenus par RAHAL et al [165] qui rapportent que 65% des vétérinaires ont rarement des ruptures de stock et 21% d'entre eux ne l'ont eu jamais. La diversité et la disponibilité des médicaments font en sorte que le vétérinaire renouvelle fréquemment son stock d'antibiotique.
- Les éleveurs traitent souvent les mammites par eux même en utilisant l'antibiotique dans sa forme injectable. Alors que, RAHAL et al [165] ont rapporté en 2001 que 50 % des vétérinaires ont affirmé que très peu d'éleveurs sont capables de faire des injections. Selon GEDILAGHINE [167], les vétérinaires avaient évoqué en premier lieu, l'usage anarchique des antibiotiques par les éleveurs. La majorité des vétérinaires avaient constaté des aberrations techniques, de la part des éleveurs, portant sur l'utilisation le plus souvent excessive des antibiotiques. Le choix de l'éleveur résulte insuffisamment d'une analyse des problèmes de son troupeau : la rumeur, l'imitation de la conduite suivie par le vétérinaire pour un cas clinique particulier, les seules observations empiriques guident plus souvent ce

choix. Le résultat est souvent un usage anarchique du médicament [168]. Il apparaît donc que le traitement des mammites, réalisé le plus souvent sans diagnostic préalable et avec une automédication très répandue, représente un maillon faible dans le développement d'une agriculture raisonnée et durable [169]. La filière a besoin d'assurances quant à des pratiques d'élevage raisonnées tout particulièrement sur la question sensible du recours aux antibiotiques [168].

- Les éleveurs sont au courant du délai d'attente. Néanmoins 52,27% des vétérinaires considèrent que les éleveurs sont généralement sensibilisés au problème des inhibiteurs et respectent le délai d'attente. A l'inverse 41,66% pensent que les éleveurs ne respectent pas le délai d'attente ce qui permet de multiplier ainsi les risques de résidus inhibiteurs dans le lait. A la lumière des résultats rapportés par RAHAL et al [165] qui montrent que 65 % des vétérinaires ont affirmé que quelques éleveurs seulement sont au courant du délai d'attente et 75% pensent que les éleveurs suivent de temps en temps la prescription du vétérinaire ; nous pouvons penser qu'il y a une prise de conscience chez les éleveurs. Certains vétérinaires (44,54%) justifient le non respect du délai d'attente par les éleveurs, par les pertes économiques, tandis que d'autres (20,01%) évoquent l'inconscience de l'éleveur vis-à-vis du risque sur la santé publique et 10% impliquent le non control par les laiteries. Il est à remarquer aussi qu'une minorité des vétérinaires préconisent que c'est par manque d'informations et aussi, par négligence que les éleveurs ne respectent pas le délai d'attente. Quelques vétérinaires ignoraient si l'éleveur respectait vraiment le délai d'attente ou pas. Ces résultats rejoignent ceux de RAHAL et al [165].

Enfin, l'adéquation entre molécule utilisée/test de dépistage devrait être une préoccupation permanente. L'instauration d'un 'Observatoire des médicaments utilisés en élevages' permettrait de faire le point régulièrement et de s'assurer la pertinence des tests de recherche d'inhibiteurs par les laboratoires inter-professionnels.

Sur la base de ce travail, Il serait également intéressant d'élargir l'enquête auprès des éleveurs afin d'avoir une idée sur l'automédication.

## 6.2. VOLET II : RECHERCHE DES INHIBITEURS DANS LE LAIT CRU

L'enquête par questionnaire a permis de mettre en évidence que :

- Les praticiens vétérinaires utilisent les antibiotiques dans tous les cas, et pour la plupart, pendant une durée moyenne de 3 jours et plus. Le choix se fait sur la base de l'efficacité montrant que les Bêtalactamines occupent la première place.
- L'infection mammaire est l'une des pathologies les plus fréquemment rencontrées sur le terrain.
- Les éleveurs traitent par eux même, la majorité sont au courant du délai d'attente mais ne le respectent pas pour des raisons économiques.

A travers ce constat, nous avons voulu vérifier ce qui se passe réellement sur le terrain.

### 6.2.1. Matériel et Méthodes :

Cette étude a été réalisée durant la période s'étalant du 1<sup>er</sup> Juillet au 31 Octobre 2006 au niveau du laboratoire de la laiterie de Béni-Tamou.

### 6.2.2. Origine des échantillons :

La recherche des inhibiteurs a été réalisée sur le lait de vache cru, provenant de 216 élevages bovins laitiers agréés par les services vétérinaires localisés dans les wilayas de Blida, Alger et Tipaza qui livrent leur production à la laiterie de Beni-Tamou. Tous les élevages comportent plus de 05 vaches en lactations (Tableau 6.1).

Tableau 6.2 : Répartition des échantillons en fonction de leur origine.

<b>Wilaya</b>	<b>Nombre d'élevages</b>
Blida	121
Alger	68
Tipaza	27
<b>Total</b>	<b>216</b>

Nous avons considéré que :

- Un grand élevage, celui qui comporte un effectif supérieur à 20 vaches en lactation.
- Un petit élevage, celui qui comporte un effectif inférieur ou égal à 20 vaches en lactation.

#### 6.2.3. Les prélèvements de lait :

Les prélèvements de laits ont été effectués à partir des cuves de réfrigération à l'aide d'une louche en acier, lavée et rincée à l'eau distillée. Ils sont recueillis dans des flacons stériles en plastiques étiquetés et identifiés, puis conservés dans une glacière à + 4°C pour être acheminés vers le laboratoire de laiterie pour y être analysés ou congelés à – 18°C.

Pour les échantillons de lait qui ont été congelés, ils ont été analysés avant l'expiration d'un mois de congélation.

#### 6.2.4. Matériels :

Le matériel de collecte et de laboratoire est présenté dans l'Appendice D.

##### 6.2.4.1. Le Kit d'analyses « Delvotest SP 5 pack » :

Le Delvotest SP est un test de sélection microbiologique à large spectre, permettant de déceler les résidus de substances anti-infectieuse dans le lait. L'utilisation de ce test permet de déceler au niveau des MRL (Maximum Residue Limit) un certain nombre de substances reprises dans la liste de MRL définies

pour le lait dans la législation européenne (Règlement CEE 2377/90 et ses modifications ultérieures).

L'utilisation du Devotest SP n'exclut pas que pour certaines molécules utilisées dans des médicaments vétérinaires, leurs résidus peuvent être présents dans le lait à des teneurs supérieures aux MRL, sans pour autant y être décelées, c'est le cas de certaines substances interdites comme le chloramphénicol ou les nitrofuranes.

Le pack contient (Cf. Figure 6. 15) :

- 05 microplaques de 96 cupules divisées en blocs de 16 puits, contenant un milieu gélosé solide violacé contenant un indicateur de pH et du triméthoprim,ensemencé par un germe test qui est le *Bacillus stearothermophilus var. calidolactis* C953.
- Un flacon de 500 comprimés nutritifs.
- Un papier adhésif perforé à coller sur les plaques tests ou parafilms.
- Une pince pour le prélèvement des comprimés nutritifs.



Figure 6.15: Présentation du kit Delvotest SP 5 pack.

#### 6.2.5. La méthode d'analyse par le Delvotest SP 5 pack :

Comme le test de détection des résidus d'antibiotiques est sensible aux substances antibactériennes (antibiotiques, sulfamides et autres produits tels que les désinfectants, détergents), il est conseillé de se laver correctement les mains

et de bien les sécher avant de commencer la manipulation du test afin d'éviter toute contamination par ces substances.

La réalisation de l'analyse passe par les différentes étapes suivantes :

- Laisser décongeler les échantillons de laits à la température ambiante.
- Découper la feuille d'aluminium à l'aide d'un cutter puis détacher le bloc de façon à ne pas endommager la feuille d'aluminium du bloc adjacent afin d'éviter que la gélose de ces derniers ne se dessèche pas (Cf. Figure 6.16).



Figure 6. 16 : Découpage de la feuille d'aluminium et détachement du bloc.

- Enlever la feuille d'aluminium recouvrant le bloc et identifier les cupules ou puits grâce aux chiffres et lettres figurant sur la microplaque (Cf. Figure 6.17). Ne pas manipuler de façon brusque, car le milieu gélosé risque d'être décollé. Cela peut affecter la qualité de coloration du test lors de la lecture des résultats.



Figure 6. 17 : Détachement de la feuille d'aluminium.

- Additionner un comprimé nutritif dans chaque cupule à l'aide d'une pince (Cf. Figure 6. 18).

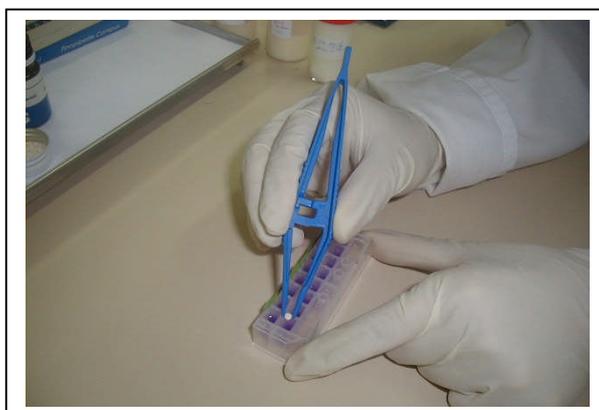


Figure 6. 18 : Dépôt du comprimé nutritif dans la cupule.

- Agiter les échantillons de laits à analyser à l'aide d'un vortex.
- Prélever 100  $\mu$ l de chaque échantillon en prenant le soin de changer à chaque fois d'embout jetable, et déposer dans chaque cupule du bloc (Cf. Figure 6. 19).



Figure 6. 19: Dépôt de l'échantillon de lait dans la cupule ou puit.

- Après avoir soigneusement recouvert hermétiquement le bloc à l'aide de la bande adhésive fournie avec le kit, mettre en incubation dans une étuve préchauffée à  $64^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  durant 2 h 45 min (Cf. Figures 6. 20 et 6.21). Des températures d'incubations trop faibles ou trop élevées, ainsi que des fluctuations excessives de températures affecteront la durée du test et sa sensibilité.



Figure 6. 20 : Couverture du bloc

Figure 6. 21 : Incubation du bloc à  $64^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ 

- Transférer 100  $\mu\text{l}$  de lait exempt de substances inhibitrices dans une cupule correspondant au témoin négatif et 100  $\mu\text{l}$  de lait exempt de substances inhibitrices additionné de 4  $\mu\text{g/l}$  de solution de pénicilline G dans une autre cupule correspondant au témoin positif.
- Incuber à  $64^{\circ}\text{C}$  pendant 2h45.

### Lecture :

Observer à l'oeil nu le dessous du bloc sous un bon éclairage (Cf. Figure 6. 22).

Le test a une sensibilité maximale au moment où le lait témoin négatif vire au jaune.



Figure 6. 22 : Résultats observés sur le bloc après incubation  
(Photo personnelle).

Le résultat dépend de la couleur du milieu :

- Une coloration jaune : Indique une absence totale ou une présence des substances antibactériennes à des teneurs non décelables, c'est à dire inférieure au seuil de détection : Résultat négatif.
- Une coloration jaune/violette : Indique la présence de substances antibactériennes dans l'échantillon à une concentration proche du seuil de détection : Résultat douteux.
- Une coloration violette : Indique la présence de substances inhibitrices dans l'échantillon de lait analysé à une concentration égale ou supérieure au seuil de détection : Résultat positif.

Très utilisé par les laiteries, ce test offre un large spectre de détection (la plupart des antibiotiques) et une bonne sensibilité vis-à-vis des pénicillines (Voir appendice E) qui représentent le plus grand risque technologique.

La méthode utilisée nécessite une étape de confirmation des résultats positifs et douteux comme suit :

### **Confirmation des résultats :**

Les échantillons de lait positifs et douteux sont préalablement chauffés durant 10 minutes dans un bain marie à  $80^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Ce chauffage permet la destruction des substances antibactériennes naturellement présentes dans le lait (Cf. Figure 6. 23).



Figure 6. 23 : Chauffage des échantillons de laits à  $80^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  pendant 10 minutes.

Les échantillons ainsi traités sont refroidis sous une eau courante (Cf. Figure 6. 24) puis analysés une deuxième fois.

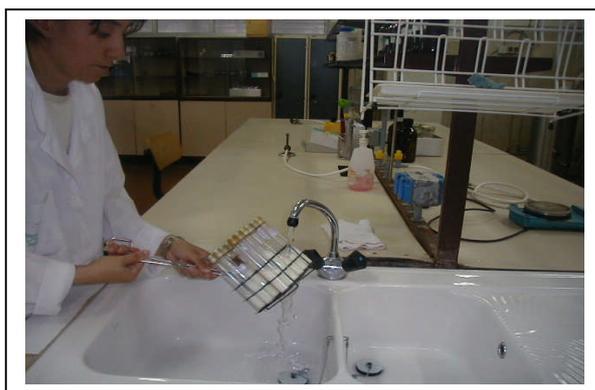


Figure 6. 24 : Refroidissement des échantillons.

La lecture et l'interprétation des résultats s'effectuent de la même manière que ce qui a été cité auparavant.

**Interprétation des résultats :**

Le résultat final est obtenu par addition des résultats préliminaires et de confirmations du test, selon les formules ci-après :

- Laits négatifs : laits négatifs obtenus au test préliminaire + laits négatifs obtenus au test de confirmation (positifs et douteux au test préliminaire).
- Laits douteux : laits douteux obtenus au test de confirmation (positifs et douteux au test préliminaire).
- Laits positifs : laits positifs obtenus au test de confirmation (positifs au test préliminaire).

### 6.2.6. Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans les laits d'élevages :

Les résultats des 216 échantillons de laits analysés ont été traités par wilaya dans l'ordre suivant: Blida (121 échantillons), Alger (68 échantillons) et Tipaza (27 échantillons).

#### 6.2.6.1. Elevages de la wilaya de Blida :

Les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans les 121 prélèvements de lait d'élevages de la wilaya de Blida sont présentés comme pratiqués, c'est-à-dire, les résultats préliminaires du test ensuite après confirmation.

##### 6.2.6.1.1. Résultats préliminaires du test :

Les 121 prélèvements de lait d'élevages de la wilaya de Blida ont été classés en fonction des localités de provenance (Voir appendice F). Les résultats préliminaires sont présentés dans le tableau 6. 3.

Tableau 6. 3: Résultats préliminaires du test pour les laits des élevages de la wilaya de Blida.

	<b>Résultats préliminaires</b>	
	Nombre d'échantillon	%
<b>Positifs</b>	<b>22</b>	<b>18,18</b>
<b>Douteux</b>	<b>67</b>	<b>55,37</b>
<b>Négatifs</b>	<b>32</b>	<b>26,45</b>
<b>Totaux</b>	121	100

Les résultats préliminaires du test montrent que :

- 22 échantillons ont donné des réponses positives, soit 18,18%.
- 32 réponses négatives, soit 26,45%.
- 67 réponses douteuses, soit 55,37%.

#### 6.2.6.1.2. Résultats de confirmation du test :

Les résultats de confirmation du test sont rapportés en fonction de la réponse de la réaction, c'est à dire, ceux des laits obtenus positifs et douteux à la première phase de l'analyse.

Les résultats de confirmation du test pour les échantillons de laits des élevages de la wilaya de Blida sont rapportés dans le tableau ci dessous.

Tableau 6. 4 : Résultats de confirmation du test pour les échantillons de laits des élevages de la wilaya de Blida.

	<b>Echantillons analysés positifs</b>		<b>Echantillons analysés douteux</b>	
	Nombre d'échantillon	%	Nombre d'échantillon	%
<b>Positifs</b>	<b>07</b>	<b>31,82</b>	-	-
<b>Douteux</b>	<b>09</b>	<b>40,91</b>	<b>20</b>	<b>29,85</b>
<b>Négatifs</b>	<b>06</b>	<b>27,27</b>	<b>47</b>	<b>70,15</b>
<b>Totaux</b>	22	100	67	100

Les résultats de confirmation des 22 laits obtenus positifs au test préliminaire montrent que:

- 07 échantillons ont donné encore des réponses positives, soit 31,82%.
- 09 échantillons ont donné des réponses douteuses, soit 40,91%.
- 06 échantillons seulement ont donné des réponses négatives, soit 27,27%.

Les résultats de confirmation des 67 laits obtenus douteux au test préliminaire montrent que :

- 20 échantillons ont donné encore des réponses douteuses, soit 29,85%.
- 47 échantillons ont donné des réponses négatives, soit 70,15%.

### 6.2.6.1.3. Résultats finaux :

Le calcul des résultats finaux est réalisé sur la base des résultats obtenus avant et après chauffage (confirmation), selon les formules ci-après :

- Laits négatifs : laits négatifs obtenus au test préliminaire (32) + laits négatifs obtenus au test de confirmation (06+ 47) (positifs et douteux au test préliminaire) = 85 échantillons.
- Laits douteux : laits douteux obtenus au test de confirmation (09+ 20) (positifs et douteux au test préliminaire) = 29 échantillons.
- Laits positifs : laits positifs obtenus au test de confirmation (positifs au test préliminaire) = 07 Echantillons.

Les résultats finaux de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait d'élevages de la wilaya de Blida sont rapportés dans le tableau 6. 5.

Tableau 6. 5 : Résultats finaux de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait des élevages de la wilaya de Blida.

	<b>Résultats finaux de l'analyse</b>	
	Nombre d'échantillon	%
<b>Positifs</b>	07	05,78
<b>Douteux</b>	29	23,97
<b>Négatifs</b>	85	70,25
<b>Totaux</b>	121	100

L'analyse des laits issus des élevages de la wilaya de Blida, montrent que :

- 07 échantillons sont réellement positifs, soit 05,78 %.
- 29 sont douteux, soit 23,97 %.
- 85 négatifs, soit 70,25 %.

Il en ressort que 36 laits sur 101 analysés sont contaminés par les résidus d'antibiotiques, soit 35,64%.

Les résultats finaux de la wilaya de Blida sont illustrés dans la figure suivante

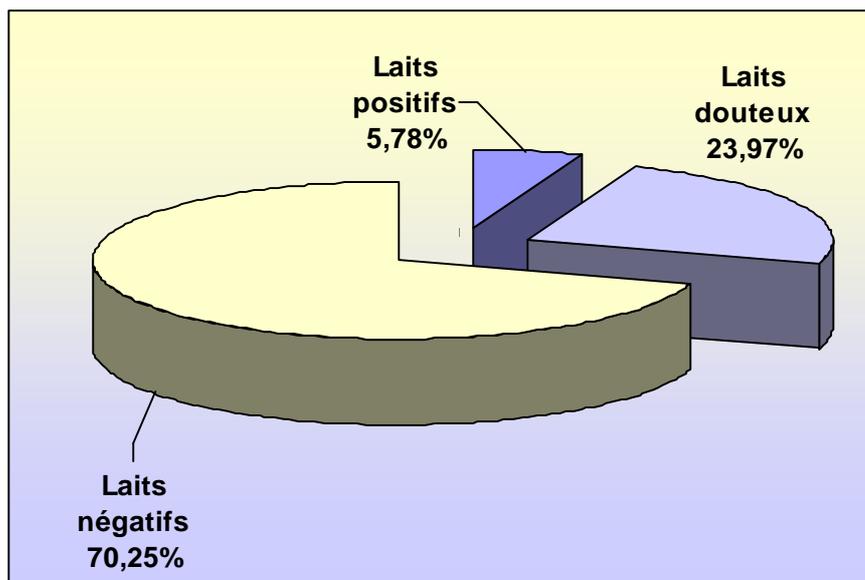


Figure 6. 25 : Résultats finaux de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait d'élevage de la wilaya de Blida.

### 6.2.6.2. Elevages de la wilaya d'Alger :

#### 6.2.6.2.1. Résultats préliminaires du test :

Les 68 prélèvements de lait d'élevages de la wilaya d'Alger ont été classés en fonction des localités de provenance (Voir appendice F). Les résultats préliminaires sont rapportés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6. 6 : Résultats préliminaires du test pour les laits des élevages de la wilaya d'Alger.

<b>Résultats préliminaires</b>		
	Nombre d'échantillon	%
<b>Positifs</b>	<b>11</b>	<b>16,18</b>
<b>Douteux</b>	<b>32</b>	<b>47,06</b>
<b>Négatifs</b>	<b>25</b>	<b>36,76</b>
<b>Totaux</b>	68	100

Les résultats préliminaires du test montrent que :

- 11 échantillons ont donné des réponses positives, soit 16,18%.
- 25 réponses négatives, soit 36,76%.
- 32 réponses douteuses, soit 47,06%.

#### 6.2.6.2.2. Résultats de confirmation du test :

Les résultats de confirmation du test sont rapportés en fonction de la réponse de la réaction, c'est à dire, ceux des laits obtenus positifs et douteux à la première phase de l'analyse.

Les résultats de confirmation du test pour les échantillons de laits des élevages de la wilaya d'Alger sont rapportés dans le tableau ci dessous.

Tableau 6. 7 : Résultats de confirmation du test pour les échantillons de laits des élevages de la wilaya de d'Alger.

	<b>Echantillons analysés positifs</b>		<b>Echantillons analysés douteux</b>	
	Nombre d'échantillon	%	Nombre d'échantillon	%
<b>Positifs</b>	<b>02</b>	<b>18,18</b>	-	-
<b>Douteux</b>	<b>04</b>	<b>36,36</b>	<b>07</b>	<b>21,87</b>
<b>Négatifs</b>	<b>05</b>	<b>45,45</b>	<b>25</b>	<b>78,13</b>
<b>Totaux</b>	11	100	32	100

Les résultats de confirmation des 11 laits obtenus positifs au test préliminaire montrent que :

- 02 échantillons ont donné encore des réponses positives, soit 18,18%.
- 04 échantillons ont donné des réponses douteuses, soit 36,36%.
- 05 échantillons seulement ont donné des réponses négatives, soit 45,45%.

Les résultats de confirmation des 32 laits obtenus douteux au test préliminaire montrent que :

- 04 échantillons ont encore donné des réponses douteuses, soit 21,87%.
- 25 échantillons ont encore donné des réponses négatives, soit 78,13%.

#### 6.2.6.2.3. Résultats finaux :

Les résultats finaux de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait d'élevage des différentes localités de la wilaya d'Alger ont été calculés de la même manière que pour les élevages de la wilaya de Blida, ils sont rapportés dans le tableau 6.8.

Le calcul des résultats finaux est réalisé sur la base des résultats obtenus avant et après chauffage (confirmation), selon les formules ci-après :

- Lait négatifs : lait négatifs obtenus au test préliminaire (25) + lait négatifs obtenus au test de confirmation (05+ 25) (positifs et douteux au test préliminaire) = 55 échantillons.
- Lait douteux : lait douteux obtenus au test de confirmation (04+ 07) (positifs et douteux au test préliminaire) = 11 échantillons.
- Lait positifs : lait positifs obtenus au test de confirmation (positifs au test préliminaire) = 02 Echantillons.

Tableau 6. 8 : Résultats finaux de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait des élevages de la wilaya d'Alger.

	<b>Résultats finaux</b>	
	Nombre d'échantillon	%
<b>Positifs</b>	<b>02</b>	<b>02,94%</b>
<b>Douteux</b>	<b>11</b>	<b>16,18%</b>
<b>Négatifs</b>	<b>55</b>	<b>80,88%</b>
<b>Totaux</b>	68	100

L'analyse des 68 échantillons de lait, issus des élevages de la wilaya d'Alger, montrent que :

- 02 échantillons sont réellement positifs, soit 02,94 %.
- 11 sont douteux, soit 16,18 %.
- 55 négatifs, soit 80,88 %.

Il en ressort que 13 lait sur 68 sont contaminés par les résidus d'antibiotiques, soit un taux de 19,11%.

Les résultats finaux de la wilaya d'Alger sont illustrés dans la figure suivante :

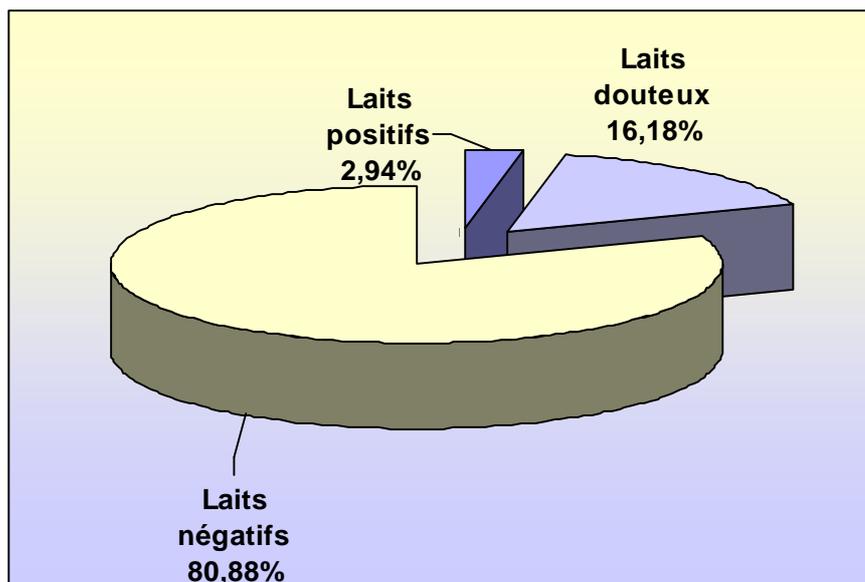


Figure 6.26 : Résultats finaux de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait d'élevage de la wilaya d'Algier.

### 6.2.6.3. Elevages de la wilaya de Tipaza :

#### 6.2.6.3.1. Résultats préliminaires du test :

Les 27 prélèvements de lait d'élevages de la wilaya de Tipaza ont été classés en fonction des localités de provenance. (Voir appendice F). Les résultats préliminaires sont rapportés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6. 9 : Résultats préliminaires du test pour les laits des élevages de la wilaya de Tipaza.

<b>Résultats préliminaires</b>		
	Nombre d'échantillon	%
<b>Positifs</b>	<b>06</b>	<b>22,22%</b>
<b>Douteux</b>	<b>15</b>	<b>55,56%</b>
<b>Négatifs</b>	<b>06</b>	<b>22,22%</b>
<b>Totaux</b>	<b>27</b>	<b>100</b>

Les résultats préliminaires du test montrent que :

- 06 échantillons ont donné des réponses positives, soit 22,22%.
- 06 réponses négatives, soit 22,22%.
- 15 réponses douteuses, soit 55,56%.

#### 6.2.6.3.2. Résultats de confirmation du test :

Les résultats de confirmation du test sont rapportés en fonction de la réponse de la réaction, c'est à dire, ceux des laits obtenus positifs et douteux à la première phase de l'analyse.

Les résultats de confirmation du test pour les échantillons de laits des élevages de la wilaya Tipaza sont rapportés dans le tableau ci dessous.

Tableau 6. 10 : Résultats de confirmation du test pour les échantillons de laits des élevages de la wilaya de Tipaza.

	<b>Echantillons analysés positifs</b>		<b>Echantillons analysés douteux</b>	
	Nombre d'échantillon	%	Nombre d'échantillon	%
<b>Positifs</b>	02	33,33		
<b>Douteux</b>	03	50	03	20
<b>Négatifs</b>	01	16,67	12	80
<b>Totaux</b>	<b>06</b>	<b>100</b>	<b>15</b>	<b>100</b>

Les résultats de confirmation des 06 laits obtenus positifs au test préliminaire montrent que 02 échantillons ont encore donné des réponses positives (33,33%), 03 échantillons des réponses douteuses (50%) et 01 seul échantillon une réponse négative (16,67%).

Les résultats de confirmation des 15 laits obtenus douteux au test préliminaire montrent que :

- 03 échantillons ont encore donné des réponses douteuses, soit 20%.
- 12 échantillons ont donné des réponses négatives, soit 80%.

#### 6.2.6.3.3. Résultats finaux:

Les résultats finaux de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait d'élevages des différentes régions de la wilaya de Tipaza ont été calculés de la même manière que pour les élevages des deux wilayas Alger et Blida, ils sont rapportés dans le tableau 6. 11.

Le calcul des résultats finaux est réalisé sur la base des résultats obtenus avant et après chauffage (confirmation), selon les formules ci-après :

- Laits négatifs : laits négatifs obtenus au test préliminaire (06) + laits négatifs obtenus au test de confirmation (01+ 12) (positifs et douteux au test préliminaire) = 19 échantillons.
- Laits douteux : laits douteux obtenus au test de confirmation (03 + 03) (positifs et douteux au test préliminaire) = 06 échantillons.

- Lait positifs : lacs positifs obtenus au test de confirmation (positifs au test préliminaire) = 02 Echantillons.

Tableau 6. 11: Résultats finaux de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait des élevages de la wilaya de Tipaza.

	Résultats finaux	
	Nombre d'échantillon	%
<b>Positifs</b>	<b>02</b>	<b>07,41%</b>
<b>Douteux</b>	<b>06</b>	<b>22,22%</b>
<b>Négatifs</b>	<b>19</b>	<b>70,37%</b>
<b>Totaux</b>	27	100

L'analyse des 27 échantillons de lait, issus des élevages de la wilaya de Tipaza, montrent que 02 échantillons sont réellement positifs (07,41%) ; 06 sont douteux, (22,22%) et 19 négatifs (70,37%).

Il en ressort que 8 lacs sur 27 sont contaminés par les résidus d'antibiotiques, soit 29,63%.

Les résultats finaux de la wilaya de Tipaza sont illustrés dans la figure ci-dessous.

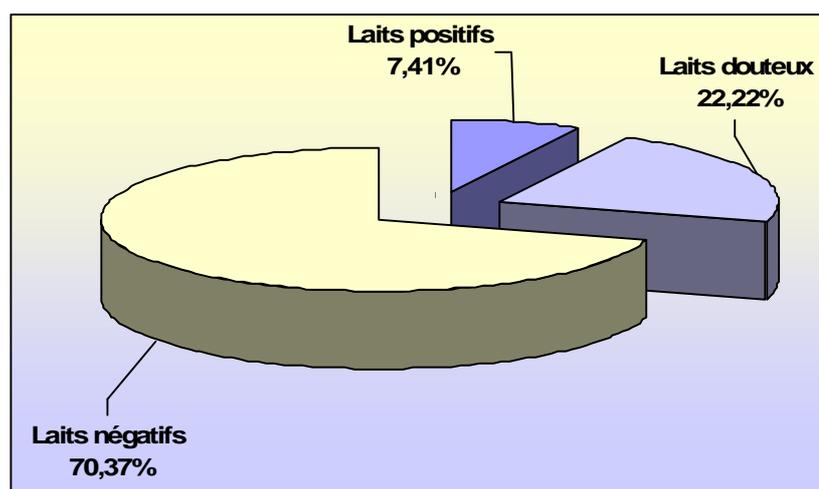


Figure 6. 27 : Résultats finaux de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait d'élevage de la wilaya de Tipaza.

#### 6.2.6.4. Résultats des laits d'élevages des trois wilayas confondus :

Les résultats finaux de la recherche des résidus d'antibiotiques dans les laits d'élevages des trois wilayas confondus (Blida, Alger et Tipaza) sont rapportés dans le tableau suivant.

Tableau 6. 12 : Résultats des élevages des trois wilayas confondus.

	Wilaya de Blida		Wilaya d'Alger		Wilaya de Tipaza		Trois wilayas	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
<b>Positifs</b>	<b>07</b>	05,78	<b>02</b>	02,94	<b>02</b>	07,41	<b>11</b>	05,09
<b>Douteux</b>	<b>29</b>	23,97	<b>11</b>	16,18	<b>06</b>	22,22	<b>46</b>	21,30
<b>Négatifs</b>	<b>85</b>	70,25	<b>55</b>	80,88	<b>19</b>	70,37	<b>159</b>	73,61
<b>Totaux</b>	121	100	68	100	27	100	216	100

Il en ressort que le quart des laits d'élevages testés (05,09% laits positifs + 21,30% laits douteux) sont contaminés par les résidus d'antibiotiques contre 73,61% de laits négatifs (Cf. figure 6. 28).

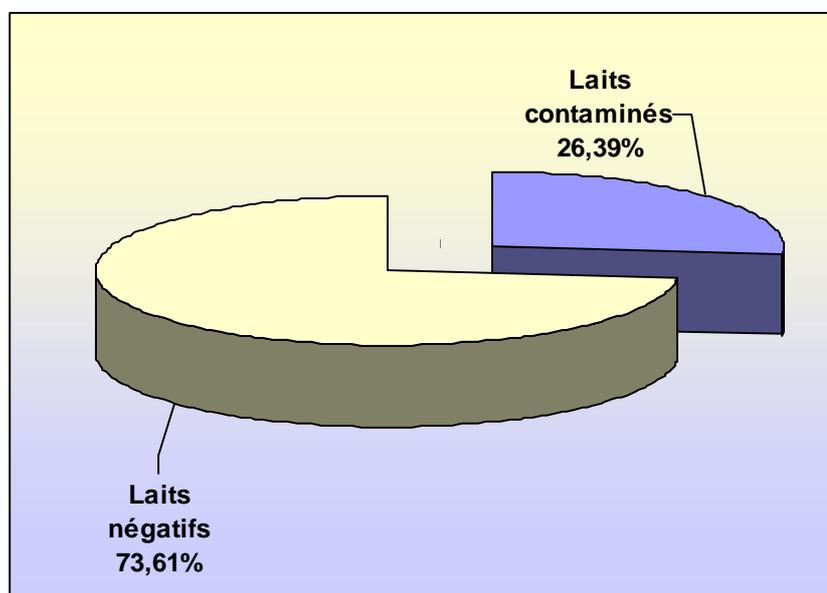


Figure 6. 28 : Résultats des laits d'élevages des trois wilayas confondus

### 6.2.7. Discussion :

Sur la base de l'enquête par questionnaire, nous sommes convaincus que le lait d'élevages (lait de mélange des vaches en lactation d'une même exploitation) destiné à la consommation humaine ou destiné à la transformation contient souvent des résidus d'inhibiteurs. Les substances inhibitrices sont nombreuses et variées. Elles ont été et demeurent, depuis longtemps, une préoccupation majeure dans de nombreux pays, tant pour les industries laitières que pour les consommateurs.

Les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans les laits d'élevages des trois wilayas (Blida, Alger et Tipaza) ont montré que 26,39% (05,09% laits positifs + 21,30% laits douteux) des laits sont contaminés.

#### 1. LES RESULTATS POSITIFS :

Les résultats ont montré un taux de positivité non négligeable, sur les 216 échantillons de laits analysés au moyen du Delvotest SP pour les trois wilayas confondues, 39 échantillons sont positifs, soit 18,05% pour les inhibiteurs et 11 sont positifs, soit 05,09% pour les résidus d'antibiotiques. Ce qui signifierait que la substance inhibitrice dans les échantillons analysés est présente à une concentration supérieure au seuil de détection du test (4 ppb Pénicilline).

Le taux de contamination des laits de nos élevages est alarmant lorsqu'il est comparé à ceux rapportés dans les pays comme le Canada (06,6%) [170], l'Europe (0,47% à 0%) de 1993 à 1996, respectivement [171]; en 1990 : (01,2%) [172] ; en 1991 : (0%) [173]; en 1993: (0,04 à 0,83%) [56] et en 2000 : (1,74%) [140].

Notre situation semble être similaire à de nombreux pays d'Afrique. En effet, les taux de contamination sont de :

- 16,70 % sur des laits prélevés au niveau des points de vente directe à Bamako [174],
- 67% sur le lait prélevé sur le quai de livraison des laiteries au Niger [175],

- 14,9% sur les laits d'élevages au Kenya [176],
- 57,14%, pour les inhibiteurs et 42,87% pour les résidus d'antibiotiques dans le lait cru provenant de la région de Kénitra au Maroc [177],
- 25% sur les laits d'élevages de la région d'Alger [178].

La positivité observée dans les laits d'élevages résulte du mélange de lait de vaches traitées à celui des vaches non traitées. Des études sur l'origine des inhibiteurs dans le lait avaient déjà montré que les trois quarts de résidus inhibiteurs retrouvés dans le lait des éleveurs pénalisés sont des antibiotiques et que leur présence est liée à une mauvaise utilisation du médicament [69, 124, 179].

Les taux élevés de contamination du lait cru par les inhibiteurs en général et les résidus d'antibiotiques en particulier peuvent être probablement expliqués par plusieurs hypothèses :

- Le non-respect des délais d'attente (l'éleveur ne connaît pas ou ne respecte pas les règles d'utilisation des médicaments). En effet, les traitements de mammites représentent la principale cause de pollution du lait par des résidus d'antibiotiques [56, 124, 125, 140, 180, 181, 182, 183, 184]. Leur traitement est de loin la première cause d'utilisation des antibiotiques, avec environ deux traitements intra-mammaires par vache et par an (un en lactation et un au tarissement), auxquels, il convient d'ajouter des traitements par voie générale [185]. Les doses administrées à une vache sont de 10 millions d'unités dans le muscle ou d'un million dans la mamelle. La livraison du lait d'une vache ainsi traitée peut rendre positive une analyse faite sur une citerne de stockage de 50 000 à 100 000 litres de lait.
- Le non respect de la période colostrale (14 traites) et le raccourcissement de la période sèche (mauvais enregistrement des dates d'insémination, vêlage prématuré) sont à l'origine des inhibiteurs dans le lait [125, 126]. La mauvaise vidange et l'absence de rinçage de la griffe qui vient de traire une vache sous délai d'attente sont également mises en cause. Le principe de traire en dernier les animaux sous délai d'attente est rarement appliqué [126].

Le Delvotest Sp est le plus souvent utilisé par les entreprises laitières pour la recherche des résidus inhibiteurs dans le lait cru de mélange d'au moins 5-6 vaches [56, 186,187], car il offre un large spectre de détection et présente une sensibilité voisine des seuils LMR. Son avantage est un emploi facile et accessible à tout le monde, il suffit d'un minimum de rigueur pour mener à bien l'analyse. Son principal inconvénient est sa durée: 2h30 ou 3 heures.

Les éventuelles modifications des laits, surtout liées à l'infection mammaire (présence anormale d'inhibiteurs naturels, modification de pH, de composition chimique), peuvent entraîner des variations de sensibilité sur les tests d'inhibition, dans ce cas nous sommes confronté à des résultats « Faux positifs ». Quoique de nombreuses études ont montré que le risque de résultats faussement positifs est inférieur à 5% [188, 189, 190,191], la présence de faux positifs est liée au non respect des conditions et conseils d'utilisation (temps d'incubation trop court, température trop basse).

En effet, les travaux de FABRE et al [148], montrent que sur 28 750 échantillons de lait testés dans le cadre du paiement à la qualité, à l'aide du Delvotest MCS et de *Streptococcus thermophilus*, le nombre d'échantillons positifs détectés avec *Bacillus stearothermophilus* (0,85%) était plus élevé qu'avec *Streptococcus thermophilus* (0,21%). Par ailleurs, le Delvotest<sup>®</sup> SP s'est avéré plus fiable dans l'étude réalisée par Karimuribo et al [192] dans laquelle un échantillon de lait seulement sur 59 (1,7%) testés comportait des résidus antimicrobiens montrant ainsi que les résidus antimicrobiens dans le lait dans les petites fermes laitières de la municipalité de Morogoro en Tanzanie ne constituaient pas un sérieux problème.

Le Delvotest SP peut éventuellement être perturbé par les inhibiteurs naturels. Ceux-ci sont présents dans le lait tout au long de la lactation en faible quantité, mais sont en quantités importantes surtout sur des laits individuels (lait de mammites en phase clinique et tout au début de la période colostrale). En effet, certaines études ont montré les effets éventuels, à très forte concentration, de différents inhibiteurs naturels (lysozyme, lactoferrine) sur *Bacillus Stearothermophilus* [56,193, 194, 195]. Bien que le risque causé par les

inhibiteurs naturels en technologie laitière ne soit pas négligeable, il reste minime par rapport à celui attribué aux antimicrobiens. En effet, leur stabilité s'altère au cours du temps qui suit la traite et leurs effets peuvent être diminués, voire annulés, en raison de l'effet de la dilution et de la technique elle-même du test qui nécessite un préchauffage de 80°C pendant 10 minutes permettant de limiter l'incidence des résultats faussement positifs. Une croissance microbienne peut s'accompagner de production par certaines bactéries lactiques de bactériocines, parfois thermostables, peuvent avoir un antagonisme contre d'autres bactéries lactiques, pouvant positiver le test [56, 196,197].

Le Devotest SP est très peu sensible aux agents désinfectants, qui ne peuvent le rendre positif qu'à des doses très importantes. Quand de tels produits sont utilisés pour nettoyer le matériel laitier dans les conditions normales, leurs concentrations finales dans le lait est tellement faible qu'elle n'influe pas sur les résultats du test. En général, la souche est inhibée à des concentrations de produits supérieures à 0,1% (100 ppm ou plus) [152].

## 2. LES RESULTATS NEGATIFS :

Les résultats ont montré que sur un total de 216 échantillons de lait cru analysés, 63 échantillons sont considérés comme négatifs pour les inhibiteurs (soit 29,17%) et 159 échantillons sont négatifs pour les résidus d'antibiotiques (soit 73,61%).

La présence d'un taux élevé de laits négatifs dans les élevages n'est pas synonyme de salubrité de ces derniers car bien souvent nous pouvons être confronté à des laits qui contiennent des résidus d'inhibiteurs mais qui ne s'expriment pas au test, c'est le cas des résultats faussement négatifs.

- Le Delvotest SP présente l'intérêt d'avoir un spectre large car la plupart des antibiotiques utilisés sont actifs sur *Bacillus stearothermophilus*. Son potentiel inconvénient réside dans le manque de sensibilité à certains antibiotiques (risque de faux négatifs). Il ne permet pas de mettre en évidence la totalité des molécules d'antibiotiques utilisées en élevage bovin laitier en Algérie, en

l'occurrence, la colistine et la rifaximine. De plus, comme ces molécules sont utilisées en association avec d'autres molécules d'antibiotiques dépistées positivement par le test, les résultats négatifs expriment réellement l'absence de résidus d'antibiotiques dans les échantillons analysés. La dilution du lait peut également donner des résultats faussement négatifs, le niveau global de la dilution varie selon les saisons.

- Le préchauffage peut détruire une partie de certains antibiotiques. En effet, selon BROUILLET [56], le chauffage à 80°C pendant 5 minutes détruirait 50 à 60% de la néomycine, la kanamycine et le chlortétracycline. Dans la présente étude, les taux de positivité ont diminué après chauffage tout en augmentant les taux des laits négatifs. Le taux de positivité est passé de 18,05% avant chauffage à 05,08% après chauffage et le taux de laits négatifs est passé de 29,17% avant chauffage à 73,61% après chauffage. Cette situation pourrait s'expliquer par la mauvaise conservation du prélèvement entre les sites des élevages et le laboratoire qui aurait permis la croissance d'une flore de contamination ayant pu provoquer l'acidification du lait ou la destruction de certains antibiotiques. En effet, selon BROUILLET [56], la conservation d'un prélèvement de lait pendant une heure et demie à la température du laboratoire peut faire diminuer de 50% le taux de détection de la pénicilline dans un lait supplémenté avec 0,005 et 0,01UI de cette molécule.

### 3. LES RESULTATS DOUTEUX :

Les résultats ont montré que sur un total de 216 échantillons de lait cru analysés, 52,78% et 21,30% de laits douteux respectivement pour les inhibiteurs et les résidus d'antibiotiques. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que les substances inhibitrices sont présentes à une concentration proche du seuil de détection du test (4 ppb Pénicilline). En effet, la sensibilité du Delvotest SP (analyse qualitative) à détecter les Bêtalactamines est très élevée par rapport aux autres antibiotiques [155, 198].

Pour trancher sur un résultat douteux, il est nécessaire d'analyser l'échantillon avec d'autres méthodes plus sensibles et plus performantes (analyse quantitative)

telle que la chromatographie en phase liquide (HPLC) ou l'ELISA (méthode immuno-enzymatique). Cependant, l'investissement pour de tels systèmes reste très élevé, car ils exigent le plus d'équipements, de temps et de ressources humaines.

Quoique, la réglementation nationale (JORA n°35 du 27 Mai 1998) relative aux résidus d'antibiotiques stipule leur absence dans le lait, elle n'est pas systématiquement appliquée. Par conséquent, un réseau de surveillance de la contamination des denrées animales doit être mis en place par les services vétérinaires en collaboration avec les services de la direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes, pour planifier les périodes, le nombre d'échantillons et les modalités de prélèvement et d'analyse des laits à la ferme et dans les entreprises de transformation.

### 6.3. VOLET III : RELATION ENTRE LA CONCENTRATION DES CELLULES SOMATIQUES ET LA PRESENCE DE RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES DANS LE LAIT.

Sur la base des résultats de la deuxième partie de la présente étude qui montrent que le quart (26%) des laits testés sont contaminés, il en ressort que la situation des élevages bovins laitiers de la wilaya de Blida est préoccupante. Elle semble s'expliquer par l'utilisation abusive des antibiotiques en élevages laitiers et le non respect des délais d'attente.

La contamination du lait par les résidus peut être considérée comme la conséquence du traitement des infections intra-mammaires en élevage bovin laitier dont la prévalence est assez élevée dans la wilaya de Blida, comme rapporté par GUETARNI et al [199]; KEBBAI [200]; GHARBI [201] et BEROUAL [202].

Comme l'infection intra-mammaire se traduit toujours par la présence, dans le lait, des cellules somatiques dont le nombre (CCS) dépend principalement du statut infectieux de la glande mammaire, notre hypothèse est basée sur l'existence d'une relation entre la concentration des cellules somatiques et la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait.

#### 6.3.1. Matériel et Méthodes :

Nous avons réalisé la présente étude dans le laboratoire de la "qualité sanitaire et hygiénique du lait" de la faculté des sciences Agro-vétérinaires et biologique de l'Université Saad DAHLAB de Blida, durant une période de 4 mois, s'étalant du 15 janvier au 30 avril 2008.

Cette étude a porté sur le lait cru prélevé à partir des tanks d'élevages agréés par les services vétérinaires, alimentant le circuit de collecte et conventionnés avec les différentes laiteries de la région de Blida.

### 6.3.2. Origine des échantillons :

90 échantillons de laits appartenant aux élevages de bovins laitiers, provenant de 14 localités de la wilaya de Blida ont donc été prélevés.

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

### 6.3.3. Les prélèvements de lait :

Les prélèvements de laits crus ont été effectués avec la collaboration des vétérinaires praticiens et par certains vétérinaires collecteurs, à partir des cuves de réfrigérations, contenant la traite de la veille et celle du matin. Le prélèvement provient de la traite de toutes les vaches en lactation de l'élevage.

### 6.3.4. Conditionnement et acheminement :

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

### 6.3.5. Dénombrement des cellules somatiques du lait :

#### 6.3.5.1. Matériel :

Le matériel de collecte et de laboratoire est présenté dans l'appendice C. Le comptage des cellules somatiques a été effectué au moyen d'un compteur électronique de particules et analyseur des tailles, le Coulter Counter, modèle Z<sub>2</sub>.

### 6.3.5.2. Méthodes :

La méthode utilisée est celle préconisée par la norme FIL 148A :1995, modifiée pour la fixation des échantillons selon la méthode de GRAPPIN et JEUNET [203].

La numération par compteur Coulter a été réalisée, après calibrage primaire de l'appareil au moyen d'une suspension étalon de particules en latex à la concentration de  $2 \times 10^6$  particules/ml et un diamètre de 10  $\mu\text{m}$ . Nous avons utilisé un seuil minimal de 5  $\mu\text{m}$ , diamètre couramment utilisé et rapporté par GRAPPIN et JEUNET [204].

#### 6.3.5.2.1. Préparation des solutions :

La préparation des solutions de fixation et de clarification se fait selon les méthodes décrites en Appendice C.

#### 6.3.5.2.2. Préparation des échantillons :

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

La préparation des échantillons se fait selon deux étapes :

##### 1) Fixation:

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

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

- Homogénéiser chaque échantillon de lait avant prélèvement.
- Prélever 9,8 ml de lait à l'aide d'une pipette graduée et les déposer dans un tube à essai de 20 ml (Cf. Figure 6. 29).

- Additionner 0,2 ml de formol à 3,5% à l'aide d'une micropipette.
- Agiter le mélange (Cf. Figure 6. 30).
- Incuber les tubes pendant 30 mn à 60°C dans un bain marie (Cf. Figure 6. 31).



Figure 6. 29 : Prélèvement de 9,8 ml de l'échantillon.



Figure 6. 30 : Addition de 0,2 ml de formol à 3,5 %.



Figure 6. 31: incubation à 60°C pendant 30 mn.

## 2) Clarification :

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

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

- Prélever 0,1 ml de lait fixé et le déposer dans un tube à essai (Cf. Figure 6. 32).

- Ajouter 9,9 ml de la solution électrolyte filtré (Cf. Figure 6. 33).
- Homogénéiser la solution préparée.
- Pour le même échantillon de lait fixé préparer une série de 3 tubes identifiés.
- La solution ainsi préparée est chauffée dans un bain marie à  $80 \pm 1^\circ\text{C}$  pendant 10 minutes, veiller à ce que le niveau de l'eau du bain marie soit au dessus du niveau du liquide des tubes (Cf. Figure 6. 34).
- Retirer la solution préparée du bain marie et laisser refroidir à température ambiante.

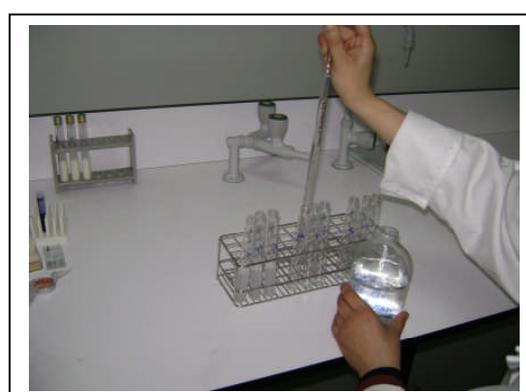


Figure 6. 32 : Prélèvement de 0,1 ml du lait Fixé. Figure 6. 33: Addition de 9,9 ml de la solution électrolyte.



Figure 6. 34 : Incubation à  $80^\circ\text{C}$  pendant 10 mn.

#### 6.3.5.2.3. Numération cellulaire de la solution clarifiée :

- Homogénéiser la solution clarifiée.
- Couler la préparation dans un récipient de mesure afin d'éviter la formation de bulles d'air et d'éventuel dépôt cellulaire dans le fond du tube.

- Procéder à la numération à l'aide du compteur (Coulter model Z2).

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

Lecture :

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

6.3.6. Recherche des résidus d'antibiotiques par le Delvotest SP : (Cf. volet II du présent travail).

La recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru par le Delvotest a été pratiquée comme rapporté dans le volet II de la présente étude. Cependant, les échantillons de laits ont été chauffés préalablement à 80°C dans un bain-marie pendant 10 minutes pour éliminer les inhibiteurs naturels.

### 6.3.7. Résultats :

#### 6.3.7.1. Résultats du comptage cellulaire dans les laits d'élevages :

Les résultats du comptage cellulaire des échantillons de laits analysés sont présentés dans le tableau 6. 13.

Tableau 6. 13 : Les résultats du comptage cellulaire des échantillons de lait analysés.

N° d'ordre	NCT cellules/ml	N° d'ordre	NCT cellules/ml	N° d'ordre	NCT cellules/ml
01	1 732 666.6	31	2 109 000	61	1 277 125
02	1 1043 66.6	32	1 715 667	62	604 625
03	744 600	33	1 489 167	63	<b>186 400</b>
04	421 633	34	1 143 667	64	1 046 625
05	601 933	35	<b>242 100</b>	65	<b>330 575</b>
06	1 402 833	36	2 058 333	66	555 600
07	1 237 000	37	1 081 833	67	<b>195 300</b>
08	3 145 500	38	<b>343 567</b>	68	1 171 750
09	1 299 700	39	1 531 333	69	<b>359 225</b>
10	2 503 000	40	956 233	70	<b>223 275</b>
11	1 473 333	41	786 083	71	<b>152 975</b>
12	450 566	42	1 273 875	72	<b>154 025</b>
13	699 800	43	908 175	73	<b>160 975</b>
14	2 259 333	44	<b>318 450</b>	74	1 085 250
15	2 851 000	45	<b>179 900</b>	75	1 511 375
16	1 468 833	46	586 600	76	<b>299 950</b>
17	888 367	47	<b>203 725</b>	77	835 550
18	2 320 000	48	601 475	78	<b>218 425</b>
19	1 290 167	49	<b>280 775</b>	79	6 479 667
20	2 381 333	50	1 179 000	80	<b>146 500</b>
21	2 336 167	51	681 125	81	<b>371 533</b>
22	2 054 000	52	1 555 000	82	<b>263 600</b>
23	2 452 833	53	3 514 375	83	<b>213 700</b>
24	1 916 500	54	<b>270 500</b>	84	<b>342 633</b>
25	4 559 000	55	<b>395 050</b>	85	533 367
26	1 041 300	56	<b>315 675</b>	86	<b>337 500</b>
27	4 086 833	57	<b>330 467</b>	87	<b>157 033</b>
28	1 898 167	58	<b>339 867</b>	88	<b>326 567</b>
29	1 427 000	59	<b>253 775</b>	89	<b>55 933</b>
30	594 533	60	561 850	90	<b>171 633</b>

Les résultats montrent que les NCT varient de 55 933 cellules/ml à 6 479 667 cellules/ml, avec une moyenne de 901 015,81 cellules/ml.

Nous avons retenu la valeur de 400 000 cellules / ml comme seuil de la NCT sur la base des tranches cellulaires définies par la FIL.

En fonction de cette valeur, nous pouvons classer nos élevages comme suit :

- Ceux présentant une NCT < à 400 000 cellules/ml, c'est-à-dire 32 élevages, soit 35,56%.
- Ceux présentant une NCT > à 400 000 cellules/ml, c'est à dire 58 élevages, soit 64,44%.

La distribution des élevages en fonction des NCT est rapportée dans le tableau 6. 14.

Tableau 6. 14 : Distribution des élevages en fonction des NCT.

Tranche cellulaire (cellules/ml)	Numération cellulaire (cellules/ml)			Nombre d'échantillon	% Relatif
	Minimum	Moyenne	Maximum		
< 400 000	55 933	294 459	395 050	32	35,56
> 400 000	421 633	1 218 736	6 479 667	58	64,44

Les résultats montrent que la numération cellulaire varie au sein d'un écart allant de 55 933 cellules/ml à 395 050 cellules/ml, avec une moyenne de 294 459 cellules/ml pour la tranche cellulaire inférieure à 400 000 cellules/ml et d'un écart de 421 633 cellules/ml à 6 479 667 cellules/ml, avec une moyenne de 1 218 736 cellules/ml pour la tranche cellulaire supérieure à 400 000 cellules/ml.

#### 6.3.7.2. Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans les laits d'élevages :

Les résultats de l'analyse des 90 échantillons de laits d'élevages par la méthode du Delvotest SP sont rapportés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6. 15 : Résultats de l'analyse des laits d'élevages par le Delvotest SP.

	Echantillons analysés	
	Nombre d'échantillon	%
<b>Positifs</b>	06	06,67
<b>Douteux</b>	05	5,55
<b>Négatifs</b>	79	87,78
<b>Totaux</b>	90	100

Les résultats de l'analyse des 90 échantillons de lait montrent que :

- 06 échantillons, soit 06,67 % sont positifs.
- 05 échantillons, soit 05,55 %, sont douteux.
- 79 échantillons, soit 87,78 %, sont négatifs.

#### 6.3.7.3. Confrontation des résultats de l'analyse des laits d'élevages par le Coulter Counter et le Delvotest SP en fonction du seuil retenu :

Les résultats de la confrontation des résultats de l'analyse des laits d'élevages par le Coulter Counter et le Delvotest SP en fonction du seuil retenu est rapportée dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6. 16 : Confrontation des résultats de l'analyse des laits d'élevages par le Coulter Counter et le Delvotest SP en fonction du seuil retenu.

	NCT < 400 000 cellules / ml		NCT > 400 000 cellules / ml	
	Nombre d'échantillon	%	Nombre d'échantillon	%
<b>Positifs</b>	00	00	06	10,34
<b>Douteux</b>	01	03,13	04	6,90
<b>Négatifs</b>	31	96,87	48	82,76
<b>Totaux</b>	<b>32</b>	<b>100</b>	<b>58</b>	<b>100</b>

Les résultats montrent que:

- 79 laits (87,78%) des laits ne sont pas contaminés.

- 11 laits (12,22%) des laits analysés présentent une contamination par les résidus d'antibiotiques dont :
  - 01 laits (03,13%) ayant une NCT à moins de 400000 cellules/ml.
  - 10 laits (17,24%) ayant une NCT à plus de 400000 cellules/ml.

Pour la tranche des laits dont la NCT est < 400000 Cellules/ml, nous avons :

- 31 laits négatifs (96,87%), c'est-à-dire des laits exempts de résidus d'ATB.
- 01 laits douteux, soit 03,13%, c'est-à-dire présentant des résidus à une concentration proche ou inférieure à celle du seuil de détection.

Pour la tranche des laits dont la NCT est > 400000 Cellules/ml, nous avons :

- 48 laits négatifs (82,76%), c'est-à-dire des laits exempts de résidus d'ATB.
- 06 laits positifs, soit 10,34%, c'est-à-dire présentant des résidus à une concentration supérieure à celle du seuil de détection.
- 04 laits douteux, soit 06,90%, c'est-à-dire présentant des résidus à une concentration proche ou inférieure à celle du seuil de détection.

La figure ci-dessous représente la confrontation des résultats des cellules somatiques et les résidus d'antibiotique en fonction des deux classes.

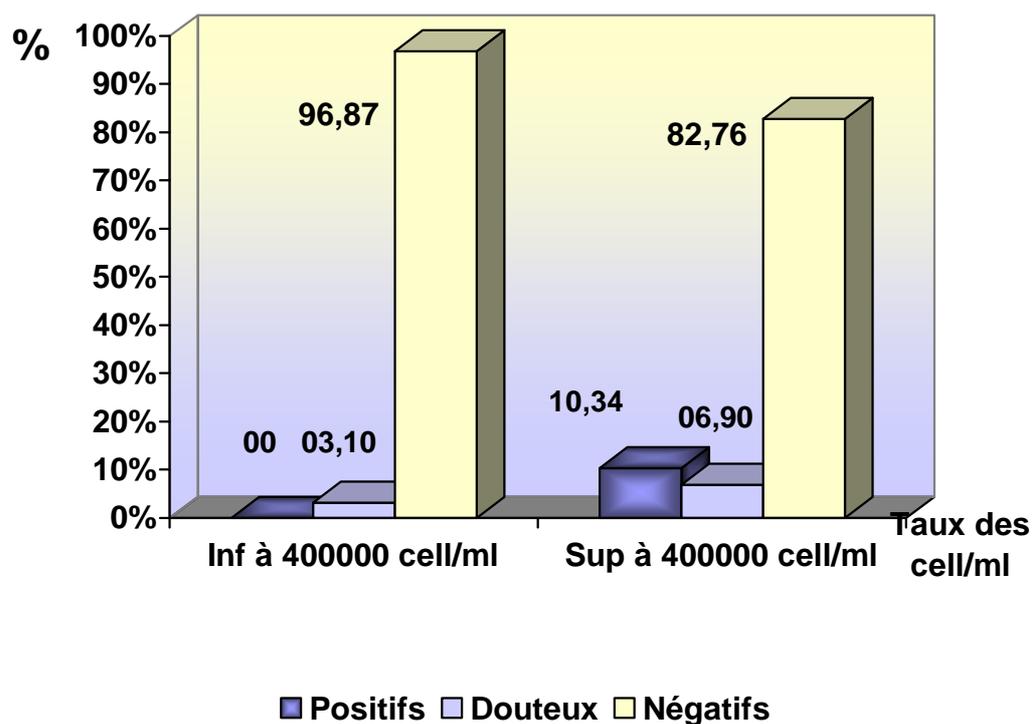


Figure 6. 35: Représentation graphique des résultats comparatifs entre les cellules somatiques et les résidus d'antibiotiques dans le lait cru.

Ces résultats, nous permettent de limiter la recherche des résidus d'antibiotiques que dans les laits ayant un taux cellulaire supérieur à 400 000 cellules/ml, ce qui nous permet d'économiser le coût des laits analysés.

### 6.3.8. Discussion :

Le taux cellulaire moyen du lait de tank (TCT) permet d'estimer le niveau d'infection ou le nombre de quartiers atteints dans un troupeau à un instant donné. La présence de résidus d'antibiotiques est la conséquence des traitements, particulièrement celle des infections mammaires. Dans les pays producteurs de lait, le TCT est très important pour l'éleveur car il constitue l'un des critères de collecte et de paiement du lait selon la qualité.

Dans la présente étude, le taux cellulaire moyen obtenu est de 901 015,81 cellules/ml avec des extrêmes de 55 933 à 6 479 667 cellules/ml. Il est comparable à celui rapporté par GHARBI [201] qui est de 739 314,81 cellule/ml pour des élevages de la même région (Mitidja) et MTAALLAH et al [205] qui est de 624 317 cellules/ml.

Toutefois, si on classe nos élevages par rapport au seuil préconisé par la FIL, en l'occurrence, 400 000 cellules/ml, il en ressort ce qui suit :

- 64,44% des élevages ont un TCT  $\geq$  à 400 000 cellule/ml.
- 35,56%, ont un TCT  $<$  à 400 000 cellule/ml.

Cette situation s'explique par le fait qu'un élevage où le taux cellulaire est élevé implique une prévalence importante du nombre de mammites, car ce taux traduit l'état sanitaire de l'ensemble des mamelles. Sur la base de ce qui précède, nous pouvons dire que le taux cellulaire moyen de tank demeure un indicateur de risque pour la présence des résidus d'inhibiteurs dans le lait.

Les résultats de la présente étude montrent un taux de contamination de 17,24% des laits d'élevages ayant un taux cellulaire supérieur à 400 000 cellules/ml contre seulement 03,13% des laits ayant un taux cellulaire inférieur à 400 000 cellules/ml.

Cette relation a été mise en évidence par de nombreux auteurs [206, 207, 208, 209]. En effet, les mammites de la vache laitière représentent la pathologie dominante en élevage bovin laitier [210, 211, 212, 213], et la principale cause d'utilisation des antibiotiques tant à des fins curatives (traitements des mammites en lactation et au tarissement) que préventives (traitements au tarissement).

Auxquelles il convient d'ajouter des traitements par voie générale assez nombreux [185]. Par ailleurs, les antibiotiques destinés au traitement des mammites représentent également le facteur de risque principal de la présence de résidus de médicaments dans le lait [124,125, 140, 184, 189, 214]. Ces derniers constituent une entrave technologique à la transformation du lait par les entreprises laitières mais peuvent aussi représenter des risques pour la santé humaine [168].

Les pratiques à risque le plus souvent invoquées peuvent être classées dans les trois catégories suivantes :

- Risques accidentels liés au non-respect des règles d'identification des animaux;
- Risques liés au non-respect des règles d'utilisation du médicament;
- Risques liés au non-respect des règles de traite des vaches sous délais d'attente.

Ainsi, afin d'éviter la pollution du lait par des résidus d'antibiotiques, il est nécessaire que le traitement des infections mammaires soit raisonné et correctement mis en œuvre. C'est un enjeu essentiel pour l'économie de l'élevage, l'efficacité de la transformation, la santé publique ainsi que pour l'image de marque du lait auprès des consommateurs. Tout ceci nécessite le développement d'un partenariat entre les différents acteurs de la filière du lait, en contribuant à la recherche de la qualité par l'entreprise laitière.

## CONCLUSION

Parmi les contaminants du lait potentiellement néfastes pour la santé publique, un regard attentif est porté sur les résidus inhibiteurs, notamment les antibiotiques. Certains d'entre eux sont très largement utilisés pour la gestion de l'état sanitaire des troupeaux laitiers.

Les résultats de notre enquête réalisée sur le terrain montrent bien la grande part de responsabilité des éleveurs, due à l'automédication et au non respect des délais d'attente et de celle des vétérinaires, due à la non maîtrise de la réglementation et à la manipulation des médicaments.

La présente étude a permis de mettre en évidence la contamination du lait par les résidus d'inhibiteurs qui constituent un risque non négligeable chez l'industriel et le consommateur. Le problème est évidemment plus fréquent dans les élevages à fort taux cellulaire, qui sont plus confrontés aux problèmes de mammites, d'où la nécessité de multiplier les traitements. Il serait raisonnable que des contrôles réguliers effectués le long des circuits de collecte du lait soit mis en œuvre, en incluant dans la recherche les molécules les plus récentes et les plus utilisées. Il est donc impératif pour l'industrie laitière de disposer de tests simples, rapides et fiables pour déceler la présence de résidus inhibiteurs, essentiellement les antibiotiques à usage intra- mammaire, dans le lait.

Un dispositif réglementaire doit être également instauré, afin de dynamiser l'action des producteurs dans l'amélioration de la qualité du lait, en appliquant le principe du paiement du lait en fonction de sa qualité, avec une pénalisation financière si la présence de résidus inhibiteurs est prouvée.

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

## RECOMMANDATIONS

A l'issue de la présente étude, pour minimiser la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait avec tous les problèmes qui peuvent en découler, nous recommandons un ensemble de mesures devant être prises à différents niveaux :

### 1) Pouvoirs publics :

- Mise en application de la réglementation vis-à-vis de la qualité, du lait et des produits laitiers, destinés à la consommation humaine.
- Interdiction de la vente de lait cru dans le circuit informel (non pasteurisé et non contrôlé).

### 2) Elevages :

- Veuillez aux bonnes pratiques d'utilisation des médicaments vétérinaires.
- Eliminer le lait provenant de tous les quartiers des vaches traitées.
- Eliminer, pour toute la période recommandée, le lait provenant de vaches venant de vêler si on a administré un traitement au tarissement.

### 3) Laiteries :

- Instaurer le paiement du lait selon la qualité.
- Pénaliser les éleveurs réfractaires aux recommandations.
- Faire systématiquement une recherche des résidus d'antibiotiques dans les laits de toutes les citernes.

### 4) Praticien vétérinaire:

- Le vétérinaire doit sensibiliser les éleveurs sur les dangers de l'utilisation des antimicrobiens sans prescription vétérinaire.
- Le vétérinaire doit convaincre les éleveurs d'éliminer systématiquement « le produit intégral » de la traite du quartier traité et celui des autres quartiers.

**5) Consommateur :**

- Inciter les consommateurs à opter pour la consommation du lait et produits laitiers provenant du circuit de collecte (pasteurisé et contrôlé).

## REFERENCES

1. Cayot, P.H. et Lorient, D., « Structures et technofonctions des protéines du lait », Edit Lavoisier, Tech &Doc, Paris, (1998), 363 p.
2. Dehove, R.A., « Réglementation des produits et services : Qualité, consommation et répression des fraudes », commerce édition, Paris, (1984), 1307 p.
3. Luquet, F.M., « Lait et produits laitiers: Vache-brebie-chèvre, Tome I : Les laits de la mamelle à la laiterie », Edit Lavoisier, Tech &Doc, Paris, (1985), 397 p.
4. Larpent, J.P., « Lait et produits laitiers non fermentés » in Bourgeois, C.M., Mesclé, J.F. et Zucca, J., « Microbiologie alimentaire: Aspect microbiologie de la sécurité et de la qualité des aliments », Tome I, Edit Lavoisier Tech &Doc. Paris, (1996), 671 p.
5. Hanzen, C.H., «Pathologie de la glande mammaire de la vache laitière : Aspects individuels et d'élevage », 4<sup>ème</sup> Edition Université de Liège, (1999).
6. FAO, « Annuaire FAO de la production », vol 44, Rome, (1990).
7. Alais, C.H., LINDEN, G. et MICLO, L., « Biochimie alimentaire », 5<sup>ème</sup> Edition Dunod. Paris, (2003), 163-189.
8. FAO, « Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine : Alimentation et nutrition », Rome, (1998), n°20.
9. Goursaud, J., « Le contrôle de la qualité du lait, matière première de l'industrie » in Cepil., « Le lait matière première de l'industrie laitière », Cepil-Inra, Paris, (1987), 385-394.
10. Lupien, J., « Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine organisation des unies pour l'alimentation et l'agriculture », Rome, (1995), 272 p.
11. Pougheon, S. et Goursaud, J., « Le lait et ses constituants: caractéristiques physico-chimiques », in: Debry, G., « Lait, Nutrition et Santé », Edit Lavoisier, Tech &Doc, Paris, (2001), 3-42.

12. Dosogne, H., arendt, J., Gabriel, A. et Burvenich, C., «Aspects physiologiques de la sécrétion laitière par la mamelle bovine », Ann.Méd.Vét., 144, (2000), 357-382.
13. Allard, G. et Mauries, M., « Produire du lait biologique : réussir la transition », Edit Groupe France Agricole, Paris, (1998), 191 p.
14. Amiot, J., Fournier., Lebeuf, Y., Paquin, P. et Simpson, R., « Composition, propriétés physico-chimiques, valeur nutritive, qualité technologiques du lait » in : Vignola, C.L., « Science et technologie du lait : transformation du lait », Ecole polytechnique de Montréal, (2002), 1-73.
15. Paynes, W.J.A., « An introduction to animal husbandry in tropics », 4<sup>ème</sup> Edition, Longman Scientific Technical, New York, (1999), 752-766.
16. Mathieu, J., « Initiation à la physico-chimie du lait », Edit Lavoisier, Tech &Doc, Paris, (1998), 220 p.
17. Cheftel, J.C. et Cheftel, H., « Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments », Tome I, Edit Lavoisier, Tech &Doc, Paris, (1997), 35-62.
18. Veisseyre, R., « Technologie du lait, constitution, récolte, traitement et transformation du lait », 3<sup>ème</sup> édition, la maison rustique, Paris, (1975), 714 p.
19. Renner, E., « Milk and dairy products in human nutrition », Volkswirtschaftshenker verlag, Munich, (1983), 15-89.
20. Gnädig, S., Chardigng, J.M. et Bedio, J.L., «Le lait et ses constituants : biodisponibilité et valeur nutritionnelle : lipides » in Debry, G., « Lait, nutrition et santé », Edit Lavoisier, Tech &Doc, Paris, (2001), 105-124.
21. Mahaut, M., Jeantet, R., Brule, g. et Schuch, P., « Les produits industriels laitiers », Edit Lavoisier, Tech &Doc, Paris, (2000), 178.
22. Lindent, G. et Lorient, D., « Biochimie agro-alimentaire : Valorisation alimentaire de la production agricole », Edit Masson, Paris, (1994), 101-109.
23. Luquet, F.M., « Lait et produits laitiers : vache, brebis, chèvre » Tome III, Edit Lavoisier, Tech &Doc, Paris, (1986).
24. Pernoud, S., Scheid, N., Agentte, V., Breton, S., Faurie, J.M., Marchal, L., Obis, D., Ondelot, E., Paquet, D. et Robinson, T., « Les bactéries lactiques et probiotiques », Edit Lavoisier, Tech &Doc, Paris, (2005), 305 p.

25. Hanzen, C.H., « Preupédentique et pathologie de la reproduction mâle et femelle biotechnologie de la reproduction pathologie de la glande mammaire » 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> Edit université de liège, (2000).
26. Alais, C., « Science du lait principes des techniques laitière », 4<sup>ème</sup> Edition, Sepaic, Paris (1984), 814 p.
27. Blanc, X., «Les protéines du lait à activité enzymatique et hormonale », Le lait., 62, (1982), 350-395.
28. Got, R., «Les enzymes du lait», Ann.Nutr.Alim., 25, (1971), A291-A311.
29. Gueguen, L., «Le lait et ses constituant: caractéristiques physiologiques: minéraux et oligoéléments» in Debry, G., « Lait, nutrition et santé », Edit Lavoisier, Tech &Doc, Paris, (2001), 125-149.
30. Renner, E., «Micronutrients in milk and milk-based food products», Elsevier, Applied Science, London, (1989), 311p.
31. Rupp, R., «Analyse génétique de la résistance aux mammites chez les ruminants laitiers», Thèse de doctorat de l'institut National Agronomique, Paris, Grinon, (2000).
32. Serieys, F., «Concentration cellulaire du lait individuel de la vache: influence de l'état d'infection mammaire, du numéro de lactation, du stade de lactation et de la production laitière», Ann.Rech.Vét., 16, (1985), 255-261.
33. Badinand, F., «Maîtrise du taux cellulaire du lait», Rec.Med.Vet., 170 (6/7), (1994), 419-427.
34. Lee, C.S., Wooding, F.B.P. et Kemp, P., «Identification, properties and differential counts of all propulattions using electron microscopy of dry cows secretions, colostrum and milk from normal cows», J.Dairy.Res., 47 (1980), 39-50.
35. Miller, R.H., Paaper. M.J. et Fulton, L.A., «Variation in milk somatique cells of heifers at first calving», Journal of Dairy Science., 74, (1991), 3782-3790.
36. Graaven, N. et Williams, M.R., «Defences of the bovine mammary gland against infection and prospects for their enhancement», Vet. Immunol and immunopatholy., 10, (1985], 71-127.
37. Lamontagne, M., Champagne, C.P., Reitz-Ausseau, J., Moineau, S., Gardner, N., Lamouteux, M., Jean, J. et Fliss, I., « Microbiologie du lait »,

- In : Vignola, C.L., « Science et technologie du lait: transformation du lait », Ecole polytechnique de Montréal, (2002), 74-151.
38. Larpent, J.P., «Les ferments microbiens dans les industries agro-alimentaires: produits laitiers et viandes», APRIA, Paris, (1991).
  39. Hermier, J., Lenois, J. et Weber, F., «Les groupes microbiens d'intérêt laitier», Cepil, Paris, (1992).
  40. Paraf, A. et Paltre, G., «Immuno-assay in food agriculture», Kluwer Academic, Press, (1991), 181-228.
  41. Leyral, G. et Vierling, E., «Microbiologie et toxicologie des aliments : hygiène et sécurité alimentaire », 3<sup>ème</sup> Edit Aquitaine : Doin, (2001), 274 p.
  42. Monsallier, G., « Maîtrise de la teneur en germes mésophiles totaux du lait à la production », Res.Méd.Vét., 170, n° 6/7, (1994), 411-418.
  43. Sommelier, L. et Heuchel, V., « Caractérisation microbiologique et aptitude technologique des laits ultra propres », Compte rendu Institut de l'Élevage, (1999), n° 9983118, 32p.
  44. Gelinas, P., « Répertoire des micro-organismes pathogènes transmis par les aliments », Edition Edisem, Sainte Hyacinthe, Québec, (1995), 207 p.
  45. Grimard, B. et Seegers, H., « Qualité du lait », Res.Méd.Vét., n°6/7, Tome 170, (1994), 331.
  46. Guattéo, R., « Maîtrise de la concentration en cellules somatiques du lait en troupeaux bovins laitiers : efficacité d'une démarche de correction des points de maîtrise identifiés par un audit spécifique : la démarche Querellait », Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de Médecine, Nantes, (2001), 103p.
  47. Bourgeois, C.M. et Leveau, J.Y., « Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro alimentaires », Tome III, édition Science, Tech &Doc, Paris, (1980) 331 p.
  48. Cauty, I. et Perea, J. M., « La conduite du troupeau laitier : La qualité du lait », 1<sup>er</sup> Edition France agricoles, (2005), 55-57.
  49. Broutin, C., Diedhiou, Y. et Dieng, M., « Maîtrise de la qualité dans la transformation laitière », Guide de bonnes pratiques d'hygiène, Sénégal, (2005), 19-31.
  50. Hacini, N., « Filière lait et risques alimentaires », Mag.vet., (2007), 22-29.

51. Bencharif, A., « Stratégies des acteurs de la filière lait en Algérie : état des lieux et problématique », Option Méditerranéenne : Les filières et marchés du laits et dérivée en Méditerranée., 32, (2001), 26-45.
52. Baazize, D., « Evaluation de la qualité microbiologique du lait cru de vache dans la région de la Mitidja », Mémoire de magister, (2006), pp 160.
53. Brouillet, P., « Les résidus inhibiteurs dans le lait de la vache à la production », Mémoire de CES d'hygiène dans les industries agro-alimentaires, Toulouse, (1992).
54. Bourgeois, C.M. et Larpent, J.P., « Microbiologie Alimentaire : les fermentations alimentaires », Tome II, Tech & Doc, Lavoisier, (1989).
55. Brouillet, P., « Les tests rapide de détection des antibiotiques dans le lait », Bull des Group.Tech.Vét., (2002), n°15, 183-189.
56. Brouillet, P., « Maîtrise de la présence d'inhibiteurs dans le lait », Rec.Méd.Vét., (1994), n° 170 (6/7), 445-455.
57. Auclair, J., « L'aptitude du lait au développement de la flore lactique » in Eck, A., « Le fromage », 2<sup>ème</sup> édit, Tech & Doc, Lavoisier, Paris, (1986), 134-187.
58. Desmazeaud, M.J., « Le lait, milieu de culture », microbiologie. Aliments. Nutrition., (1990), n° 8, 313-325.
59. Nabet, P. et Linden, G., « Constituants bioactifs » in DEBRY, G., « Lait, nutrition et santé », Edit Lavoisier, Tech &Doc, Paris, (2001), 169- 187.
60. Ribadeau-Dumas, S., « Antimicrobial systemes in milk-bath », Univ-press, Bath, Royaume uni, (1986).
61. Roche, L., et Lorgue, G., « Toxicologie vétérinaire », Edit masson, paris, (1985), 197-256.
62. Jouzier, X. et Cohen-Mauvel, E., « Manuel de référence pour la qualité du lait », FNPL, (1989), 86-94.
63. Boyaval, P., « Résidus inhibiteurs et détection », Le lait., (1989), 69, 87.
64. Rainard, P. et Poutrel, B., « Protection immunitaire de la glande mammaire » in Martinet, J. et Houdebine, L.M., « Biologie de la lactation », Edit INSERM/INRA, (1993), 415-429.
65. Spik, G., « Lactoferrines : Structures, interactions et applications » in : Gaucheron, F., « Minéraux et production laitières », Edit Tech & Doc, Paris, (2004), 179-216.

66. Rainard, P., Poutrel, B. et Caffin, J.P., « Lactoferrin and transferrin in bovine milk in relation to certain physiological and pathological factors », Ann.Rech.Vet., (1982), n° 13, 321-328.
67. Reiter, B., « Review of non specific antimicrobial factors in colostrum », An.Rech.Vét., (1978), n°9, 205-224.
68. Labie, CH., « Cours CES Hygiène des industries agro-alimentaire » Ecole Nationale vétérinaire de Toulouse, (1992).
69. Vial, F., « Les inhibiteurs dans le lait. Etude du taux de pollution des laits : Enquête chez des éleveurs de la région Rhône-Alpes », Thèse de Doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, (1993), 160 p.
70. Beerens, H. et Luquet, F. M., « Guide pratique d'analyse microbiologique des laits et des produits laitiers », Tech & Doc, Lavoisier, (1987), 124-137.
71. Frison, D., « Les inhibiteurs dans le lait, importance au niveau de la coopérative ORLAC », Rapport de stage, ISARA de Lyon, (1991), n°69.
72. De Laistre-Bantin, G. et Paviot, X., « Evaluation des effets inhibiteurs des résidus de bithionol sulfoxide dans le lait sur les ferments lactiques », Rec.Méd.Vét., (1986), n° 162, 1005-1008.
73. Pradalier, A., Dry, J. et Luce, M., « Réflexion sur l'allergie médicamenteuse », Con.Méd., (1980), n° 40, 5993-6011.
74. Francioli, P. et Pappalardo, G., « antiseptiques et désinfectants » » in Schorderet, M., « pharmacologie : des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques », OPU, Alger, (1989), 775-778.
75. Jepsen, A., « Les résidus de désinfectants et d'antibiotiques dans le lait », in Adrin. J., « Valeur alimentaire du lait », La maison Rustique, Paris, (1973), 457-464.
76. Duivon, D., « Tolérance locale et résidus dans le lait d'une préparation intramammaire. Etude chez la vache laitière », Thèse.Doc.Vét., Lyon, (1992), n° 8.
77. Duflocq, F., « Les Résidus d'antibiotiques dans le lait après un traitement par voie intra-mammaire », Thèse pour doctorat vétérinaire, ENV d'Alfort, (1982), 97 p.
78. Fontaine, M., « Vade-Mecum du vétérinaire : formulaire vétérinaire de pharmacologie, de thérapeutique et d'hygiène », 15<sup>ème</sup> Edition office des publications universitaire, (1988), 1642 p.

79. Asselineau, J. et Zalta, J.P., « les antibiotiques : structure et exemples de mode d'action », Edit HERMANN, Paris, (1973) 364 p.
80. Larpent, J.P. et Sanglier, J.J., « Biotechnologie des antibiotiques », Masson, Paris, (1989), 481p.
81. Pieri, F. et Kirkia Charian, S., « Pharmacologie et thérapeutique », 2<sup>ème</sup> édition, Marketing, Paris, (1992), 463 p.
82. Bryskier, A., «Histoire des antibiotiques »in Bergogne-Berezin, E. et Dellamonica, P., « antibiotique en pratique clinique », 2<sup>ème</sup> édit, MASSON, 1998, 1-65.
83. Bryskier, A., « Antibiotiques, agents antibactériens et antifongiques », Paris, Ellipse édit Marketing S. A, (1999), 1216 p.
84. Puyt, J. D., « Médicaments anti-infectieux en médecine vétérinaire : Base de l'antibiothérapie », ENV Nantes, (2002), 201 p.
85. Lechat, P.P., Lagier, G., Rouveix, B., Vingens, M. et Webers, S., « Abréger pharmacologie médicale », Edition Masson, (1990), 44-85
86. Neuman, M., «Vade-mecum des antibiotiques et agents chimiothérapeutiques anti-infectieux », 4<sup>ème</sup> édition, Paris, 1979, 7-25
87. Larpent, J.P., « Microbiologie alimentaire : Technique de laboratoire, notions générales sur les antibiotiques », Edit Lavoisier, Tech &Doc, Paris, (2003), 346-347.
88. Puyt, J.D., « Médicaments anti-infectieux en médecine vétérinaire : Base de l'antibiothérapie », ENV Nantes, (1999), 201 p.
89. Eberlin, T. et Renaud, F., « Etude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques » in « Bactériologie médicale », 2<sup>ème</sup> Edition Flammarion, (1989)433-456.
90. Michel-Briand, Y., « Mécanismes moléculaires de l'action des antibiotiques », Edit Masson, Paris, (1989), 370 p.
91. Schwarz, S. et Chaslus-Dancla, E., « Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance», Vet.Res., (2001), 32, 201-225.
92. Chaslus-Dancla, E., « Mécanismes de résistance aux antibiotiques », Groupements Techniques Vétérinaires., (1999), 133-137.
93. EMEA., «Antibiotics authorised for Therapy in Food Producing Animals in the UE. In: Antibiotic Resistance in the European Union Associated with Therapeutic use of Veterinary Medicines». Report and Qualitative Risk

- Assessment by the Committee for Veterinary Medicinal Products, (1999), 15p.
94. Faroult, B. et Alno, J.P., « Réflexions pour de meilleures pratiques de l'antibiothérapie Vétérinaire », Groupements Techniques Vétérinaires., (1999), 163-164.
  95. Millemann, Y., « Antibiorésistances et prescription antibiotique », La Dépêche Technique., (2002), 80 (Suppl), 25-29.
  96. Corpet, D.E., « Antibiotiques en élevage et résistances bactériennes : vers une Interdiction », Revue.Méd.Vét., (1999), 150, (2), 165-170.
  97. Mackinnon, J.D., Bulling, E. et Helmuth, R., «Criteria and Methods for the Microbiological Evaluation of growth promoters in animal feeds», Vet.Med. Hefte., (1985).
  98. Vervact, CH. et Robitaille, T., « Antibiotiques et site de l'infection », Action vétérinaire., n° 1462, (1999), 7-9.
  99. Fontaine, M., « Vade-mecum du vétérinaire. Formulaire vétérinaire de pharmacologie, de thérapeutique et d'hygiène », Tome I, 15<sup>ème</sup> édition, Office des publications Universitaires, Alger, (1993), 560p.
  100. Richez, P. et Ruckebusch, Y., « Efficacité, thérapeutique et disponibilité biologique des médicaments vétérinaires », Revue.Méd.Vét., (1979), 130, 10, 1311-1344.
  101. Bourin, M. et Jolliet. P., « Pharmacologie générale et pratique », 3<sup>ème</sup> édition, Ellipses/édition marketing. S. A. Paris, (1999), 24-34.
  102. Ruckebusch, Y. et Toutain, P.L., « Le médicament vétérinaire », Edition Masson, Paris, (1982), 203 p.
  103. Eberlin, T., « les antibiotiques : classification, mode d'action, utilisation thérapeutique », Edition Nathan, Paris, (1994), 97-106.
  104. ACTEP., «Cours national de pharmacologie », Edit Marketing, Paris, (1983), 20-411.
  105. Bergogne-Berezin, E. et Dellamonica, P., « Abréges antibiothérapie en pratique clinique », 2<sup>ème</sup> Edition, Masson, (1998), 58-59.
  106. Lechat, P.P., Lagier, G., Rouveix, B., Vingens, M. et Webers. S., « Abreger pharmacologie médicale », Edition Masson, (1982), 44-85.
  107. Ruckebusch, Y., « Physiologie pharmacologie thérapeutique », 2<sup>ème</sup> édition, Maloine, S.A. éditeur, Paris, (1981), 611 p.

108. Milhaud, G., « Traitement des mammites: Pharmacocinétique des médicaments utilisés et conséquences », *Rec.Méd.Vét.*, 1985, 161, (6-7), 579-585.
109. Ziv, G., «practical pharmacokinetic aspect of mastitis therapy», *Vét.Mét.*, (1980), 657-670.
110. Ziv, G., «Mode of transfert of antibiotics from treated to untreated quarters in dairy cows», *Am.J.Vét.Res.*, (1974), (1), 643-647.
111. Sanders, P. et Gicquel, M., « Pharmacocinétique et activité des anti-infectieux », *point Vét.*, (1998), 29 (190), 227-236.
112. Moretain, J.P., « Cinétique d'élimination des résidus d'antibiotiques dans le lait après traitement thérapeutique », *Rec.Méd.Vét.*, (1981), 157, 199-204.
113. Aumont, G., «Milk iodine residues after a post-milking iodophor teap-dipping», *Ann.Méd.Vét.*, (1987), n°18, 375-378.
114. Archimbault, P., Boutier, C., Fellous, R. et Moscat, G., «influence de la nature de l'excipient sur l'élimination des antibiotiques administrés par voie intramammaire », *Rec.Méd.Vét.*, (1980), n° 131, (3), 209-222.
115. Bouchot, M.C., « Facteurs influençant l'excrétion des antibiotiques dans le lait », *Rec.Méd.Vét.*, (1981), 157, 191-197.
116. Moretain, J.P. et roudaud, B., « Etude de l'élimination des résidus d'antibiotiques dans le lait » Publication de la F.N.P.L, étude n°1, 07/81. Étude n° 2, 07/82. Étude n° 3, 09/85. Étude n° 4, 12/86.
117. Wright, W.W. et Harold, L.C., «Antibiotic residues in milk », *J.Am.Vét.Med., Assoc.*, (1960), n° 137, 525-533.
118. Mol, H., «Antibiotics and milk», Balkzma A. A edit., Rotterdam, (1974).
119. Vandaele, E. et Veillet, F., «Dictionnaire des médicaments vétérinaires», Edit du point vétérinaire, maisons Alfort, (2001).
120. Mercer, H.D., Gelatta, J.N., Porteous, L.A. et Condon, R. J., « Excretion of penicillin G and dihydrostreptomycin from quarters of cows with experimentally induced staphylococcal mastitis », *Am.J.Vét.Res.*, (1974), n°35, 1191-1196.
121. Sachot, E. et Puyt, J.D., « Les différents calculs du temps d'attente », (2001), *Point.Vét.*, n°212, 48-51.
122. Faroult, B., Lepoutre, D., Brouillet, P. et Le Page, P., « Mammites des bovins (cliniques et subcliniques) : démarches diagnostiques et

- thérapeutiques », La Dépêche Technique, Supplément Technique., n°87 (2004), 39 p.
123. Edmonson, P., « Avoidance of medicines residues in milk », in practice, (2003), 278-283.
  124. Le Poutre, D. et Petit, C., « Maîtrise des résidus dans le lait : le rôle du vétérinaire praticien », Bull.Group.Tech.Vét.. (2000), n° 8, 199-203.
  125. Fabre, J.M., Moretain, J.P., Ascher, F., Brouillet, P. et Berthelot, X., « Les principales causes d'inhibiteurs dans le lait. Résultats d'une enquête dans un millier d'élevages Français », Bull.Group.Tech.Vét., 3-b, (1996), n° 522, 27-31.
  126. Form, G., « Les résidus inhibiteurs dans le lait: évolution des méthodes de détection, facteurs de risques en région Rhône-Alpes », Thèse. Doc. Vét. Lyon, (2003), 102 p.
  127. Rico, A.G., « Médicaments vétérinaires et sécurité alimentaire : approche toxicologique » in Gengoux, P., « Pharmacodynamie générale et thérapeutique vétérinaire », 2<sup>ème</sup> édit, J. Duculot, Gembloux, (1971), 185-195.
  128. Leseur, R., « Les actions de contrôle: rôle de l'états » in Debry, G., « Lait, santé et nutrition », Edit Tech & Doc, Lavoisier, (2001), 489-500.
  129. Laurentie, M et Sanders, P, « Résidus de médicaments vétérinaires et temps d'attente dans le lait », Bull. de G.T.V., (2002) (15), 197-201.
  130. Ecckhoutte, M., « Antibiotiques et alimentation humaine », Revue de Méd.Vét., 125, (5), (1978), 717-740.
  131. Lederes, J., « Encyclopédie Moderne de l'hygiène alimentaire : Les intoxications Alimentaires », Tome 4, 3<sup>ème</sup> Edit, Nauwelaerts, paris, (1986), 251-264.
  132. Ungemach, F.R., « Effets indésirables des médicaments antibactériens », Point Vétérinaire, (1992), 23 (141), 921-926
  133. Bories, G., « Médicaments vétérinaires et sécurité alimentaires, aspects analytiques du problème des résidus », Bull de G.T.V., 01, (1986), 61-64.
  134. Burgat, V., « Allergy and residues. I Safety and quality in Food », Edit Elsevier Science Publishers, Amsterdam, (1984), 143-157.
  135. Derache, R., « Toxicologie et sécurité des aliments », Edit Lavoisier, Tech & Doc, Paris, (1986), p 594.

136. Milhaud, G. et Person, J.M., «Evaluation de la toxicité des résidus d'antibiotiques dans le lait », Rec.Méd.Vét., (1981), 157 (2), 179-185.
137. Kerberve, L. et Richard, J., « Influence des résidus de désinfectants dans le lait sur l'activité de quelques streptocoques lactiques », Rev.Lait.Franç., (1971), (57), 17- 32.
138. Keck, G., « Chloramphénicol : antibiotique à risque », Rec.Méd.Vét., 1981, 157 (6), 507-513.
139. Dewdney, J.M. et Edwards, R.G., « Penicillin hypersensitivity in milk a significant hazard », J.Roy.Sac.Med., (1984), 77,866-877
140. Federicci-Mathieu, C., « Résidus dans le lait et sécurité alimentaire quels risques ? Quels moyens de maîtrise? », Bull. de G.T.V., (2000), 7, 99, 102.
141. Maghium\_Rogister, G., « Hormones, substances anabolisantes et résidus de traitement vétérinaires en relation avec la sécurité alimentaire » in Moll, M. et Moll, N., « Sécurité alimentaire du consommateur », 2<sup>ème</sup> édition, Tech et Doc, paris, (2002), 65-92.
142. Leyral, G. et Vierling, E., « Microbiologie et Toxicologie des aliments : hygiène et sécurité alimentaire », 3<sup>ème</sup> édition, doin éditeur, (2001), 272.
143. Videaud, D., « Les antibiotiques et la résistance des bactéries, les associations d'antibiotiques », Anim.Cie., (1973), (31), 155-170.
144. Duval, J. et Soussy, C.J., « Antibiothérapie bases bactériologie pour l'utilisation des antibiotiques », Edition Masson, Paris, (1990), 325 p
145. Serieys, F., « Présence moins d'antibiotique au tarissement ? », Point Vét., (2003), 233 (34), 48-52.
146. Stohr, K., « Résistance aux antimicrobiens : problèmes liés a l'usage des antimicrobiens dans les exploitations agricoles », Le point., (2000), n° 28 et 29, p10.
147. Mourot, D. et Loussouarn, S., « Sensibilisation des ferments lactiques aux antibiotiques utilisée en médecine vétérinaire », Rec.Med.Vet., (1981), 157-177.
148. Fabre, J.M., Moretain, J.P. et Berthelot.X., «Evolution de la méthode interprofessionnelle de recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait », Bull de GTV., N° 15, (2002), 172-178.
149. Moretain, J.P., « les médicaments vétérinaires et qualité du lait, le problème des résidus antibiotiques », Technicien du lait, (1986), 10-16.

150. Labie, CH., « Disposition législatives destinées à éviter la présence de résidus dans le lait », *Rec.Med.Vet.*, (1981), 157, 161-167.
151. Mouillet, L., « dosage des antibiotiques » in Multon, J.L., « Technique d'analyse des constituants alimentaires », Tome IV, 2<sup>ème</sup> édit, Lavoisier, Tech &Doc, Paris, APRIA, (1991), 319-332.
152. Larpent, J.P., « Microbiologie alimentaire : Technique de laboratoire », Edit Lavoisier, Tech &Doc, Paris, (1997), 1073 p.
153. Lemoine, R., « Détection des antibiotiques: l'interprofession fait évoluer la méthode », *Revue Laitière Française*, (2001), 615, 28-30.
154. Guiraud, J.P., « Microbiologie alimentaire », Edit Dunod, Paris, (2003), 387-413.
155. CNERNA., « Instruction pour la détection des antibiotiques et des sulfamides dans les laits livrés par les producteurs ». *Revue Laitière Française*, (1981), n° 1073, in Petransxieme, D. et Lapied, L., « la qualité bactériologique du lait et des produits laitier, analyses et tests », 2<sup>ème</sup> édition, Lavoisier, Tech &Doc, Paris, (1981), 228 p.
156. Beerens, H. et Luquet, F. M., « Guide pratique d'analyse microbiologique des laits et des produits laitiers », Lavoisier, Tech &Doc, Paris, (1987), 124-137.
157. Reybroeck, W., « Résidus d'antibiotiques dans le lait : Utilisation des kits de dépistage des inhibiteurs », *Le point vétérinaire.*, n° 242, (2003), 52-57.
158. Maire, P., Barbaut, X., Thalabard, JC., Mentre, F. et Jelliffe, RW., « Pharmacocinétique clinique appliquée aux antibiotiques » in Le Minor, L. et Veron, M., « Bactériologie médicale » 2<sup>ème</sup> Edition Flammarion, (1989), 479-518.
159. Robert, F., Bouilloux, JP. et Denoroy, L., « L'électrophorèse capillaire : principe et application », *Ann.Biol.Clin.*, (1991), n° 49, 137-148.
160. Jehl, F. et Leveique, D., « Pharmacocinétique clinique appliquée aux antibiotiques autres que les aminosides » in Le Minor, L. et Veron, M., « Bactériologie médicale », 2<sup>ème</sup> Edition Flammarion, (1989), 465-480.
161. Pochard, M.F., « Détermination des résidus de chloramphénicol par chromatographie liquide haute performance en phase inverse », *journal of chromatography.*, (1987), 21, 806-808.

162. Martinez, E., et Wilbert Shimoda., «liquid chromatographic determination of tetracycline residues in animal feeds », J.Assoc. Off. Anal.Chem., (1988), 71-3.
163. Niessen, W.N.A et Tinke, A.P., «Liquid chromatography- Mass spectrometry: general principles and instrumentation», Journal of chromatography A., (1995), 703, 35-57.
164. Delepine, B., Hustaud-Pessel, D. et Sanders, P., « Les méthodes récentes d'analyse physico-chimique des résidus d'antibiotiques dans le lait », Bull de GTV., n° 15, (2002), 191-196.
165. Rahal, K., adel, D., Ghouri, I., Dechicha, A., Bouricha, Z., Harkat, S. et Guetarni, D., « Antibiotique dans le lait : enquête sur le terrain », 13<sup>ème</sup> congrès Vétérinaire National ; thème : Sécurité Sanitaire Alimentaire, (2001).
166. Bendali, F., Roussel, P., David, V., Gentillhomme, A. et Serment, A., « Les substances inhibitrices en élevages laitiers : Synthèse bibliographique et identification des molécules utilisées », (2007), p 80.
167. Gedilaghine, V., « La rationalisation du traitement des mammites en exploitation laitière : conception et réalisation d'une enquête d'évaluation de la mise en place de l'action GTV partenaire dans le département de la manche », Thèse pour le doctorat vétérinaire, Alfort, (2005), p : 100.
168. Faroult, B., « Définition du plan de traitement des mammites en lactation spécifique du troupeau : le référentiel GTV partenaire », Journées nationales GTV, Tours, (2002), 109-110.
169. Serieys, F., « Traitement ciblé des mammites : enjeux et faisabilité », Point Vét., (2004), 35 (246), 54-59.
170. Larocque-Carignan, G. et Sved, S., « Sulfamethazine (sulfamide) residues in Canadian consumer milk», Journal association of official analytical chemists, (1990),73, (3), 365-367.
171. Enrikez, B., « Résidus de molécules à activité antibiotiques et protection du consommateur, notion de limites maximales de résidus et temps d'attente », journées nationales GTV-INRA., (1999), 65-69.

172. Suhren, G., Hoffmeister, A., Reichmuth, J. et Heeschen, W., « Incidence of inhibitory substances in milk for consumption from various European countries », *Milch wissenschaft.*, (1990), 45, (8), 485 - 490.
173. Dumoulin, E. et Leseur, R., « La qualité du lait : aspects réglementaires », in Espinasse, J., « Mammites des vaches laitières », SNGTV-INRA, (1991), 3-5.
174. Bonhofoh, B., Traoré, H., Simbé, C. F., Alfaroukh, I.O., Nicolat, J., Rehberger, B., Farah, Z. et Zinsstag, J., « hygiène et qualité du lait et des produits laitiers au Mali ». Atelier lait sain pour le Sahel Bamako. (2002).
175. Siousarran, V., « Hygiène de lait cru en zones urbaines et périurbaines de Niamey, Niger », Rapport de stage, Diplôme d'études supérieures spécialisées productions animales en région chaudes, (2002).
176. Shitandi, A., « Risk factors and control strategies for antibiotic residues in milk at farm level in Kenya », Doctoral dissertation, (2004), 50p.
177. Zinedine, A., Faid, M. et Benlemlih, M., « Détection des résidus d'antibiotiques dans le lait et les produits laitiers par méthode microbiologique », *Remise.*, vol1, (2007), 1, 1-9.
178. Lebres, E. et Mouffok, F., « Recherche d'antibiotiques et de résidus d'antibiotiques dans les laits », *Maghreb Vétérinaire.*, (1989), 17, 5-7.
179. VIRBAC., « Bilan au 22 octobre 2002. Nouvel Observatoire Virbac des Inhibiteurs », 2002.
180. Booth, J.M. et Harding, F., « Testing for antibiotic residues in milk », *Vet-Rec.*, (1986), 119: 565-569.
181. COLLECTIF., « Milk and dairy beef ten-point quality assurance program », *Agri.Practice.*, (1992), 13: 18-27.
182. Fabre, J.M., « The present situation of mastitis control in France a transversal study in 1 038 dairy farms », *Mastitis.Control Systems.*, (1995).
183. Kaneene, J.B., « drug residues in dairy cattle industry: epidemiological evaluation of factors influencing their occurrence », *J.Dairy.Sci.*, (1987), 70: 2176-80.
184. Serieys, F., Meffe, N., Berny, F., Lopez, C. et Baraton, Y., « Facteurs de risques de pollution du lait par des résidus inhibiteurs associés au traitement des mammites », *Rencontres Rech. Ruminants.*, (1995), 2, 205-210.

185. Serieys, F., «Traitement ciblé des mammites : enjeux et faisabilité», *Point Vét.*, (2004), 35 (246), 54-59.
186. Hillerton, J.E., Halley, B.I., Neaves, P. et rose, M.D: «Detection of antimicrobial substances in individual cow and quarter milk samples using Delvotest microbial inhibitors test», *J.Dairy Sci.*, (1999), 82,704-711.
187. Mitchell, M., Bodkin, B. et Martin, J., «Detection of bete-lactamantibiotics in bulk tank milk », *J.Food.Protection.*, (1995), 58,577-578.
188. HalberT, L.W., Erskine, R.J., Bartlett, P.C. et Johson, G.L., «Incidence of false positive results for assays used to detect antibiotics in milk», *J.food.Protection.* (1996), 59: 886-888.
189. Mcewen, S.A., Black, W.D., et Meek, A.H., «Antibiotic residue prevention methods, farm management and occurrence of antibiotic residues in milk», *J.Dairy.Sci.*, (1991), 74: 2128-2137.
190. Sischo, W.M., «Field trial of four cowside antibiotic residue screening test», *J.Am.Vet.Med.Assoc.*, (1993)202: 1249-1254.
191. Sischo, W.M., «Quality milk and tests for antibiotics residues», *J.Dairy.Sci.*, (1996) 79, 1065-1073.
192. Karimuribo, E.D., Mdegela, R.H., Kusiluka, L.J.M. et Kambarage, D.M, «Evaluation de l'utilisation des médicaments et détermination des résidus antimicrobiens dans le lait dans les petites exploitations agricoles a Morogoro en Tanzanie», *bulletin of animal health and production in Africa.*, (2005), V 53, n°4 234-241.
193. Carlsson, A., et Bjorck, L., «Lactoferrin and lysozyme in milk during acute mastitis and their inhibitory effect in Delvotest P», *J.Dairy.Sci.*, (1989), 72: 66-75.
194. Moretain, J.P., «Les médicaments vétérinaires et qualité du lait, le problème des résidus antibiotiques», *Technicien du lait.*, (1985), 10-16.
195. Toutain, P.L., «Traitement des mammites – Biodisponibilité des médicaments au niveau de la mamelle», *Bulletin GTV.*, n° 3, (1984), 49-73.
196. Dave, R.I. et Shah, N.P., «Characteristics of bacterocin produced by *Lactobacillus acidophilus* LA-1. Int», *Dairy J.*, (1997), 7, 707-715.
197. Herreros, M.A., Sandoval, H., Gonzales, L., Castro, G.M., Fresno, J.M. et Tornadijo, M.E., «Antimicrobial activity and antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from Armada Cheese (A Spanish goats milk cheese)»,

- Food Microbiol., (2005), 22, 455-459.
198. Granwald, L., Suhren, G., Knappstein, K., Petz, M., « Detection of incurred Cloxacillin residues in raw milk from mastitis cows: Comparaison of methods of screening test », (1999).
  199. Guetarni, D., Niar, A., Fernane Boumediene, H., et Ouzrout, R., «Investigation des mammites par le test CMT et l'analyse bactériologique dans les exploitations de l'ouest Algérien», IV ème Séminaire International de Médecine Vétérinaire , Constantine, (2000).
  200. Kebbal, S., «Méthodes de diagnostic des mammites et facteurs de risques. Enquête dans la région de la Mitidja», Mémoire de Magister, DSV Université de Blida (2002), 144 p
  201. Gherbi S, «Essai de dépistage des mammites au moyen d'un coulter counter : Etude préliminaire dans la région de la Mitidja», Mémoire de Magister, DSV Université de Blida, (2002), 135 p.
  202. Beroual, K. «Caractérisation des germes d'origine bactérienne responsables des mammites bovines dans la région de la Mitidja», Mémoire de Magister. DSV Université de Blida, (2003), 134 p.
  203. Grappin, R. et Jeunet, R., « Premiers essais de l'appareil Fossomatique, pour la détermination automatique de numération de cellules de lait », Le lait., (1974), 54, 627-644.
  204. Grappin, R. et Jeunet, R., « Essais de l'appareil compteur coulter utiliser pour la détermination du nombre totale des laits de troupeaux », Le lait., (1971), 505-508, 273-293.
  205. Mtaallah, B., Ouley, Z. et Tahri, M., «Taux cellulaire de tank et ses facteurs de risques en élevage bovin laitier intensif», Colloque : Lait, Qualité et Santé., (2000), 25-31.
  206. Sargeant, J. M., Schukken, Y.H. and Leslie, K.E., «Ontario bulk milk somatic cell count reduction program: progress and outlook», J.Dairy.Sci., (1998), 81:1545-1554.
  207. Ruegg, P.L. and Tabone, T.L., «The relationship between antibiotic residue isolations and somatic cell counts in Wisconsin dairy herds», J.Dairy.Sci., (2000) 83:2805-2809.

208. Saville, W.J. A., Wittum, T. E. and Smith, K. L., «Association between measures of milk quality and risk of violative antimicrobial residues in grade-A milk», *J.Am.Vet.Med.Assoc.*, (2000), 217:541-545.
209. Van Schaik, G., Lotem, M. and Schukken, Y. H., «Trends in somatic cell counts, bacterial counts, and antibiotic residue violations in New York State during 1999-2000», *J.Dairy.Sci.*, (2002), 85:782-798.
210. Coulon, J.B. et Lescourret, F., «Effet des mammites cliniques sur la production chez la vache laitière», *Rencontres Rech. Ruminants.*, (1997), 4, 265-268.
211. Guerin-Fauble, V., Carret, G. et Houffschmitt, P., «In vitro activity of 10 agents against bacteria isolated from cows with clinical mastitis», *The Veterinary Record.*, (2003), 466-471.
212. Poutrel, B., «Généralités sur les mammites de la vache laitière : processus infectieux, épidémiologie, diagnostic, méthodes de contrôle», *Rec.Méd.Vét.*, (1985), 161 (6-7), 497-511.
213. Seegers, H., Menard, J.L. et Fourichon, C., «Mammites en élevage bovin laitier : importance actuelle, épidémiologie et plans de prévention», *Rencontres Rech Ruminants.*, (1997), 4, 233-242.
214. Wilson, D.J., Sears, P.M. et Hutchinson, L.J., « Dairy producer attitudes and farm practices used to reduce the likelihood of antibiotic residues in milk and dairy Beef: A five state survey», *Large.Anim.Pract.*, (1998), 19, 24-30.
215. Chataigner, B. et Stevens, A., « Investigation sur la présence de résidus d'antibiotiques dans les viandes commercialisées à DAKAR », projet PACEPA, Rapport de l'Institut Pasteur de DAKAR. (2002), 66 p.
216. Rahal, K., « Production laitière en Algérie, Nécessité d'un suivi zootechnique de proximité. Cas du bassin laitier de la Mitidja », *Mag.Vet.*, (2007), 79-83.

**APPENDICE A**  
**LISTES DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS**

ADP :	Adenosine diphosphate
AGL :	Les acides gras libres
AMM :	Autorisation de Mise sur le Marché
ANP :	Les matières azotées non protéiques
ATP :	Adenosine triphosphate
°C :	Degré celsius
CCS :	Comptage des cellules somatiques
CEE :	Communauté européenne
CLHP :	Chromatographie liquide haute performance
CL/SM :	Chromatographie liquide/ Spectromètre de masse
CMI :	Concentration minimale inhibitrice
DAG :	Diacylglycérols
DGAI:	Direction Générale de l'Alimentation.
FIL :	Fédération internationale de laiterie
GTV :	Groupe technique vétérinaire
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peroxyde d'hydrogène
I :	voie injectable
Ig :	Les immunoglobulines
IM :	Intra-musculaire
IMM :	Intra-mammaire
IV :	Intra-veineuse
JORA :	Journal Officiel de la République Algérienne
LMR :	Limites maximales de résidus
LP :	Lactoperoxydase
MAG :	Monoacylglycérols
NCT :	numération cellulaire de tank
NOVI :	Nouvel Observatoire Virbac des Inhibiteurs
O :	voie orale

OIE	Office internationale des épizooties
OMS :	Organisation mondiale de la santé
OSCN :	L'ion hypothiocyanate
ppb :	Particule par billion
ppm :	Particule par million
SIPSA :	Salon International de la Production et de la Santé Animale
SNC :	Thiocyanate
U :	voie intra-utérine
UHT :	Ultra haute température
TA:	Temps d'Attente
TAG :	Triacylglycérols.
TCT :	Taux cellulaire de tank
TB :	Taux butyreux
TCT :	Taux cellulaire de tank
TP :	Taux protéique

## APPENDICE B

### Questionnaire à l'intention des praticiens vétérinaires.

Ce questionnaire s'inscrit dans le cadre de la préparation d'un mémoire de magistère sur la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de vache.

1) Vous exercez dans la wilaya de .....

2) Vous exercez depuis :.....

3) Vous intervenez en élevage laitier?

- |  |  |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> Une fois par semaine. | <input type="checkbox"/> Plusieurs fois par semaine. |
| <input type="checkbox"/> Une fois par mois.    | <input type="checkbox"/> Autres.....                 |

4) Vous utilisez des antibiotiques?

- |   |   |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> Dans tous les cas. | <input type="checkbox"/> Une fois sur deux. |
| <input type="checkbox"/> Rarement.          | <input type="checkbox"/> Autres.....        |

5) Parmi les maladies infectieuses traitées par les antibiotiques, qu'elles sont celles qui vous sont les plus fréquentes?

- |  |  |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> Infection de l'appareil digestif. | <input type="checkbox"/> Infection de l'appareil respiratoire. |
| <input type="checkbox"/> Infection mammaire.               | <input type="checkbox"/> Infection de l'appareil locomoteur.   |
| <input type="checkbox"/> Infection gynécologique.          | <input type="checkbox"/> Autres, précisez.....                 |

6) Combien de jours en moyenne prescrivez-vous des antibiotiques dans le cas :

Infection mammaire :.....j

Autres pathologies :.....j

7) Quels antibiotiques prescrivez-vous en première intention par ordre de fréquence?

- |  |   |  |
|--|---|--|
| <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Penicilline     | <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Amoxicilline | <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Gentamycine         |
| <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Tylosine        | <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Rifaximine   | <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Bacitracine         |
| <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Oxytetracycline | <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Cephacetril  | <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Virginiamycine      |
| <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Streptomycine   | <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Cephalexine  | <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Chloramphenicol     |
| <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Ampicilline     | <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Cloxacilline | <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Flumequine          |
| <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Erytromycine    | <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Neomycine    | <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Trimethoprime sulfa |
| <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Spiramycine     | <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Colistine    | <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Autres, citez ..... |

9) Sur quel argument vous faites le choix des antibiotiques que vous prescrivez?

- |   |   |  |
|---|---|--|
| <input type="checkbox"/> Efficacité.                  | <input type="checkbox"/> Disponibilité. | <input type="checkbox"/> Coût (moins cher).      |
| <input type="checkbox"/> Délais d'attente plus court. |   | <input type="checkbox"/> Plus facile à utiliser. |
| <input type="checkbox"/> Autres, précisez.....        |   |  |

8) Respectez-vous la dose prescrite sur la notice de chaque antibiotique?

- |                              |                              |                       |
|------------------------------|------------------------------|-----------------------|
| <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | Si non, pourquoi..... |
|------------------------------|------------------------------|-----------------------|

10) Avez-vous des ruptures de stock (antibiotiques)?

- |   |   |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> Jamais.              | <input type="checkbox"/> Rarement.          |
| <input type="checkbox"/> Une fois par semaine | <input type="checkbox"/> Une fois par mois. |

11) Est-ce que les éleveurs traitent par eux même (injectable, intramammaire)?

- |                         | Injectable               | locale (IMM)             |
|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
| • Jamais.               | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Rarement.             | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Souvent.              | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Toujours.             | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Autres, précisez..... |                          |                          |

12) Vos éleveurs sont au courant du délai d'attente?

- La majorité.
- Quelques uns.
- Aucun.
- Autres.....

13) Est-ce que l'éleveur suit vos recommandations par rapport au délai d'attente, c'est-à-dire ne commercialise pas le lait ?

- Oui
- Non
- Si non, pourquoi ..... ?

## APPENDICE C

### Traitement des données du questionnaire

Question n° 1 : **Vous exercez dans la wilaya de ?**

Les réponses obtenues sont présentées dans le tableau 1.1.

Tableau 1.1 : Les différentes wilayas à partir desquels nous avons obtenu des réponses.

Régions	Ouest	Centre	Est	Sud
Wilayas	Chelef Tlemcen Tiaret Sidi Bel Abbes Mosteganem Mascara Oran Ain Timouchent Relizen	Blida Bouira Tizi ousou Alger Médéa M'sila Bour Buarreridj Boumerdes Tipaza Ain defla	Oum El Bouagui Batna Bejaia Sétif Skikda Mila Tébessa El taref Jijel	Laghouat Djelfa Ouargla Naama Ghardaia Biskra

Question n° 2 : **Vous exercez depuis ?**

Les réponses relatives à l'expérience professionnelle des vétérinaires sont rapportées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1.2 : Nombre de vétérinaires dont les dates de début d'exercice correspondent aux années décrites.

Années	Nombre de vétérinaires	Années	Nombre de vétérinaires
1980	01	1994	14
1981	02	1995	12
1982	01	1996	22
1983	02	1997	11
1984	02	1998	22
1985	02	1999	15
1986	02	2000	11
1987	02	2001	16
1988	05	2002	20
1989	04	2003	13
1990	01	2004	24
1991	06	2005	12
1992	14	2006	13
1993	15		

Question n° 3 : **Vous intervenez en élevage bovin laitier :**

Le tableau 1.3 indique la fréquence de l'intervention des vétérinaires en élevage bovin laitier.

Tableau 1. 3 : La répartition des réponses selon la fréquence de l'intervention des vétérinaires en élevage bovin laitier.

Fréquence de l'intervention	Nombre de réponses	Pourcentage
Une fois par semaine	55	20,83
Plusieurs fois par semaine	151	<b>57,20</b>
Une fois par mois	40	15,15
Autres éventualités	17	<b>06,44</b>
Sans avis	01	00,38

Question n° 4 : **Vous utilisez des antibiotiques :**

Les résultats relatifs à la fréquence de l'utilisation des antibiotiques dans l'élevage bovin laitier sont rapportés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1.4 : La répartition des réponses selon la fréquence de l'utilisation des antibiotiques par les vétérinaires en élevage bovin laitier.

<b>Fréquence de l'utilisation des antibiotiques</b>	<b>Nombre de réponses</b>	<b>Pourcentage</b>
Dans tous les cas	57	21,59
Une fois sur deux	74	<b>28,03</b>
Rarement	16	<b>06,06</b>
Autres éventualités	110	41,67
Sans avis	07	02,65

Question n° 5 : **Parmi les pathologies infectieuses traitées par les antibiotiques, quelles sont celles qui vous sont les plus fréquentes?**

Les résultats relatifs à la fréquence des pathologies infectieuses traitées avec les antibiotiques sont rapportés dans le tableau suivant.

Tableau 1.5 : La fréquence des maladies infectieuses traitées par les antibiotiques.

Les maladies infectieuses	Nombre de réponses			scores	pourcentage
	1 <sup>ère</sup> intention	2 <sup>ème</sup> intention	3 <sup>ème</sup> intention		
Infection de l'appareil respiratoire	148	66	41	<b>617</b>	<b>26,50</b>
Infection mammaire	120	83	55	<b>581</b>	<b>24,95</b>
Infection gynécologique	74	74	82	452	19,41
Infection de l'appareil locomoteur	34	62	106	332	14,25
Infection de l'appareil digestif	50	48	80	326	13,99
Autres éventualités	00	00	21	21	0,90

Question n° 6 : **Combien de jours en moyenne prescrivez-vous des antibiotiques?**

Les résultats relatifs à la durée moyenne de l'antibiothérapie des mammites sont rapportés dans le tableau 1.6.

Tableau 1.6 : Durée moyenne de l'antibiothérapie des mammites.

<b>Durée moyenne de l'antibiothérapie des mammites</b>	<b>Nombre de réponses</b>	<b>Pourcentage</b>
1 jour	06	02,27
2 jours	67	25,38
3 jours	104	<b>39,40</b>
4 jours	30	11,36
5 jours	26	09,84
Plus de 5 jours	24	<b>09,19</b>
Pas de réponse	07	02,65

Les résultats relatifs à la durée moyenne de l'antibiothérapie des autres pathologies sont rapportés dans le tableau 1.7.

Tableau 1.7: Durée moyenne de l'antibiothérapie des autres pathologies.

<b>Durée moyenne de l'antibiothérapie des autres pathologies</b>	<b>Nombre de réponses</b>	<b>Pourcentage</b>
1 jour	26	09,85
2 jours	20	07,58
3 jours	66	<b>25</b>
4 jours	43	16,29
5 jours	45	17,04
Plus de 5 jours	33	<b>12,50</b>
Pas de réponse	31	11,74

Question n° 7 : **Quel antibiotique prescrivez-vous en première intention par ordre de fréquence?**

Les résultats relatifs à la prescription des antibiotiques par ordre de fréquence sont présentés dans le tableau 1.8.

Tableau 1.8 : La fréquence de prescription des antibiotiques par les vétérinaires.

fréquence de la prescription	Nombre de réponses			Scores	%
	1 <sup>ère</sup> intention	2 <sup>ème</sup> intention	3 <sup>ème</sup> intention		
Oxytétracycline	173	28	45	<b>620</b>	<b>16,53</b>
Pénicilline	117	75	47	<b>548</b>	<b>14,61</b>
Streptomycine	75	68	50	411	11
Amoxicilline	84	51	47	401	10,70
Ampicilline	30	44	69	247	06,58
Erytromycine	22	53	73	245	06,53
Triméthoprime-sulfa	25	41	57	214	05,70
Colistine	19	44	67	212	05,65
Tylosine	41	43	68	154	04,05
Néomycine	21	34	48	139	03,70
Rifaximine	19	09	09	85	02,27
Cephalexine	13	15	15	84	02,24
Spiramycine	05	12	30	69	01,84
Cloxacilline	05	12	24	63	01,68
Flumequine	05	09	27	60	01,60
Gentamycine	03	10	29	58	01,55
Bacitracine	06	05	25	53	01,41
Chloranphenicol	03	04	23	40	01,07
Cephacetril	01	07	11	28	0,75
Virginiamycine	00	00	10	10	0,27
Marbofloxacin	01	00	02	05	0,13
Enrofloxacin	01	00	00	03	0,08
Floranphenicol	00	00	01	01	0,03
Oléandomycine	00	00	01	01	0,03

Question n° 11 : **Est-ce que vos éleveurs traitent par eux même ?**

Les réponses relatives à l'utilisation des antibiotiques par les éleveurs sont présentées dans le tableau 1.9.

Tableau 1.9 : L'avis des vétérinaires concernant le traitement par les éleveurs.

Nature des réponses	Injectable		Locale (IMM)	
	Nombre des réponses	Pourcentage	Nombre des réponses	Pourcentage
Jamais	88	<b>33,33</b>	39	14,77
Rarement	88	<b>33,33</b>	77	29,17
Souvent	62	23,48	118	<b>44,69</b>
Toujours	16	<b>06,06</b>	25	09,47
Autres	00	00	00	00
Sans avis	10	03,80	05	01,90

## APPENDICE D

### Matériel et réactifs utilisés dans le volet II et III

#### Volet II : Recherche des inhibiteurs dans le lait cru

##### II.1 Matériel de collecte :

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

##### II.2 Matériel de laboratoire :

- Tubes à essais stériles de 20ml.
- Micropipette réglable à 100µl avec Embouts à usage unique (embouts jaunes).
- Portoirs métalliques.
- cutter.
- Pincettes.
- Etuve à circulation réglée à  $64,0\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$ .
- Bain-marie réglable à  $80\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ .
- Réfrigérateur.
- Congélateur.
- Minuterie ou chronomètre.
- Lait exempt de substances inhibitrices.
- Lait entier, exempt de substances antibactériennes.
- Solution standard de pénicilline à 4 µg/l ou 4 ppb, réalisé avec le lait exempt de substances inhibitrices.

Volet III: Relation entre la concentration des cellules somatiques et la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait.

III.1 Dénombrement des cellules somatiques du lait :

III.1.1 Matériel de laboratoire :

- Appareils coulter counter model z2.
- Verrerie de laboratoire (Tubes à essais, bêcher, Pipette graduée de 10 ml).
- Filtre 0,45  $\mu\text{m}$  et 0,22  $\mu\text{m}$ .
- Bain marie thermostaté.
- Agitateur.
- Barreau magnétique.
- Balance à précision.
- Micropipette automatique réglée à un volume de 100  $\mu\text{l}$ .
- Embouts jaunes à usage unique.
- Centrifugeuse.
- Minuterie ou chronomètre.
- Portoir métallique.

III.1.2. Réactifs et solutions :

- Eau distillée stérile.
- NaCl.
- Triton x 100.
- Ethanol 96%.
- Formol 35%.
- Tris.

### III.1.3. Préparation des solutions :

#### a) Solution de fixation du lait :

- Prélever 9 ml d'eau distillée a l'aide d'une pipette graduée et les mettre dans un flacon de 60 ml.
- Ajouter 1ml de formol à 35% à l'aide d'une micropipette.
- Conserver à l'abri de l'air afin d'éviter l'évaporation du formol.

#### b) Solution de clarification :

- Mettre dans un bêcher 7,3 g de NaCl pur et 1,25 g de Tris, pesés à l'aide d'une balance à précision.
- Ajouter 20 ml de Triton x100, 12 ml de formol à 35% et 125 ml d'éthanol à 96%.
- Compléter avec 800 ml d'eau distillée stérile.
- Agiter avec un barreau magnétique jusqu'à disparition des particules solides.
- Ajuster le volume à 1000 ml avec de l'eau distillée stérile.
- Effectuer deux filtrations successives de la solution électrolyte préparée à l'aide des filtres stériles de 0,45 $\mu$ M et 0,22 $\mu$ m de façon à renfermer moins de 100 particules/ml.
- Conserver la solution électrolyte dans des flacons en verre de 500 ml à l'abri de l'air.

## APPENDICE E

### Sensibilité du Delvotest SP aux antibiotiques [55, 80]

Famille	Molécules actives	Seuil de détection (ng/ml ou ppb)
Bêtalactamines	Pénicilline	2-2,5
	Amoxicilline	4
	Ampicilline	5
	Cloxacilline	15-25
	Dicloxacilline	10-15
	Oxacilline	10
	Nafcilline	5-8
	Cephalexine	40-100
	Cloxacilline	15-25
	Cephacetril	20-40
	Céfalonium	5-25
	Ceftiofur	4-8
	Céphapirine	0,005-0,008
	Céfalonium	0,01-0,02
	Céfopérazone	0,06-0,1
Tétracyclines	oxytétracycline	100-600
	Tétracycline	100-600
	Chlortétracycline	100-600
Aminosides	Streptomycine	1500-3000
	Néomycine	100-2000
	Gentamycine	200-400
	Kanamycine	7500
Macrolides	Erytromycine	100-150
	Tylosine	10-100
	Spiramycine	200
	Oléandomycine	Non détectée
Polypeptides	Colistine	Non détectée
	Bacitracine	Non détectée
Lincosamides	Lincomycine	200
	Rifaximine	Non détectée
Sulfamides	Triméthoprime- sulfa	50-500
	Sulfaméthazine	50-100
	Sufadiméthoxine	50-100
	Sulfathiazole	50-100
	Sulfadiazine	50-100
Quinolones	Flumequine	Non détectée
	Marbofloxacin	Non détectée
	Enrofloxacin	Non détectée
Phénicols	Chloranphenicol	7500
	Floranphenicol	7500
Synergistines	Virginiamycine	Non détectée

## APPENDICE F

### Partie II : Résultats de la recherche des inhibiteurs dans les laits cru d'élevages

#### II.1 Elevages de la wilaya de Blida :

##### II.1.1 Résultats préliminaires du test :

Tableau 2. 1: Résultats préliminaires du test pour les laits des élevages de la wilaya de Blida.

Localités	Nombre d'échantillon	Positifs (+)	%	Douteux (+/-)	%	Négatifs (-)	%
Beni-Tamou	13	05	38,46	04	30,77	04	30,77
Ain-Remana	07	05	71,42	01	14,28	01	14,28
Larebaa	04	02	50	02	50	00	00
Boufarik	<b>28</b>	03	10,71	14	50	11	39,29
Guerouaou	09	01	11,11	03	33,33	05	55,55
Chebli	08	01	12,50	05	62,50	02	25
Beni-Mered	07	00	00	06	85,71	01	14,29
Chiffa	10	01	10	07	70	02	20
Ben khelil	10	02	20	06	60	02	20
Ouled El Alleug	04	01	25	03	75	00	00
Bouinane	05	00	00	05	100	00	00
El Affroun	<b>01</b>	00	00	01	100	00	00
Mouzaia	04	00	00	03	75	01	25
Ouled Yaich	03	00	00	02	66,67	01	33,33
Soumaa	02	00	00	01	50	01	50
Chróa	04	01	25	02	50	01	25
Blida	02	00	00	02	100	00	00
<b>Total</b>	<b>121</b>	<b>22</b>	<b>18,18%</b>	<b>67</b>	<b>55,37</b>	<b>32</b>	<b>26,45</b>

Le plus grand nombre de prélèvements, soit vingt huit, proviennent de la localité de Boufarik contre seulement un seul dans la localité d'El Affroun.

## II.1. 2. Résultats de confirmation du test :

### 1) Résultats des laits obtenus préalablement positifs.

Tableau 2. 2: Résultats des échantillons de laits obtenus préalablement positifs.

Localités	Nombre d'échantillon	Résultats préliminaires	Résultats après confirmation					
		Positifs (+)	Positifs (+)	%	Douteux x (+/-)	%	Négatifs (-)	%
Beni-Tamou	13	05	00	00	02	40	03	60
Ain-Remana	07	05	00	00	04	80	01	20
Larebaa	04	02	01	50	00	00	01	50
Boufarik	28	03	02	66,67	01	33,33	00	00
Guerouaou	09	01	01	100	00	00	00	00
Chebli	08	01	00	00	00	00	01	100
Beni-Mered	07	00	00	00	00	00	00	00
Chiffa	10	01	00	00	01	100	00	00
Ben_khelil	10	02	02	100	00	00	00	00
O. El Alleug	04	01	00	00	01	100	00	00
Bouinane	05	00	00	00	00	00	00	00
El Affroun	01	00	00	00	00	00	00	00
Mouzaia	04	00	00	00	00	00	00	00
Ouled Yaich	03	00	00	00	00	00	00	00
Soumaa	02	00	00	00	00	00	00	00
Chrèa	04	01	01	100	00	00	00	00
Blida	02	00	00	00	00	00	00	00
<b>Total</b>	<b>121</b>	<b>22</b>	<b>07</b>	<b>31,82</b>	<b>09</b>	<b>40,91</b>	<b>06</b>	<b>27,27</b>

## 2) Résultats des laits obtenus préalablement douteux.

Tableau 2. 3 : Résultats des échantillons de laits obtenus préalablement douteux.

Localités	Nombre d'échantillon	Résultats préliminaires	Résultats de confirmation			
		Douteux (+/-)	Douteux (+/-)	%	Négatifs (-)	%
Beni-Tamou	13	04	04	100	0	00
Ain-Remana	07	01	01	100	00	00
Larebaa	04	02	00	00	02	100
Boufarik	28	14	05	35,71	09	64,29
Guerouaou	09	03	00	00	03	100
Chebli	08	05	01	20	04	80
Beni-Mered	07	06	01	16,67	05	83,33
Chiffa	10	07	02	28,57	05	71,43
Ben_khelil	10	06	02	33,33	04	66,67
Ouled El Alleug	04	03	00	00	03	100
Bouinane	05	05	02	40	03	60
El Affroun	01	01	00	00	01	100
Mouzaia	04	03	00	00	03	100
Ouled Yaich	03	02	00	00	02	100
Soumaa	02	01	01	100	00	00
Chréa	04	02	01	50	01	50
Blida	02	02	00	00	02	100
<b>Total</b>	<b>121</b>	<b>67</b>	<b>20</b>	<b>29,85</b>	<b>47</b>	<b>70,15</b>

### II.1.3. Résultats finaux :

Tableau 2. 4 : Résultats finaux de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait des élevages de la wilaya de Blida.

Localités	Nombre d'échantillon	Positifs (+)	%	Douteux (+/-)	%	Négatifs (-)	%
Beni-Tamou	13	00	00	06	46,15	07	53,85
Ain-Remana	07	00	00	05	71,43	02	28,57
Larebaa	04	01	25	00	00	03	75
Boufarik	28	02	07,14	06	21,43	20	71,43
Guerouaoue	09	01	11,11	00	00	08	88,89
Chebli	08	00	00	01	12,50	07	87,50
Beni-Mered	07	00	00	01	14,29	06	85,71
Chiffa	10	00	00	03	30	07	70
Ben-khelil	10	02	20	02	20	06	60
Ouled El	04	00	00	01	25	03	75
Bouinane	05	00	00	02	40	03	60
El Affroun	01	00	00	00	00	01	100
Mouzaia	04	00	00	00	00	04	100
Ouled Yaich	03	00	00	00	00	03	100
Soumaa	02	00	00	01	50	01	50
Chr�a	04	01	25	01	25	02	50
Blida	02	00	00	00	00	02	100
<b>Total</b>	<b>121</b>	<b>07</b>	<b>05,78</b>	<b>29</b>	<b>23,97</b>	<b>85</b>	<b>70,25</b>

## II.2. Elevages de la wilaya d'Alger :

### II.2.1. Résultats préliminaires du test :

Tableau 2. 5 : Résultats préliminaires du test pour les laits des élevages de la wilaya d'Alger.

Localités	Nombre d'échantillon	Résultats préliminaires					
		Positifs (+)	%	Douteux (+/-)	%	Négatifs (-)	%
Oued Chbel	20	05	25	09	45	06	30
Birtouta	<b>34</b>	02	05,88	16	47,06	16	47,06
Douira	11	04	36,36	04	36,36	03	27,28
Eucaluptus	02	00	00	02	100	00	00
Zeralda	<b>01</b>	00	00	01	100	00	00
<b>Total</b>	<b>68</b>	<b>11</b>	<b>16,18</b>	<b>32</b>	<b>47,06</b>	<b>25</b>	<b>36,76</b>

Le plus grand nombre de prélèvements, soit trente quatre, proviennent de la localité de Birtouta contre seulement un seul dans la localité de Zeralda.

### II.2.2. Résultats de confirmation du test :

#### 1) Résultats des laits obtenus préalablement positifs.

Tableau 2. 6: Résultats des échantillons de laits obtenus préalablement positifs.

Localités	Nombre d'échantillon	Résultats préliminaires	Résultats après confirmation					
		Résultats positifs (+)	Positifs (+)	%	Douteux (+/-)	%	Négatifs (-)	%
Oued Chbel	20	05	00	00	02	40	03	60
Birtouta	34	02	01	50	01	50	00	00
Douira	11	04	01	25	01	25	02	50
Eucaluptus	02	00	00	00	00	00	00	00
Zeralda	01	00	00	00	00	00	00	00
<b>Total</b>	<b>68</b>	<b>11</b>	<b>02</b>	<b>18,18</b>	<b>04</b>	<b>36,36</b>	<b>05</b>	<b>45,45</b>

## 2) Résultats des laits obtenus préalablement douteux.

Tableau 2.7 : Résultats des échantillons de laits obtenus préalablement douteux.

Localités	Nombre d'échantillon	Résultats préliminaires	Résultats de confirmation			
		Résultats douteux (+/-)	Douteux (+/-)	%	Négatifs (-)	%
Oued Chbel	20	09	03	33,33	06	66,67
Birtouta	34	16	03	18,75	13	81,25
Douira	11	04	00	00	04	100
Eucaluptus	02	02	00	00	02	100
Zeralda	01	01	01	100	00	00
<b>Total</b>	<b>68</b>	<b>32</b>	<b>07</b>	<b>21,87</b>	<b>25</b>	<b>78,13</b>

### II.2. 3. Résultats finaux :

Tableau 2. 8 : Résultats finaux de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait des élevages de la wilaya d'Alger.

Localités	Nombre d'échantillon	Résultats positifs (+)	%	Résultats douteux (+/-)	%	Résultats négatifs (-)	%
Oued Chbel	20	00	00	05	25	15	75
Birtouta	34	01	02,94	04	11,76	29	85,30
Douira	11	01	09,09	01	09,09	09	81,82
Eucaluptus	02	00	00	00	00	02	100
Zeralda	01	00	00	01	100	00	00
<b>Total</b>	<b>68</b>	<b>02</b>	<b>02,94</b>	<b>11</b>	<b>16,18</b>	<b>55</b>	<b>80,88</b>

### II.3. Elevages de la wilaya de Tipaza :

#### II.3.1. Résultats préliminaires du test :

Tableau 2. 9 : Résultats préliminaires du test pour les laits des élevages de la wilaya de Tipaza.

Localités	Nombre d'échantillon	Résultats préliminaires					
		Positifs (+)	%	Douteux (+/-)	%	Négatifs (-)	%
Menaceur	<b>10</b>	02	20	05	50	03	30
Htatba	04	02	50	02	50	00	00
Bouharoun	03	00	00	02	66,67	01	33,33
Sidi Rached	06	01	16,67	04	66,66	01	16,67
Hamr El Ain	01	00	00	01	100	00	00
Bousmail	01	01	100	00	00	00	00
Koléa	01	00	00	01	100	00	00
Meurad	01	00	00	00	00	01	100
<b>Total</b>	<b>27</b>	<b>06</b>	<b>22,22</b>	<b>15</b>	<b>55,56</b>	<b>06</b>	<b>22,22</b>

Le plus grand nombre de prélèvements, soit dix, proviennent de la localité de Menaceur contre seulement un seul dans la localité d' Hamr El Ain, Bousmail, Koléa et Meurad.

### II.3.2. Résultats de confirmation du test :

#### 1) Résultats des laits obtenus préalablement positifs.

Tableau 2.10 : Résultats des échantillons de laits obtenus préalablement positifs.

Localités	Nombre d'échantillon	Résultats préliminaires	Résultats après confirmation						
		Résultats positifs (+)	Positifs (+)	%	Douteux (+/-)	%	Négatifs (-)	%	
Menaceur	10	02	00	00	00	01	50	01	50
Htatba	04	02	01	50	01	50	00	00	00
Bouharoun	03	00	00	00	00	00	00	00	00
Sidi Rached	06	01	01	100	00	00	00	00	00
Hamr El Ain	01	00	00	00	00	00	00	00	00
Bousmail	01	01	00	00	01	100	00	00	00
Koléa	01	00	00	00	00	00	00	00	00
Meurad	01	00	00	00	00	00	00	00	00
<b>Total</b>	<b>27</b>	<b>06</b>	<b>02</b>	<b>33,33</b>	<b>03</b>	<b>50</b>	<b>01</b>	<b>16,67</b>	

#### 2) Résultats des laits obtenus préalablement douteux.

Tableau 2. 11 : Résultats des échantillons de laits obtenus préalablement douteux.

Localités	Nombre d'échantillon	Résultats préliminaires	Résultats de confirmation			
		Résultats douteux (+/-)	Douteux (+/-)	%	Négatifs (-)	%
Menaceur	10	05	01	20	04	80
Htatba	04	02	01	50	01	50
Bouharoun	03	02	00	00	02	100
Sidi Rached	06	04	01	25	03	75
Hamr El Ain	01	01	00	00	01	100
Bousmail	01	00	00	00	00	00
Koléa	01	01	00	00	01	100
Meurad	01	00	00	00	00	00
<b>Total</b>	<b>27</b>	<b>15</b>	<b>03</b>	<b>20</b>	<b>12</b>	<b>80</b>

### II.3.3. Résultats finaux :

Tableau 2. 12 : Résultats finaux de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait des élevages de la wilaya de Tipaza.

Localités	Nombre d'échantillon	Résultats positifs (+)	%	Résultats douteux (+/-)	%	Résultats négatifs (-)	%
Menaceur	10	00	00	02	20	08	80
Htatba	04	01	25	02	50	01	25
Bouharoun	03	00	00	00	00	03	100
Sidi Rached	06	01	16,67	01	16,67	04	66,66
Hamr El Ain	01	00	00	00	00	01	100
Bousmail	01	00	00	01	100	00	00
Koléa	01	00	00	00	00	01	100
Meurad	01	00	00	00	00	01	100
<b>Total</b>	<b>27</b>	<b>02</b>	<b>07,41</b>	<b>06</b>	<b>22,22</b>	<b>19</b>	<b>70,37</b>