

République algérienne démocratique et populaire
Ministère de la formation et de l'enseignement professionnels
Université BLIDA-1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et de Physiologie Cellulaire

Mémoire de fin d'étude
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER 2
Option : Qualités en production animale

Thème :

***Recherche des résidus d'antibiotiques
dans le lait cru de vache et de chèvre***

Réalisé par :
MORSLI Wissem
BELDJOUDI Soumia

Devant le jury :

| | | | |
|----------------------------|------------|--------------------|--------------|
| Mme SAHRAOUI A. | Professeur | Université Blida 1 | Présidente |
| Mme ZEROUTI K. | M.A.A | Université Blida 1 | Examinatrice |
| Mme BAAZIZE AMMI D. | M.C.B | Université Blida 1 | Promotrice |

Promotion 2016-2017

Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier Dieu, le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience.

Nous exprimons notre profonde gratitude à notre promotrice Madame **D. AMMI-BAAZIZE** maître de conférence au Département des Sciences Vétérinaires ; Université de Blida-1, pour l'honneur qu'elle nous a fait en dirigeant ce travail, pour son aide, ses conseils tout au long de l'élaboration de ce modeste travail.

Nous remercions Madame **N. SAHRAOUI** professeur à l'Université de Blida-1, d'avoir accepté de présider le jury.

A Madame **K. ZEROUTI** maître assistante à l'université de Blida-1, qui nous a fait l'honneur de bien vouloir accepter de juger ce travail.

A madame **D. TARZAALI** maître assistante à l'université de Blida-1, pour son aide et ses conseils précieux.

Nous adressons nos sincères remerciements à Monsieur **D. MORSLI** inspecteur vétérinaire de la wilaya de Blida pour son aide précieuse pour la réalisation de ce projet.

Nous tenons également à remercier notre chef d'option, Monsieur **D. GUETARNI**.

A l'ensemble de l'équipe de la laiterie de Blida, pour nous avoir accueilli au sein de leur organisme et nous avoir permis de réaliser notre étude.

A Monsieur **R. SAADAOUI** pour son aide.

A tous les éleveurs et collecteurs, pour leur participation.

Enfin nous adressons nos sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail...

A l'âme de mon père, Mohamed

Qui m'a donné l'éducation et les armes pour affronter sereinement la vie, avec qui j'ai partagé tant de joies, qui m'a soutenu(e) dans tant d'épreuves. Dieu le bénisse

A ma mère Fatma zohra,

Pour m'avoir toujours soutenu et cru en moi. Aucun mot ne saurait exprimer la profondeur de l'amour que j'éprouve pour toi. Je te remercie pour tout ce que tu as fait et que tu fais encore pour moi. Que Dieu te protège.

A mon très cher époux Khaled,

Pour toute ta patience, ta compréhension, ta présence, ton soutien, ton amour... Sans toi, je n'aurais jamais eu la force de finir ce travail. Je te le dédie en témoignage de ma profonde reconnaissance et mon grand amour. Je ne te remercierai jamais assez pour tout ce que tu fais pour moi et nos enfants, merci chéri.

Que Dieu veille sur toi, exhausse tes prières, et te garde pour nous.

A mes très adorables enfants Mohamed Abderrahime, Kaouther et Marwa

J'espère que vous serez toujours fières de votre maman.

Puisse Dieu vous offrir santé, succès et tout le bonheur du monde.

A ma sœur, Asma, et mon frère Abderrahmane que dieu vous protège et vous garde pour moi.

A tous les membres de ma famille et belle famille sans aucune exception.

A mon binôme Wissem et sa famille.

A tous mes professeurs qui m'ont enrichie de leur savoir.

A tous ceux qui m'aiment...

SOUMIA

Dédicaces

Afin d'être reconnaissante envers ceux qui m'ont appuyé et encouragé à effectuer ce travail, je dédie cette thèse :

A mes très chers parents, Djamel et Nadia, qui ont toujours été là pour moi, « Vous avez tout sacrifié pour vos enfants n'épargnant ni santé ni efforts. Vous m'avez donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. Je suis redevable d'une éducation dont je suis fière ».

Je vous dédie ce mémoire pour vous dire que je vous aime énormément. Que Dieu vous protège et vous garde pour nous.

A mes chères sœurs, Asma, Yousra et Sameh que dieu vous protège et vous garde pour moi.

A mon mari, Ibrahim el khalil, pour son soutien moral, et pour tous les sentiments d'affection et d'amour qui représentent pour moi le pilier de tous mes efforts.

A mes copines, Imene et Lilya ainsi leurs famille que dieu nous gardons ensemble à vie.

A mon binôme Soumia et sa petite famille que dieu vous protège.

A tous les membres de ma famille et de mes amies sans aucune exception.

A tous mes professeurs qui m'ont enrichie de leur savoir.

A tous ceux qui m'aiment.....

WISSEM

RESUME

Les traitements vétérinaires, essentiellement des antibiotiques, utilisés à des fins thérapeutiques ou prophylactiques en élevage laitier peuvent être à l'origine de la présence de résidus d'antibiotique dans le lait.

Or, ces résidus constituent une préoccupation majeure tant pour les consommateurs sur le plan sanitaire que pour les industriels sur le plan technologique.

Pour l'industrie laitière dont l'objectif est de disposer d'une matière première apte à subir une transformation, il est nécessaire de dépister les résidus d'antibiotique dans le lait à chaque collecte.

La présente étude s'articule sur deux volets, une enquête sur terrain réalisée auprès des vétérinaires praticiens afin de décrire les principales molécules d'antibiotiques utilisées en élevage bovin laitier, et une recherche des résidus d'antibiotiques par le Delvo test et le Beta Star Combo dans le lait cru de vache et de chèvre comme étant le lait des espèces les plus exploitées dans la production laitière.

L'analyse des 50 questionnaires adressés aux vétérinaires praticiens a montré que l'infection mammaire est l'une des pathologies les plus fréquemment rencontrées sur le terrain, et que les bêta-lactamines (pénicilline et amoxicilline) et les Tétracyclines (tétracycline et oxytétracycline) sont les familles les plus utilisées à cause de leur efficacité et de leur disponibilité, et que la plupart des éleveurs respectent le délai d'attente.

Les résultats de la recherche des inhibiteurs au moyen du Delvo test ont montré que : sur les 117 échantillons de lait de vache analysés, 14 sont contaminés soit un taux de 12%. Et que, sur les 33 échantillons de lait de chèvre testés, 05 sont révélés positifs avec un taux de 15%.

Les échantillons des laits contaminés détectés par le Delvo test, ont fait l'objet de la recherche des résidus de bêta-lactamines et de tétracyclines au moyen de Beta Star Combo. Les résultats ont montré que : sur une totalité de 117 échantillons; 02,56% sont positifs pour les bêta-lactamines et 01,70% pour les tétracyclines. Alors que, sur une totalité de 33 échantillons contaminés de lait de chèvre; 06,06% sont positifs pour les bêta-lactamines et 03,03% pour les tétracyclines.

Par conséquent, il est temps de mettre en application de la réglementation pour améliorer la qualité du lait.

Mots clés : lait cru, résidus d'antibiotiques, inhibiteurs, Delvo test, Beta Star Combo.

SUMMARY

Veterinary treatments, mainly antibiotics, used for therapeutic or prophylactic purposes in dairy farming may be responsible for the presence of antibiotic residues in milk.

However, these residues are a major concern both health consumers and manufacturers of technology.

For the dairy industry, which aims to have a raw material suitable for processing, it is necessary to detect the antibiotic residues in the milk at each collection. The present study focuses on two components, a field survey of practicing veterinarians to describe the main antibiotic molecules used in dairy cattle breeding, and a search for antibiotic residues by Delvotest and Beta Star Combo in raw cow and goat milk as the milk of the most exploited species in milk production. Analysis of the questionnaires completed by 50 veterinary practitioners showed that breast infection is one of the most common pathologies encountered in the field, and that beta-lactams (penicillin and amoxicillin) and tetracyclines (tetracycline and oxytetracycline) are the most used families because of their efficacy and availability, as well as most breeders respect the waiting period.

The results of the inhibitor research using the Delvo test showed that: Of the 117 raw milk samples analyzed, 14 are contaminated at a rate of 12%. And of the 33 samples of goat milk tested, 05 were positive at 15%.

Samples of contaminated milks detected by the Delvo test, were searched for beta-lactam and tetracycline residues using Beta Star Combo. The results showed that: on an entirety of 117 samples of cow's milk; 02,56% are positive for beta-lactams and 01,70% for tetracyclines. Whereas, out of a total of 33 samples of goat milk; 06,06% are positive for beta-lactams and 03,03% for tetracyclines.

Therefore, it is time to implement regulations to improve milk quality.

Key words: raw milk, antibiotic residues, inhibitors, Delvo test, Beta Star Combo.

ملخص

العلاج البيطري، لا سيما المضادات الحيوية ، التي تستخدم لأغراض علاجية أو وقائية عند الماشية الحلوب يمكن أن تكون مسؤولة عن وجود بقايا هذه المضادات الحيوية في الحليب.

ألا أن هذه البقايا تشكل مصدر قلق كبير يشغل كلا من المستهلك وذلك على المستوى الصحي و كذلك المصنّع على المستوى التقني.

فيما يخص صناعة الحليب و التي هدفها الحصول على مادة أولية قابلة للتحويل، فمن الضروري الكشف عن بقايا المضادات الحيوية في الحليب عند جمعه.

الدراسة الحالية استندت على مرحلتين ، إجراء تحقيق عند البيطرة الممارسين حول المضادات الحيوية الأكثر إستعمالاً عند البقر الحلوب ، وبحث عن رواسب المضادات الحيوية باستعمال اختبار الدلفوتاست س ب و البييتاستاركومبو في حليب البقر و الماعز الطازج باعتباره حليب الأنواع الحيوانية الأكثر استغلالاً في إنتاج الحليب.

أظهر تحليل الإستيبيانات المملوءة من طرف 50 بياطرة ممارسين أنّ التهاب الضرع هو واحد من أكثر الأمراض انتشاراً في الميدان، وأنّ المضادات الحيوية بيتا لآكتام (البنسلين والأموكسيسيلين) والتتراسيكلين (التتراسيكلين والأوكسيتيتراسيكلين) هي العائلات الأكثر استخداماً بسبب فعاليتها وتوفرها، كما أنّ معظم المربيين يحترمون زمن الإنتظار.

بيّنت نتائج الكشف عن المثبطات باستعمال الدلفوتاست س ب أنّ: من بين 117 عيّنة من حليب الصهريج الطازج التي تمّ تحليلها، 14 كانت ملوثة بمعدل 12%. ومن بين 33 عيّنة من حليب الماعز الطازج التي تمّ اختبارها، وجد أنّ 05 كانت إيجابية بنسبة 15% .

عينات الحليب الملوثة المكشوف عنها بواسطة إختبار الدلفوتاست س ب كانت محل بحث لبقايا البييتالكتامين و التيتراسيكلين بواسطة اختبار البييتاستار كومبو. وأظهرت النتائج مايلي : من مجموع 117 عيّنة من حليب البقر؛ 02،56% كانت إيجابية للبييتالكتامين و 01،70% للتتراسيكلين. أمّا، من بين مجموع 33 عيّنة من حليب الماعز؛ 06،06% كانت إيجابية للبييتالكتامين و 03،03% للتتراسيكلين. وبالتالي، حان الوقت لتنفيذ اللوائح القانونية لتحسين نوعية الحليب.

الكلمات المفتاحية : حليب طازج ، بقايا المضادات الحيوية ، مثبطات ، دلفوتاست س ب ، بيتاستاركومبو.

Liste des abréviations

pH : potentiel hydrogène

PMN : Polymorphonucléaire leucocyte

ATB : Antibiotique

ADN : Acide Désoxyribonucléique

TC : Tétracycline

ARNt : Acide Ribonucléique de transfert

ARNm : Acide Ribonucléique messenger

ADME : Absorption Distribution Métabolisme Elimination

LMR : Limite Maximale des Résidus

AMM : Autorisation de la Mise sur Marché

JORA : Journal Officiel de la République Algérienne

JORF : Journal Officiel de la République Française

CEE : Communauté Economique Européenne

CNIEL : Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière

Ala: Alananine

Lys: Lysine

ml: millilitre

ROSA: Rapid One Step Assay

HPLC : Chromatographie Liquide Haute Performance

ELISA : Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

g/l : Gramme par litre

°C : degré Celsius

THF : Tétrahydrofurane

Min : Minute

H : Heure

µg/kg : microgramme par kilogramme

Liste des figures

| N° Figure | Nom des figures | N° Page |
|----------------------|---|--------------------|
| 01 | Principe du Delvo test SP | 13 |
| 02 | Répartition des vétérinaires enquêtés par wilaya | 19 |
| 03 | Fréquence de l'intervention des vétérinaires en élevage bovin laitier | 19 |
| 04 | Fréquence des pathologies les plus fréquentes traitées par les antibiotiques | 20 |
| 05 | Répartition des molécules d'antibiotiques utilisées par voie intra mammaire | 20 |
| 06 | Les antibiotiques les plus utilisés par voie générale | 21 |
| 07 | Motifs du choix des antibiotiques prescrits | 21 |
| 08 | Fréquence de conseil pour la sensibilisation de l'éleveur pour le respect du délai d'attente par les vétérinaires | 22 |
| 09 | Information des éleveurs sur les risques engendrés par le non-respect du délai d'attente | 22 |
| 10 | Fréquence des réponses concernant le respect du délai d'attente par les éleveurs | 23 |
| 11 | Pourcentage des réponses concernant l'utilisation des antibiotiques par les éleveurs | 23 |
| 12 | Le kit Delvotest SP | 27 |
| 13 | Ouverture de la feuille d'aluminium | 27 |
| 14 | Prélèvement du lait | 28 |
| 15 | Couverture et incubation des ampoules | 28 |
| 16 | Lecture des résultats | 29 |
| 17 | Pourcentage de la contamination du lait cru de citerne par des inhibiteurs | 30 |
| 18 | Le kit Beta Star Combo | 31 |

| | | |
|----|--|----|
| 19 | Agitation et mise en place du flacon dans l'incubateur | 32 |
| 20 | Introduction de la bandelette | 32 |
| 21 | Lecture des résultats | 32 |
| 22 | Lecture des résultats | 33 |
| 23 | Pourcentage de la contamination du lait cru par les résidus d'antibiotiques | 34 |
| 24 | Pourcentage de la contamination du lait cru de vache par les résidus de bêta-lactamines | 35 |
| 25 | Pourcentage de la contamination du lait cru par les résidus de tétracyclines | 35 |
| 26 | Pourcentage de la contamination du lait cru de chèvre par les inhibiteurs | 40 |
| 27 | Pourcentage de la contamination du lait cru de chèvre par les résidus d'antibiotiques | 42 |
| 28 | Pourcentage de la contamination du lait cru de chèvre par les résidus de bêta-lactamines | 43 |
| 29 | Pourcentage de la contamination du lait cru de chèvre par les résidus de tétracyclines | 43 |

Liste des tableaux

| N° Tableau | Nom des tableaux | N° page |
|------------|--|-----------|
| I | Caractères physiques du lait de vache | annexe I |
| II | Caractères physiques du lait de chèvre | annexe I |
| III | La composition chimique du lait de vache | annexe I |
| IV | La composition chimique du lait de chèvre | annexe I |
| V | Les principales familles d'antibiotiques | annexe I |
| VI | Caractéristiques des différents tests de détections des résidus d'antibiotiques | annexe I |
| VII | La sensibilité des molécules d'antibiotiques au Beta Star Combo | annexe I |
| VIII | Résultats de la répartition des réponses selon la fréquence de l'intervention des vétérinaires dans l'élevage bovin laitier | annexe II |
| IX | Les pathologies les plus fréquentes traitées par les antibiotiques | annexe II |
| X | Résultats des antibiotiques les plus utilisés par voie intramammaire | annexe II |
| XI | Résultats des antibiotiques les plus utilisés par voie générale | annexe II |
| XII | Résultats détaillés de la recherche des inhibiteurs dans le lait cru de citernes par le Delvotest SP | annexe IV |
| XIII | Résultats globaux de la recherche des inhibiteurs dans les laits de citernes par le Delvotest SP | Page 30 |
| XIV | Résultats détaillés de la recherche des résidus de Bêta-lactamines et de Tétracyclines confondus dans les laits crus de vache contaminés | annexe IV |
| XV | Résultats globaux de la recherche des résidus de Bêta-lactamines et de Tétracyclines confondus dans les laits crus contaminés | Page 34 |

| | | |
|-------|--|-----------|
| XVI | Résultats de la recherche des résidus de Bêta-lactamines dans les laits crus de citernes contaminés | Page 34 |
| XVII | Résultats de la recherche des résidus de Tétracyclines dans les laits crus de citerne contaminés | Page 35 |
| XVIII | Résultats détaillés de la recherche des inhibiteurs dans le lait cru de chèvre par le Delvotest SP | annexe IV |
| XIX | Résultats globaux de la recherche des inhibiteurs dans le lait cru de chèvre par le Delvotest SP | Page 40 |
| XX | Résultats détaillés de la recherche des résidus de Bêta-lactamines et de Tétracyclines confondus dans les laits de chèvre contaminés | annexe IV |
| XXI | Résultats globaux de la recherche des résidus de Bêta-lactamines et de Tétracyclines confondus dans les laits crus contaminés | Page 42 |
| XXII | Résultats de la recherche des résidus de Bêta-lactamines dans les laits crus de chèvre contaminés | Page 42 |
| XXIII | Résultats de la recherche des résidus de Tétracyclines dans les laits crus de chèvre contaminés | Page 43 |

Sommaire

| | |
|-----------------------------------|----------|
| INTRODUCTION GENERALE..... | 1 |
|-----------------------------------|----------|

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1: Le lait

| | |
|--|---|
| 1. Définition..... | 2 |
| 2. Caractères physico-chimiques et composition biologique du lait..... | 2 |
| 2.1. Composition physique du lait..... | 2 |
| 2.2. Composition chimique du lait..... | 2 |
| 2.3. Composition biologique du lait..... | 2 |
| 3. Qualité du lait..... | 3 |
| 3.1. Qualité organoleptique..... | 3 |
| 3.2. Qualité sanitaire (hygiénique)..... | 3 |
| 3.3. Qualité technologique..... | 4 |

CHAPITRE 2 : Les antibiotiques

| | |
|---|---|
| 1. Définition..... | 5 |
| 2. Classification..... | 5 |
| 3. Pharmacodynamie des antibiotiques..... | 5 |
| 3.1. Mode d'action des bêta-lactamines..... | 5 |
| 3.2. Mode d'action des tétracyclines..... | 6 |
| 4. Pharmacocinétique des antibiotiques..... | 6 |
| 4.1. Absorption..... | 6 |
| 4.2. Distribution..... | 6 |
| 4.3. Métabolisme (biotransformation)..... | 7 |
| 4.4. Elimination..... | 7 |

CHAPITRE 3 : Les risques des résidus d'antibiotique dans le lait

| | |
|---|----|
| 1. Définition des résidus..... | 8 |
| 2. Délai d'attente et la limite maximale des résidus..... | 8 |
| 2.1. Délai d'attente..... | 8 |
| 2.2. Limite maximale des résidus..... | 8 |
| 3. Législation algérienne..... | 8 |
| 4. Causes de contamination du lait par les résidus d'antibiotiques..... | 9 |
| 5. Conséquences liées à la présence des résidus d'antibiotiques..... | 9 |
| 5.1. Problèmes sanitaires..... | 9 |
| 5.1.1. Risques d'antibiorésistance..... | 9 |
| 5.1.2. Modification de la flore digestive du consommateur..... | 10 |
| 5.1.3. Problèmes d'allergie..... | 10 |
| 5.1.4. Risques toxiques..... | 10 |
| 5.2. Problèmes technologiques..... | 11 |

CHAPITRE 4 : Les méthodes de détection des résidus d'antibiotique dans le lait cru

| | |
|--|----|
| 1. Méthodes de détection des résidus d'antibiotiques dans le lait cru..... | 12 |
| 1.1. Méthodes microbiologiques..... | 12 |
| 1.1.1. Méthode officielle..... | 12 |
| 1.1.2. Tests rapides..... | 12 |
| 1.1.2.1. Delvo test..... | 13 |
| 1.1.2.2. Copan test..... | 13 |
| 1.1.2.3. Valio test..... | 14 |
| 1.2. Tests enzymatiques..... | 14 |
| 1.2.1. Penzym..... | 14 |
| 1.3. Tests immuno-enzymatiques..... | 14 |
| 1.3.1. Delvo X Press..... | 14 |
| 1.3.2. Beta Star..... | 14 |
| 1.3.3. Twins Sensor BT..... | 14 |
| 1.3.4. Charm Plabtet..... | 15 |
| 1.3.5. ELISA test..... | 15 |
| 1.4. Méthodes physico-chimiques..... | 15 |
| 1.4.1. Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)..... | 15 |
| 1.4.2. Spectrophotométrie..... | 15 |

PARTIE EXPERIMENTALE

PARTIE I : La recherche des résidus d'antibiotique dans le lait cru de vache

VOLET 1 : Enquête Sur terrain

| | |
|---|----|
| 1. Matériels..... | 18 |
| 2. Méthodes..... | 18 |
| 2.1. Modalités de recueil des données..... | 18 |
| 2.2. Organisation du questionnaire..... | 18 |
| 2.3. Mise en forme et saisie des données..... | 18 |
| 3. Résultats..... | 19 |
| 4. Discussion..... | 24 |

VOLET 2 : Au laboratoire

A. Recherche des inhibiteurs dans le lait cru de vache par Delvotest SP

| | |
|---|----|
| 1. Matériel..... | 26 |
| 1.2. Matériel biologique..... | 26 |
| 1.3. Matériel non biologique..... | 26 |
| 2. Méthodes..... | 27 |
| 2.1. Conditions de prélèvement du lait..... | 27 |
| 2.2. Analyse par Delvo test SP..... | 27 |

| | |
|-------------------|----|
| 3. Résultats..... | 30 |
|-------------------|----|

B. Recherche des résidus de bêta-lactamine et de tétracycline par Beta Star Combo

| | |
|-----------------------------------|----|
| 1. Matériel..... | 31 |
| 1.1. Matériel biologique..... | 31 |
| 1.2. Matériel non biologique..... | 31 |
| 2. Méthodes..... | 32 |
| 3. Résultats..... | 34 |
| 4. Discussion | 36 |

PARTIE 2 : La recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de chèvre

A. Recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de chèvre par Delvo test SP

| | |
|-----------------------------------|----|
| 1. Matériel..... | 39 |
| 1.1. Matériel biologique..... | 39 |
| 1.2. Matériel non biologique..... | 39 |
| 2. Méthodes..... | 39 |
| 3. Résultats..... | 40 |

B. Recherche des résidus de bêta-lactamine et de tétracycline par Beta Star Combo

| | |
|-----------------------------------|----|
| 1. Matériel..... | 41 |
| 1.1. Matériel biologique..... | 41 |
| 1.2. Matériel non biologique..... | 41 |
| 2. Méthodes..... | 41 |
| 3. Résultats..... | 42 |
| 4. Discussion | 44 |

| | |
|---------------------------------|-----------|
| CONCLUSION GENERALE..... | 45 |
|---------------------------------|-----------|

| | |
|-----------------------------|-----------|
| RECOMMANDATIONS..... | 46 |
|-----------------------------|-----------|

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Introduction générale

La filière lait en Algérie est très dépendante du marché mondial dont plus de 70% des disponibilités en lait et produits laitiers sont importées. Par ailleurs 30% de la production laitière est locale assurée à 80% par le cheptel bovin et 20% par le lait de chèvre et le lait de brebis (**Dilmi Bouras, 2008**).

Le lait occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens, il apporte la plus grande part de protéines d'origine animale (**Anonyme, 2008**). Il peut être conditionné en lait de consommation ou transformé en divers produits (fromage, dessert lacté).

Le lait doit répondre aux normes et aux exigences sanitaires hautement satisfaisantes justifiant sa bonne qualité des points de vue nutritionnelle, organoleptique et hygiénique comme il ne doit en aucun cas être contaminé par des germes pathogènes, des germes d'altération, des polluants chimiques et par des résidus de substances à effet inhibiteur (**Anonyme, 2004**).

La présence de résidus inhibiteurs dans le lait notamment, les antibiotiques, est un critère majeur de mauvaise qualité. Ces derniers restent parmi les molécules les plus utilisées en élevage laitier, dont leur usage, en traitement curatif, préventif ou en complémentation dans l'alimentation animale, conduit inévitablement à la présence de résidus dans le lait (**Boultif, 2014**). En effet, la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait peut présenter des répercussions néfastes, d'une part sur la santé du consommateur telle que : des modifications de la flore intestinale, des effets toxiques ou allergènes et la sélection de bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques. D'autre part sur le plan technologique au niveau de certaines opérations de transformations industrielles.

Pour toutes ces raisons, il importe que les denrées d'origines animales notamment le lait et les produits laitiers soient exempts de toute trace d'antibiotiques lors de leurs mises sur le marché.

Dans ce contexte et afin d'actualiser les données existantes sur la contamination du lait cru par les résidus d'antibiotiques, nous avons réalisé ce travail qui vise 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 résidus d'antibiotiques dans le lait cru de vache.
- 3) Rechercher les résidus d'antibiotiques dans le lait cru de chèvre.

Introduction générale

La filière lait en Algérie est très dépendante du marché mondial dont plus de 70% des disponibilités en lait et produits laitiers sont importées. Par ailleurs 30% de la production laitière est locale assurée à 80% par le cheptel bovin et 20% par le lait de chèvre et le lait de brebis (**Dilmi Bouras, 2008**).

Le lait occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens, il apporte la plus grande part de protéines d'origine animale (**Anonyme, 2008**). Il peut être conditionné en lait de consommation ou transformé en divers produits (fromage, dessert lacté).

Le lait doit répondre aux normes et aux exigences sanitaires hautement satisfaisantes justifiant sa bonne qualité des points de vue nutritionnelle, organoleptique et hygiénique comme il ne doit en aucun cas être contaminé par des germes pathogènes, des germes d'altération, des polluants chimiques et par des résidus de substances à effet inhibiteur (**Anonyme, 2004**).

La présence de résidus inhibiteurs dans le lait notamment, les antibiotiques, est un critère majeur de mauvaise qualité. Ces derniers restent parmi les molécules les plus utilisées en élevage laitier, dont leur usage, en traitement curatif, préventif ou en complémentation dans l'alimentation animale, conduit inévitablement à la présence de résidus dans le lait (**Boultif, 2014**). En effet, la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait peut présenter des répercussions néfastes, d'une part sur la santé du consommateur telle que : des modifications de la flore intestinale, des effets toxiques ou allergènes et la sélection de bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques. D'autre part sur le plan technologique au niveau de certaines opérations de transformations industrielles.

Pour toutes ces raisons, il importe que les denrées d'origines animales notamment le lait et les produits laitiers soient exempts de toute trace d'antibiotiques lors de leurs mises sur le marché.

Dans ce contexte et afin d'actualiser les données existantes sur la contamination du lait cru par les résidus d'antibiotiques, nous avons réalisé ce travail qui vise 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 résidus d'antibiotiques dans le lait cru de vache.
- 3) Rechercher les résidus d'antibiotiques dans le lait cru de chèvre.

SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I

Le lait cru est un produit hautement nutritif. Cependant sa production doit être sévèrement contrôlée en raison des risques éventuels qu'il peut présenter pour la santé humaine (**Labioui et al. 2009**).

1. Définition

Le règlement européen 853/2004 donne une définition du lait cru : «Lait cru est le lait produit par la sécrétion de la glande mammaire d'animaux d'élevage et non chauffé à plus de 40 °C, ni soumis à un traitement d'effet équivalent » (**Renard, 2014**).

Selon la définition établie par le congrès international de la répression des fraudes alimentaires à Genève (1908): «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 du colostrum» (**Debry, 2006**).

Selon **Brule (2003)**; le lait est un aliment adapté aux besoins nutritionnels et physiologiques du jeune. Il couvre les besoins énergétiques, structuraux et fonctionnels et contribue à défendre l'organisme contre les agressions bactériennes et virales en augmentant les défenses immunitaires du nouveau-né.

La législation Algérienne dans sa définition du lait, dans l'article 4 de l'arrêté interministériel du 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation, mentionne que la dénomination " lait " sans indication de l'espèce animale de provenance, est réservée au lait de vache. Tout lait provenant d'une femelle laitière, autre que la vache, doit être désigné par la dénomination "lait", suivie de l'indication de l'espèce animale dont il provient.

2. Caractères physico-chimiques et composition biologique du lait de vache

2.1. Composition physique du lait

Les propriétés physico-chimiques du lait sont plus ou moins stables; elles dépendent soit de l'ensemble des constituants comme la densité, soit des substances en solution comme le point de congélation ou encore des concentrations en ions comme le pH (acidité) (**voir annexe I**).

2.2. Composition chimique du lait

Le lait est constitué essentiellement d'eau, de glucides (lactose), de protéines, de lipides et de sels. 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 (**Amiot et al., 2002**) (**voir annexe I**).

2.3. Composition biologique du lait

Tout lait normal, à la sortie de la glande mammaire, comporte des cellules et des germes. Le lait même recueilli aseptiquement et provenant d'un animal sain, abrite une population microbienne abondante et des éléments cellulaires qui augmentent de nombre si l'animal est malade (**Bourahla, 2000**).

a. Cellules somatiques

Comme tout liquide biologique, le lait, même normal contient des cellules somatiques. Elles sont de nature hétérogène. Outre les cellules d'origine sanguines (Polymorphonucléaires leucocyte, macrophages et les lymphocytes) impliquées essentiellement dans les défenses immunitaires de la mamelle (**Rupp, 2000**). Le lait contient également, des éléments épithéliaux, les leucocytes qui ont un nombre variant de 10^5 à 2.10^5 cellules (**Bourahla, 2000**).

Le taux de cellules somatiques acceptable est inférieur à 400 000 cellules/ml (vache) (**Renard, 2014**). La présence des cellules somatiques ne présente, elle-même, aucun pouvoir pathogène ou toxique mais elle est le signe révélateur d'existence de germes ou de produits indésirables (**Badinand, 1994**).

b. Micro-organismes

Le lait contient peu de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 5 000 germes/ml). Il s'agit essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores : microcoques, streptocoques lactiques et lactobacilles (**Larpen, 1992 ; Hermier et al., 1992**). 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) (**Paraf et Paltre, 1991**) ou sa contamination par l'environnement, le matériel de traite et de stockage (**Levral et Vierling, 2001**).

Les bactéries, généralement, majoritaire de la flore totale peuvent être classées en deux grands groupes, flore non pathogène et flore pathogène (**Monsallier, 1994**).

3. Qualité du lait

La qualité du lait c'est comme la somme de différentes caractéristiques dont les plus évidents sont les caractéristiques hygiéniques, organoleptiques et nutritionnelles qui permettent de satisfaire les besoins des consommateurs. Le lait serait l'aptitude à être conditionné en lait de consommation ou transformé en divers produits (fromage, dessert lacté) sans difficultés technologiques, 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 quel que soit la gravité (**Cauty et Perreau, 2005**).

3.1. 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 (**Cauty et Perreau, 2005 ; Amiot et al., 2002**).

3.2. Qualité sanitaire (hygiénique)

Pour évaluer la qualité sanitaire d'un lait avant toute transformation, on mesure notamment le taux de germes totaux, le taux de cellules somatiques, et la présence de résidus de substances inhibitrices. Des critères supplémentaires doivent être analysés pour évaluer la présence potentielle de bactéries pathogènes (**Renard, 2014**).

Un lait de qualité sanitaire suffisante présente selon **Renard (2014)**:

Un taux peu élevé de germes totaux : inférieur à 100 000 germes/ml (vache).

Un taux de cellules somatiques acceptable : inférieur à 400 000 cellules/ml (vache).

Une absence de résidus médicamenteux.

La présence de résidus inhibiteurs dans le lait peut entraîner plusieurs risques pour les consommateurs à savoir : des modifications de la flore intestinale, des effets toxiques ou allergènes et la sélection de bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques (**Chataigner et Stevens, 2005**).

3.3. Qualité technologique

Cette qualité dépend de la composition chimique (taux protéique, taux butyrique) de la qualité bactériologique et de l'aptitude à la transformation (**Cauty et Perreau, 2005**).

La présence d'inhibiteurs dans le lait a pour effet de bloquer ou ralentir les fermentations microbiennes et conduire à une mauvaise ou une absence de coagulation du lait (**Pierre, 2005**). Les bactéries lactiques sont sensibles à de très faibles doses d'antibiotiques ainsi la présence de résidus d'antibiotiques inhibent de manière partielle ou totale la croissance de ces ferments et se traduit par de nombreux défauts notamment les accidents de fabrication du fromage, du yaourt et autres produits de fermentation du lait (**Zinedine et al., 2007 ; Broutin, 2005**).

Chapitre II

Garantir au consommateur un lait et des produits laitiers de bonne qualité est un enjeu majeur pour le secteur laitier. Cette qualité est affectée par plusieurs contaminants; parmi eux les antibiotiques. Ces derniers sont généralement utilisés en élevage à des buts : thérapeutiques, prophylactiques, métaphylactiques et comme additifs alimentaires ou promoteurs de croissance (**Dibner et Richards, 2005 ; Guardabassi et al. 2008 ; Bowater et al., 2009 ; Nickell et white, 2010**). En effet, leur usage pourrait amener à une présence anormale de résidus dans le lait.

1. Définition

Un antibiotique (ATB) est une substance chimique organique d'origine naturelle ou synthétique qui serve à détruire les bactéries ou autres micro-organismes pathogènes, ou inhiber leurs croissances. *Il s'agit aussi de tout produit pouvant être administré à l'homme ou à l'animal en vue de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions organiques (Le chat, 2007).*

2. Classification

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères : l'origine (naturelle, semi-synthétique et synthétique), le mécanisme d'action, le spectre d'action, et la composition chimique.

Les principales cibles des antibiotiques sont (**Gras et Choutet, 2010**) :

- La paroi bactérienne (bêta-lactamines, glycopeptides);
- La synthèse de l'ADN (quinolones, nitro-imidazolés);
- La synthèse protéique (macrolides, aminosides, cyclines);
- L'inhibition compétitive (sulfaméthoxazole et triméthoprim).

Les principales familles d'antibiotiques sont : les sulfamides, les tétracyclines, les quinolones, les macrolides et les bêta-lactamines (**voir annexe II**).

3. Pharmacodynamie des antibiotiques

La pharmacodynamie étudie les effets propres d'un médicament sur l'organisme ou sur un organe donné (**Fontaine, 1987**). Dans cette partie nous allons voir le mode d'action des bêta- lactamines et des tétracyclines les deux antibiotiques recherchés dans notre partie expérimentale.

3.1. Mode d'action des bêta-lactamines

Les bêta-lactamines possèdent un noyau bêta-lactame qui leur confère une activité bactéricide (**Anonyme, 2016**). Les bêta-lactamines sont des antibiotiques actifs sur la paroi bactérienne agissant essentiellement comme inhibiteurs de la synthèse de peptidoglycane. Ils opèrent sur les dernières étapes de la synthèse du peptidoglycane (**Allain, 2006 ; Yala et al., 2001 ; Ziadi, 2010**) (**voir annexe II**).

Les bêta-lactamines exercent leur effet antibiotique sur les germes possédant une paroi riche en peptidoglycane et sont sans effet sur les organismes dépourvus de paroi (mycoplasmes). Les bêta-lactamines, de par leur structure chimique, inhibent les

transpeptidases extra-cytoplasmiques à condition d'entrer en contact avec elles. Dans les bactéries Gram positif, les différentes bêta-lactamines atteignent les transpeptidases à travers la paroi de peptidoglycane déjà constituée ou en cours de constitution. Par contre, dans les bactéries Gram négatif, elles n'atteignent ces enzymes qu'après pénétration à travers les canaux porines de la membrane externe (Allain, 2006 ; Hennel, 2006).

3.2. Mode d'action des tétracyclines

Comme leur nom l'indique, les tétracyclines (TC) possèdent une structure chimique commune composée de quatre cycles hexacarbonés fusionnés en ligne (Chopra et Roberts, 2001). Les tétracyclines sont des antibiotiques bactériostatiques à large spectre, couvrant des bactéries à Gram positive et d'autres à Gram-négative. On distingue des cyclines naturelles tels les Chlortétracyclines et les Tétracyclines, et les cyclines semi-synthétiques comme : Oxytétracycline, Doxycycline et Minocycline. Une fois dans le cytoplasme, elles inhibent la synthèse protéique en se fixant sur la structure cible, un site localisé sur la sous-unité 30S des ribosomes pour lequel elles présentent une grande affinité. Elles perturbent ainsi l'interaction codon-anticodon entre l'ARNt et l'ARNm ce qui bloque la phase d'élongation. Les tétracyclines agissent donc au stade de la traduction protéique (Allain, 2006 ; Hennel, 2006 ; Yala et al., 2001 ; Helali, 1999 ; Ziadi, 2010)(voir annexe II).

4. Pharmacocinétique des antibiotiques

La pharmacocinétique est l'étude du devenir du médicament dans l'organisme. Les quatre phases de la pharmacocinétique sont généralement regroupées sous le sigle ADME :

- Absorption (pénétration) du produit dans l'organisme,
- Distribution du produit dans les tissus de l'organisme,
- Métabolisme (transformation) du produit en de nouvelles entités chimiques grâce aux enzymes de l'organisme et
- Excrétion (élimination) du produit de l'organisme dans les urines, les fèces et le lait sous la forme de la molécule parent ou sous la forme de métabolites.

Les antibiotiques possèdent des structures très différentes les unes des autres, ont chacun un comportement pharmacocinétique spécifique qui est conditionné par leurs propriétés physiques et chimiques et principalement par leur solubilité (liposolubilité, hydrosolubilité), leur ionisation (acides, basiques, neutres), ainsi que leur stabilité (hydrolyse, oxydation) (Puyt, 2002).

4. 1. Absorption

L'absorption d'une molécule, c'est-à-dire son passage du site d'administration à la circulation sanguine est fonction à la fois des propriétés de la molécule et des modalités d'administration notamment de la voie (orale et parentérale) et de la formulation du médicament (Jacquemin, 2006).

Certaines classes d'antibiotiques ont une bonne absorption digestive (macrolides, tétracyclines, sulfamides), pour d'autres classes, l'absorption est nul (aminoside, polypeptides), et la voie injectable est nécessaire pour obtenir un effet systémique.

Enfin, dans certaines classes d'antibiotiques (bêta-lactamines) certaines molécules sont bien absorbées, ce qui permet l'administration orale alors que d'autres devront être injectées (**Anonyme a, 2006**).

4.2. Distribution

Après absorption, les substances chimiques vont être distribuées dans tout l'organisme, essentiellement par voie sanguine, elles se fixeront sur divers organes et tissus en fonction de différents paramètres tenant à la substance considérée et à l'organe en cause (**Le chat, 2007**).

Dans le sang, le médicament existe sous 2 formes : une forme libre et une forme liée ; cette liaison, aux conséquences biologiques importantes, se fait essentiellement par fixation sur les protéines plasmatiques, beaucoup plus accessoirement sur les éléments figurés du sang (**Fontaine, 1993**).

La diffusion tissulaire est variable selon les antibiotiques (**Labayle, 2001**) :

- Certains antibiotiques ont une bonne diffusion tissulaire : quinolones, bêta-lactamines, macrolides.
- Les tétracyclines, le chloramphénicol peuvent par ailleurs diffuser à l'intérieur des cellules.

4.3. Métabolisme (Biotransformation)

Au sein des tissus, a lieu des biotransformations qui sont un ensemble de réactions chimiques, en générale catalysées par des enzymes, ayant pour effet de modifier la structure des principes actifs, on observe par exemple des oxydations, des hydroxylations, des réductions ou des hydrolyses (**Stoltz, 2008**), qui aboutissent à des métabolites plus polaires et plus hydrosolubles susceptible d'être éliminés plus rapidement que la molécule initiale (**Bourrin et Joliet, 1999**).

De nombreux tissus peuvent réaliser le métabolisme des médicaments : foie, rein, poumon, intestin, mais le principal site de métabolisme des médicaments est le foie, les hépatocytes sont riches en enzymes impliquées dans le métabolisme (**Loichot et Grima, 2006**).

4.4. Elimination

C'est la dernière phase du devenir du médicament. Elle s'effectue par différentes voies :

- Rénale, dans l'urine,
- Biliaire, dans les matières fécales,
- Elimination, dans les œufs,
- Elimination lactée, dans le lait.

Les voies d'élimination d'un principe actif antibiotique dépendent de ses caractéristiques pharmacocinétiques (**Jaussaud, 2002**).

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).

Chapitre III

1. Définition des résidus

Le règlement 470/2009 du Parlement Européen et du Conseil définit les résidus comme toute substance pharmacologiquement active, qu'il s'agisse de principes actifs, d'excipients ou de métabolites présents dans les liquides et tissus des animaux après l'administration de médicaments et susceptibles d'être retrouvés dans les denrées alimentaires produites par ces animaux.

2. Délai d'attente et la limite maximale des résidus

2. 1. Délai d'attente

Selon la directive 81/851/CEE émise par la communauté européenne, le temps d'attente est défini comme le délai entre la dernière administration à l'animale de l'antibiotique et le moment où celui-ci ne présente plus de résidus dans ses tissus ou dans ses productions (lait, œuf) (Follet, 2007 ; Guillemot, 2006 ; Abidi, 2004 ; Anonyme, 2003 ; Puyt, 2003 ; Ryckaert, 2003 ; Laurentie et Sanders, 2002).

Le respect du temps d'attente garantit, pour le consommateur, que la quasi-totalité des denrées alimentaires issues des animaux traités auront des concentrations en résidus proches ou inférieures à la limite maximale des résidus (Laurentie et Sanders, 2002).

2. 2. Limite maximale des résidus (LMR)

La LMR correspond à la concentration maximale en résidus, résultant de l'utilisation d'un médicament vétérinaire, sans risque sanitaire pour le consommateur et qui ne doit pas être dépassée dans ou sur les denrées alimentaires (Laurentie et Sanders, 2002).

La Directive 90/676/CEE suivie du règlement 2377/90/CEE indique que tout médicament vétérinaire destiné aux animaux de production, c'est-à-dire les animaux destinés à la consommation humaine, doit avoir une LMR pour chacun de ses principes actifs et chacun de ses ingrédients pharmacologiquement actifs et dans chacune des espèces de destination de ce médicament, afin d'obtenir une autorisation de mise sur le marché (Rossat, 1995).

Dans le cas du lait, une substance doit obtenir une LMR lait pour chaque espèce de destination, pour que son utilisation soit autorisée chez les femelles en cours de production laitière dans ces espèces de destination. Si une substance n'a pas de LMR lait dans une espèce, le médicament vétérinaire la contenant ne peut pas être utilisé chez une femelle de cette espèce en lactation. La mise en évidence de ce résidu dans le lait de cette espèce correspond à un non-respect de l'autorisation de mise sur le marché (AMM) et de la réglementation sur les résidus (Laurentie et Sanders, 2002).

3. Législation algérienne

La législation Algérienne dans sa définition du lait, dans l'article 6 de l'arrêté interministériel (le Ministère de l'Economie, le Ministère de l'Agriculture et le Ministère de la Santé et de la Population) du 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation, mentionne le fait qu'un lait propre à la consommation humaine ne doit pas contenir des résidus d'antibiotiques mais ne précise pas explicitement les limites maximales de résidus (**voir annexe I**).

La législation algérienne relative à la qualité du lait rend obligatoire la recherche de résidus d'antibiotiques dans les laits crus, laits déshydratés conditionnés, et les laits déshydratés destinés aux industries alimentaires. Les résultats de cette recherche doivent être négatifs, soit absent d'antibiotiques dans les laits cités précédemment (**JORA, 1998**).

4. Causes de contamination du lait par les résidus d'antibiotiques

Le traitement des mammites représente la principale cause de contamination du lait par les antibiotiques (**Sraïri et al., 2004**), plusieurs causes peuvent ainsi être incriminées:

- a. Les erreurs commises par l'éleveur, selon **Abidi (2004)** :
 - un mélange accidentel du lait d'une vache traitée avec celui des autres vaches.
 - une traite, par erreur, d'une vache tarie, récemment traitée par des antibiotiques.
 - une désinfection défectueuse de la machine à traire.
 - une non-vérification de l'ancien traitement administré aux vaches en lactation récemment achetées.

- b. La mauvaise utilisation du médicament, selon **Brouillet (1994)** :
 - non-respect de la dose, car l'augmentation de cette dernière est à l'origine de l'allongement de la durée d'élimination du médicament.
 - utilisation d'une préparation destinée à une vache tarie dans le traitement d'une vache en lactation.

- c. Le non-respect du délai d'attente, selon **Abidi (2004)** :
 - défaut de communication entre médecin vétérinaire et éleveurs.
 - acte volontaire de la part de l'éleveur par ignorance des risques réels de ce geste.

- d. La contamination par le matériel de traite (**Abidi, 2004**) :
 - mauvais rinçage du matériel, des canalisations de la machine à traire.

- e. L'absence d'identification des animaux (**Abidi, 2004**).

- f. La mauvaise hygiène lors de la traite, le lait peut être contaminé par les souillures fécales contenant des antibiotiques excrétés par voie digestive (**Labie, 1981**).

g. L'adjonction volontaire d'antibiotiques dans le lait, après la traite, dans le but d'inhiber le développement de la microflore et d'améliorer la qualité bactériologique du produit (**Labie, 1981**).

5. Conséquences liées à la présence des résidus d'antibiotiques

Les problèmes liés à la présence des résidus d'antibiotiques sont d'ordre sanitaire et technologique.

5. 1. Problèmes sanitaires

L'administration d'un antibiotique à un animal peut, par l'intermédiaire de la présence de résidus, présenter des risques pour la santé humaine:

5. 1. 1. Risques d'antibiorésistance

On parle d'antibiorésistance lorsque certaines bactéries ne sont ni tuées ni inhibées par les doses d'antibiotiques administrés. Ce sont bien les bactéries, hébergées par l'homme ou l'animal, qui peuvent devenir résistantes à un traitement antibiotique et, en conséquence, rendre le traitement de leur hôte inefficace (**Chardon et Brugger, 2014**).

Cette résistance aux antibiotiques peut se faire par :

- Le brouillage : les protéines secrétées par la bactérie peuvent dégrader l'antibiotique et le rendre inoffensif.
- Le camouflage : la bactérie peut modifier la cible de l'antibiotique.
- Le blindage : la bactérie empêche l'accès de l'antibiotique aux cibles intracellulaires soit par modification de la perméabilité membranaire, soit par la mise en place d'un système d'expulsion de l'antibiotique.

La résistance chez l'homme provient suite aux :

- Mutations et à la sélection naturelle des bactéries de son tube digestif en présence répétée des antibiotiques et des résidus d'antibiotiques d'origine alimentaire.
- Echanges de gènes de résistances entre les bactéries d'origine animale et les bactéries commensales du tube digestif de l'homme.

5. 1. 2. Modifications de la flore digestive du consommateur

La microflore intestinale est un écosystème complexe où cohabitent différentes espèces bactériennes selon un équilibre biologique. Chez l'homme, cet équilibre est constitué par une flore anaérobie stricte (clostridies, Eubacterium, etc.) dite dominante laquelle, de par sa propre croissance régule et limite le développement du reste de la flore (lactobacilles, entérobactéries, etc.) dite subdominante.

La perturbation de cet équilibre entraîne inévitablement des désordres plus ou moins graves. La présence d'un antibiotique dans le milieu intestinal peut conduire à une modification de la composition de la flore : un antibiotique particulièrement actif contre les germes anaérobies et les grams positifs va détruire une partie importante de

la flore digestive. Le vide ainsi créé pourra être rempli par d'autres micro-organismes qui pourront alors proliférer et devenir pathogènes. Ces micro-organismes peuvent être soit des germes de la flore subdominante (*Esherichia coli*...), soit des germes en transit (*Candida albicans*, *Salmonella sp.* ...).

Ce même phénomène peut aussi entraîner la sélection et le développement de germes résistants : une bactérie présente initialement dans l'écosystème digestif et plus ou moins résistante vis-à-vis de l'antibiotique, de passage dans le tube digestif, pourra se multiplier et occuper les niches écologiques laissées vacantes par les autres bactéries sensibles éliminées par l'antibiotique (**Chardon et Brugger, 2014**).

5. 1. 3. Problèmes d'allergie

Les résidus d'antibiotiques sont parfois évoqués comme cause dans les réactions allergiques observées chez l'homme suite à la consommation de denrées d'origine animale (Jeon et al., 2008). Pour qu'une allergie se déclare, il faut que l'organisme ait été en contact au moins deux fois avec l'allergène. Un premier contact sensibilisant, généralement asymptomatique, permettant à l'organisme de reconnaître l'allergène, et un deuxième contact déclenchant qui va provoquer la crise allergique, et ce pour des doses d'allergène même très inférieures à celles ayant provoqué la sensibilisation. Les résidus d'antibiotiques présents dans le lait ne peuvent intervenir qu'en tant qu'éléments déclenchant, compte tenu des faibles quantités incriminées et également du fait que la voie digestive est nettement moins allergisante qu'un contact cutané ou respiratoire.

Les réactions allergiques aux bêta-lactamines représentent la cause la plus fréquente d'allergies médicamenteuses, impliquant de 0,7 à 10 % des traitements par pénicillines, dont 1 sur 5 000 anaphylaxies graves, parfois fatales (**Demoly et al., 2000**).

5. 1. 4. Risques toxiques

La toxicité directe est inexistante en ce qui concerne les résidus d'antibiotiques dans le lait car les quantités retrouvées dans le lait sont toujours trop faibles, il s'agit en général de toxicité chronique qui ne s'exprime qu'après consommation répétée de denrées alimentaires contenant des résidus du même antibiotiques (**Jeon et al., 2008**).

Le cas de toxicité potentielle fréquemment cité est celui du chloramphénicol (**Fabre et Joyes, 2000**) qui a été responsable d'anémies aplasiques chez l'homme (liées à son utilisation en médecine humaine) (**Fabre et al., 2006 ; Châtaigner et Stevens, 2005**).

Dans le cas des pénicillines, les experts concluent que «les effets toxiques peuvent seulement apparaître qu'après des doses extrêmement élevées » (**Milhaud et Person, 1981**).

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 fœtus 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 (**Ecckhoutte, 1978**).

5. 2. Problèmes technologiques

Les résidus d'antibiotiques entraînent une inhibition totale ou partielle des phénomènes fermentaires d'origine bactérienne nécessaires à la fabrication des produits laitiers tels que le yaourt, les fromages et le lait caillé.

Ces conséquences technologiques dépendent essentiellement de la dose résiduelle d'inhibiteurs dans le lait collecté et la sensibilité des germes lactiques utilisés aux antibiotiques.

Chapitre IV

Les premiers tests de détection ont été utilisés quelques années après l'apparition des antibiotiques (**Brouillet, 2002**).

Dès 1952, le premier test de détection des résidus d'antibiotiques dans le lait était mis au point, il était fondé sur l'inhibition du développement de différentes souches de bactéries (**Gardeye et Lherbette, 2000**).

1. Méthodes de détection des résidus d'antibiotiques dans le lait cru

Les différentes méthodes de détection des résidus d'antibiotiques dans le lait sont représentées dans **l'annexe III** et détaillées comme suit :

1. 1. Méthodes microbiologiques

Les méthodes microbiologiques sont basées sur la sensibilité des souches bactériennes à l'action des antibiotiques et sur la spécificité d'action des antibiotiques.

Il existe deux catégories de méthodes microbiologiques :

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

1. 1. 1. Méthode officielle

Cette méthode est efficace et sensible, mais néanmoins assez difficile à reproduire dans des conditions normales de laboratoire d'une laiterie (**Verhnes et Vandaele, 2002**).

Seule la méthode officielle pratiquée au laboratoire agréé fait foi pour le paiement du lait (**JORF, 2011**).

Elle se réalise en deux étapes :

- Epreuve d'acidification (dépistage) : dont l'objectif est de détecter un maximum de substances différentes à un seuil proche ou inférieur à la Limite Maximum de Résidus (LMR). Elle doit aussi permettre de faire rapidement des analyses sur un grand nombre d'échantillons. C'est une méthode de réalisation simple pouvant être en partie automatisée mais qui demande un certain temps : 2h 30 en étuve (**Verhnes et Vandaele, 2002**).

Le test de dépistage détecte des inhibiteurs au sens large, parmi lesquels les antibiotiques, mais aussi d'autres substances inhibitrices (colostrum, résidus lessiviels,...etc)(**CNIEL, 2012**).

- Epreuve de confirmation : les échantillons positifs ou douteux sont soumis à une série de trois épreuves de diffusion en trois géloses différentes,ensemencées avec trois germes différents, selon la nature de résidu présent, l'inhibition sera différente selon la gélose et l'on pourra s'orienter vers telle ou telle famille d'antibiotique. C'est une méthode relativement longue (> 18 h) (**Verhnes et Vandaele, 2002**).

1. 1. 2. Tests 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 (**Brouillet, 2002**).

1. 1. 2. 1. Delvo test®

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 (**Brouillet, 2002**). C'est un test de sélection microbiologique à large spectre, permettant de déceler les résidus de substances anti-infectieuses dans le lait à des niveaux proches des limites maximales des résidus, il est particulièrement sensible vis-à-vis des pénicillines, des céphalosporines et des sulfamides (**Romnée, 2009 ; Reybroeck, 2004 ; Verhnes et Vandaele, 2002**). Le principal inconvénient de ce test est sa durée d'incubation de 2 h 30 à 3 h (**Brouillet, 2002 ; Verhnes et Vandaele, 2002**).

Le test se présente sous la forme d'ampoules contenant un milieu gélosé ensemencé par le germe test (spores de *Bacillus stearothermophilus var. calidolactis*), avec un indicateur coloré de pH, du triméthoprim et des comprimés de milieu nutritif à incorporer dans les ampoules au moment de leur utilisation (**Romnée, 2009 ; Reybroeck, 2004 ; Abidi, 2004 ; Brouillet, 2002**). Un échantillon de 0,1 ml de lait est laissé à diffuser dans le milieu gélosé, l'ampoule est fermée par un ruban adhésif et placée pendant 2 h 30 à 3 h dans un incubateur à $64 \pm 1^\circ\text{C}$.

Si le lait ne contient aucune substance inhibitrice, l'indicateur de pH vire du violet au jaune en raison de la production d'acide par le germe. Mais en présence de substances inhibitrices, la couleur du milieu gélosé reste pourpre (violet) car ces dernières empêchent la croissance du germe et par conséquent la production d'acide lactique (**Romnée, 2009 ; Scippo et Maghuin-Rogister, 2006 ; Abidi, 2004 ; Reybroeck, 2004 ; Brouillet, 2002 ; Moretain, 2000 ; Archimbault et al., 1978**).

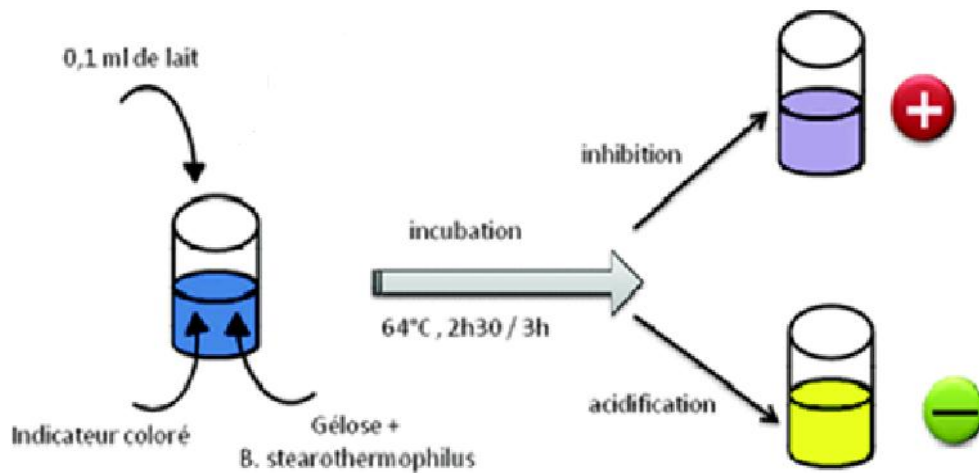


Figure 1. Principe du Delvo test SP (Brouillet, 2002).

1. 1. 2. 2. Copan test

Les Copan test P® et Copan test S100® kits : ont le même principe que le Delvo test SP®, la seule différence est que la tablette nutritive est préalablement incorporée à gélose, ce qui réduit la procédure d'une étape par rapport au Delvo test ®. Ils associent le principe de diffusion en gélose avec la réduction d'un indicateur coloré. L'absence de substances antibiotiques inhibitrices est indiquée par un virement de l'indicateur. Il se présente sous la forme de tubes unitaires ou de microplaques prêts à l'emploi permettant selon la présentation d'effectuer des analyses individuelles ou collectives (Reybroeck, 2004).

1. 1. 2. 3. Valiot test

Le valiot présente le même principe que le Delvo test, 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 est aussi un réactif coloré qui passe du bleu au jaune. La sensibilité du test avait l'avantage d'être très voisine de l'ancienne méthode officielle qui vient d'être abandonnée (Brouillet, 2002).

1. 2. Tests enzymatiques

1. 2. 1. Penzym

C'est un test enzymatique et colorimétrique qui permet une recherche rapide de résidus d'antibiotiques de la famille des bêta-lactamines (pénicilline et céphalosporines) (Brouillet, 2002). Ce test repose sur la capacité des bêta-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 (**Lamontagne et al., 2002**).

1. 3. Tests immuno-enzymatiques

1. 3. 1. Delvo X Press

C'est un test rapide; en moins de 10 minutes. Ce test détecte une large gamme de résidus d'antibiotiques de type bêta-lactamine présents dans le lait, c'est un test qualitatif basé sur le dosage de l'excès d'un réactif spécifique (**Reybroeck, 2003**). 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 bêta-lactamines (**Brouillet, 2002**).

1. 3. 2. Beta Star

Le test Beta Star est une méthode du type "Receptor Assay" basée sur l'emploi d'un récepteur spécifique lié à des particules d'or (**Gaudin et Afssa, 2005**). Il permet la détection rapide des résidus de bêta-lactames (pénicillines et céphalosporines) et tétracyclines dans le lait cru (**Reybroeck et Ooghe, 2012**) au-dessous de la Limite Maximale de Résidus (**voir l'annexe III**).

Le principe du test : un échantillon de 0.2 ml de lait est versé dans le flacon de récepteur qui contient le lyophilisat. Au cours de la première étape d'incubation, les antibiotiques, s'ils sont présents dans l'échantillon de lait, se lient aux récepteurs. Pendant la deuxième étape d'incubation, le lait migre sur un support immunochromatographique qui présente trois bandes:

- La première bande retient tous les récepteurs qui n'ont pas lié de tétracyclines.
- La seconde bande sert de référence.
- La troisième bande retient tous les récepteurs qui n'ont pas lié de bêta-lactamines.

1. 3. 3. Twin Sensor BT

Est un test de compétition qui se base sur la reconnaissance de deux récepteurs spécifiques, l'un pour les bêta-lactames et l'autre pour les tétracyclines. Ce test permet l'analyse de lait cru, de poudre de lait ou de crème. Il est compatible pour le lait de vache, de chèvre et de brebis (**CNIEL, 2016**). Ce nouveau test est facile à utiliser, fiable et ne prend que 6 minutes pour obtenir le résultat (**Brouillet, 2002**).

1. 3. 4. Charm Plabtet

C'est un test rapide à récepteur immunologique sur bandelette en 5 minutes permettant la détection de résidus de bêta-lactames et de tétracyclines dans le lait de vache, chèvre et brebis. Ce test met en œuvre la technologie ROSA (Rapid One Step Assay) utilisant des récepteurs qui se lient spécifiquement aux résidus d'antibiotiques (**CNIEL, 2016**).

1. 3. 5. ELISA test

C'est une technique immuno-enzymatique de détection qui permet de visualiser une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps (**Hanzen, 2008**). La méthode est dite directe lorsque, en une étape, on utilise uniquement un anticorps conjugué qui est soumis à incubation avec l'antigène contenu dans l'échantillon. La méthode indirecte en deux étapes utilise un anticorps secondaire conjugué pour la détection. En premier lieu, l'anticorps primaire est incubé avec l'antigène contenu dans l'échantillon. Cette opération est suivie d'une incubation avec l'anticorps secondaire conjugué qui reconnaît l'anticorps primaire (**Anonyme b, 2012**). Elle est spécifique pour une famille d'antibiotiques et sensible pour cette dernière.

Parmi les méthodes immunologiques, l'ELISA au format microplaque (λ6 puits) est fréquemment utilisé pour le dépistage rapide d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale (**Gaudin, 2016**).

1. 4. Méthodes physico-chimiques

Elles permettent d'identifier formellement la molécule de résidu présente dans la denrée et sa teneur exacte. Elles sont donc à la fois qualitatifs et quantitatifs, plus précis, et permettent de détecter les résidus même en concentration très faible, jusqu'à deux fois moins que les LMR. Ces tests de confirmation sont cependant très coûteux en temps, en matériel et en réactifs et nécessitent un personnel bien formé. Ils sont donc le plus souvent délaissés au profit des tests de dépistage qui permettent des prises de décision rapide quant au respect des législations en matière de résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale. On peut citer entre autre :

1. 4. 1. Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)

Cette méthode permet de séparer des composés de masse molaire variables et de nature chimique différente. Elle couvre tous les domaines d'applications (**Saunier et Godin, 2013**). Dans de nombreuses méthodes, l'extraction des antibiotiques est suivie d'une purification (sur colonne séphalex par exemple) avant séparation par CHLP (**Martinez et Wilbert, 1988**). Elle nécessite généralement des étapes de déprotéinisation et d'extraction préalables. 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) (**Jehl et Leveique, 1989**).

1. 4. 2. Spectrophotométrie

Utilisée dans les spectres ultra-violet, visible et infrarouge, elle permet l'identification et le dosage de la pénicilline, de la streptomycine et des tétracyclines (**Mouillet, 1991**).

PARTIE
EXPERIMENTALE

PARTIE EXPERIMENTALE

Pour répondre aux objectifs ciblés dans la présente étude, à savoir, La recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait de vache et le lait de chèvre, nous avons adopté une démarche expérimentale qui s'articule sur deux parties :

- **Partie 1** : La recherche de résidus d'antibiotiques dans le lait cru de vache. Cette partie se compose de deux volets :
 - Une enquête sur le terrain
 - Une partie expérimentale

- **Partie 2** : La recherche de résidus d'antibiotiques dans le lait cru de chèvre.

PARTIE 1

La recherche des résidus d'antibiotique dans le lait cru de vache

VOLET 1: ENQUETE SUR TERRAIN

Afin de répondre à la question relative au problème des résidus d'antibiotiques dans le lait destiné à la consommation humaine et à la transformation, une enquête par questionnaire a été menée sur l'utilisation des antibiotiques en élevages bovins laitiers auprès des vétérinaires praticiens.

Cadre de l'étude

Cette enquête a été réalisée durant la période s'étalant de Janvier au Juin 2017 couvrant les wilayas de : Blida, Tipaza, Alger et Médéa.

1. MATERIEL

Les informations ont été recueillies par le biais d'un questionnaire tiré à 70 exemplaires distribués lors d'un déplacement personnel chez les vétérinaires praticiens des wilayas de la région centre.

Le choix de ces wilayas est fondé sur certains critères:

- Elles alimentent la laiterie de Blida.
- A vocation laitière principalement d'élevage de bovins laitiers.
- Facilité d'accès et disponibilité des moyens.

2. METHODES

2.1. Modalités de recueil des données

L'enquête a été réalisée par des rencontres directes avec les vétérinaires praticiens où cinquante (50) questionnaires ont été récupérés.

2.2. Organisation du questionnaire

Le questionnaire est composé de 10 questions, réparties en quatre (04) rubriques:

- Les principaux antibiotiques utilisés dans les élevages bovins laitiers.
- Des informations sur le contexte pathologique ayant motivé la prescription ou l'administration des antibiotiques.
- Les différents arguments sur lesquels est basé le choix de l'antibiotique.
- Le respect du délai d'attente par les éleveurs.

De façon générale, ce questionnaire était strictement anonyme et 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 (**annexe IV**).

2.3. Mise en forme et saisie des données

Après l'obtention des questionnaires remplis, nous les avons classés selon les réponses obtenues pour chacun des paramètres traités. L'ensemble des données recueillies a été saisi et stocké dans un fichier Microsoft Excel.

3. RESULTATS

Sur soixante-dix (70) questionnaires distribués, nous n'avons pu récupérer que cinquante (50), soit un taux de 71,42%.

Les résultats ont été mis dans des tableaux comportant le nombre et le pourcentage des réponses que nous avons joint en **annexe IV**.

Le traitement des données du questionnaire est rapporté par question :

Question n°01: Vous exercez dans la wilaya de....

La répartition des vétérinaires enquêtés selon les wilayas est illustrée dans la figure 02.

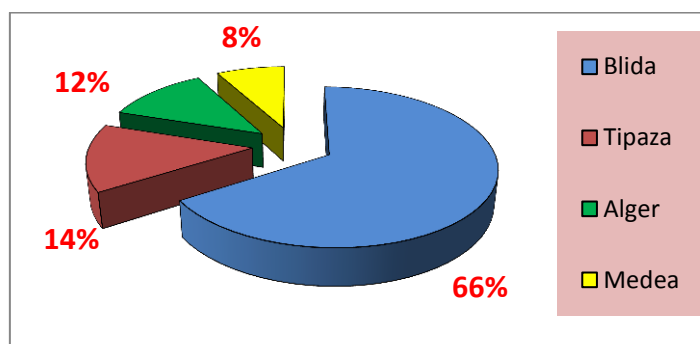


Figure 2. Répartition des vétérinaires enquêtés par wilaya.

Sur un total de cinquante (50) questionnaires récoltés auprès des vétérinaires praticiens exerçant dans les différentes localités s'y trouvant dans les wilayas du centre essentiellement celles qui alimentent la laiterie, nous avons compté:

- Trente-trois (33) vétérinaires exerçant dans la wilaya de Blida, soit un taux de 66%.
- Sept (07) vétérinaires exerçant dans la wilaya de Tipaza, soit un taux de 14%.
- Six (06) vétérinaires exerçant dans la wilaya d'Alger, soit un taux de 12%.
- Quatre (04) vétérinaires exerçant dans la wilaya de Médéa, soit un taux de 08%.

Question n°02: Vous intervenez en élevage bovin laitier?

Les réponses obtenues sont rapportées dans le tableau VIII, **annexe IV** et illustrées dans la figure 03.

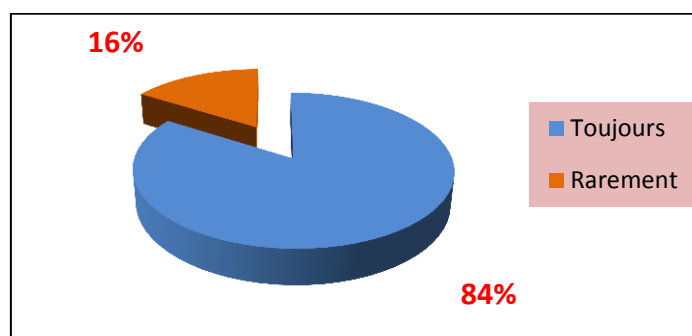


Figure 03. Fréquence de l'intervention des vétérinaires en élevage bovin laitier.

Nous avons constaté que la majorité des vétérinaires interrogés, soit un taux de 84% interviennent toujours en élevage bovin laitier, alors que 16% des vétérinaires n'interviennent que rarement.

Question n°03: Quelles sont les maladies les plus fréquemment rencontrées, traitées par les antibiotiques?

Les pathologies les plus fréquemment rencontrées en élevage bovin laitier et qui nécessitent un traitement antibiotique sont rapportées dans le tableau IX, **annexe IV** et représentées dans la figure ci-dessous.

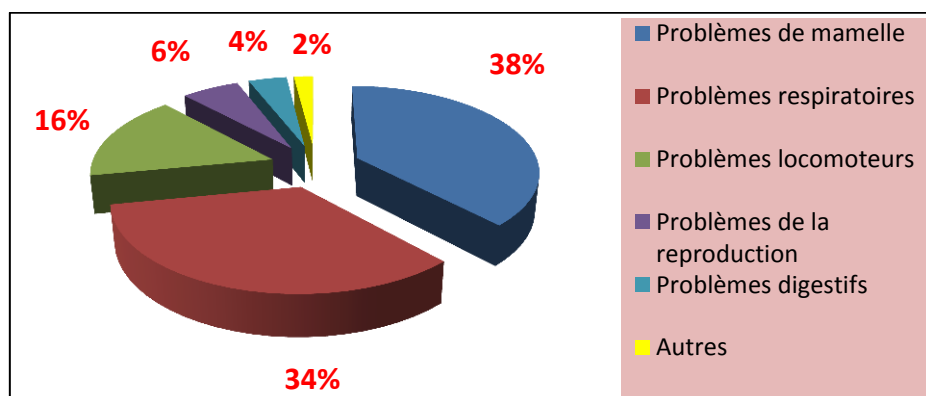


Figure 4. Fréquence des pathologies les plus fréquentes traitées par les antibiotiques.

D'après ces résultats, le contexte pathologique le plus fréquent motivant le recours aux antibiotiques concernait les problèmes de la mamelle dans 38% des cas, suivies des problèmes respiratoires dans 34% des cas et des problèmes locomoteurs dans 16% des cas. Les catégories gynécologie-obstétrique et problèmes digestifs représentaient respectivement 06% et 04 % des cas. Les autres pathologies tels les problèmes ophtalmiques, cutanés, urinaires représentent 02% des cas.

Question n°04: Quels sont les antibiotiques les plus utilisés par voie intra mammaire? Les antibiotiques les plus utilisés par voie intra mammaire sont représentés dans le tableau X ; **annexe IV**. La figure 05 illustre la répartition des molécules d'antibiotiques utilisées par voie intra mammaire; en lactation et hors lactation.

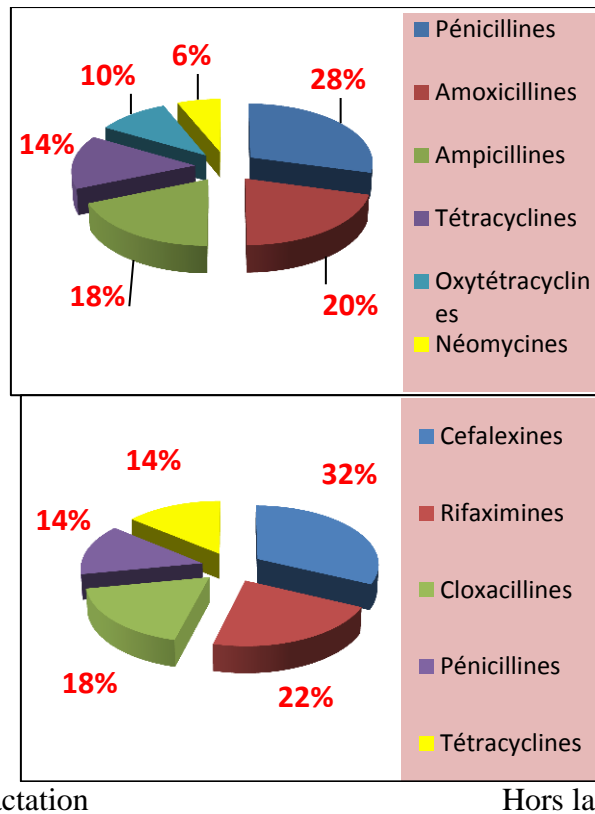


Figure 5. Répartition des molécules d'antibiotiques utilisées par voie intra mammaire (en lactation et hors lactation)

Les résultats montrent que les antibiotiques les plus largement utilisés par voie intramammaire en lactation sont ceux de la famille des bêta-lactamines, soit un taux de 66% (les pénicillines, suivies par les amoxicillines, les ampicillines) suivies par les tétracyclines, soit un taux de 24% (tétracyclines et oxytétracyclines). Les aminosides représentés par les néomycines sont moins utilisés avec un pourcentage de 06%.

Par ailleurs, hors lactation, les bêta-lactamines restent la première famille d'antibiotique la plus utilisée (64%), suivies par les lincosamides représentées par les rifaximines, soit un taux de 22%. Ces deux familles sont suivies par les tétracyclines dont le pourcentage est de 14%.

Question n°05: Quels sont les antibiotiques les plus utilisés par voie générale?

Les antibiotiques les plus utilisés par voie générale sont rapportés dans le tableau XI; annexe IV et représentés dans la figure ci-dessous.

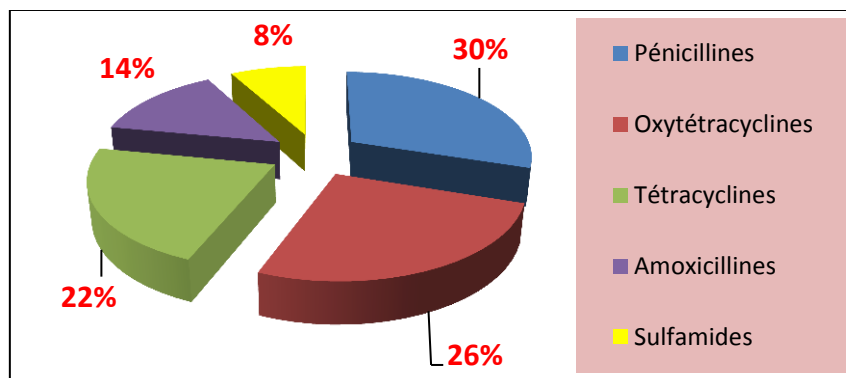


Figure 6. Les antibiotiques les plus utilisés par voie générale.

D'après les résultats, l'usage des antibiotiques par voie générale varie considérablement d'une molécule à l'autre; les pénicillines (30%), suivies des oxytétracyclines (26%) et de tétracyclines (22%). Les amoxicillines et les sulfamides présentent respectivement un pourcentage de 14% et de 08%.

Question n°06: Sur quel critère faites-vous le choix des antibiotiques que vous prescrivez?

Les motifs du choix de l'antibiotique utilisé sont illustrés dans la figure 07.

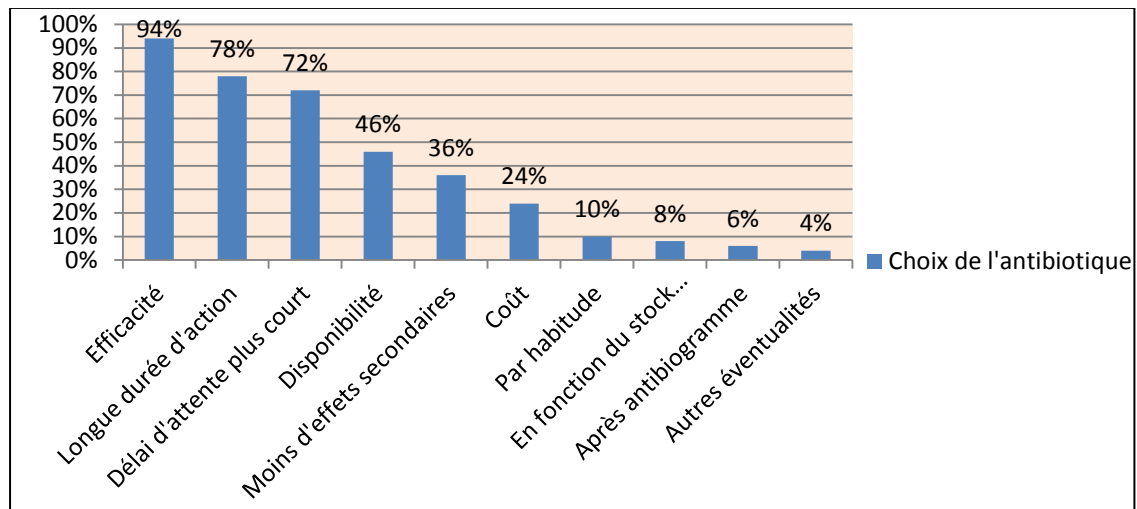


Figure 7. Motifs du choix des antibiotiques prescrits.

Les résultats montrent que 72% des vétérinaires choisissent l'antibiotique pour un délai d'attente plus court et 78% pour la longue durée d'action, alors que 94% le choisissent selon l'efficacité.

Question n°07: Après l'administration d'un antibiotique, conseillez-vous l'éleveur de respecter le délai d'attente?

La figure 08 représente la fréquence de sensibilisation de l'éleveur pour le respect du délai d'attente par les vétérinaires.

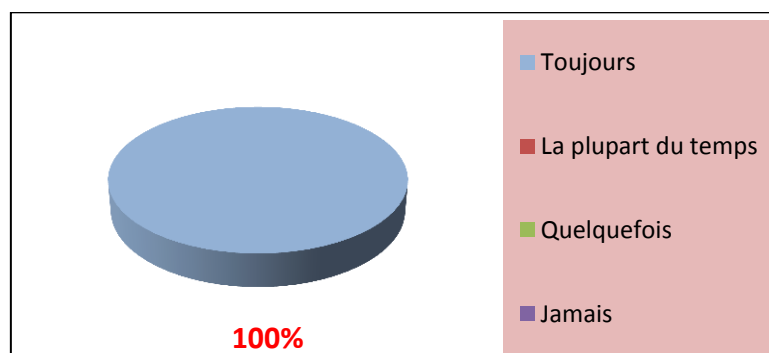


Figure 8. Fréquence de conseil pour la sensibilisation de l'éleveur pour le respect du délai d'attente par les vétérinaires.

Les résultats montrent que la totalité des vétérinaires, soit un taux de 100% conseillent toujours aux éleveurs de respecter le délai d'attente.

Question n°08: Informez-vous les éleveurs sur les risques engendrés par le non-respect du délai d'attente?

La figure 09 représente le taux d'information des éleveurs sur les risques engendrés par le non-respect du délai d'attente.

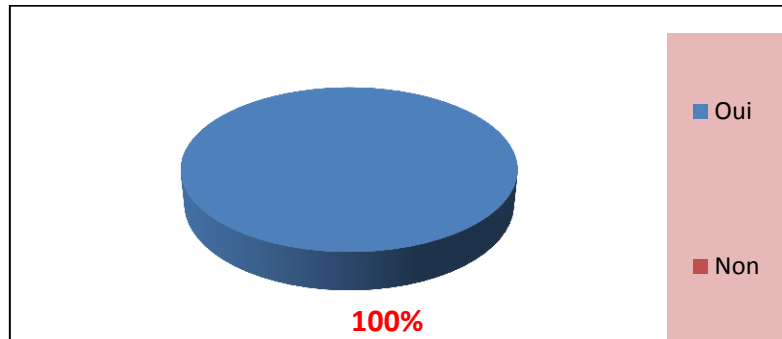


Figure 9. Information des éleveurs sur les risques engendrés par le non-respect du délai d'attente.

Les réponses montrent que 100% des vétérinaires interrogés informent les éleveurs sur les risques engendrés par le non-respect du délai d'attente.

Question n°09: Vos éleveurs respectent le délai d'attente?

Les réponses obtenues concernant le respect du délai d'attente par les éleveurs sont représentées dans la figure 10.

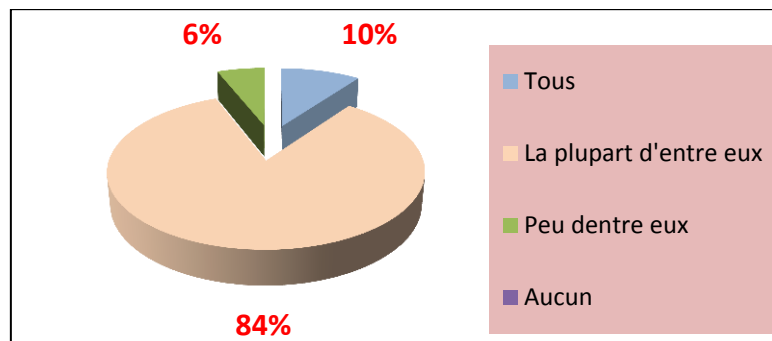


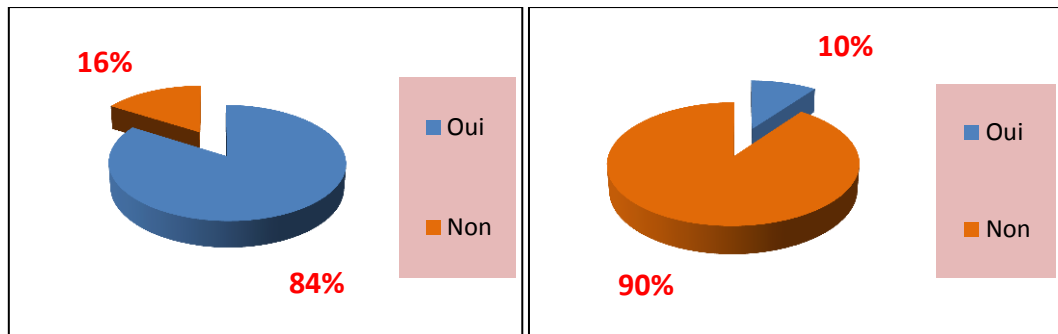
Figure 10. Fréquence des réponses concernant le respect du délai d'attente par les éleveurs.

Les résultats montrent que:

- Quarante-deux (42) vétérinaires, soit un taux de 84% affirment que la plupart des éleveurs respectent le délai d'attente.
- Cinq (05) vétérinaires, soit un taux de 10% confirment que tous les éleveurs respectent le délai d'attente.
- Trois (03) vétérinaires, soit un taux de 6% confirment que peu d'entre eux respectent le délai d'attente.

Question n°10: vos éleveurs traitent-ils eux même par les antibiotiques?

La figure 11 représente la fréquence d'utilisation des antibiotiques par les éleveurs.



Traitement des mammites par les éleveurs Traitement d'autres pathologies par les éleveurs

Figure 11. Pourcentage des réponses concernant l'utilisation des antibiotiques par les éleveurs.

D'après les résultats, 84% confirment que les éleveurs traitent par eux même les mammites et 90% pensent que les éleveurs ne traitent pas par eux même les autres pathologies.

4. DISCUSSION

Afin d'actualiser les données existantes sur les molécules d'antibiotiques les plus utilisées en élevage bovin laitier, une enquête par questionnaire a été réalisée auprès des vétérinaires permettant de déterminer les molécules d'antibiotiques les plus utilisées en élevage bovin laitier.

Les vétérinaires interrogés sont tous des praticiens, ils ont été choisis au hasard, le seul critère retenu a été leur investissement dans le traitement de l'élevage bovin laitier en particulier.

On n'a pas trouvé de problème concernant les vétérinaires praticiens surtout en élevage bovin laitier pour les wilayas de Blida, Médéa et Tipaza, par contre pour la wilaya d'Alger, la plupart des vétérinaires sollicités sont dans d'autres secteurs surtout la canine.

D'après les résultats du questionnaire obtenus, l'intervention des vétérinaires interrogés en élevage bovin laitier est vraiment importante avec un taux de 84%.

L'infection mammaire est la maladie la plus fréquemment rencontrée avec un taux de 38% suivie par les problèmes respiratoires, locomoteurs et de la reproduction, soit un taux de 34%, 16% et 06% respectivement. Cette dominance de mammite est expliquée par une hygiène insuffisante lors de la technique de traite, un mauvais entretien ou fonctionnement du matériel de traite, des plaies au niveau du trayon et la présence d'une flore pathogène trop importante dans l'environnement (hygiène insuffisante de l'environnement des vaches dans l'élevage) (**Anonyme, 2006**).

Différents travaux ont rapporté un taux élevé de mammite en élevage bovin laitier, une étude réalisée en France (**2007**) par **Chatellet** a signalée que 80% des élevages étaient atteints de mammite, 33% atteints de pathologie respiratoire et 10% touchés par une pathologie podale. **Gay et ses collaborateurs (2007)** en France, ont montré que les pathologies les plus fréquentes sont celles de la reproduction, soit un taux de 22% suivies par les problèmes respiratoires (19%) et de la mamelle (16%). Un travail réalisé par **Tarzaali (2008)** a montré que les infections respiratoires (26,50%) et mammaires (24,95%) sont les pathologies les plus fréquemment traitées par les antibiotiques en élevage bovin laitier. Une étude réalisée par **Cazeau et al en 2010**, a rapporté un pourcentage des infections mammaires de 37% suivie par les problèmes locomoteurs et respiratoires présentant respectivement un taux de 14% et 11%.

Les résultats obtenus ont montré une utilisation importante des pénicillines et amoxicillines (soit un taux de 28% et 20% respectivement) suivies par les tétracyclines et oxytétracyclines (soit un taux de 14% et 10% respectivement). Cette dominance peut s'expliquer par plusieurs raisons : l'efficacité et la disponibilité du produit qui restent un critère très important pour le choix des antibiotiques (**Rahal et al., 2001**), le délai d'attente plus court (72% d'après notre questionnaire), ainsi que le large spectre d'action de ces molécules (**Boultif, 2009**).

Plusieurs travaux ont rapporté l'utilisation importante des molécules d'antibiotiques appartenant de la famille des bêta-lactamines et tétracyclines. **Chatellet (2007)** a montré que les pénicillines ont été les plus utilisées, avec un taux de 41% suivies des céphalosporines, avec un taux de 10% alors que les tétracyclines représentaient un pourcentage de 02%. Une étude réalisée par **Gay et ses collaborateurs en 2007**, a rapporté un taux élevé d'utilisation des pénicillines (45%) suivies par les tétracyclines (37%) et les aminosides (35%). **Tarzaali (2008)** a rapporté une utilisation de 16,53% d'oxytétracyclines et de 14,61% de pénicillines. L'étude de **Cazeau et ses**

collaborateurs (2010) a montré que la famille des aminosides a été la plus utilisée, soit un taux de 45% suivie des pénicillines et tétracyclines avec un pourcentage de 41,5% et 30% respectivement.

Par rapport au respect du délai d'attente, nos résultats montrent que 84% des vétérinaires confirment que la plupart des éleveurs respectent le délai d'attente, cela peut être expliqué par la conscience de ces derniers vis-à-vis des risques de la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait, ainsi que l'impact de la réglementation en vigueur qui est appliquée sur les éleveurs qui sont conventionnés avec les laiteries. Une minorité de vétérinaires (06%) pensent que peu d'éleveurs respectent le délai d'attente, cela est peut être justifié par l'habitude des éleveurs de ne pas respecter le délai d'attente et par leurs intérêts économiques qui sont plus importants que la santé publique.

Différents travaux ont traité le problème du respect ou non du délai d'attente. L'étude réalisée par **Rahal et ses collaborateurs (2001)** a montré que plus de 50% des éleveurs ne respectent pas le délai d'attente. **Boultif (2014)** a rapporté que 15% des vétérinaires interrogés pensent que le respect du délai d'attente par les éleveurs est bon, 50% disent qu'il est moyen et 35% montrent qu'il est mauvais.

VOLET 2 : Au laboratoire

Pour répondre au 2^{ème} objectif, nous avons utilisé le Delvo test SP comme méthode de screening pour tous les prélèvements, suivi de Beta Star Combo pour la recherche des résidus de bêta-lactamine et de tétracycline dans les laits positifs et douteux. La recherche de ces deux familles d'antibiotiques fait suite aux résultats obtenus par le traitement des réponses du questionnaire, qui a révélé que ces antibiotiques sont les plus utilisés en élevage bovin laitier.

Cadre de l'étude

L'expérimentation de cette partie s'est déroulée durant la période de mars à mai 2017. Les analyses ont été réalisées au laboratoire d'une laiterie située dans la ville de Blida; wilaya de Blida.

A. Recherche des inhibiteurs dans le lait cru de vache par Delvo test SP

Cette recherche est réalisée par le Delvo test SP qui est un test à large spectre permettant la détection des inhibiteurs tels que les immunoglobulines, le lysozyme, les résidus lessiviels et les antibiotiques dans le lait cru de collecte (CNIEL, 2012).

1. MATERIEL

1.1. Matériel biologique

Origine des échantillons

La recherche des inhibiteurs dans le lait cru de vache a été effectuée sur 117 échantillons de lait cru collectés à partir des camions citernes, provenant des élevages bovins laitiers agréés par les services vétérinaires localisés dans les wilayas de Blida, Alger, Tipaza, Médéa et Ain Temouchent qui livrent leur production à la laiterie.

Ces laits sont destinés à la consommation humaine en tant que lait pasteurisé ou bien transformés en lait caillé, petit lait et fromage frais.

1.2. Matériel non biologique

- Le kit Delvo test SP

Ce kit d'analyse est composé de (figure 12) :

- Cents ampoules renfermant un milieu gélosé solide violacé contenant un indicateur de pH et du triméthoprime,ensemencé par un germe test (*Bacillus stearothermophilus.var.calidolactis*) et enrichis en éléments nutritifs de croissance.
- Micropipettes stériles de 0,1ml pour le prélèvement des échantillons de lait, fournies avec le kit.
- Un incubateur.

- Le matériel de collecte et de laboratoire est présenté dans l'**annexe V**.

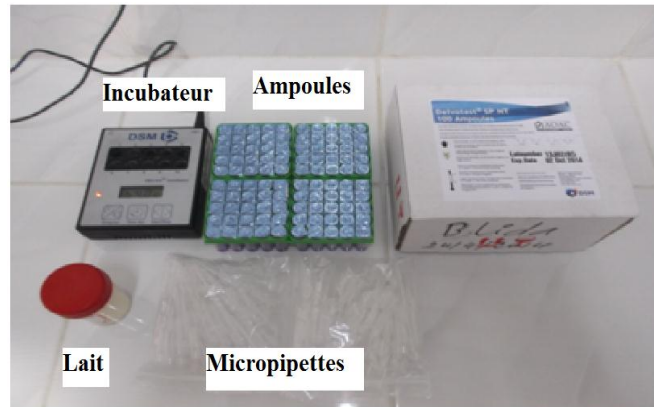


Figure 12. Le kit Delvo test SP (photo originale).

2. METHODES

2.1. Conditions de prélèvement du lait

Les prélèvements de lait cru ont été effectués à partir des citernes par les techniciens de la laiterie à l'aide d'une louche en acier, dès l'arrivée des camions citernes dans le cadre d'un contrôle de qualité. Ils sont recueillis dans des flacons en plastiques stériles, étiquetés et identifiés, puis conservés dans une glacière à + 4°C pour être acheminés vers le laboratoire et stockés au congélateur jusqu'au jour de leur analyse par le Delvo test SP.

2.2. Analyse par Delvo test SP

Nous avons choisi cette méthode pour le large spectre des antibiotiques identifiés et la sensibilité du test.

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

- Laver et sécher soigneusement les mains avant de manipuler le kit.
- Allumer l'incubateur jusqu'à stabilisation de la température à 64,2°C
- Enlever le nombre d'ampoules nécessaires du kit.
- Replacer les ampoules restantes dans des conditions adéquates. Si la température des ampoules non utilisées monte jusqu'à la température ambiante, cela risque de réduire la durée de conservation du test.
- Identifier les ampoules par des chiffres.
- Ouvrir les ampoules en perçant un trou dans la feuille d'aluminium, avec la pointe de la microplaque (figure 13). Ne pas manipuler les ampoules de façon brusque, car le milieu gélosé risque d'être décollé; cela peut affecter la qualité de coloration du test lors de la lecture des résultats.

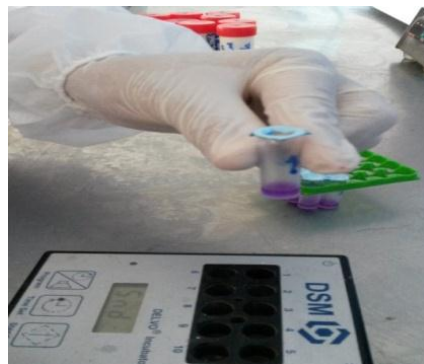


Figure 13. Ouverture de la feuille d'aluminium (photo originale).

- Agiter l'échantillon de lait à analyser.
- Prélever 100µl de l'échantillon de lait par micropipette jetable (figure 14).



Figure 14. Prélèvement du lait (photo originale).

- changer de micropipette jetable à chaque nouvel échantillon de lait testé.
- Verser ensuite la totalité de l'échantillon de lait prélevé dans l'ampoule identifiée correspondante.
- Placer les ampoules dans les puits de l'incubateur à 64±0.5°C pendant 3h et les couvrir avec le papier aluminium (figure 15).



Figure 15. Couverture et incubation des ampoules (photo originale).

Lecture

Après 3 heures d'incubation à 64,3°C, retirer les ampoules de l'incubateur et lire les résultats. Les résultats doivent être lus dans les 2/3 inférieurs de l'ampoule (figure 16).

- Une coloration jaune indique l'absence de substance antibactérienne (a).
- Une coloration jaune/violette indique la présence de substance antibactérienne à une concentration égale ou inférieure au seuil de détection (b).
- Une coloration violette indique la présence de substance d'antibiotique inhibitrice dans l'échantillon de lait analysé à une concentration égale ou supérieure au seuil de détection (c).



a. Positif



b. Douteux



c. Négatif

Figure 16. Lecture des résultats (photo originale).

3. RESULTATS

Les résultats détaillés de la recherche des inhibiteurs dans les 117 échantillons de lait cru de citerne par le Delvo test SP sont rapportés dans l'annexe VI et leur synthèse est rapportée dans le tableau suivant.

Tableau XIII. Résultats globaux de la recherche des inhibiteurs dans les laits de citernes par le Delvo test SP.

| | Nombre de citerne analysé | Résultats | | | | | |
|-----------------------|---------------------------|-----------|--------------|------------|--------------|-----------|--------------|
| | | Positif | | Négatif | | Douteux | |
| | | Nombre | % | Nombre | % | Nombre | % |
| Blida | 99 | 05 | 05,05 | 90 | 90,90 | 04 | 04,04 |
| Alger | 10 | 00 | 00 | 07 | 70 | 03 | 30 |
| Tipaza | 05 | 00 | 00 | 05 | 100 | 00 | 00 |
| Médéa | 02 | 00 | 00 | 01 | 50 | 01 | 50 |
| Ain Temouchent | 01 | 00 | 00 | 00 | 00 | 01 | 100 |
| Total | 117 | 05 | 04,27 | 103 | 88,08 | 09 | 07,69 |

Les résultats montrent que :

- Cent trois (103) échantillons de lait sur 117 analysés ne sont pas contaminés soit un taux de 88,03%.
- Quatorze (14) échantillons de lait sur 117 analysés révèlent la recherche des inhibiteurs soit un taux de 12% dont:
 - Cinq (05) échantillons ont répondu positivement au Delvo test SP, soit un taux de 04,27%
 - Neuf (09) échantillons sont considérés comme douteux, soit un taux de 07,69%.

Ces résultats sont représentés dans la figure ci-dessous.

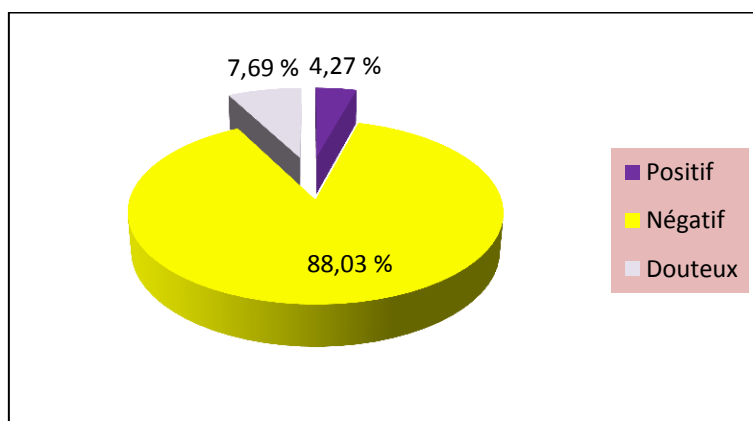


Figure 17. Pourcentage de la contamination du lait cru de citerne par des inhibiteurs.

B. Recherche des résidus de bêta-lactamine et de tétracycline par Beta Star Combo

1. MATERIEL

1.1. Matériel biologique

Les quatorze (14) échantillons de laits positifs (05) et douteux (09), détectés par le Delvo test SP ont fait l'objet de la recherche des résidus de bêta-lactamine et de tétracycline par le Beta Star Combo.

1.2. Matériel non biologique

- Le kit d'analyse, Beta Star Combo,
Le kit est composé de: (figure 18)
 - 25 flacons de récepteurs.
 - 1 flacon blanc contenant 25 bandelettes.
 - micropipettes stériles de 0,2ml pour le prélèvement des échantillons de laits, fournies avec le kit.
 - Un incubateur
- Le matériel de laboratoire utilisé est rapporté en **annexe V**.



Figure 18. Le kit Beta Star Combo (photo originale).

2. METHODES

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

- Sortir un flacon de récepteurs du coffret et s'assurer que tout le lyophilisat se trouve au fond du flacon.
- Enlever la capsule et le bouchon du flacon de récepteur.
- Prélever 0,2ml de lait à tester.
- Distribuer les 0.2ml de lait dans le flacon de récepteur.
- Agiter doucement en tournant le flacon afin de dissoudre tout le lyophilisat et mettre ce dernier dans un des puits de l'incubateur stabilisé à la température de $47 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ (figure 19).



Figure 19. Agitation et mise en place du flacon dans l'incubateur (photo originale).

- Au bout de 2 minutes, les mains propres et sèches, ouvrir le flacon blanc et prendre une bandelette.
- Introduire la bandelette dans le flacon, et laisser en incubation à $47 \pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 3 minutes (figure 20).
- Retirer la bandelette et lire immédiatement le résultat (figure 21).
- Retirer le filtre au pied de la bandelette pour archiver celle-ci.



Figure 20. Introduction de la bandelette (Photo originale).



Figure 21. Lecture de résultat (Photo originale).

Lecture

Retirer la bandelette et faire la lecture visuelle en interprétant l'intensité de la couleur comme suit (figure 22) :

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

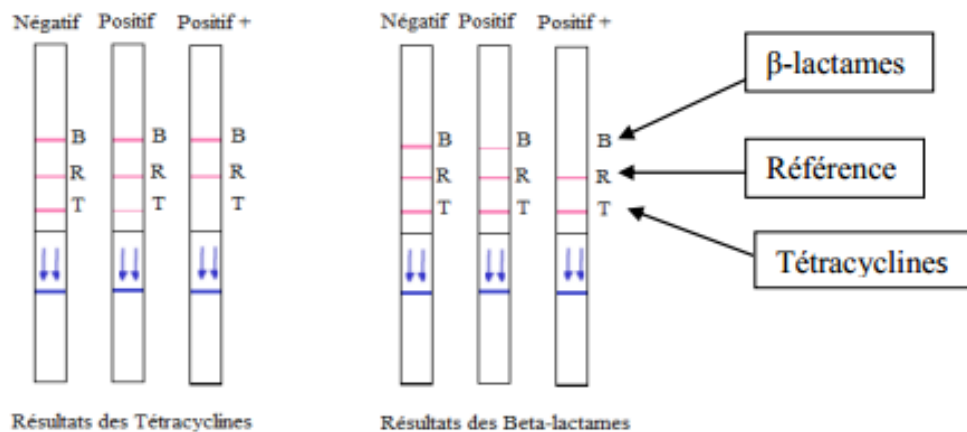


Figure 22. Lecture des résultats.

3. RESULTATS

Seuls les échantillons positifs ou douteux sont soumis au test Beta star Combo. Les résultats de la recherche des résidus de bêta-lactamines et de tétracyclines, obtenus par le Beta star Combo sur les quatorze (14) échantillons de laits de citernes contaminés, sont représentés dans l'annexe VI et leur synthèse est rapportée dans le tableau suivant.

Tableau XV. Résultats globaux de la recherche des résidus de bêta-lactamines et de tétracyclines confondus dans les laits crus contaminés.

| | Nombre d'échantillon analysé | Résultats | | | |
|--------------|------------------------------|-----------|-------|---------|-------|
| | | Positif | | Négatif | |
| | | Nombre | % | Nombre | % |
| Total | 14 | 05 | 35,71 | 09 | 64,28 |
| | 117 | 05 | 04,27 | 112 | 95,72 |

Les résultats obtenus montrent des réponses positives et négatives aussi bien pour les bêta-lactamines que pour les tétracyclines des laits contaminés.

Ces résultats sont représentés dans la figure ci-dessous.

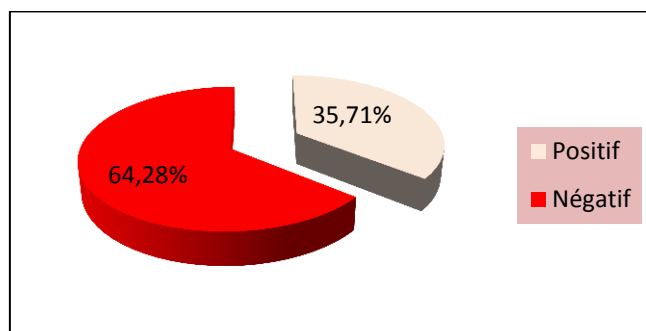


Figure 23. Pourcentage de la contamination du lait cru par les résidus d'antibiotiques

B.1. Résultats de la recherche des résidus de bêta-lactamines:

Les résultats de la recherche des résidus de bêta-lactamines sur les quatorze (14) échantillons de laits crus contaminés sont rapportés dans le tableau suivant.

Tableau XVI. Résultats de la recherche des résidus de bêta-lactamines dans les laits crus de citernes contaminés.

| Résultats des bêta-lactamines | | | | |
|-------------------------------|--------------|-------|--------------|-------|
| Nombre d'échantillon analysé | Positifs (+) | | Négatifs (-) | |
| | Nombre | % | Nombre | % |
| 14 | 03 | 21,42 | 11 | 78,57 |
| 117 | 03 | 2,56 | 114 | 97,43 |

Les résultats montrent que :

- Trois (03) échantillons sont positifs, soit un taux de 21,42 %,
- Onze (11) échantillons sont négatifs, soit un taux de 78,57 %.

Ces résultats sont illustrés dans la figure 24.

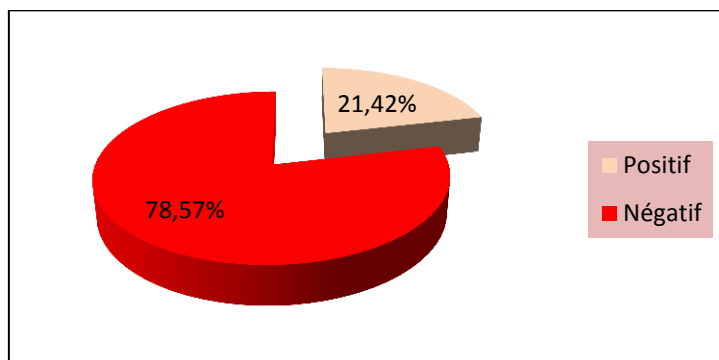


Figure 24. Pourcentage de la contamination du lait cru de vache par les résidus de bêta-lactamines

B.2. Résultats de la recherche des résidus de tétracyclines

Les résultats de la recherche des résidus de tétracyclines sur les quatorze (14) échantillons de laits crus contaminés sont rapportés dans le tableau suivant.

Tableau XVII. Résultats de la recherche des résidus de tétracyclines dans les laits crus de citerne contaminés.

| Résultats des Tétracyclines | | | | |
|------------------------------|--------------|-------|--------------|-------|
| Nombre d'échantillon analysé | Positifs (+) | | Négatifs (-) | |
| | Nombre | % | Nombre | % |
| 14 | 02 | 14,28 | 12 | 85,71 |
| 117 | 02 | 1,70 | 115 | 98,29 |

Les résultats montrent que :

- Deux (02) échantillons sont positifs, soit un taux de 14,28 %,
- Douze (12) échantillons sont négatifs, soit un taux de 85,71 %.

La figure ci-après illustre ces résultats :

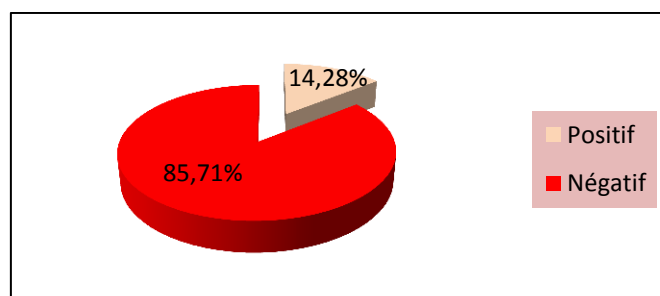


Figure 25. Pourcentage de la contamination du lait cru par les résidus de tétracyclines.

4. DISCUSSION

La recherche des inhibiteurs dans les laits de citernes au niveau d'une laiterie de la wilaya de Blida a été réalisée au moyen du Delvo test SP comme méthode de screening.

Le choix du test a porté sur le Delvo test SP qui offre un large spectre de détection et présente une sensibilité voisine des seuils LMR. Il est facile à employer et accessible à tout le monde, il faut un minimum de rigueur pour mener à bien l'analyse (**Romnée, 2009 ; Reybroeck, 2004 ; Verhnes et Vandaele, 2002**). Le principal inconvénient du Delvo test SP est sa durée: 2h30 à 3 heures (**Brouillet, 2002 ; Verhnes et Vandaele, 2002**), il peut éventuellement être perturbé par les inhibiteurs naturels (immuno-globulines, lysozymes, leucocytes, ect), qui peuvent le rendre positif.

Les résultats ont montré : 12% des laits crus testés (04,27% laits positifs et 07,69% laits douteux) sont contaminés par des substances inhibitrices et 88% sont exempt d'inhibiteurs.

Ces résultats seront discuter cas par cas :

- Pour les résultats positifs, l'analyse des cent dix-sept (117) échantillons de lait cru de citernes au moyen du Delvo test SP sans tenir compte de leurs différentes origines; ont montré que cinq (05) échantillons de lait cru parvenus à la laiterie de Blida étaient positifs, soit un taux de 04,27%. Nous pouvons dire dans ce cas que la présence des résidus d'antibiotiques dans ces laits crus est à une concentration supérieure au seuil de détection. Cette positivité observée est un signe de positivité des laits d'élevages.

Nous supposons que la contamination du lait cru par les inhibiteurs en général et les résidus d'antibiotiques en particulier est due à plusieurs origines parmi lesquelles :

- Le non-respect de la période colostrale; où les cellules du système immunitaire sont en quantités importantes (**Fabre et al, 1996 ; Form, 2003**).
- Les antiseptiques utilisés pour la désinfection des surfaces en contact avec le lait (matériel de traite, lavettes, peau des trayons,...ect) (**Anonyme a, 2012**).
- Cas d'une infection mammaire; où il y a une présence anormale d'inhibiteurs naturels tels: lysozyme, immunoglobulines, ect (**Form, 2003**).
- Le non-respect des posologies (augmentation/diminution des doses et/ou rythme d'administration).
- Le non-respect des protocoles de traitement des produits administrés par voie intramammaire est fréquemment mis en cause, dans 38% des cas selon l'enquête de **Fabre et al (1996)**.
- Le non-respect des délais d'attentes dans les pays en développement (l'éleveur ne connaît pas ou ne respecte pas les règles d'utilisation des médicaments) (**Fagbamila et al., 2010**).
- Le transfert accidentel du lait contaminé dans la citerne de stockage du lait sain (**Sraïri et al., 2005**).
- Contamination volontaire : une pratique, aujourd'hui quasiment révolue, consistait à introduire frauduleusement des antibiotiques ou du peroxyde d'hydrogène dans le lait pour améliorer la qualité bactériologique (**Hamiroune et al., 2014**).

Différents travaux ont rapporté la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait cru aussi bien le lait de citernes que le lait d'élevage et même au point de vente pour le

circuit informel. Ces études ont utilisé pour le dépistage des résidus différents tests et méthodes qui existent parmi lesquels le Delvo test SP et la méthode microbiologique. Parmi ces études nous pouvons citer au niveau Algérien; En **2008**, le travail de **Tarzaali en 2008**; a montré un taux de contamination de 26% des laits d'élevages alimentant la laiterie de Beni Tamou, wilaya de Blida. **Aggad et ses collaborateurs (2009)** rapportent un taux de positivité de 28,9% des laits testés dans l'ouest algérien. L'étude d'**Ouslimani (2009)** dans les régions d'Alger et de Boumerdes avec un taux de contamination de 9.87%. L'étude réalisée par **Farhat et Sardoni en 2014** dans la région de Tizi Ouzou qui a rapporté un taux de contamination très faible soit de 0.85%. Un travail de master réalisé par **Mansour en 2014** au niveau des points de vente de la région de Blida; rapporte un taux de contamination de 39% dont 26% positifs et 13% douteux. L'étude d'**Hamiroune et ses collaborateurs (2014)** montre un taux de positivité de 28,7% dans les régions de Jijel et Blida. **Boultif (2015)** a rapporté que sur 120 échantillons analysés, 40% sont contaminés au moyen du Delvo test.

A l'échelle internationale; **Bonfoh (2003)** à Bamako rapporte un taux de contamination de 16.70% des laits prélevés au niveau des points de vente directe. **Zinedine et al (2007)** au Maroc, a montré une contamination de 42,87% des laits crus analysés. Un travail de master réalisé par **Issa Garba en 2012**, a rapporté une contamination de six échantillons (soit un taux de 11%) sur 54 laits testés en Mauritanie. Une étude réalisée par **Memili (2013)** montre un taux de positivité de 90% des laits commercialisés à Greensboro (Etats Unis).A Ouagadougou, le travail de **Bagre et ses collaborateurs (2015)**; a montré une contamination de 59,70% des produits laitiers consommés.

- Pour les résultats négatifs, sur un total de cent dix-sept (117) échantillons de lait cru analysés, cent trois (103) échantillons sont considérés comme négatifs, soit un taux de 88,08%.

Les résultats obtenus reflètent l'amélioration des pratiques thérapeutiques par les vétérinaires et la conscience des éleveurs vis-à-vis des risques de ces résidus sur la santé du consommateur ainsi que l'impact de la réglementation en vigueur qui est appliquée sur les éleveurs qui sont conventionnés avec les laiteries.

Cependant, la présence d'un taux élevé de lait négatifs dans les citernes n'est pas synonyme de salubrité de ses dernières car bien souvent nous pouvons être confronté à des laits qui contiennent des résidus d'antibiotiques, mais à des concentrations inférieures au seuil de détection du Delvo test par la limite maximum de résidus, ou à des laits qui contiennent des résidus d'antibiotiques qui ne s'expriment pas au Delvo test SP, en l'occurrence, l'acolistine et la rifaximine, malgré son large spectre de détection: risque de faux négatifs (**Tarzaali, 2008**). L'effet de dilution du lait peut également donner des résultats faussement négatifs. En plus, la mauvaise conservation du prélèvement peut permettre la croissance d'une flore de contamination, qui pourra provoquer une acidification du lait ou une destruction de certains antibiotiques (**Brouillet, 1994**).

- Pour les résultats douteux, nous avons trouvé neuf (09) échantillons douteux, soit un taux de 07,69%.Ceux-ci pourraient s'expliquer par la concentration des résidus d'antibiotiques dans le lait cru proche du seuil de détection du test (**Tarzaali, 2008**).

Pour trancher dans ces résultats il faut faire passer les échantillons dans d'autres tests plus performants, telle la chromatographie en phase liquide (HPLC), l'ELISA ou la méthode officielle qui demandent plus d'argent et de temps.

La recherche des résidus de bêta-lactamines et de tétracyclines dans les laits contaminés a été réalisée au moyen de Beta Star Combo comme méthode de détection des deux familles les plus utilisées en élevage bovin laitier.

Le choix du test a porté sur le Beta Star Combo qui est un test rapide et simple permettant le contrôle des citernes de collecte avant dépotage ou pour répondre à toute demande urgente de recherche ou de confirmation de la présence de bêta-lactamines et/ou de tétracyclines au-dessous de la LMR (Limites Maximales de Résidus) dans un échantillon de lait (**Anonyme c, 2012**).

Les résultats ont montré que sur un total de quatorze (14) échantillons; cinq (05) sont positifs, soit un taux de 35,71% (dont 21,42% des laits positifs pour les bêta-lactamines et 14,28% pour les tétracyclines) et neuf (09) échantillons sont négatifs avec un taux de 64,28%.

Alors que sur l'ensemble des échantillons analysés soit 117 les résultats montrent un taux de positivité de 04,27% et de négativité de 95,72%.

- Pour les bêta-lactamines

Nos résultats montrent que sur quatorze (14) échantillons analysés trois (03) échantillons sont positifs, soit un taux de 21,42%, et onze (11) sont négatifs, soit un taux de 78,57%. Sur la totalité des laits (soit 117) 2,56% sont positifs pour les bêta-lactamines.

Comme nous avons conclu dans la 4^{ème} et la 5^{ème} questions de notre enquête, les bêta-lactamines malgré l'apparition progressive de nouvelles molécules d'antibiotiques, elles représentent encore les antibiotiques les plus actifs et les plus utilisés en clinique, ce qui explique un taux élevé des résidus de ces molécules dans le lait par rapport aux autres molécules.

Les résidus d'antibiotiques utilisés en thérapeutique animale sont parfois incriminés en allergologie humaine. Parmi les antibiotiques les plus souvent incriminés, sont les pénicillines appartenant à la famille des bêta-lactamines, ces molécules utilisées en médecine humaine; sont impliquées dans la majorité des cas d'allergie médicamenteuse (**Demoly et al., 2000**).

- Pour les tétracyclines

Sur les quatorze (14) échantillons de laits crus contaminés, deux (02) échantillons sont positifs, soit un taux de 14,28% et douze (12) sont négatifs, soit un taux de 85,71%. Sur la totalité des laits (soit 117) 1,70% sont positifs pour les tétracyclines.

Malgré l'ancienneté des tétracyclines, elles restent parmi les antibiotiques les plus utilisés en médecine vétérinaire en raison de leur large spectre d'activité, de leur faible toxicité et de leurs bonnes diffusions tissulaires, et cela leur donne l'avantage d'être utilisés contre diverses maladies et contre de nombreux germes (**Boultif, 2009**).

Différents travaux ont rapporté la présence de résidus de bêta-lactamines et de tétracyclines dans le lait cru aussi bien le lait de citerne que le lait d'élevage et même au point de vente pour le circuit informel. Ces études ont utilisé pour la détection des résidus de ces deux familles, différents tests et méthodes qui existent parmi lesquels le Beta Star Combo et Rosa test.

Parmi ces études nous pouvons citer au niveau Algérien; **Tarzaali et ses collaborateurs (2008)** ont donné un taux de 65,46% de positivité pour les bêta-lactamines et 98% pour les tétracyclines au moyen de Rosa test. **Ouslimani (2009)** a montré un taux de positivité en tétracyclines et/ou pénicilline de 97,33% dans la wilaya d'Alger et Boumerdes. Un travail de master réalisé par **Djemil (2015)**, a rapporté un taux de contamination de 39% pour les tétracyclines et 41% pour les bêta-

lactamines dans les laits crus consommés à Sidi Bel Abbes en utilisant la méthode de diffusion en gélose.

A l'échelle internationale; Entre 2003 et 2006, **Kress et Alentre** en Allemagne, ont montré que 95% des laits crus d'élevages ont été contaminés par les résidus de bêta-lactamines par le SNAP test. L'étude réalisée par **Romnée** en Belgique (**2009**), rapporte un taux de 60% de contamination par les bêta-lactamines. **Tona et Olusola (2014)** à Nigeria, ont montré une concentration moyenne de 0.0032 ± 0.0018 ppm pour la tétracycline en utilisant High Performance Liquid Chromatography. **Pogurschi et ses collaborateurs (2015)** ont rapporté que sur 42 laits testés; une contamination de 12 échantillons par les bêta-lactamines et 30 échantillons par les tétracyclines des laits d'élevages de Roumanie. A Ouagadougou, l'analyse de produits laitiers par la méthode microbiologique a montré une contamination de 51,72% des laits crus par les tétracyclines et 17,24% par les bêta-lactamines (**Bagre et al., 2015**).

PARTIE 2

La recherche des résidus d'antibiotique dans le lait cru de chèvre

Nous n'avons pas pu procéder à une enquête par questionnaire sur l'utilisation des antibiotiques en élevage caprin auprès des vétérinaires praticiens de la wilaya de Blida; étant donné qu'elle n'est pas à vocation caprine et que nos moyens ne permettent pas de se déplacer à Ghardaïa. De ce fait; notre travail a été restreint à des recherches bibliographiques permettant de répondre à cet objectif.

Les familles d'antibiotiques utilisées en élevage caprin sont comme suit (**Gueugnon, 2012**) :

- Les pénicillines (benzylpénicillines): 59,3%
- Les aminosides (streptomycine, néomycine): 49,5%
- Tétracyclines: 22 %
- Fluoroquinolones: 7%
- Céphalosporines, C3G, C4G: 6%

A. Recherche des inhibiteurs dans le lait cru de chèvre par Delvo test SP

1. MATERIEL

1.1. Matériel biologique

Origine des échantillons

Trente-trois (33) échantillons de lait cru de chèvre ont été collectés au niveau de 33 élevages caprins au niveau de la wilaya de Ghardaïa par des vétérinaires praticiens avec la collaboration d'une étudiante vétérinaire.

1.2. Matériel non biologique

Nous avons utilisé les mêmes kits pour la recherche que ceux utilisés dans la partie I.

2. METHODES

Les mêmes méthodes ont été réalisées que celles de la recherche des inhibiteurs dans le lait cru de vache (partie I).

3. RESULTATS

Les résultats détaillés de la recherche des inhibiteurs dans les 33 échantillons de lait cru de chèvre par le Delvo test SP sont rapportés dans l'annexe VI et leur synthèse est rapportée dans le tableau suivant.

Tableau XIX. Résultats globaux de la recherche des inhibiteurs dans le lait cru de chèvre par le Delvo test SP

| | Nombre d'échantillon analysé | Résultats | | | |
|--------------|------------------------------|-----------|-------|---------|-------|
| | | Positif | | Négatif | |
| | | Nombre | % | Nombre | % |
| Total | 33 | 05 | 15,15 | 28 | 84,84 |

Les résultats montrent que:

- Vingt-huit (28) échantillons de lait sur 33 analysés ne sont pas contaminés, soit un taux de 84,84 %.
- Cinq (05) échantillons de lait sur 33 testés ont répondu positivement au Delvo test SP, soit un taux de 15,15 %.

Ces résultats sont représentés dans la figure ci-dessous.

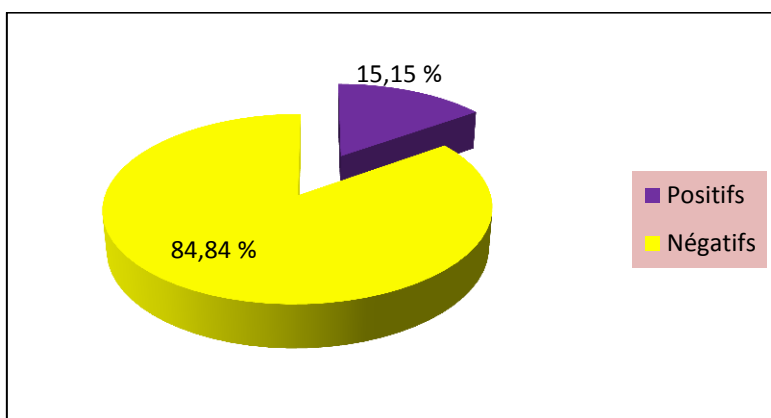


Figure 26. Pourcentage de la contamination du lait cru de chèvre par les inhibiteurs.

B. Recherche des résidus de bêta-lactamine et de tétracycline par Beta Star Combo

1. MATERIEL

1.1. Matériel biologique

Les cinq (05) échantillons des laits positifs détectés par le Delvo test SP, ont fait l'objet de la recherche des résidus de bêta-lactamine et de tétracycline par le Beta Star Combo.

1.2. Matériel non biologique

Nous avons utilisé le même matériel que celui de la partie I.

2. METHODES

On a utilisé les mêmes méthodes que celles de la recherche des résidus de bêta-lactamines et de tétracyclines dans le lait cru de vache.

3. RESULTATS

Seuls les échantillons positifs ou douteux sont soumis au test Beta star Combo. Les résultats de la recherche des résidus de bêta-lactamines et de tétracyclines, obtenus par le Beta star Combo sur les cinq échantillons de laits contaminés, sont représentés dans l'annexe VI et leur synthèse est rapportée dans le tableau suivant.

Tableau XXI. Résultats globaux de la recherche des résidus de bêta-lactamine et de tétracycline confondus dans les laits crus contaminés.

| | Nombre d'échantillon analysé | Résultats | | | |
|--------------|------------------------------|-----------|-------|---------|-------|
| | | Positif | | Négatif | |
| | | nombre | % | nombre | % |
| Total | 05 | 03 | 60 | 02 | 40 |
| | 33 | 03 | 09,09 | 30 | 90,90 |

Les résultats obtenus montrent des réponses positives et négatives aussi bien pour les bêta-lactamines que pour les tétracyclines des laits contaminés.

Ces résultats sont représentés dans la figure ci-dessous.

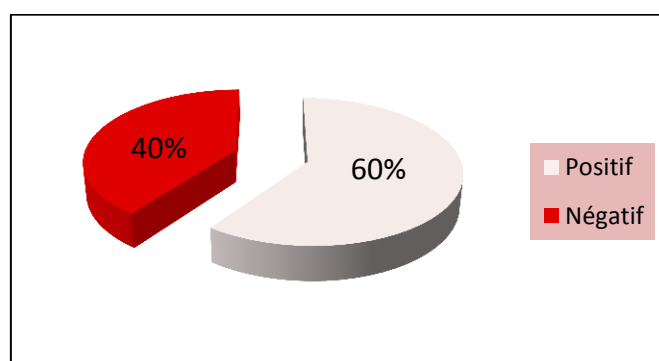


Figure 27. Pourcentage de la contamination du lait cru de chèvre par les résidus d'antibiotiques

B.1. Résultats de la recherche des résidus de bêta-lactamines

Les résultats de la recherche des résidus de bêta-lactamines sur les cinq (05) échantillons de laits crus contaminés sont représentés dans le tableau suivant.

Tableau XXII. Résultats de la recherche des résidus de bêta-lactamine dans les laits crus de chèvre contaminés.

| Nombre d'échantillon analysé | Résultats des bêta-lactamines | | | |
|------------------------------|-------------------------------|-------|--------------|-------|
| | Positifs (+) | | Négatifs (-) | |
| | Nombre | % | Nombre | % |
| 05 | 02 | 40 | 03 | 60 |
| 33 | 02 | 06,06 | 31 | 93,93 |

Les résultats montrent que:

- Deux (02) échantillons sont positifs, soit un taux de 40 %,
- Trois (03) échantillons sont négatifs, soit un taux de 60 %.

La représentation graphique de ces résultats est illustrée dans la figure 28.

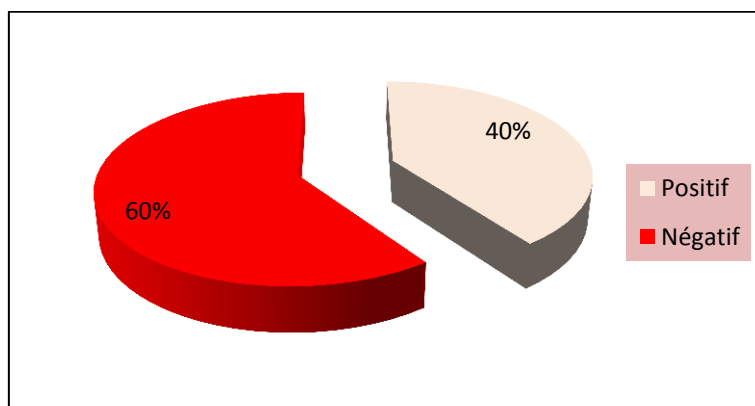


Figure 28. Pourcentage de la contamination du lait cru de chèvre par les résidus de bêta-lactamines

B.2. Résultats de la recherche des résidus de tétracyclines

Les résultats de la recherche des résidus de tétracyclines sur les cinq (05) échantillons de laits crus contaminés sont rapportée dans le tableau suivant.

Tableau XXIII. Résultats de la recherche des résidus de tétracyclines dans les laits crus de chèvre contaminés.

| Nombre d'échantillon analysé | Résultats des tétracyclines | | | |
|------------------------------|-----------------------------|-------|--------------|-------|
| | Positifs (+) | | Négatifs (-) | |
| | Nombre | % | Nombre | % |
| 5 | 01 | 20 | 04 | 80 |
| 33 | 01 | 03,03 | 32 | 96,96 |

Les résultats obtenus montrent que:

- Un (01) échantillon est positif, soit un taux de 20 %.
- Quatre (04) échantillons sont négatifs, soit un taux de 80 %.

La représentation graphique de ces résultats est illustrée dans la figure ci-dessous

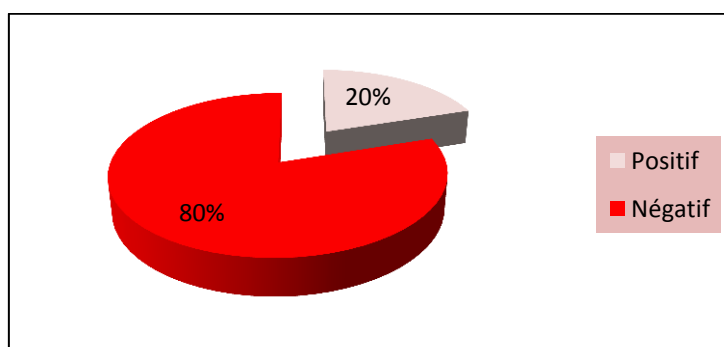


Figure 29. Pourcentage de la contamination du lait cru de chèvre par les résidus de tétracyclines

4. DISCUSSION

Pour la recherche des inhibiteurs dans les laits crus de chèvre, les résultats ont montré que sur une totalité de 33 échantillons analysés, cinq (05) échantillons se sont révélés positifs soit un taux de 15%, et 28 échantillons se sont révélés négatifs soit un taux de 85%.

Nous pouvons dire que la présence des résidus d'antibiotiques dans ces laits crus est à une concentration supérieure au seuil de détection. Nous supposons que la contamination du lait par les inhibiteurs en général et les résidus d'antibiotiques en particulier est due aux mêmes origines que pour le lait de vache à savoir : Le non retrait du lait d'une chèvre traitée, la mauvaise utilisation du produit et l'utilisation des antiseptiques pour la désinfection des surfaces qui sont en contact avec le lait (**Anonyme a, 2012**).

La recherche des résidus de bêta-lactamines et de tétracyclines, les résultats ont montré que sur un total de cinq (05) échantillons; trois (03) sont positifs (deux (02) pour les bêta-lactamines et un (01) pour les tétracyclines) soit un taux 60% et deux (02) échantillons sont négatifs avec un taux de 40%.

Alors que sur l'ensemble des échantillons analysés soit 117 les résultats montrent un taux de positivité de 09,09% et de négativité de 90,90%.

Cette négativité peut être expliquée par; l'utilisation d'autres familles d'antibiotiques autre que les bêta-lactamines et les tétracyclines, le respect du délai d'attente par les éleveurs, et des concentrations d'antibiotiques inférieures au seuil de détection du Beta Star Combo par la limite maximale de résidus (**Anonyme a, 2012**).

Différents travaux dans le monde ont rapporté la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de chèvre. En Thaïlande (**2008**), **Wasiksiri et ses collaborateurs** ont montré un taux de contamination de 22,7% des laits testés. En Iraq **Saadi Al-Dabbagh (2012)** a montré que sur 20 échantillons de lait de chèvre, 30% sont contaminés en utilisant la méthode microbiologique. En Mauritanie **Issa Garba en 2012**, a rapporté une contamination de 20 échantillons (soit un taux de 37%) sur 54 laits testés au moyen de Delvo test. à Bagdad **Hassan Ali et Orooba (2017)**, rapportent un taux de contamination de 45% dont 40% positifs et 05% douteux.

D'autres études ont rapporté la concentration des différentes molécules. Selon **Adetunji et Olaoye (2012)** au Nigeria les concentrations moyennes pour la pénicilline et l'amoxicilline sont de $0,2823 \pm 0,0123$ ppm et de $0,1222 \pm 0,0057$ ppm respectivement en utilisant High Performance Liquid Chromatography. **Tona et Olusola (2014)** au Nigeria, ont montré une concentration moyenne de 0.0040 ± 0.0011 ppm pour la tétracycline par HPLC.

Conclusion générale

Le lait reste dans la mémoire collective un excellent produit doué de qualités nutritionnelles importantes et est, généralement, considéré comme un allié important de la santé, dans ce cas, garantir au consommateur un lait et des produits laitiers de bonne qualité est un enjeu majeur pour le secteur laitier. Cette qualité est affectée par plusieurs contaminants ; parmi eux les antibiotiques.

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

Les résultats de notre enquête réalisée sur le terrain auprès des vétérinaires praticiens montrent, d'une part que les familles de bêta-lactamine et de tétracycline restent les plus utilisés dans le traitement des bovins laitiers en pathologies diverses. Et d'autre part, qu'il y'a une amélioration des pratiques d'élevage par rapport au respect du délai d'attente par les éleveurs et leur sensibilisation sur les risques engendrés.

Les résultats de la recherche des inhibiteurs par le Delvo test et les résidus de bêta-lactamine et tétracycline par le Beta Star Combo, ont montré un taux de contamination faible des laits cru de vache et de chèvre, ce qui reflète la mise en application de la réglementation par les éleveurs ainsi que par la laiterie où toutes les citernes de collecte sont systématiquement contrôlées dès leur arrivée, et la conscience de la plus part des éleveurs vis-à-vis des dangers liés à la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait pour le consommateur et l'industrie laitière.

Dans ce contexte, il est préférable d'impliquer et de renforcer davantage les démarches de maîtrise de la sécurité sanitaire et de la qualité du lait.

Recommandations

Afin de prévenir l'apparition des résidus d'antibiotiques dans le lait cru, nous recommandons un ensemble de mesures devant être prises à différents niveaux :

✓ Au niveau des élevages

- Identifier toutes les vaches qui ont été traitées à l'aide de bagues colorées ou de marqueurs de bétail.
- Afficher sur un panneau tous les renseignements relatifs aux traitements afin de s'assurer que les trayeurs sont au courant des vaches qui ont été traitées et du délai d'attente convenable.
- L'application rigoureuse de mesures zootechniques et hygiéniques, comprenant par exemple, l'amélioration des bâtiments et des conditions d'hébergement des animaux, l'amélioration qualitative et quantitative des rations alimentaires.

✓ Au niveau du vétérinaire

- Promouvoir l'éducation et la formation des éleveurs sur les bonnes pratiques de l'antibiothérapie, et les risques encourus lors des mauvaises pratiques.
- Le vétérinaire doit convaincre les éleveurs d'éliminer systématiquement le lait de la traite du quartier traité et celui des autres.
- Sensibiliser et éduquer les consommateurs, afin d'éviter l'achat de lait cru et des fromages issus de ce lait en bordure de route.

✓ Au niveau des laiteries

- Les laits des industries laitières dont certains sont détectés positifs doivent être rejetés impérativement et interdit à la vente au circuit informel (crémeries), il faut des mesures strictes de control d'élimination du lait contenant des résidus d'antibiotiques.
- Le paiement du lait à la qualité devrait impérativement être encouragé et inséré dans les procédures de la certification de conformité du lait afin d'assurer sa qualité qui est destiné aux consommateurs.
- Utilisation des tests permettant d'assurer une détection optimale des principales molécules d'antibiotiques susceptibles d'être présentes dans le lait.

✓ Au niveau des pouvoirs publics

- Renforcer la réglementation par la prise de texte réglementaire de traçabilité lors de la collecte avec un suivi rigoureux au moment de l'élaboration des produits transformés, pour assurer la sécurité du consommateur.
- Appliquer la réglementation relative à la salubrité concernant la gestion des élevages, les traitements vétérinaires, le respect des délais d'attente, mention des traitements vétérinaires sur des fiches de suivi, dans les élevages.

Références bibliographiques

1. **Abidi. K (2004)**. Résidus d'antibiotiques dans le lait de boisson. Thèse de Doctorat vétérinaire, École nationale de médecine vétérinaire de Sidi Thabet, Tunisie. p 6-23.
2. **Adetunji. V.O et Olaoye. O.O (2012)**. Detection of Beta-Lactam antibiotics (Penicillin and Amoxicillin) residues in Goat milk. Department of veterinary. University of Ibadan, Nigeria.
3. **Aggad. H, Mahouz. F, Ahmed Ammar. Y, Kihal. M (2009)**. Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien. *Revue Méd.Vét.*
4. **Ait Amer Meziane. L (2008)**. Aptitude des laits de chèvres et berbis à la coagulation par des protéases d'origine avicole. Thèse de Magister en science Agronomiques, 2008, pp.10-14.
5. **Alais. C (1984)**. Science de lait : principes des techniques laitières. 4ème édition, SEPAIC, Paris, p 814.
6. **Allain. P (2006)**. Bêta-lactamines, pénicillines et céphalosporines, Extrait du livre "Les médicaments" 3ème édition, <http://www.pharmacorama.com/Rubriques/Output>.
7. **Amiot. J, Fournier. S, Lebeuf. Y, Paquin. P et Simpson. R (2002)**. Composition, propriétés physico-chimiques, valeur nutritive, qualité technologique du lait *In VIGNOLA, C.L.* Science et technologie du lait - Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, p 600.
8. **Anonyme, (2003)**. Arrêté Ministériel n° 2003-169 du 3 mars 2003 relatif au temps d'attente et aux limites maximales de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale au Maroc. Journal de Monaco, Bulletin principal de la principauté, n° 7951 du 21/03/2003.
9. **Anonyme, (2004)**. Méthodes officielles de détection des résidus dans lait de chèvre. Centre de Ressources et Documentation Caprine. L'égide n°36.
10. **Anonyme. a (2006)**. La chromatographie liquide haute performance, Cours de chimie Organique, minérale et structurale, Académie de Nancy, Metz, <http://www.ac-nancymetz.fr/enseign/Physique/HPLC.htm>.
11. **Anonyme. b (2006)**. Eviter les mammites chez la vache laitière. Fiche technique destinée à la pratique. ALP actuel, n°21.
12. **Anonyme, (2008)**. Silait : salon international du lait. Acte du 1^{er} salon international du lait et de ses dérivés du 27 au 29 mai 2008 Alger. <http://www.agroligne.com/ou-se-rencontrent-ils/algerie/22292-silait-2008-1er-salon-international-du-lait.html>.
13. **Anonyme. a (2012)**. Antibiotiques et inhibiteurs. FIDOCL: Fédération Inter-Départementale des entreprises de Conseil élevage du sud-est. <http://www.fidocl.fr/content/fidocl-conseil-elevage>.
14. **Anonyme. b (2012)**. Recueil des méthodes internationales d'analyses – OIV Résidus potentiellement allergéniques de protéines de collage dans le vin Méthode

OIV--MA-AS315-23. www.oiv.int/...%204%20Methodes%20d%20analyses/.../OIV-MA-AS31.

15. **Anonyme. c (2012).** Validation of Beta Star Combo. Technical Product Information. foodsafety@neogen.com. www.neogen.com .
16. **Anonyme, (2016).** Répertoire commenté des médicaments à usage vétérinaire. Centre belge d'information pharmaco thérapeutique. <http://www.cbip-vet.be>.
17. **Archimbault. Ph, Aubert. A, Haas. P, Clément. M.C, Damaria. M, Petit. M, Thevenot. C (1978).** Résidus de cloxacilline et de néomycine dans le lait après leurs administrations, en association, par voie galactophore. Recueil de médecine vétérinaire, n°154, p 951-956.
18. **Badinand. F (1994).** Maîtrise du taux cellulaire du lait. Rec.Méd.Vét, 170, n° 6/7.p 419-427.
19. **Bagre. T.S, Samandoulougou. S, Traore. M, Illy. D, Bsadjo-Tchamba. G, Bawa-Ibrahim. H, Bouda. S.C, Traore. A.S et Barro. N (2015).** Détection biologique des résidus d'antibiotiques dans le lait et produits laitiers de vache consommés à Ouagadougou, Burkina Faso.
20. **Bonfoh. B, Dem. S, Keita. O, Delorenzi. S, Traore. H, Simbe. C.F, Alfaroukh. I.O, Farah. Z, Nicolet. J et Zinsstag. J (2003).** Assessment of antibiotic residues by microbial inhibitor tests in fresh cow milk sold in Bamako (Mali). *Milchwissenschaft*, 58, (5–6), p 304–307.
21. **Botsoglou N.A., Fletouris D.J. (2001).** Drug Residues in Foods, Pharmacology. Food Safety, and Analysis. Marcel Dekker, New York.
22. **Boultif. L (2009).** Optimisation des paramètres de détection et de quantification des résidus d'antibiotiques dans le lait par chromatographie liquide haute performance (HPLC). Thèse de Magister en médecine vétérinaire. Département des sciences vétérinaires el khroub. Université de Constantine.
23. **Boultif. L (2015).** Détection et quantification des résidus de terramycine et de pénicilline dans le lait de vache par chromatographie liquide haute performance (HPLC). Thèse de doctorat en sciences vétérinaires. Université des frères Mentouri de Constantine.
24. **Bourahla. S (2000).** L'essai de caractérisation du lait cru. Mémoire d'ingénieur d'état. Batna.
25. **Bourrin. M et Jolliet. P (1999).** Pharmacologie générale et pratique. Cours national de pharmacologie ,3^{ème} édition, Ellipses/, Edition Marketing. Paris.
26. **Bowater. R.J, Stirling. S.A et Lilford. R.J (2009).** Is antibiotic prophylaxis in surgery a generally effective intervention? Testing a generic hypothesis over a set of meta-analysis. p 551-556.
27. **Brouillet. P (1994).** Maîtrise de la présence d'inhibiteurs dans le lait. Recueil de médecine vétérinaire, n° 170. p 443-454.

28. **Brouillet. P (2002). Résidus de médicaments dans le lait et tests de détection. Revue : Bulletin des GVT n°15. P 25-41.**
29. **Broutin.C (2005).** Maitrise de la qualité dans la transformation laitière. Guide de bonnes pratiques d'hygiène, p 29-31.
30. **Brule. G (2003).** Rapport sur les progrès technologiques au sein des industries alimentaires, impacts sur la qualité des produits. I- la filière laitière, p 48.
31. **Cauty et Perreau J .M (2005).** La conduite du troupeau laitier. La qualité du lait. p 55-57.
32. **Cazeau. G, Chazel. M, Jarrige. N, Sala. C, Calavas. D et Gay. E (2010).** Utilisation des antibiotiques par les éleveurs en filière bovine en France. Rencontres autour de la Recherche sur les Ruminants 17, p 71-74.
33. **Chardon. H et Brugere. H (2014).** Usage des antibiotiques en élevage et filières viandes. Cahiers sécurité sanitaire santé animale .CIV : Centre d'Information des Viandes, Tour Mattei 207.Paris. p 16.
34. **Châtaigner. B et Stevens. A (2005).** Investigation sur la présence de résidus d'antibiotiques dans les viandes commercialisées à Dakar, Institut Pasteur de Dakar, p 6-9.
35. **Chatellet. M.C (2007).** Modalités d'utilisation des antibiotiques en élevage bovin : enquête en Anjou. Thèse de Doctorat vétérinaire. École nationale vétérinaire d'Alfort.
36. **Chopra. I et Roberts. M (2001).** Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 65(2). p 232-260.
37. **CNIEL, (2012).** *Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière,* « Questions/Réponses : le contrôle des résidus d'antibiotiques dans la filière laitière française».
38. **CNIEL, (2016).** *Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière,* Etude comparative de tests rapides de détection des résidus d'antibiotiques dans le lait. Service des laboratoires, p 18.
39. **Debry. G (2006).** Lait, nutrition et santé. Édition Tec et Doc, Lavoisier, Paris. P 566.
40. **Demoly. P, Bousquet. J, Godard. P, Michel. F.B (2000).** Actualité des allergies médicamenteuses issues des antibiotiques et médicaments anti- rétroviraux. *Bull. Acad. Nationale Méd,* 184, (4). p761-774.
41. **Dibner. J.J et Richards. J.D (2005).** Antibiotic growth promoters in agriculture; history and mode of action. p 634-643.
42. **Dilmi Bouras. A (2008).** Filière lait : Exemple de l'Algérie. Séminaire intern: Filière lait : Productions et Biotechnologies les 02 et 03 déc. 2008, Chlef.

43. **DJEMIL. K (2016).** Détection des résidus d'antibiotiques dans le lait consommé dans la wilaya de Sidi Bel Abbes, Mémoire de master, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre, Université de Tlemcen.
44. **Ecckhoutte. M (1978).** Antibiotiques et alimentation humaine », Revue de Méd.Vét, 125, (5). p 717-740.
45. **Fabre. J.M, Moretain. J.P, Ascher. F, Brouillet. P et Berthelot. X (1996).** Les principales causes d'inhibiteurs dans le lait. Résultats d'une enquête dans un millier d'élevages français, Bull.Group.Tech.Vét,3-b, n°522, p 27-31.
46. **Fabre. J.M et Joyes. D (2000).** Résidus dans le lait : observation des inhibiteurs bien utiliser les médicaments proceedings : lait, qualité et santé. p 10-12.
47. **Fabre. J.M, Bouquet. O, Petit. C (2006).** Extrait du livre : Comprendre et prévenir les risques de résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale. p 25-47.
48. **Fagbamila. I, Kabir. J, Abdu. P, Omeiza. G, Ankeli. P, Ngulukun. S, Muhammad. M et Umoh. J (2010).** Antimicrobial screening of comercial eggs and determination of tetracycline residue using two microbiological methods. Int.J.Poult.Sci.,9(10), p 952-962.
49. **Farhat. M et Sardoni.I (2014).** La recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru dans la région de Tizi-Ouzou. Thèse de Doctorat vétérinaire.Université de Blida.
50. **Follet. G (2007).** Utilisation des antibiotiques chez l'animal : Problèmes et Actions, Rencontres Parlementaires "Santé-Société-Entreprise", Assemblée Nationale. France.
51. **Fontaine. M (1987).** VADE MECUM du vétérinaire. Formulaire vétérinaire de pharmacologie, de thérapeutique et d'hygiène. Édition VIGOT, 15^{ème} édition. p 78.
52. **Fontaine. M (1993).** VADE MECUM du vétérinaire. Formulaire vétérinaire de pharmacologie, de thérapeutique et d'hygiène". 15^{ème} édition. Volume 1. Office des publications Universitaires. Alger. p 560.
53. **Form. G (2003).** Les résidus inhibiteurs dans le lait. Evolution des méthodes de détection-Facteurs de risques en région Rhône-alpes. Thèse Méd. Vét., p 20-105.
54. **Gardeye. L et Lherbette. L (2000).** Détection des résidus de Céfalexine dans le lait en cas d'allongement de la durée du traitement par voie intra mammaire, Revue de médecine vétérinaire, N°151. p 965-968.
55. **Gaudin. V et Afssa. F (2005).** Dossier de reconduction du test Béta star. Test rapide de détection de résidus actifs d'antibiotiques de la famille des Béta-lactamines (pénicillines, céphalosporines) dans le lait.
56. **Gaudin. V (2016).** Caractérisation de la performance et validation des méthodes de dépistage des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires. Science agricole. Université Rennes 1.
57. **Gay. E, Caseau. G, Jarrige. N et Calavas. D (2007).** Utilisation des antibiotiques chez les ruminants domestiques en France: résultats d'enquêtes de

pratiques auprès d'éleveurs et de vétérinaires. Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation n°53/Spéciale Antibiotiques et Antibiorésistances.

58. **Gras. G et Choutet. P (2010).** Prescription et surveillance des antibiotiques. La Revue du Praticien, 60, p 573-579.
59. **Guardabassi. L, Williamson. R et Kruse. H (2008).** Guide to antimicrobial use in animals. Blackwell, oxford.
60. **Gueugnon. L (2012).** La spécificité des médicaments chez les petits ruminants. SNGTV commissions ovine et caprine. Académie Vétérinaire.
61. **Guillemot. M.D (2006).** Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine, Document AFSSA (Agence Française de la Sécurité Sanitaire des Aliments). p 49-55.
62. **Hamiroune. M, BERBER. A, BOUBEKEUR. S(2014).** Qualité bactériologique du lait cru de vaches locales et améliorées vendus dans les régions de Jijel et de Blida (Algérie) et impact sur la santé publique. *Revue Méd.Vét.*
63. **Hanzen. C (2008).** La pathologie infectieuse de la glande mammaire. Approche individuelle. http://eap.mcgill.ca/AgroBio/ab_head.htm.
64. **Hassan Ali. A et Orooba MS. A (2017).** Detection of antibiotic residues in milk and milk products of cattle in dairy farms in Baghdad region. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5(3):1797-1802.
65. **Helali. A (1999).** Pharmacologie fondamentale et clinique à l'usage des étudiants en médecine. Édition ENG. p 135.
66. **Hennel. C. K (2006).** Pharmacovigilance vétérinaire : application aux médicaments antibactériens, anti-inflammatoires et antiparasitaires disponibles en médecine équine. Thèse de Doctorat vétérinaire, faculté de médecine de Créteil. p 83
67. **Hermier. J, Lenois. J et Weber. F (1992).** Les groupes microbiens d'intérêt laitier. Cepil, Paris.
68. **Issa Garba. A (2012).** Evaluation des pratiques d'utilisation des médicaments vétérinaires et détermination de la prévalence des résidus d'antibiotiques dans la viande et le lait dans le Grogol en Mauritanie, Mémoire de diplôme de master en sante publique vétérinaire, Ecole inter-états des Sciences et Médecine vétérinaires (EISMV) de Dakar.
69. **Jacquemin. F (2006).** Viandes : Après les hormones, les antibiotique ». <http://pagespero-orange.fr/alps08-carignan.htm#haut>.
70. **Jaussaud. P (2002).** Cours de pharmacologie de première année de deuxième cycle, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.
71. **Jehl. F et Leveique. D (1989).** Pharmacocinétique clinique appliquée aux antibiotiques autres que les aminosides *IN* Le Minor. L et Veron. M « Bactériologie médicale », 2ème Edition Flammarion, p 465-480.

72. **Jeon. M, kim. J, Paeng. K.j, Park. S.W, Paeng. I.R (2008).** Biotin-avidin mediated competitive enzyme-linked immunosorbent assay to detect residues of tetracyclines in milk. *Microchemical Journal*, 88, (1). p 26-31.
73. **JORA (1998).** Journal Officiel de la République Algérienne N 35 du Safar 1419 correspondant au 25 mai 1998.
74. **JORF (2011).** Journal Officiel de la République Française.
75. **Labayle. D (2001).** Guide Pharmaco, Édition lamare, Paris, p 568.
76. **Labie. Ch (1981).** Dispositions législatives destinées à éviter la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait. *Recueil de médecine vétérinaire*, n°157. p 161.
77. **Labioui. H, Elmoualdi. L, Benzakour. A, El Yachioui. M, Berny. E, Ouhssine. M (2009).** Étude physicochimique et microbiologique de laits crus. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 148, p 7-16.
78. **Lamontagne. M, Claude. P, Champagne. J , Joelle. R, Moineau. S, Gardner. N, Lamouteux. M, Jean. J et Fliss. I (2002).** Science et technologie du lait "transformation du lait", chapitre II, p 74-145.
79. **Larpent. J.P (1992).** Les ferments microbiens dans les industries agro-alimentaires: produits laitiers et viandes», APRIA, Paris.
80. **Laurentie. M, Sanders. P (2002).** Résidus de médicaments vétérinaires et temps d'attente dans le lait. *Bulletin GVT*, n°15. p 51-55.
81. **Le chat. P (2007).** Pharmacologie, Service de pharmacologie, Université Paris-VL, Edition EXT EM. p 307.
82. **Leyral. G et Vierling. E (2001).** Microbiologie et toxicologie des aliments : hygiène et sécurité alimentaire. 3ème édition Aquitaine : Doin.p 274.
83. **Loichot. A et Grima. B (2006).** Introduction à la pharmacocinétique - passages trans-membranaires. Faculté de Médecine de Strasbourg, Module de Pharmacologie Générale DCEM1.
84. **Mansour. K (2013).** Contrôle de la qualité bactériologique et recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait de vache cru commercialisé dans la wilaya de Blida, Mémoire de master en Biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie. p 60.
85. **Martinez. E et Wilbert. S (1988).** Liquid chromatographic determination of tetracycline residues in animal feeds, *J.Assoc. Off. Anal.Chem*, p 3-71.
86. **Memili. A et Memili. E (2013).** Antibiotic Residues Detected in Commercial Cow's Milk. *Journal of Emerging Investigators*.
87. **Milhaud. G et Person. J.M (1981).** Evaluation de la toxicité des résidus d'antibiotiques dans le lait, *Rec.Méd.Vét*, 157 (2). p 179-185.
88. **Monsallier. G (1994).** Maîtrise de la teneur en germes mésophiles totaux du lait à la production, *Res.Méd.Vét*, 170, n° 6/7.p 411-418.

89. **Moretain. J.P (2000).** La recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait. Proceedings lait, qualité et santé, p 19-22.
90. **Nickell. J.S et White. D.J (2010).** Metaphylactic antimicrobial therapy for bovine respiratory disease in stocker and feedlot cattle. Vet Clin. N. Am. P 285-301.
91. **Ouslimani. S (2009).** Mise en évidence de résidus d'antibiotiques dans le lait de vache produit dans l'algérois.
92. **Paraf. A et Paltre. G (1991).** Immuno-assay in food agriculture. Academic, Press. p 181-228.
93. **Pogurschi. E, Ciric. A, Zugrav. C et Patrascu. D (2015).** Identification of Antibiotic Residues in Raw Milk Samples Coming from the Metropolitan Area of Bucharest.
94. **Puyt. J.D (2002).** Médicaments anti-infectieux en médecine vétérinaire : Base de l'antibiothérapie. École nationale vétérinaire, Nantes, p 201.
95. **Puyt. J.D (2003).** Des résidus de médicament très surveillés. Revue : Réussir Lait Élevage, Réussir Bovins Viande : Dossier spécial médicaments vétérinaires.
96. **Rahal. K, Ghouri. I, Adel. D, Dechicha. A, Bouricha. Z, Harkat. S et Guetarni. D (2001).** antibiotique dans le lait: enquête sur le terrain, 13^{ème} Congrès Vétérinaire National; Sécurité Sanitaire Alimentaire.
97. **Renard. J (2014).** A propos du lait cru. Filière wallonne. Lait et produits laitiers. Édition Diversi FERM, p 12-23.
98. **Reybroeck. W (2003).** Résidus d'antibiotiques dans le lait : Utilisation des kits de dépistage des inhibiteurs, Le point vétérinaire. n° 242, p 52-57.
99. **Reybroeck. W (2004).** Résidus d'antibiotiques dans le lait : Utilisation des kits de dépistage des inhibiteurs. Le Point Vétérinaire, n° 242. p 52-57.
100. **Reybroeck. W, Ooghe. S (2012).** Validation of the Beta-STAR COMBO for fast screening of raw milk on the presence of betalactam antibiotics and tetracyclines . Technology and Food Science Unit .Brusselsesteenweg 370,B-9090 Melle , Belgium .
101. **Romnee. J.M (2009).** Potentialités des tests microbiens et de la spectrométrie infra-rouge dans la recherche d'antibiotiques dans le lait, Dissertation originale présentée en vue de l'obtention du grade de docteur en sciences agronomiques et ingénierie biologique. p 50- 190.
102. **Rupp. R (2000).** Analyse génétique de la résistance aux mammites chez les ruminants laitiers. Thèse de Doctorat de l'Institut National Agronomique, Paris-Grignon
103. **Ryckaert. I (2003).** 42 questions sur le lait. Édition IMP , Bruxelles. p 13-56.
104. **Saadi Al-Dabbagh. A (2012).** Detection of the occurrence of antibiotic residues in different kinds of milk. Thèse de Doctorat vétérinaire. College of veterinary medicine. University of Mosul.

105. **Saunier. C et Godin. L (2013).** Activité technologique en analyse biochimique, E.T.S.L, paris, p 5-50. <http://ligodin.free.fr>.
106. **Scippo. M.L et Maghuin-Rogister. G (2006).** Résidus et contaminants des denrées alimentaires : 25 ans de progrès dans leur analyse : méthodes biologiques de dépistage. Annale de médecine vétérinaire, n°150, p 125-130.
107. **Sraïri. M.T, Hasni. I, alaoui. A, Hamama et Faye. B (2004).** Qualité physico-chimique et contamination par les antibiotiques du lait de mélange en étables intensives au Maroc. Renc. Rech. Ruminants, n°11. p 116-117.
108. **Sraïri. M.T, Hasni Alaoui. I, Hamama. A et FAYE. B (2005).** Relations entre pratiques d'élevage et qualité globale du lait de vache en étables suburbaines au Maroc. Département des Productions Animales, Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Rabat-Instituts, MAROC.p 1.
109. **Stoltz. R (2008).** les résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale : évaluation et maîtrise de ce danger. Thèse de Doctorat vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire de Lyon. Université Claude-Bernard - Lyon.
110. **Tarzaali. D (2008).** Recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru. Thèse de magister, faculté des sciences agro-vétérinaires et biologiques. P 181.
111. **Tarzaali. D, Dechicha. A, Gharbi. S, Bouaissa. M.K, Yamnaine. N et Guetarni. D (2008).** Recherche des résidus des tétracyclines et des bêta-lactamines dans le lait cru par le MRL Test (ROSA TEST) à Blida, Algerie. In 6^{ème} journées scientifiques vétérinaires sur le médicament vétérinaire : nouvelles approches thérapeutiques et impact sur la santé publique, Ecole nationale vétérinaire, Algérie,P 23-24.
112. **Tona. G.O et Olusola. A.D (2014).** Determination of tetracycline antibiotic residue in dairy products sold in Ogbomoso, South-Western Nigeria. International Journal of Food, Agriculture and Veterinary Sciences ISSN: Vol.4 (I), p: 136-140.
113. **Verhnes. R et Vandaele. E (2002).** Détection rapide des inhibiteurs dans le lait. Le point vétérinaire, n° 227. p 16-17.
114. **Wasiksiri. S, Chethanond. U, Pongprayoon. S, Srimai. S et Nasae. B (2008).** Quality aspects of raw goat milk in Lower Southern Thailand .Songklanakarin Journal of Science and Technology, 32(2), 109-113.
115. **Yala. D, Merad. A. S, Mohamedi. D, Ouar Korich .M. N (2001).** Classification et mode d'action des antibiotiques. Médecine du Maghreb, n°91.
116. **Ziadi. H, (2010).** Essai d'amélioration du taux de rétention de la tétracycline dans un polymère à empreinte moléculaire formé de co-polymères fonctionnalisés de l'acide lactique, Mémoire du grade de maître en sciences pharmaceutiques, Université de Montréal.p 1-57.
117. **Zinedine. A, Faid. M et Benlemlih. M (2007).** Détection des résidus d'antibiotiques dans le lait et les produits laitiers par méthode microbiologique, p 1-9.

ANNEXE I

Tableau I. Caractères physiques du lait de vache (Carole, 2002).

| | |
|-----------------------------|----------|
| Densité à 15°C | 1,032 |
| Chaleur Spécifique | 0,93 |
| Point de congélation | -0,550°C |
| pH (20°C) | 6,7 |
| Acidité (degré Dornic) | 15-18 |
| Indice de réfraction (20°C) | 1,35 |
| Point d'ébullition | 100,5°C |

Tableau II. Caractères physiques du lait de chèvre (Ait amer meziane, 2008).

| | |
|--------------------------------|-----------------|
| Energie (kcal/litre) | 600-750 |
| Densité du lait entier à 20 °C | 1.027 – 1.035 |
| Point de congélation (C°) | -0.550 – -0.583 |
| pH-20°C | 6.45 – 6.60 |
| Acidité titrable (°Dornic) | 14-18 |
| Indice de réfraction | 1,35-1,46 |

Tableau III. Composition chimique du lait de vache (Alais et al., 2008).

| Eléments | Composition (g/l) |
|--|-------------------|
| Eau | 905 |
| Glucides : lactose | 49 |
| Lipides : | 35 |
| -matière grasse proprement dite | 34 |
| -lécithine (phospholipides) | 0,5 |
| -partie insaponifiable (stérols, carotènes, tocophérols) | 0,5 |
| Protides : | 34 |
| -caséines | 27 |
| -protides solubles (globulines, albumines) | 5,5 |
| -substances azotées non protéiques | 1,5 |
| Sels : | 9 |
| -acide citrique | 2 |
| -acide phosphorique | 2.6 |
| -acide chlorhydrique | 1,7 |
| Constituants divers : vitamines, enzymes, gaz dissous | Traces |

| | |
|----------------------|-----|
| Extrait sec total | 127 |
| Extrait sec non gras | 92 |

Tableau IV. Composition chimique du lait de chèvre.

<http://www.maison-du-lait.com/fr/laits-liquides>

| Eléments | Composition (g/l) |
|------------------------------------|-------------------|
| Eau | 915 |
| Glucides : lactose | 45 |
| Matière grasse | 41 |
| Protides : | |
| -substances azotées | 40 |
| -substances azotées non protéiques | 7% |
| Sels minéraux | 8 |
| Extrait sec total | 134 |

Arrêté interministériel du 29 Safar 1414 correspondant au 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation.

ARTICLE 1 : Le présent arrêté a pour objet de définir les spécifications de certains laits destinés à la consommation ainsi que les conditions et les modalités relatives à leur présentation et à leur étiquetage.

ARTICLE 2 : La dénomination " lait " est réservée exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale, obtenue par une ou plusieurs traites, sans aucune addition ni soustraction et n'ayant pas été soumis à un traitement thermique.

ARTICLE 3 : 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.

ARTICLE 4 : La dénomination " lait " sans indication de l'espèce animale de provenance, est réservée au lait de vache.

Tout lait provenant d'une femelle laitière, autre que la vache, doit être désigné par la dénomination " lait ", suivie de l'indication de l'espèce animale dont il provient.

ARTICLE 5 : Le lait destiné à la consommation ou à la fabrication d'un produit laitier, doit provenir de femelles laitières en parfait état sanitaire.

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.

ANNEXE II

Tableau V. Les principales familles d'antibiotiques.

[http://www.bacteriologie.net/generale/site action antibiotiques.html](http://www.bacteriologie.net/generale/site%20action%20antibiotiques.html)

| Familles | Mode d'action | Spectre |
|------------------------|---|---|
| Sulfamides | Inhibition de l'enzyme bactérienne chargée de transformer l'acide folique en THF. | Large spectre d'action : bactéries à Gram (+) et Gram (-). |
| Tétracyclines | Inhibition de la croissance et la multiplication des bactéries pathogènes. | Large spectre d'activité : bactéries à Gram (+), Gram (-), aérobies, anaérobies |
| Quinolones | Inhibition de la synthèse de l'ADN. | Large spectre d'action : bactéries à Gram (+) et Gram (-). |
| Macrolides | Action sur la synthèse des protéines. | Large spectre d'action : bactéries à Gram (+). |
| Bêta-lactamines | Action sur l'enveloppe cellulaire. | Large spectre d'action : bactéries à Gram (+). |

ANNEXE III

Tableau VI. Caractéristiques de différents tests de détections des résidus d'antibiotiques (Abidi, 2004).

| Test du dépistage | Méthodes de détection | Caractéristiques |
|--------------------------------|---|---|
| Méthode d'acidification | - Microbiologique – Qualitative | - Test à <i>Streptococcus thermophilus</i> . -Affirmation par <i>Bacillus streathermophilus</i> |
| Delvo test SP | - Microbiologique – Qualitative | - Test à <i>Bacillus steatermophilus var. calidolactis</i> . - Large spectre de détection. - Durée d'incubation de 2 h 30 min à 3 h. - Haut degré de sensibilité |
| Delvo X Press | - Immuno-enzymatique Qualitative | -Spécifique pour les β -lactamines. -Rapide (10 min). |
| Copan Milk test | - Microbiologique – Qualitative | - Test à <i>Bacillus steatermophilus var. calidolactis</i> . - Large spectre de détection. - Durée d'incubation de 2 h 30 min à 3 h. - Haut degré de sensibilité |
| Valio T101 | - Microbiologique – Qualitative | -Test à <i>Streptococcus thermophilus</i> . - Haut degré de sensibilité - Long dans son opération |
| Beta Star | - Immuno- colorimétrique Qualitative et semi-quantitative | -Test à récepteur spécifique lié à des particules d'or. -Rapide (5 min à 50 min). - Simple d'emploi. |
| Penzym test | -Enzymatique-colorimétrique | -Test à enzyme DD-carboxypeptidase -Facile d'emploi. -Très rapide (20 min). - Qualitatif. |
| Charm test | - Immun-compétition - Quantitative. | -Test à molécule radioactive (C14 ou H3). -Large spectre. - Investissement important. |
| HPLC | - Chimique (phase mobile et phase stationnaire) Qualitative | - Grande exactitude. - Facile à la manipulation. - Coût élevé. - long nécessite la préparation de l'échantillon. |

Tableau VII. La sensibilité des molécules d'antibiotiques au Beta Star Combo
(Anonyme, 2012).

| Groupes | Molécules | LMR (ug/kg) | Sensibilité du test (ug/kg) |
|-----------------|----------------------|-------------|-----------------------------|
| Bêta-lactamines | Pénicilline G | 4 | 4 |
| | Ampicilline | 4 | 4 |
| | Amoxicilline | 4 | 4 |
| | Oxalline | 30 | 5 |
| | Cloxalline | 30 | 5 |
| | Dicloxacilline | 30 | 6 |
| | Nafcilline | 30 | 12 |
| | Penethamate | 4 | 80 |
| | Ceftiofure | 100 | 90 |
| | Desfuroyl ceftiofure | 100 | 1000 |
| | Cefquinome | 20 | 8 |
| | Cefazoline | 50 | 40 |
| | Cephapirine | 60 | 9 |
| | Desacetylcéphapirine | 60 | 3 |
| | Cefacetrile | 125 | 40 |
| | Cefoperazone | 50 | 8 |
| | Cefalexine | 100 | 700 |
| | Cefaloniume | 20 | 5 |
| | Ceftiofure | 100 | 90 |
| | Desfuroyl ceftiofure | 100 | 1000 |
| | Cefquinome | 20 | 8 |
| | Cefazoline | 50 | 40 |
| | Cephapirine | 60 | 9 |
| | Desacetylcephapirine | 60 | 3 |
| | Cefacetrile | 125 | 40 |
| | Cefoperazone | 50 | 8 |
| | Cefalexine | 100 | 700 |
| | Cefaloniume | 20 | 5 |
| Tétracyclines | Tétracycline | 100 | 100 |
| | Oxytétracycline | 100 | 100 |
| | Chlortétracycline | 100 | 35 |
| | Doxycycline | / | 14 |

ANNEXE IV

Questionnaire à l'attention des vétérinaires praticiens

Ce questionnaire s'inscrit dans le cadre de la réalisation d'un mémoire de fin d'étude autour de la question de l'utilisation des antibiotiques en élevage bovin laitier.

1. **Vous exercez dans la wilaya de :**

2. **Vous intervenez en élevage bovin laitier ?**

- Toujours
 Rarement
 Jamais

3. **Quelles sont les maladies les plus fréquemment rencontrées, traitées par les antibiotiques ?**

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Problèmes locomoteurs | <input type="checkbox"/> Problèmes de la reproduction |
| <input type="checkbox"/> Problèmes digestifs | <input type="checkbox"/> Problèmes de mamelle |
| <input type="checkbox"/> Problèmes respiratoires | <input type="checkbox"/> Autre(s) |

4. **Quels sont les antibiotiques les plus utilisés par voie intra mammaire ?**

A/En lactation

- 1^{er}
- 2^{eme}
- 3^{eme}
- 4^{eme}
- 5^{eme}
- 6^{eme}

B/Hors lactation

- 1^{eme}
- 2^{eme}
- 3^{eme}
- 4^{eme}
- 5^{eme}

5. **Quels sont les antibiotiques les plus utilisés par voie générale ?**

- | | |
|------------------------|------------------------|
| 1 ^{er} | 4 ^{eme} |
| 2 ^{eme} | 5 ^{eme} |
| 3 ^{eme} | |

6. **Sur quel critère faite vous le choix des antibiotiques que vous prescrivez ?**

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Par habitude | <input type="checkbox"/> Disponibilité |
| <input type="checkbox"/> En fonction du stock disponible | <input type="checkbox"/> Longue durée d'action |
| <input type="checkbox"/> Après antibiogramme | <input type="checkbox"/> Le coût (moins cher) |
| <input type="checkbox"/> Délai d'attente plus courts | <input type="checkbox"/> Moins d'effets secondaires |
| <input type="checkbox"/> Efficacité | <input type="checkbox"/> Autre(s)..... |

7. Après l'administration d'un antibiotique, conseillez-vous l'éleveur de respecter le délai d'attente ?

- Toujours
- La plupart du temps
- Quelquefois
- Jamais

8. Informez-vous les éleveurs sur les risques engendrés par le non respect de délai d'attente ?

OUI

NON

9. Vos éleveurs respectent le délai d'attente ?

- Tous
- La plupart d'entre-eux

- Peu d'entre-eux
- Aucun

10. vos éleveurs traitent-ils eux même par les antibiotiques ?

A/ Les mammites:

- OUI
- NON

B/ Autres pathologies:

- OUI
- NON

Traitement des données du questionnaire

Tableau VIII. La répartition des réponses selon la fréquence de l'intervention des vétérinaires dans l'élevage bovin laitier.

| Fréquence de l'intervention | toujours | Rarement | Jamais |
|-----------------------------|----------|----------|--------|
| Nombre | 42 | 08 | 0 |
| Pourcentage % | 84 | 16 | 00 |

Tableau IX. Les pathologies les plus fréquentes traitées par les antibiotiques

| Catégories de maladies | Nombre de réponses | Pourcentage % |
|------------------------------|--------------------|---------------|
| Problème de mamelle | 19 | 38 |
| Problèmes respiratoires | 17 | 34 |
| Problèmes locomoteurs | 8 | 16 |
| Problèmes de la reproduction | 3 | 6 |
| Problèmes digestifs | 2 | 4 |
| Autres | 1 | 2 |

Tableau X. Les antibiotiques les plus utilisés par voie intra-mammaire.

| En lactation | | | Hors lactation | | |
|-------------------|--------------------|----|-------------------|--------------------|----|
| Molécules actives | Nombre de réponses | % | Molécules actives | Nombre de réponses | % |
| Pénicillines | 14 | 28 | Cefalexines | 16 | 32 |
| Amoxicillines | 10 | 20 | Rifaximines | 11 | 22 |
| Ampicillines | 09 | 18 | Cloxacillines | 09 | 18 |
| Tétracyclines | 07 | 14 | Pénicillines | 07 | 14 |
| Oxytétracyclines | 05 | 10 | Tétracyclines | 07 | 14 |
| Néomycines | 03 | 06 | | | |

Tableau XI. Les antibiotiques les plus utilisés par voie générale

| Molécules actives | Nombre de réponses | Pourcentage % |
|--------------------------|---------------------------|----------------------|
| Penicillines | 15 | 30 |
| Oxytétracyclines | 13 | 26 |
| Tétracyclines | 11 | 22 |
| Amoxicillines | 07 | 14 |
| Sulfamides | 04 | 8 |

ANNEXE V

A. Matériel de la recherche des inhibiteurs dans le lait cru par le Delvo test SP:

✓ **Matériels de collecte**

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

✓ **Matériel et appareillage de laboratoire**

- Réfrigérateur.
- Incubateur à 64 °C.
- Le Kit d'analyse, Delvotest SP®.

B. Matériel de la recherche des résidus de bêta-lactamines et de tétracyclines dans le lait cru par le Beta Star Combo:

✓ **Matériel et appareillage de laboratoire**

- Flacons stériles en plastique avec bouchons de 60 ml.
- Glacière avec pochette de glace pour le transport des échantillons.
- Incubateur régulé à 47,5°C.
- Le kit d'analyse, Beta Star Combo.

ANNEXE VI

Partie 1: La recherche de résidus d'antibiotiques dans le lait cru de vache.

Tableau XII. Résultats détaillés de la recherche des inhibiteurs dans le lait cru de citernes par le Delvo test SP.

| Wilayas | Citernes | Résultats | | | | | |
|---------|----------|-----------|---|----------|---|---------|---|
| | | Positifs | % | Négatifs | % | Douteux | % |
| Blida | C 1 | | | - | | | |
| | C 2 | | | - | | | |
| | C 3 | | | - | | | |
| | C 4 | | | - | | | |
| | C 5 | | | - | | | |
| | C 6 | | | - | | | |
| | C 7 | | | - | | | |
| | C 8 | | | - | | | |
| | C 9 | | | - | | | |
| | C 10 | | | - | | | |
| | C 11 | | | - | | | |
| | C 12 | | | - | | | |
| | C 13 | | | - | | | |
| | C 14 | | | - | | | |
| | C 15 | | | - | | | |
| | C 16 | | | - | | | |
| | C 17 | | | - | | | |
| | C 18 | | | - | | | |
| | C 19 | | | - | | | |
| | C 20 | | | - | | | |
| | C 21 | | | - | | | |
| | C 22 | | + | | | | |
| | C 23 | | | | - | | |
| | C 24 | | | | - | | |
| | C 25 | | | | - | | |
| | C 26 | | + | | | | |
| | C 27 | | + | | | | |
| | C 28 | | | | - | | |
| | C 29 | | | | - | | |
| | C 30 | | | | - | | |
| | C 31 | | | | - | | |
| | C 32 | | + | | | | |
| | C 33 | | | | - | | |
| | C 34 | | | | - | | |
| | C 35 | | | | - | | |
| | C 36 | | | | - | | |
| | C 37 | | | | - | | |
| | C 38 | | | | - | | |

| | | | | | | |
|--------------|------|--|---|---|---|--|
| Blida | C 39 | | | - | | |
| | C 40 | | | - | | |
| | C 41 | | | - | | |
| | C 42 | | | - | | |
| | C 43 | | | - | | |
| | C 44 | | | - | | |
| | C 45 | | | - | | |
| | C 46 | | | - | | |
| | C 47 | | | - | | |
| | C 48 | | | - | | |
| | C 49 | | | - | | |
| | C 50 | | | - | | |
| | C 51 | | | - | | |
| | C 52 | | | - | | |
| | C 53 | | | - | | |
| | C 54 | | | - | | |
| | C 55 | | | - | | |
| | C 56 | | | - | | |
| | C 57 | | + | | | |
| | C 58 | | | | - | |
| | C 59 | | | | - | |
| | C 60 | | | | - | |
| | C 61 | | | | - | |
| | C 62 | | | | - | |
| | C 63 | | | | - | |
| | C 64 | | | | - | |
| | C 65 | | | | - | |
| | C 66 | | | | - | |
| | C 67 | | | | - | |
| | C 68 | | | | - | |
| | C 69 | | | | - | |
| | C 70 | | | | - | |
| | C 71 | | | | - | |
| | C 72 | | | | - | |
| | C 73 | | | | - | |
| | C 74 | | | | - | |
| | C 75 | | | | - | |
| | C 76 | | | | - | |
| C 77 | | | | - | | |
| C 78 | | | | - | | |
| C 79 | | | | - | | |
| C 80 | | | | - | | |
| C 81 | | | | - | | |
| C 82 | | | | | ± | |
| C 83 | | | | | ± | |
| C 84 | | | | | ± | |
| C 85 | | | | - | | |
| C 86 | | | | | ± | |

| | | | | | | | |
|-----------------------------|------------|----------|-------------|------------|--------------|----------|-------------|
| | C 87 | | | - | | | |
| | C 88 | | | - | | | |
| | C 89 | | | - | | | |
| | C 90 | | | - | | | |
| | C 91 | | | - | | | |
| | C 92 | | | - | | | |
| | C 93 | | | - | | | |
| | C 94 | | | - | | | |
| | C 95 | | | - | | | |
| | C 96 | | | - | | | |
| | C 97 | | | - | | | |
| | C 98 | | | - | | | |
| | C 99 | | | - | | | |
| Total Blida | 99 | 5 | 5,05 | 90 | 90,90 | 4 | 4,04 |
| | C 100 | | | - | | | |
| | C 101 | | | - | | | |
| | C 102 | | | - | | | |
| | C 103 | | | - | | | |
| | C 104 | | | - | | | |
| | C 105 | | | | | ± | |
| | C 106 | | | | | ± | |
| | C 107 | | | - | | | |
| | C 108 | | | - | | | |
| | C 109 | | | | | ± | |
| Total Alger | 10 | 0 | 00 | 7 | 70 | 3 | 30 |
| | C 110 | | | - | | | |
| | C 111 | | | - | | | |
| | C 112 | | | - | | | |
| | C 113 | | | - | | | |
| | C 114 | | | - | | | |
| Total Tipaza | 5 | 0 | 00 | 5 | 100 | 0 | 00 |
| | C 115 | | | - | | | |
| | C 116 | | | | | ± | |
| Total Médéa | 2 | 0 | 00 | 1 | 50 | 1 | 50 |
| Ain temouchent | C 117 | | | | | ± | |
| Total Ain temouchent | 1 | 0 | 00 | 0 | 00 | 1 | 100 |
| Total | 117 | 5 | 4,27 | 103 | 88,03 | 9 | 7,69 |

+ : Résultat positif, - : Résultat négatif, ± : Résultat douteux

Tableau XIV. Résultats de la recherche des résidus de bêta-lactamines et de tétracyclines confondus dans les laits crus de vache contaminés.

| Citernes contaminés par les résidus d'ATB | Résultats | |
|--|-----------------|---------------|
| | Bêta-lactamines | Tétracyclines |
| N° 22 | - | - |
| N° 26 | + | - |
| N° 27 | - | - |
| N° 32 | - | - |
| N° 57 | + | - |
| N° 82 | - | - |
| N° 83 | - | + |
| N° 84 | + | - |
| N° 86 | - | - |
| N° 105 | - | + |
| N° 106 | - | - |
| N° 109 | - | - |
| N° 116 | - | - |
| N° 117 | - | - |

+ : Résultat positif, - : Résultat négatif

Partie 2 : La recherche de résidus d'antibiotiques dans le lait cru de chèvre.

Tableau XVIII. Résultats détaillés de la recherche des inhibiteurs dans le lait cru de chèvre par le Delvo test SP.

| Prélèvements | Résultats | | | |
|--------------|-----------|---|----------|---|
| | Positifs | % | Négatifs | % |
| N° 1 | | | - | |
| N° 2 | | | - | |

| | | | | |
|-------|---|-------|----|-------|
| N°3 | | | - | |
| N° 4 | | | - | |
| N° 5 | | | - | |
| N° 6 | | | - | |
| N° 7 | | | - | |
| N° 8 | | | - | |
| N° 9 | | | - | |
| N° 10 | | | - | |
| N° 11 | | | - | |
| N° 12 | | | - | |
| N° 13 | + | | | |
| N° 14 | | | - | |
| N° 15 | | | - | |
| N° 16 | | | - | |
| N° 17 | | | - | |
| N° 18 | | | - | |
| N° 19 | | | - | |
| N° 20 | | | - | |
| N° 21 | + | | | |
| N° 22 | | | - | |
| N°23 | + | | | |
| N° 24 | | | - | |
| N° 25 | | | - | |
| N° 26 | | | - | |
| N° 27 | | | - | |
| N° 28 | | | - | |
| N° 29 | + | | | |
| N° 30 | | | - | |
| N° 31 | | | - | |
| N° 32 | + | | | |
| N° 33 | | | - | |
| Total | 5 | 15,15 | 28 | 84,84 |

+ : Résultat positif, - : Résultat négatif

Tableau XX. Résultats détaillés de la recherche des résidus de bêta-lactamines et de tétracyclines confondus dans les laits de chèvre contaminés.

| Laits contaminés par les résidus d'ATB | Résultats | |
|--|-----------------|---------------|
| | Bêta-lactamines | Tétracyclines |
| N° 13 | - | - |
| N° 21 | + | - |
| N° 23 | - | - |
| N° 29 | + | - |
| N° 32 | - | - |

+ : Résultat positif, - : Résultat négatif