

République Algérienne Démocratique  
et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur  
et la Recherche Scientifique  
Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire



## **THESE**

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat Es-Sciences  
En Sciences Vétérinaires

### **Thème :**

**Etude de la qualité sanitaire et nutritionnelle  
du lait cru produit en Algérie.  
Evaluation des teneurs en lipides et résidus  
d'antibiotiques**

Présentée par : M. MEKLATI Fawzi Rostane

Soutenue le : 20 Février 2018

Les membres du jury :

Présidente :	M <sup>me</sup> TEMIM S.	Professeur (ENSV, Alger)
Directrice de thèse :	M <sup>me</sup> BEN-MAHDI M.H.	Professeur (ENSV, Alger)
Examineurs :	M. BAALIOUAMER A.	Professeur (USTHB, Alger)
	M. BOUDIS H.	MCA (Univ., Alger 1)
	M. HAKEM A.	Professeur (Univ., Djelfa)
	M. MOHAMMEDI D.	MCA (ENSV, Alger)

Année universitaire : 2017/ 2018

# REMERCIEMENTS

Au terme de la réalisation de ce travail, où de nombreuses personnes nous ont accompagné depuis sa conception, je tiens à exprimer ma reconnaissance et ma gratitude à chacune d'elles.

En premier lieu, j'exprime ma profonde gratitude et mon grand respect à mon encadreur M<sup>me</sup> BEN-MAHDI Meriem Hind, professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger (ENSV), Directrice de l'Ecole Supérieure des Sciences de l'Aliment et des Industries, Agro-alimentaires d'Alger (ESSAIA) pour m'avoir permis de réaliser cette thèse, pour l'aide et le soutien inestimables, ainsi que pour ses précieux encouragements et conseils. Chaleureux remerciements.

J'adresse mes sincères remerciements aux membres de mon jury de thèse :

- M<sup>me</sup> TEMIM Soraya professeur à l'ENSV qui nous a fait l'honneur de présider le jury;
- M. BAALIOUAMER Aoumeur professeur à l'Université des Sciences et des Technologies Haouari Boumediene (USTHB) qui nous a fait l'honneur d'examiner ce travail;
- M. BOUDIS Hakim maître de conférences de rang A à l'Université d'Alger 1 qui nous a fait l'honneur d'examiner ce travail;
- M. HAKEM Ahcène professeur à l'Université Ziane Achour de Djelfa qui nous a fait l'honneur d'examiner ce travail;
- M. MOHAMMEDI Dahmane maître de conférences de rang A à l'ENSV qui nous a fait l'honneur d'examiner ce travail.

J'exprime ma reconnaissance à mes collègues et amis du Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-Chimiques (CRAPC), situé à Bouismail (wilaya de Tipaza), pour leur soutien et en souvenir de tous les bons moments passés ensemble.

Aussi j'adresse mes vifs remerciements à l'ensemble de l'équipe du laboratoire de l'Université Grecque National et Kapodistrian University of Athens qui nous ont permis de réaliser les analyses par Chromatographie Liquide couplée à la Spectrométrie de Masse en tandem (LC-MS/MS).

J'adresse également, mes sincères remerciements aux responsables des fermes d'élevages de bovins laitiers qui nous ont accordé un avis favorable pour la réalisation de ce travail et qui nous ont accueilli à bras ouvert au sein de leurs exploitations.

Nos vifs remerciements vont aussi à l'ensemble des responsables des unités laitières et de transformation du lait en produits dérivés, à savoir la Laiterie Fromagerie de Boudouaou (LFB), la laiterie COLAITAL de Birkhadem et la fromagerie TLEMSANI Agro (ex Trèfle) qui nous ont offert les moyens et permis d'effectuer une partie considérable de nos analyses.

Je dédie ce modeste travail et j'exprime par la même occasion mes chaleureux remerciements :

-A ma très chère femme et à mon fils, pour le soutien inconditionnel et les sacrifices consentis durant ces longues années passées à vos côtés, merci d'avoir fait preuve de beaucoup de patience à mon égard;

-A mes très chers parents pour leur soutien moral, affectueux et infaillible, qu'ils trouvent ici toute ma reconnaissance;

-A mon frère et à ma sœur pour leur tendresse, leur affection et pour tous les bons moments partagés ensemble depuis notre enfance;

-A mes beaux parents et à ma belle famille pour leur soutien;

-A tous mes amis (es) qui ont contribué de près ou de loin, ne serait ce que par un mot, une phrase, ou une simple pensée réconfortante durant les moments difficiles.

Je vous dis à tous un GRAND MERCI

## Liste alphabétique des abréviations

**AG** : acides gras

**AGCC** : acides gras à chaînes courtes

**AGCCM** : acides gras à chaînes courtes et moyennes

**AGCL** : acides gras à chaînes longues

**AGI** : acides gras insaturés

**AGL** : acide gras libre

**AGMI** : acides gras mon-insaturés

**AGPI** : acides gras poly-insaturés

**AGS** : acides gras saturés

**ALC** : acide linoléique conjugué

**API-MS/MS** : atmospheric pressure ionization tandem mass spectrometry

**BLA** : bovin laitier amélioré

**BLL** : bovin laitier local

**BLM** : bovin laitier moderne

**CL** : chromatographie liquide

**CR** : cellulose régénérée

**°D** : degré Dornic

**DA** : dinar algérien

**DAJ** : dose journalière admissible

**EC** : électrophorèse capillaire

**EMAG** : esters méthyliques d'acides gras

**ESD** : extrait sec dégraissé

**ESI** : electrospray ionization

**EST** : extrait sec total

**g/L** : gramme par litre

**GC-MS** : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

**GG** : globule gras

**ha** : hectare

**hab** : habitant

**HDL** : high density lipoprotein

**HPLC** : chromatographie liquide à haute performance

**J** : jour

**L** : litre

**LC-MS/MS** : chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem

**LDL** : low density lipoprotein

**LMR** : limites maximales de résidus

**Max** : maximum

**MFGM** : milk fat globule membrane

**MG** : matière grasse

**mg** : milligramme

**Min** : minimum

**Moy** : moyenne

**p** : probabilité

**PBS** : phosphate buffer solution

**PEG** : polyéthylène glycol

**Pr** : protéine

**SM** : spectrométrie de masse

**sn** : stereospecific numeration

**SPE** : extraction en phase solide

**SRM** : selected reaction monitoring

**T** : tonne

**TB** : taux butyreux

**TP** : taux protéique

**T<sub>R</sub>** : temps de rétention

**UHT** : ultra haute température

**VL** : vache laitière

# Liste des acronymes

**AFNOR** : Association Française de Normalisation

**ANP** : Armée Nationale Populaire

**CAC** : Codex Alimentarius Commission

**CE** : Commission Européenne

**CNIS** : Centre National de l'information et des Statistiques

**CNRC** : Centre National du Registre du Commerce

**COLAITAL** : Complexe Laitier d'Alger

**DSA** : Directions des Services Agricoles

**DSV**: Directions des Services Vétérinaires

**EFSA** : The European Food Safety Authority

**EC**: European Commission

**FAO**: Food and Agriculture Organization of the United Nations

**GIPLAIT** : Groupe Industriel des Productions Laitières

**ISO** : International Organization of Standardization

**ITELV** : Institut Technique des Elevages

**JECFA** : The Joint Expert Committee on Food Additives

**JORADP** : Journal Officiel de la République Algérienne Démocratique et Populaire

**LFB** : Laiterie-Fromagerie de Boudouaou

**LPC** : Lait Pasteurisé Conditionné

**MADRP** : Ministère de l'Agriculture, du Développement Rural et de la pêche

**NRC** : National Research Council

**OMC** : Organisation Mondiale du Commerce

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**ONALAIT** : Office National du Lait

**ONIL** : Office Nationale Interprofessionnel du Lait

**PNDA** : Plan National de Développement Agricole

**UE** : Union Européenne

**USDA** : The US Department of Agriculture's

**FSIS** : Food Safety Inspection Service

## Liste des tableaux

		Page
<b>Tableau 1</b>	Evolution de l'effectif du cheptel bovin de 1963 à 2014.....	6
<b>Tableau 2</b>	Evolution de la production laitière nationale durant la période 1990- 2015	7
<b>Tableau 3</b>	Montant (DA/L) des primes de collecte et de production (période 1995 à 2016).....	9
<b>Tableau 4</b>	Nomenclature des investissements soutenus par les pouvoirs publics en 2016.....	10
<b>Tableau 5</b>	Composition approximative générale du lait de vache .....	13
<b>Tableau 6</b>	Composition approximative des protéines du lait de vache .....	15
<b>Tableau 7</b>	Principaux composants de la matière grasse du lait de vache .....	17
<b>Tableau 8</b>	Composition en phospholipides et sphingolipides du lait de vache .....	21
<b>Tableau 9</b>	Principaux acides gras du lait de vache.....	24
<b>Tableau 10</b>	Principaux aspects de la qualité du lait .....	27
<b>Tableau 11</b>	Médicaments vétérinaires interdits ou autorisés dans l'alimentation humaine et dans les productions animales. ....	41
<b>Tableau 12</b>	Limites maximales autorisées de résidus des principales familles d'antibiotiques et de molécules actives selon le règlement de la Commission Européenne N° 37/2010.....	42
<b>Tableau 13</b>	Listes des substances actives homologuées et prohibées en Algérie. ....	44
<b>Tableau 14</b>	Propriétés de quelques micro-organismes utilisés en technologie laitière ....	50
<b>Tableau 15</b>	Sensibilité de souches technologiques à la pénicilline .....	51
<b>Tableau 16</b>	Répartition de l'effectif bovin dans les trois régions considérées .....	56
<b>Tableau 17</b>	Formulation des rations alimentaires distribuées au niveau des 3 fermes étudiées.....	57
<b>Tableau 18</b>	Calendrier de distribution des fourrages au niveau des exploitations.....	57
<b>Tableau 19</b>	Nombre d'échantillons, de collecteurs et de fermes affiliées prélevés dans le cadre de l'étude. ....	69
<b>Tableau 20</b>	Limites de détection des molécules antibiotiques par le BetaStar® Combo.	70
<b>Tableau 21</b>	Programme du gradient d'éluion et paramètres du mode d'ionisation ESI+ (électro-spray ionisation positive) pour les composés analysés. ....	75
<b>Tableau 22</b>	Résultats de l'effet du stade de lactation sur la composition physico-chimique du lait .....	79
<b>Tableau 23</b>	Teneurs moyennes ( $\pm$ écart-type) en acides gras du lait de vaches en fonction du stade de lactation. ....	89
<b>Tableau 24</b>	Teneurs moyennes ( $\pm$ écart-type) en acides gras saturés à chaînes courtes, moyennes et longues du lait de vaches en fonction du stade de lactation....	91
<b>Tableau 25</b>	Teneurs moyennes ( $\pm$ écart-type) en acides gras insaturés du lait de vache en fonction du stade de lactation.....	97
<b>Tableau 26</b>	Analyses physico-chimiques du lait de collecte en fonction de la région considérée.....	101

<b>Tableau 27</b>	Répartition du nombre de collecteurs, de fermes, et d'échantillons analysés au test BetaStar® Combo pour l'unité d'Alger.....	108
<b>Tableau 28</b>	Répartition du nombre de collecteurs, de fermes, et d'échantillons analysés au test BetaStar® Combo pour l'unité de Blida.....	109
<b>Tableau 29</b>	Répartition du nombre de collecteurs, de fermes, et d'échantillons analysés au test BetaStar® Combo pour l'unité de Boumerdes.....	110
<b>Tableau 30</b>	Répartition du nombre de collecteurs, de fermes, et d'échantillons analysés au test BetaStar® Combo au niveau des 3 établissements laitiers industriels.....	111
<b>Tableau 31</b>	Paramètres SRM et temps de rétention relatifs ( $T_R$ ) de diverses molécules antibiotiques sous les conditions d'expérimentation.....	116
<b>Tableau 32</b>	Principales molécules antibiotiques identifiées par LC-MS/MS sur les échantillons positifs au BetaStar® Combo.....	125
<b>Tableau 33</b>	Répartition géographique des molécules identifiées par LC-MS/MS.....	125
<b>Tableau 34</b>	Répartition géographique des molécules antibiotiques identifiées par LC-MS/MS sur les échantillons de lait positifs au test rapide BetaStar® Combo.....	128

## Liste des figures

	<b>Page</b>
<b>Figure 1</b> Modèle de micelle de caséine avec les sous-unités .....	16
<b>Figure 2</b> Structure d'un globule de matière grasse du lait de vache .....	18
<b>Figure 3</b> Formation d'un triglycéride.....	19
<b>Figure 4</b> Structure et nomenclature des principales familles d'acides gras .....	23
<b>Figure 5</b> Schémas d'obtention de différents produits laitiers fermentés et conséquences observées par la présence de résidus d'antibiotiques .....	52
<b>Figure 6</b> Répartition des régions sélectionnées pour l'étude .....	55
<b>Figure 7</b> Chromatographe en phase gazeuse couplé au spectromètre de masse .....	61
<b>Figure 8</b> Echantillons d'acides gras en phase d'analyse GC-MS par autosampler ...	61
<b>Figure 9</b> Répartition géographique des trois industries de production et de transformation laitière sélectionnées pour l'étude dans les régions de Boumerdes, Alger, Blida.....	64
<b>Figure 10</b> Principe de la méthode pour la recherche de résidus d'antibiotiques utilisant le test BetaStar®Combo .....	71
<b>Figure 11</b> Instrument LC-MS/MS avec ses compartiments.....	73
<b>Figure 12</b> Instrument d'Extraction en Phase Solide .....	74
<b>Figure 13</b> Etape d'élution des composés sous intérêt par SPE .....	76
<b>Figure 14</b> Evaporation à sec des échantillons .....	77
<b>Figure 15</b> Evolution de l'acidité titrable et du pH du lait de vache.....	80
<b>Figure 16</b> Evolution de la densité du lait de vache .....	81
<b>Figure 17</b> Evolution de l'extrait sec total du lait de vache .....	82
<b>Figure 18</b> Evolution de l'extrait sec dégraissé du lait de vache .....	83
<b>Figure 19</b> Evolution du taux protéique du lait de vache .....	83
<b>Figure 20</b> Evolution du taux butyreux du lait de vache .....	85
<b>Figure 21</b> Evolution de la teneur en acides gras du lait de vache .....	85
<b>Figure 22</b> Chromatogramme d'une série étalon de 37 EMAG analysés par GC-MS.....	88
<b>Figure 23</b> Chromatogramme de quelques esters d'acides gras communs du lait.....	88
<b>Figure 24</b> Evolution de la proportion des acides gras du lait de vache .....	90
<b>Figure 25</b> Evolution de la proportion d'acide butyrique en fonction du stade de lactation.....	92
<b>Figure 26</b> Evolution de la proportion d'acide laurique en fonction du stade de lactation.....	94
<b>Figure 27</b> Evolution de la proportion d'acide myristique en fonction du stade de lactation.....	94
<b>Figure 28</b> Evolution de la proportion d'acide palmitique en fonction du stade de lactation.....	95
<b>Figure 29</b> Evolution de la proportion d'acide stéarique en fonction du stade de lactation.....	96

<b>Figure 30</b>	Evolution de la proportion d'acide oléique en fonction du stade de lactation	98
<b>Figure 31</b>	Répartition des motifs de rejets du lait pour l'unité de Blida .....	102
<b>Figure 32</b>	Répartition des motifs de rejets du lait pour l'unité d'Alger .....	103
<b>Figure 33</b>	Répartition des motifs de rejets du lait pour l'unité de Boumerdes .....	103
<b>Figure 34</b>	Répartition des motifs de rejets du lait pour l'ensemble des trois unités .....	104
<b>Figure 35</b>	Valeurs moyennes de l'extrait sec total et dégraissé pour chaque unité de transformation (Alger, Blida et Boumerdes).....	105
<b>Figure 36</b>	Teneurs moyennes du taux butyreux du lait des 3 unités .....	106
<b>Figure 37</b>	Exemple d'un échantillon de lait négatif au test d'antibiotique (à gauche) et positif à la famille des $\beta$ -lactames (à droite).....	108
<b>Figure 38</b>	Exemple d'échantillons de lait positifs à la famille des $\beta$ -lactames (à gauche) et des tétracyclines (au milieu et à droite) .....	109
<b>Figure 39</b>	Chromatogramme du standard de la cloxacilline.....	117
<b>Figure 40</b>	Chromatogramme de la cloxacilline détectée dans l'échantillon de lait (E <sub>1</sub> ) positif réceptionné à l'unité de Blida .....	117
<b>Figure 41</b>	Chromatogramme du standard de la cloxacilline sous forme de métabolites.....	118
<b>Figure 42</b>	Chromatogramme de la cloxacilline sous forme de métabolites détectée dans un échantillon de lait positif (E <sub>2</sub> ) réceptionné à l'unité COLAITAL d'Alger .....	118
<b>Figure 43</b>	Chromatogramme du standard de la pénicilline G .....	119
<b>Figure 44</b>	Chromatogramme de la pénicilline G détectée dans un échantillon de lait positif (E <sub>1</sub> ) réceptionné à l'unité COLAITAL d'Alger.....	119
<b>Figure 45</b>	Chromatogramme du standard de la pénicilline G sous forme de métabolites.....	120
<b>Figure 46</b>	Chromatogramme de la pénicilline G sous forme de métabolites détectée dans un échantillon de lait positif (E <sub>1</sub> ) réceptionné à l'unité COLAITAL d'Alger.....	120
<b>Figure 47</b>	Chromatogramme du standard de céfACLOR.....	121
<b>Figure 48</b>	Chromatogramme du céfACLOR détecté dans un échantillon de lait positif (E <sub>3</sub> ) réceptionné à l'unité LFB de Boumerdes.....	121
<b>Figure 49</b>	Chromatogramme du standard de l'ampicilline.....	122
<b>Figure 50</b>	Chromatogramme de l'ampicilline détectée dans un échantillon de lait positif (E <sub>2</sub> ) réceptionné à l'unité LFB de Boumerdes.....	122
<b>Figure 51</b>	Chromatogramme du standard de l'oxacilline .....	123
<b>Figure 52</b>	Chromatogramme de l'oxacilline détectée dans un échantillon de lait positif (E <sub>2</sub> ) réceptionné à l'unité COLAITAL d'Alger .....	123
<b>Figure 53</b>	Chromatogramme du standard de l'oxacilline sous forme de métabolites.....	124
<b>Figure 54</b>	Chromatogramme de l'oxacilline sous forme de métabolites détectée dans un échantillon de lait positif (E <sub>6</sub> ) réceptionné à l'unité TLEMSANI Agro de Blida.....	124



# Table des matières

	<b>Page</b>
<b>INTRODUCTION GÉNÉRALE</b> .....	1
<u>Première partie</u> : <b>PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>I. Présentation de la filière lait en Algérie</b> .....	3
<b>I.1. Effectif de bovins et de vaches laitières</b> .....	4
<b>I.2. Evolution du niveau de production et de collecte du lait</b> .....	6
<b>I.3. Politique de développement de l'élevage bovin laitier</b> .....	9
<b>II. Caractéristiques et composition du lait de vache</b> .....	12
<b>II.1. Définitions et généralités sur le lait</b> .....	12
<b>II.2. Composition physico-chimique du lait de vache</b> .....	12
<b>II.2.1. Eau</b> .....	13
<b>II.2.2. Carbohydrates</b> .....	13
<b>II.2.3. La matière azotée</b> .....	14
<b>II.2.4. Classes des lipides du lait</b> .....	16
<b>II.2.5. Les minéraux</b> .....	26
<b>II.2.6. Les enzymes</b> .....	26
<b>II.2.7. Les vitamines</b> .....	26
<b>II.3. Qualité de lait</b> .....	27
<b>II.4. Caractéristiques physico-chimiques du lait</b> .....	28
<b>III. Les facteurs influençant la composition en acides gras du lait</b> .....	29
<b>III.1. Facteur génétique et race</b> .....	29
<b>III.2. Facteur physiologique</b> .....	30
<b>III.3. Facteur sanitaire</b> .....	31
<b>III.4. Facteur saisonnier</b> .....	31
<b>III.5. Facteur alimentaire</b> .....	32
<b>III.5.1. Régimes alimentaires à faible taux en matière grasse</b> .....	32
<b>III.5.2. Acides gras spécifiques</b> .....	32
<b>III.5.3. Effet des régimes alimentaires s'appuyant sur les pâturages</b> .....	33
<b>IV. Les résidus d'antibiotiques dans le lait</b> .....	35
<b>IV.1. Définitions et terminologies</b> .....	35
<b>IV.2. Classification des principaux anti-infectieux à usage vétérinaire</b> .....	37

<b>IV.3.</b> Aspects réglementaires.....	40
<b>IV.4.</b> Méthodes d'analyse.....	44
<b>IV.4.1.</b> Tests de dépistage rapide .....	44
<b>IV.4.2.</b> Méthodes de confirmation.....	44
<b>IV.5.</b> Problèmes induits par la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait.....	46
<b>IV.5.1.</b> Problèmes sanitaires.....	46
<b>IV.5.2.</b> Risques d'antibiorésistance et de déséquilibre de la microflore digestive du consommateur.....	48
<b>IV.5.3.</b> Problèmes technologiques .....	50

## Deuxième partie : PARTIE EXPERIMENTALE

### **A. Problématique Matériels et Méthodes**

#### **Etude 1 : Etude de l'effet du stade de lactation sur la qualité nutritionnelle du lait de vache (notamment sa fraction lipidique) dans trois fermes situées dans la région du proche Algérois**

<b>1.</b> Introduction.....	54
<b>2.</b> Critères de choix des exploitations .....	54
<b>3.</b> Conditions expérimentales.....	56
<b>3.1.</b> Alimentation des vaches laitières.....	56
<b>3.2.</b> Procédure d'échantillonnage du lait.....	57
<b>3.3.</b> Analyses physico-chimiques du lait de chaque ferme.....	58
<b>3.3.1.</b> pH initial.....	59
<b>3.3.2.</b> Acidité titrable.....	59
<b>3.3.3.</b> Densité.....	59
<b>3.3.4.</b> Extrait sec total et dégraissé.....	59
<b>3.3.5.</b> Taux protéique .....	59
<b>3.3.6.</b> Taux butyreux et d'acides gras.....	59
<b>3.3.7.</b> Etude du profil en acides gras de la matière grasse du lait .....	60
<b>3.4.</b> Analyse statistique.....	62

#### **Etude 2 : Analyses physico-chimiques et détection de résidus d'antibiotiques sur des laits livrés à l'industrie laitière de la région centre du proche Algérois**

<b>1.</b> Introduction .....	63
<b>2.</b> Présentation des unités objet de l'étude.....	64

2.1. Laiterie-Fromagerie de Boudouaou (wilaya de Boumerdes).....	64
2.1.1. Description de l'unité.....	64
2.1.2. Répartition des régions pour la collecte du lait.....	65
2.1.3. Gamme de produits fabriqués.....	65
2.1.4. Capacité de production du complexe laitier (estimée en 2016).....	66
2.2. Laiterie COLAITAL de Birkhadem (wilaya d'Alger).....	66
2.2.1. Description de l'unité.....	66
2.2.2. Répartition des régions pour la collecte du lait .....	66
2.2.3. Gamme de produits fabriqués.....	66
2.2.4. Capacité de production de l'unité (estimée en 2016).....	67
2.3. Fromagerie TLEMSANI AGRO (BLIDA).....	67
2.3.1. Description de l'unité.....	67
2.3.2. Répartition des régions pour la collecte du lait.....	68
2.3.3. Gamme de produits fabriqués.....	68
2.3.4. Capacité de production (estimée en 2016).....	68
3. Conditions expérimentales.....	68
4. Analyses du lait de collecte.....	69
4.1. Analyses physico-chimiques du lait de collecte.....	69
4.2. Recherche de résidus d'antibiotiques dans le lait.....	69
4.2.1. Détection des résidus d'antibiotiques par le test BetaStar® Combo.....	69
4.2.2. Identification des résidus d'antibiotiques par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse.....	71

## **B. Résultats et Discussion**

### **Etude 1 : Etude de l'effet du stade de lactation sur la qualité nutritionnelle du lait de vache (notamment sa fraction lipidique) dans trois fermes situées dans la région du proche Algérois**

1. Résultats des principales caractéristiques physico-chimiques du lait.....	79
1.1. Acidité titrable et pH .....	79
1.2. Densité .....	81
1.3. Extrait sec total.....	81
1.4. Extrait sec dégraissé.....	82
1.5. Taux protéique.....	83

1.6. Taux butyreux et d'acides gras.....	84
2. Résultats du profil en acides gras du lait.....	86
2.1. Acides gras saturés.....	91
2.1.1. Acide butyrique.....	91
2.1.2. Acides laurique, myristique et palmitique.....	93
2.1.3. Acide stéarique.....	96
2.2. Acides gras insaturés.....	97
2.2.1. Acide oléique .....	97
2.2.2. Acides linoléique et $\alpha$ -linoléique.....	99

**Etude 2 : Analyses physico-chimiques et détection de résidus d'antibiotiques sur des laits livrés à l'industrie laitière de la région centre du proche Algérois**

1. Résultat des analyses physico-chimiques du lait de collecte.....	101
1.1. acidité titrable et pH.....	101
1.2. Extrait sec total et dégraissé.....	105
1.3. Densité.....	106
1.4. Taux butyreux.....	106
2. Résultats de la recherche de résidus d'antibiotiques dans le lait de collecte.....	107
2.1. Cas de la laiterie COLAITAL de Birkhadem (Alger).....	108
2.2. Cas de la Fromagerie TLEMSANI AGRO (BLIDA).....	109
2.3. Cas de la Laiterie-Fromagerie de Boudouaou (wilaya de Boumerdes).....	110
2.4. Analyse globale.....	110
3. Identification des molécules d'antibiotiques détectées au BetaStar <sup>®</sup> Combo.....	115

<b>CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS .....</b>	<b>130</b>
--------------------------------------------	------------

<b>PERSPECTIVES .....</b>	<b>132</b>
---------------------------	------------

**RÉSUMÉ**

**RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

**ANNEXES**

**INTRODUCTION  
GÉNÉRALE**

A ce jour, la situation de la filière « Lait » en Algérie constitue une préoccupation constante et prioritaire des pouvoirs publics. Malgré les nombreux programmes de développement de cette filière, qui ont été mis en place durant ces dernières années, avec d'importants investissements aussi bien humains que financiers, la situation peine pourtant à s'améliorer sur le terrain.

En effet, la production nationale ne couvre toujours pas des besoins de plus en plus pressants face à une croissance démographique en pleine expansion, et ce, même si la production de lait a quintuplé entre 2009 et 2014 avec un volume de collecte de lait cru estimé à près de 964 millions de litres en 2014 contre seulement 189 millions litres en 2009. Pour la même période, le nombre d'éleveurs est passé de 13726 en 2009 à 46222 en 2014. Le nombre de laiteries a également augmenté, passant de 88 laiteries en 2009 à 182 laiteries en 2015 (source : Déclaration de Mr Mekersi Skander lors d'une journée d'étude sur la filière lait dans [www.leconews.com](http://www.leconews.com), 2016). Malgré tous ces efforts consentis, le pays reste néanmoins dans l'obligation d'importer du lait et des produits laitiers avec une facture qui s'est établie à 985,11 millions de dollars en 2016 (CNIS, 2017).

Par conséquent, l'amélioration, non seulement des volumes de production, mais également des qualités nutritionnelles, technologiques et sanitaires du lait, constitue actuellement un axe prioritaire de recherche dans notre pays afin de répondre au mieux aux exigences des industriels et des consommateurs.

Pourtant en Algérie, la notion de la qualité du lait commence à peine à être intégrée par les différents acteurs de la filière. Celle-ci est définie différemment par les intervenants, ainsi pour le producteur, la qualité serait une absence d'impuretés visibles à l'œil nu et surtout une présence de hautes teneurs en matières utiles. L'industriel réclame quant à lui une matière première au rendement de transformation élevé, tandis que pour le consommateur la notion de qualité d'un produit se définit comme un produit ayant des valeurs sanitaire, nutritionnelle et organoleptique irréprochables.

La qualité sanitaire du lait lui confère des garanties de salubrité et de sécurité, en assurant notamment une absence de résidus d'antibiotiques, tel que défini par les critères du JORADP (1993). Malheureusement, l'usage croissant et souvent irraisonné de produits antibiotiques se solde très souvent par la présence de leurs résidus dans le lait produit par la vache traitée (Ben-Mahdi et Ouslimani, 2009; Tarzaali, 2009). Leur présence dans le lait pourrait constituer un danger pour le consommateur en déclenchant dans certains cas des accidents allergiques

(Dewdney *et al.*, 1991), toxiques (Pawelczak *et al.*, 2002), des résistances aux antibiotiques (Sanders, 2005), mais aussi en se révélant être surtout un véritable fléau pour l'industrie de transformation du lait en produits laitiers, notamment pour la fabrication de fromages et de yaourts (Zinedine *et al.*, 2007). Ces résidus peuvent être à l'origine de l'inhibition totale ou partielle de phénomènes fermentaires d'origine bactérienne ce qui pourrait engendrer des pertes économiques importantes pour l'industrie laitière (Sachot et Puyt, 2001; Mitchell, 2005).

Plusieurs facteurs pourraient influencer la variation de la qualité nutritionnelle du lait par des changements dans sa composition physico-chimique et plus particulièrement dans sa fraction lipidique, cette dernière étant prise en compte en Algérie par de nombreuses unités de transformation du lait en produits dérivés (beurre, fromage...etc.) pour le paiement des producteurs selon la qualité du lait réceptionné. Des études ont mis en évidence le fait que certains acides gras (butyrique, oléique...etc.), qui entrent dans la composition de la matière grasse du lait, sont bénéfiques tandis que d'autres (myristique, palmitique...etc.), sont néfastes pour la santé humaine (Lopez-Huertas, 2010). Parmi les facteurs cités par la littérature, nous pouvons distinguer ceux qui sont liés aux conditions d'élevage et sur lesquelles le producteur peut agir facilement comme par exemple l'alimentation, alors que d'autres échappent totalement à son contrôle comme la saison, le stade physiologique et l'état sanitaire de l'animal (Palmquist *et al.*, 1993; Månsson, 2008).

Par conséquent la présente étude porte d'une part sur l'évaluation de la qualité nutritionnelle du lait produit sous les conditions réelles d'élevage, dans 3 exploitations laitières, et d'autre part sur l'évaluation de la qualité nutritionnelle et surtout sanitaire du lait transporté par le réseau de collecte et réceptionné sous ces conditions à travers un suivi dans 3 unités de transformation du lait en produits dérivés situées dans la région Centre du proche Algérois. Nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

- étudier l'effet du stade de lactation sur la qualité nutritionnelle du lait de vache notamment sa fraction lipidique dans trois fermes situées dans la région Centre du proche Algérois.
- évaluer la composition physico-chimique du lait à l'exploitation laitière et à l'unité de transformation du lait en produits dérivés.
- détecter une éventuelle présence de résidus d'antibiotiques dans des laits livrés à l'industrie laitière de la région Centre du proche Algérois.
- identifier les molécules éventuellement responsables de la contamination du lait.

Première partie

**PARTIE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

## I. Présentation de la filière lait en Algérie

Ces dernières années l'Algérie fait face à une demande grandissante en matière de consommation de lait et de ses dérivés. Celle-ci a évolué de 35 L/hab./an en 1967, à plus de 147 L/hab./an en 2012. Avec une population évaluée à 37,9 millions d'habitants en 2012, le pays est considéré comme étant un consommateur majeur de ce type de produits au niveau maghrébin. En effet, la consommation interne est estimée à 5,6 milliards de litres alors que la production laitière nationale même en étant passée d'un volume de 1,55 milliard de litres en 2000 à 3,465 milliards en 2015, reste toutefois encore très insuffisante pour faire face à des besoins toujours plus grands (Makhlouf *et al.*, 2015; Makhlouf et Montaigne, 2017).

Par ailleurs, classé comme étant le second pays importateur de poudre de lait à l'échelle mondiale, l'Algérie n'a jamais réussi, à ce jour à satisfaire les besoins de sa population sans procéder aux importations (Cherif, 2013 ; El Hassani, 2013). En effet, l'Algérie importe annuellement une moyenne de 350.000 tonnes de poudre de lait dont 50% sous l'égide de l'Office National Interprofessionnel du lait (ONIL). Cet organisme les redistribue alors aux laiteries sous forme de quotas subventionnés, afin de produire du Lait Pasteurisé Conditionné (LPC) en sachet, vendu au prix administré de 25 DA/L (déclarations officielles dans [www.agroligne.com](http://www.agroligne.com), 2016). Cet écart de prix reste à la charge du Trésor Public. Sans l'intervention de l'état sur le prix de consommation du LPC, le prix de ce dernier atteindrait les 56 DA/L alors qu'il n'est que de 25 DA/L à la vente, soit une subvention de l'ordre de 55% (Makhlouf *et al.*, 2015).

La demande effrénée sur ce produit, s'expliquerait d'une part, par les traditions alimentaires de la population, et d'autre part, par son prix abordable dû aux subventions mises en place par l'Etat Algérien. Mais hélas la situation s'est aggravée suite à la croissance démographique exponentielle, que vit le pays et qui a eu pour conséquence de maintenir les importations de matières premières à un niveau élevé (El Hassani, 2013; Srairi, 2013).

Toutefois, il est important de noter que les pouvoirs publics avaient engagé d'importants efforts à travers la politique de subvention du prix du sachet de lait. Le plafonnement de ce dernier avait été décidé par le gouvernement, d'une part, dans le but de fournir un apport protéique, particulièrement en faveur des couches défavorisées de la population, et d'autre part, afin de garantir sa disponibilité sur les étals (El Hassani, 2013; Makhlouf *et al.*, 2015). Cependant, de nombreuses industries laitières continuent d'utiliser encore de la poudre de lait

subventionnée pour fabriquer des produits dérivés à forte valeur ajoutée, au lieu d'intégrer dans les procédés de transformation du lait cru produit localement, mais dont le prix affiché était plus élevé (source : revue de presse, Filière laitière : la face cachée des subventions agricoles, dans [www.leconews.com](http://www.leconews.com), 2014). Cette pratique a contraint les pouvoirs publics à renforcer davantage le contrôle de l'usage interdit de la poudre de lait subventionnée chez les transformateurs (source : revue de presse : Contrôle de la transformation de la poudre de lait subventionnée, de l'amidon dans le lait pasteurisé, dans [www.algerie360.com](http://www.algerie360.com), 2014).

### **I.1. Effectif de bovins et de vaches laitières**

En l'espace de 40 ans, l'effectif de vaches laitières (VL) a presque triplé en Algérie, puisqu'il est passé de 300 000 têtes en 1963 à 833 224 têtes en 2003. La taille globale du cheptel a enregistré une tendance similaire, puisqu'il est passé de 525 000 têtes en 1963 à 1 560 500 têtes en 2003 (Tableau 1). Cette augmentation en effectif s'expliquerait par la politique d'importation de VL à haut potentiel génétique entreprise par l'état algérien ainsi que par la mise en place de différents programmes de relance de la filière « Lait » dans le but de réduire l'importation de la poudre de lait (Madani *et al.*, 2003 ; Srairi, 2013). A compter de cette date, l'évolution des effectifs est restée plutôt fluctuante (ITELV, 2012; Cherif, 2013; MADRP, 2015), avec certes des augmentations visibles, mais cependant moins marquées que durant la période 1963-2003 :

- période 2003- 2010, l'effectif de VL est passé de 833 224 à 915 400 têtes en 2010, soit une augmentation de 82 176 têtes.
- période 2010 à 2014, l'effectif est passé de 915 400 à 1 073 512 têtes en 2014, soit un gain de 158 112 VL, l'effectif global passant de 1 747 700 à 2 050 652 têtes en 2014.

Selon Kaouche-Adjlane (2015), la faible évolution enregistrée durant les dernières années, s'expliquerait par différentes défaillances enregistrées :

- une mauvaise conduite de la reproduction du cheptel, qui a eu pour conséquence un ralentissement dans son renouvellement (intervalle vêlage-vêlage long) ;
- une réforme précoce des VLs par suite, d'une part, du manque de productivité, et d'autre part, afin de limiter les charges financières des éleveurs. Ce manque en performance s'expliquerait en partie par une alimentation carencée, insuffisante à couvrir les besoins élevés des vaches à haut potentiel de production.

De nombreuses sources (Bencharif, 2001; Cherfaoui, 2003; Cherif, 2013; MADRP, 2015; Zaida, 2016) ont évoqué une production laitière, assurée à plus de 80% par un cheptel bovin, que l'on pourrait répartir en trois catégories :

- Un système de production intensif, dit “Bovin Laitier Moderne” (BLM), qui se localise dans les zones à fort potentiel d’irrigation, notamment autour des villes. La production laitière dite “moderne”, repose sur un cheptel de bovins estimé en 2013 (Tableau 1) à 293856 vaches importées à haut potentiel génétique, soit environ 15 % de l’effectif national et qui assure jusqu’à 70% de la production totale de lait de vache. Les races laitières importées sont majoritairement constituées par :
  - La Holstein Allemande, réputée pour son haut niveau de production laitière, se répartie dans les régions côtières et constitue l’essentiel de l’effectif des races importées ;
  - La Montbéliarde Française, avec un effectif plus réduit que la précédente ;
  - La Fleckvieh Suisse, considérée comme une race mixte.
- Un système de production “extensif”, dit “Bovin Laitier Amélioré” (BLA), qui concerne des ateliers de taille relativement réduite (1 à 6 vaches), localisés dans les zones forestières et de montagne. Les bovins sont issus de multiples croisements entre les populations locales et les races importées.
- Un cheptel constitué par le Bovin laitier local (BLL), réputé pour sa rusticité, mais malheureusement aussi par son faible potentiel laitier. Il est constitué principalement par la « brune de l’Atlas » et de quatre races secondaires que sont, la Guelmoise, la Cheurfa, la Chélifienne et la Setifienne.

La somme des cheptels (BLA et BLL) a été évalué à 714 719 têtes en 2013 (Cherif, 2013; MADRP, 2015), soit plus du double de la taille de l’effectif constitué par les BLM (Tableau 1).

La stratégie adoptée pour améliorer génétiquement le cheptel à travers l’intégration de races à haut potentiel laitier a été peu concluante. De plus, malgré cet échec, les importations, provenant essentiellement d’Europe, se sont poursuivies durant de nombreuses années à raison de 25 000-30 000 génisses pleines/an. Parmi les raisons évoquées pour expliquer ce manque de performance, nous pouvons citer des conditions climatiques qui leurs seraient défavorables et une alimentation offerte, bien différentes de celles de leur pays d’origine, qui les ont contraint à dépenser beaucoup plus d’énergie pour faire face aux facteurs

environnementaux, par conséquent très peu d'entre elles survivent aux conditions d'élevages imposées (Zaida, 2016).

**Tableau 1** : Evolution de l'effectif du cheptel bovin de 1963 à 2014

Année	Effectif vaches laitières (milliers de têtes)	BLM	BLA+BLL	Effectif bovin total (milliers de têtes)
1963	300,0	NC	NC	525,0
1969	499,0	NC	NC	871,0
1970	507,0	NC	NC	885,0
1979	821,0	NC	NC	1327,0
1980	844,0	NC	NC	1355,0
1989	803,0	NC	NC	1405,0
1990	797,0	NC	NC	1393,0
1999	988,7	NC	NC	1580,6
2000	997,1	NC	NC	1595,4
2003	833,2	192,4	640,8	1560,5
2004	844,5	199,2	645,3	1613,7
2005	828,8	204,2	624,6	1586,1
2006	847,6	207,7	639,9	1607,9
2007	859,9	216,3	643,6	1633,8
2008	853,5	214,5	639,0	1640,7
2009	882,3	229,9	652,3	1682,4
2010	915,4	239,8	675,6	1747,7
2011	940,7	250	690,7	1790,1
2012	966,1	267,1	699	1843,9
2013	1008,6	293,9	714,7	1909,5
2014	1072,5	239,8	675,6	2050,6

NC : donnée non communiquée/ BLM : Bovin Laitier Moderne/ BLA : Bovin Laitier Amélioré/ BLL : Bovin Laitier Local

Sources: ITELV, 2012. MADRP, 2015

## I.2. Evolution du niveau de production et de collecte du lait

La production laitière a quasiment doublé durant la période 1990-2006, en passant de 1,135 à 2,244 milliards de litres (Tableau 2) soit une augmentation de l'ordre de 97,71%. Néanmoins, elle a traversé plusieurs périodes de stagnation :

- de 1990 à 1997, en raison d'une forte baisse du rythme des importations, suite aux difficultés financières traversées par le pays et à l'application d'un plan d'ajustement structurel.
- de 1999 à 2003, suite à l'arrêt des importations pour cause d'interdiction liée aux épidémies touchant le cheptel européen (Zaida, 2016).

**Tableau 2** : Evolution de la production laitière nationale durant la période 1990- 2015

Année	Production laitière nationale (Milliards de litres)	Taux de collecte du lait (%)	Année	Production laitière nationale (Milliards de litres)	Taux de collecte du lait (%)
1990	1,135	4	2003	1,610	10
1991	1,193	NC	2004	1,915	15
1992	1,268	3,13	2005	2,092	NC
1993	1,049	NC	2006	2,244	12,57
1994	1,091	NC	2007	2,184	NC
1995	1,084	NC	2008	2,219	NC
1996	1,135	NC	2009	2,394	18,12
1997	1,050	10,73	2010	2,632	20,10
1998	1,200	7,71	2011	2,923	19,58
1999	1,559	6,22	2012	3,088	12,66
2000	1,586	6,31	2013	3,368	NC
2001	1,637	11	2014	3,549	27,14
2002	1,544	10	2015	3,465	NC

NC : donnée non communiquée

**Sources** : Rapport du MADR dans Souki, 2009. El Hassani, 2013. Synthèse d'auteurs dans Makhoulf et Montaigne, 2017

Les périodes marquées par une forte croissance se sont échelonnées de :

- 1997 à 1999 : La production de lait est passée de 1,050 à 1,559 milliards de litres (hausse de l'ordre de 48,48%), qui s'expliquerait par la politique d'importation de vaches laitières à haut potentiel génétique (Souki, 2009).
- 2006 et 2014 : La production repart de plus belle à la hausse. Elle passe de 2,244 à 3,549 milliards de litres (hausse de l'ordre de 58,16%), suite à la reprise des importations de génisses pleines et non aux rendements laitiers des exploitations (Kali, 2011; Zaida, 2016).

Sous l'effet d'une forte demande, soutenue par l'agrandissement de la population, et, malgré les efforts déployés pour augmenter le niveau de la production laitière (importation de

génisses), compte tenu d'une part, des investissements entrepris pour développer la filière et d'autre part, du potentiel génétique des vaches importées qui produisent près de 5000 à 6000 kg de lait/lactation dans leurs pays d'origine (Kherzat, 2007; Tammar, 2007; Kali *et al.*, 2011), le taux de croissance annuel est cependant resté relativement faible.

La collecte devait jouer un rôle majeur dans la politique de développement des performances. Pourtant à ce jour elle constitue le maillon faible, en restant marginale par rapport à la quantité de lait produite (Kali *et al.*, 2011). L'autoconsommation et la distribution via le circuit informel sont parmi les raisons évoquées pour expliquer sa faiblesse (Zaida, 2016).

Le taux d'intégration, qui correspond à la part de lait collecté dans les quantités totales produites a présenté une évolution en dents de scie, puisqu'il est passé d'une moyenne de 4% au début des années 90 à environs de 10 % durant la période 1995-1997. Cette évolution s'expliquerait par la forte amélioration du prix du lait cru produit qui était passé de 7 DA/L à 22 DA/L (Bencharif, 2001) tel que présenté dans le Tableau 3. Ensuite, par contre jusqu'en 2000 il a enregistré une période de déclin en raison, d'une part, du délaissement partiel des activités du Groupe Industriel des Productions Laitières (GIPLAIT) au profit de collecteurs privés et d'autre part, en raison de perturbations enregistrées dans le mode de fonctionnement de la filière (Kherzat, 2007). Le taux de collecte est de nouveau reparti à la hausse durant la période 2001 à 2004 (Makhlouf *et al.*, 2015), à la faveur d'une réévaluation du prix du lait de 22 DA/L à 27 DA/L produit par les pouvoirs publics. Cette mesure a permis d'augmenter les volumes de lait cru produits et par ricochet, celles collectées.

A partir de 2008, le Plan National de Développement Agricole (PNDA) a amorcé une nouvelle étape dans le but de faire progresser les volumes de lait collectés (taux d'intégration évalué à 27,14% en 2014). De plus, dans le but de soutenir les plans de relance de la filière, le prix du litre de lait produit a de nouveau été réévalué pour être fixé à 36 DA/L en Novembre 2015, avec 14 DA/L de primes octroyées à l'éleveur et un bonus de 2 DA/L lors de la présentation de l'agrément sanitaire délivré par le vétérinaire (MADRP, 2015).

Des mesures similaires ont été décidées par les pouvoirs publics afin d'encourager et soutenir financièrement les autres acteurs de la filière, que sont les transformateurs et les collecteurs et ce, en vue d'augmenter le niveau de la production laitière.

**Tableau 3 :** Montant (DA/L) des primes de collecte et de production (période 1995 à 2016)

	1995-2000	2001-2004	2005-2008	2009-2013	2014-2016
Prix minimum garanti du litre cru payé par les laiteries aux producteurs	22	27	27	30-34	36
Montant global des primes :					
Producteur	4	5	7	12	14
Collecteur	2	2	4	5	5
Transformateur	2	2	2	4	4

**Sources :** entre 1995-2000 : Bencharif, 2001. Entre 2001 et 2013 : Makhlouf *et al.*, 2015. Entre 2014 et 2016 : déclarations officielles ([www.agroligne.com](http://www.agroligne.com), 2016)

L'étude d'investigation du marché algérien, réalisée en 2017 sur le lait conditionné et sur les boissons lactées par Kaci et Yahiaoui (2017), a recensé le nombre de 778 entreprises de l'industrie du lait et des produits laitiers, dont 174 laiteries affiliées à l'ONIL selon les chiffres fournis par le Centre National du Registre du Commerce (CNRC).

Celles-ci activent de la manière suivante :

- 64% adhèrent au programme du lait subventionné et produisent le LPC à partir de la poudre de lait importée par l'ONIL ;
- 25% d'entre elles, commercialisent le lait cru local pasteurisé ou stérilisé ;
- 11% produisent du lait UHT et des dérivés à partir de matières premières importées.

Ces entreprises se répartissent principalement (38,67%) dans la région Centre-Nord du pays. Parmi les wilayas à forte densité d'implantation de laiterie, on trouve Blida, Alger et Boumerdes avec respectivement 15, 12 et 6 laiteries. L'ONIL, a estimé à 27% la proportion de laiteries affiliées ayant une capacité de production allant de 20 000 à 100 000 L/J, alors que 20% possède une capacité supérieure à 100 000 L/J.

Selon les données fournies en 2015 par le MADRP, le nombre d'éleveurs intégrés au processus de collecte est passé de 18 144 en 2010 à 34 300 en 2015 (89,04% d'augmentation). Pour leur part, le nombre de collecteurs a évolué de 755 en 2010 à 1636 en 2014 (116,69% d'augmentation).

### I.3. Politique de développement de l'élevage bovin laitier

A partir de 2008, l'état a engagé une nouvelle politique laitière sous la pression de l'envolée des cours mondiaux de la poudre de lait écrémé (5 200 \$/tonne) et grasse (5 050 \$/tonne). La politique de développement des activités d'élevages de bovins laitiers repose sur une série de mécanismes qui ont été conçus dans le but de remettre sur les rails ce secteur et atteindre à

terme l'autosuffisance, à savoir 0% de poudre de lait importée à l'horizon 2020. Outre les primes de production octroyées aux éleveurs, et celles relatives à la collecte et à la transformation, les pouvoirs publics ont mis en place d'autres mesures incitatives, à savoir :

- soutien au prix des céréales destinées à la fabrication de l'aliment pour bétail par la subvention du soja et du maïs importés, sous condition qu'ils soient strictement utilisés à cette fin.
- primes à l'investissement en-sus de celles évoquées ci-dessus : par l'instauration de primes destinées à promouvoir la production du lait cru (Tableau 4).

**Tableau 4 :** Nomenclature des investissements soutenus par les pouvoirs publics en 2016

<b>Nomenclature des investissements soutenus</b>	<b>Niveau de soutien</b>
<b>Construction/aménagement de bâtiments d'élevage</b>	
Construction et/ou extension d'une nouvelle étable d'élevage de bovin laitier	30% plafonné à 1 000 000 DA
Aménagement et/ou réfection de l'étable d'élevage du bovin laitier	30% plafonné à 500 000 DA
<b>Acquisition de matériel et d'équipement spécialisé d'élevage</b>	
Acquisition et installation d'abreuvoirs automatiques	30% plafonné à 40 000 DA
Cuve de réfrigération 250 à 2000 L	30% plafonné à 265 000 DA
Chariot trayeur	30% plafonné à 85 000 DA
Salle de traite	30% plafonné à 750 000 DA
Lactoduc	30% plafonné à 450 000 DA
<b>Matériel pour cultures fourragères</b>	
Ensileuse	30% plafonné à 40 000 DA/exploitation
Construction de silo pour ensilage	30% plafonné à 1000 DA/m <sup>3</sup>
<b>Réalisation d'infrastructures spécialisées pour la collecte</b>	
Centre de collecte primaire	30% plafonné à 160 000 DA/cuve de 500 L
Centre principal de collecte	30% plafonné selon le volume de la cuve
<b>Transport du lait</b>	
	30% plafonné selon le volume de la citerne
<b>Contrôle de la qualité du lait</b>	
Acquisition de valisette de contrôle	30% plafonné à 35 500 DA
<b>Protection du patrimoine génétique</b>	
Insémination artificielle (IA) bovine	1800 DA/IA fécondante
Production de reproducteurs	10 000 – 50 000 DA
Soutien aux pépinières de génisses	10 000 – 60 000 DA

**Sources :** Document de la chambre nationale d'agriculture rapporté dans Zaida, 2016. Synthèse des aides octroyées sur [www.minagri.dz](http://www.minagri.dz).

▪ soutien à la production des cultures fourragères : qui sont considérées comme étant un maillon très important dans le développement de l'élevage bovin laitier. Les cultures fourragères occupent cependant une place marginale au niveau des productions végétales (Kaouche-Adjlane, 2015) avec une superficie fourragère allouée évaluée à 785 000 ha (Soukehal, 2013).

Cette insuffisance est considérée comme étant un obstacle majeur au développement de l'élevage et à l'accroissement de la production laitière. En outre, l'insuffisance des ressources fourragères est aggravée par des conditions climatiques défavorables (Makhlouf *et al.*, 2015).

Afin de pallier à ces insuffisances constatées, les pouvoirs publics ont instauré une subvention au prix des semences dédiées aux cultures fourragères, lesquelles sont subventionnées à hauteur de 50% et plafonnées à 6000 DA/ha pour les :

- légumineuses fourragères riches en azote (luzerne).
- légumineuses fourragères à potentiel énergétique (pois, vesce, sorgho et maïs).
- graminées fourragères riches en fibre (avoine, orge, et seigle).

Les pouvoirs publics à travers ces mesures adoptées, n'ont garanti aux éleveurs, qu'un prix du lait au litre malheureusement en deçà du coût de revient réel de leur production. Les primes de compensation et de soutien qui leur sont reversées, ne servent en fait qu'à combler et ainsi maintenir à flot leurs exploitations face au manque à gagner qu'ils subissent continuellement (Bencharif, 2001; Zaida, 2016). De plus, le soutien accordé par l'état au prix du LPC à 25 DA/L vise à soutenir le pouvoir d'achat des ménages. Cette aide est cependant perçue comme un frein au développement de la production locale de lait cru, un second objectif attendu par les pouvoirs publics. Ce prix fixé constitue en fait, une concurrence déloyale au lait de vache produit localement, dont le coût de revient à la production est aux alentours de 56 DA, voir même davantage. Cet état de fait a eu pour conséquence de freiner le développement de la filière « Lait » (Makhlouf *et al.*, 2015; Kaci et Yahiaoui, 2017).

## **II. Caractéristiques et composition du lait de vache**

### **II.1. Définitions et généralités sur le lait**

L'arrêté interministériel du 29 Safar 1414 correspondant au 18 août 1993 (JORADP, 1993) relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation, définit le lait comme étant « le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum ».

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.

### **II.2. Composition physico-chimique du lait de vache**

Le lait est un fluide aqueux opaque, blanc, légèrement bleuté, ou jaunâtre du fait de la présence de bêta-carotène, de saveur douceâtre (Pougheon et Goursaud, 2001). Il est considéré comme un mélange liquide complexe, doué d'une richesse nutritionnelle intéressante, dont le composé majoritaire est l'eau (Tableau 5). Il contient aussi des matières grasses en émulsion, une suspension de matières caséuses protéiques, une solution colloïdale de protéines sériques, des glucides, des sels minéraux, des vitamines et des traces d'éléments divers (Vignola, 2002). Les données quantitatives mentionnées dans le tableau 5 sont des approximations, car montrant des variations en fonction d'une multiplicité de facteurs, dont l'influence exercée par la ration alimentaire journalière, la race, la saison, la santé de l'animal, la période de lactation, ainsi que les conditions de la traite (Linn ,1988). Aussi, la composition exacte d'un échantillon de lait ne peut s'obtenir qu'à la suite de son analyse.

**Tableau 5** : Composition approximative générale du lait de vache.

Constituants du lait	Teneur en (g/L)
<b>Eau</b>	905
<b>Glucide (Lactose)</b>	45
<b>Matière grasse :</b>	35
Lipides simples	34
Lipides complexes	< 0,5
Partie insaponifiable (stéroïls, $\beta$ -carotène)	< 0,5
<b>Protéines :</b>	34
Caséines	27
Protéines solubles (albumine, globuline)	5,5
Substances azotées non protéiques	1,5
<b>Sels minéraux</b>	9
<b>Constituants divers</b> (Vitamines, enzymes, gaz dissous)	Traces

(Alais *et al.*, 2003)

La glande mammaire est le siège d'intenses activités de biosynthèses pendant la période de lactation. Une grande partie des nutriments sont synthétisés *in situ* à partir de précurseurs provenant de la circulation sanguine. C'est le cas de la majorité des protéines, de la totalité du lactose ainsi que des lipides. Une partie considérable des minéraux apportés par le sang (phosphates et calcium) s'associent aux caséines dans la glande pour former le « phosphate colloïdal » (Pélicier et Ribadeau-Dumas, 1986).

### II.2.1. Eau

L'eau est de loin le constituant le plus abondant du lait (approximativement 902 g/L), dans lequel les autres constituants sont dispersés (Mathieu, 1998).

### II.2.2. Carbohydrates

Le carbohydrate prédominant dans le lait est représenté par un disaccharide, le lactose. Sa teneur moyenne s'élève à 45 g/L (Alais, 2003). Il est synthétisé dans la glande mammaire à partir du glucose prélevé du sang et se compose par d' $\alpha$ - ou de  $\beta$ -glucose uni à du  $\beta$ -galactose (Linn, 1988). La principale fonction biologique du lactose dans le lait est la régulation de la teneur en eau et de celle du contenu osmotique et par conséquent du rendement en lait (Davies *et al.*, 1983 ; Jenness, 1985). En raison de cette fonction, il est considéré comme le constituant le plus constant du lait.

Les glucides, autres que le lactose, qui se trouvent dans le lait sont les monosaccharides, les phosphates de sucre, les sucres nucléotidiques, les oligosaccharides libres neutres et acides et les groupes glycosyliques de peptides et de protéines (Jenness, 1985). Le glucose et le galactose sous formes libres sont également présents dans le lait. Toutefois, les teneurs de ces fractions glucidiques sont mineures par rapport à celles du lactose (Linn, 1988).

### **II.2.3. La matière azotée**

On distingue deux groupes de matières azotées dans le lait : les protéines et les matières azotées non protéiques (Pougheon et Goursaud, 2001) :

- Les matières azotées non protéiques représentent 5% du total;
- Les protéines englobent les 95% restants.

#### **II.2.3.1. Les matières azotées non protéiques**

L'azote non protéique (ANP) du lait comprend principalement l'urée, en proportion très variable : de 20 à 75% (Mc Dowell, 1972). Les autres composants de l'ANP sont les acides aminés (10 à 20% de l'ANP), la créatine (3 à 6%), l'acide urique (2 à 4%), l'ammoniaque (1 à 5%) et la créatinine (environ 1%). Les variations de la teneur en ANP du lait sont essentiellement proportionnelles à celles de l'urée (Journet *et al.*, 1975).

#### **II.2.3.2. Les protéines du lait**

Elles constituent les matières azotées protéiques du lait (Tableau 6) et sont évaluées approximativement entre 31 et 36 g/L (Swaisgood, 1995).

Les protéines du lait se divisent en deux grands groupes (Linn, 1988) :

- Les protéines du lactosérum, également appelées « protéines sériques ». Solubles, elles constituent approximativement 20 % des protéines du lait;
- La caséine, coagulable qui représente approximativement 80% des protéines du lait.

Les protéines du lait ont une très bonne valeur nutritionnelle, car elles contiennent tous les acides aminés indispensables à l'organisme en proportion satisfaisante (Galantier et Bernard, 2005).

**Tableau 6 :** Composition approximative des protéines du lait de vache

<b>Protéine</b>	<b>Teneur g/L</b>
<b>Protéines totales</b>	36
<b>Caséines totales</b>	29,5
$\alpha_1$ -Caséine	11,9
$\alpha_2$ -Caséine	3,1
$\beta$ -Caséine	9,8
$\kappa$ -Caséine	3,5
$\gamma$ -Caséine	1,2
<b>Protéines sériques</b>	6,1
$\alpha$ -Lactalbumine	1,2
$\beta$ -Lactoglobuline	3,1
Immunoglobuline	0,8
Protéose-peptone	1,0
Albumine bovine sérique	0,4

(Swaisgood, 1995)

- **Les caséines**

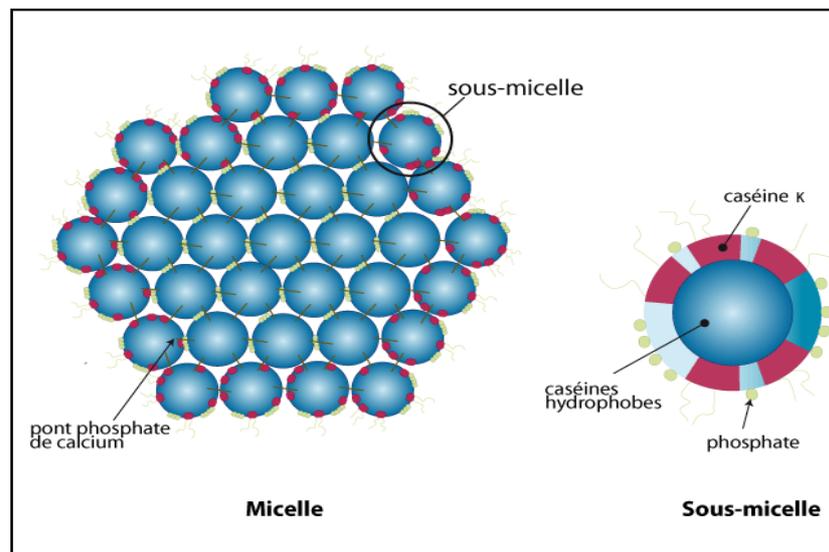
Les caséines sont des phosphoprotéines qui se présentent sous forme de complexes organiques associés à des éléments minéraux, plus particulièrement avec le calcium et le phosphore, pour former des *micelles* (Swaisgood, 1993). Elle précipitent sous l'action de la présure ou par acidification du milieu à pH 4,6 (Eigel *et al.*, 1984).

La caséine sous sa forme entière apparaît donc comme un milieu complexe qui renferme un nombre élevé de constituants différents (Guillou *et al.*, 1987).

La détermination des structures primaires des caséines (Ribadeau Dumas *et al.*, 1972; Brignon *et al.*, 1977) a permis de montrer qu'elles pouvaient être classées selon la structure des séquences amino-acides en quatre familles différentes : les caséines  $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$ ,  $\beta$ ,  $\kappa$ .

Les caséines  $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$ ,  $\beta$ ,  $\kappa$  qui constituent respectivement 40, 10, 33 et 5 % des caséines totales du lait, contiennent 199, 207, 209 et 169 résidus d'acides aminés (Swaisgood, 1995; Farrel *et al.*, 2004). A côté de ces composés, on trouve aussi la caséine  $\gamma$ , dont les fractions proviennent de la protéolyse partielle de la caséine  $\beta$  suite à l'action de la plasmine (Kaminogawa et Yamauchi, 1972 ; Swaisgood, 1995).

Les micelles (Figure 1) sont composées de sous-unités comprenant de 10 à 100 molécules de caséines et nommées sous-micelles. Elles sont reliées entre elles par des ponts phosphate de calcium. Les caséines  $\beta$  et  $\alpha_{s1}$  sont plus présentes au centre de la sous-micelle et forment le cœur hydrophobe alors que la partie externe, davantage hydrophile, est formée de caséine  $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$  et  $\kappa$  (Amiot *et al.*, 2002).



**Figure 1** : Modèle de micelle de caséine avec les sous-unités (Amiot *et al.*, 2002)

#### • Les protéines sériques

Elles représentent 20% des protéines du lait de vache et se retrouvent sous forme de protéines solubles à pH 4,6. Les deux protéines principales sont la  $\beta$ -lactoglobuline (44% des protéines sériques) qui a un rôle nutritionnel puisqu'elle contient les acides aminés dit « essentiels » et l' $\alpha$ -lactalbumine (20%), pourvue d'une fonction enzymatique et qui joue un rôle indispensable dans la synthèse du lactose (Guillou *et al.*, 1986). D'autres protéines sont également représentées. Nous pouvons citer :

- les immunoglobulines qui sont des glycoprotéines de grande taille au rôle protecteur ;
- l'albumine bovine sérique aux propriétés électrophorétiques et immunologiques ;
- les protéoses-peptones issues de la protéolyse de la caséine  $\gamma$  par la plasmine (Andrews, 1979).

#### II.2.4. Classes des lipides du lait

Le lait est une émulsion de matière grasse (MG) dans un liquide aqueux. Celle-ci se présente à l'état natif sous forme de Globules Gras (GG) qui correspondent à des gouttelettes de

triglycérides entourées et stabilisées dans la phase aqueuse du lait par une membrane dérivant de la membrane plasmique et d'une partie du contenu de la cellule épithéliale mammaire (Couvreur et Hurtaud, 2007).

On classe sous le terme de matière grasse, des substances aux propriétés et aux structures chimiques parfois très éloignées, mais possédant deux caractéristiques communes (Gurr et Harwood 1991 ; Boutonnier, 2006) :

- leur insolubilité dans l'eau, et a *contrario* leur solubilité dans les solvants organiques ;
- leur masse volumique inférieure à celle de l'eau, de l'ordre de  $920 \text{ kg.m}^{-3}$ .

#### II.2.4.1. Structure de la matière grasse du lait

Le lait de vache contient naturellement entre 3,5 et 5% de lipides totaux (Jensen *et al.*, 1991) qui se présentent sous forme de globules en émulsion dans une phase aqueuse (Jensen, 2002). La matière grasse (MG) fait partie des éléments importants qui entre dans la composition du lait, d'autant qu'elle est considérée comme étant le second constituant de la matière sèche après le lactose (Gnädig *et al.*, 2001). La MG du lait de vache est un mélange complexe de par la diversité de ses molécules. Elle est composée, pour l'essentiel, de triglycérides (composants dominants) et secondairement, de diglycérides, de lipides complexes et de substances liposolubles insaponifiables tel que rapporté dans le tableau 7 (Boutonnier, 2006). Les composés liposolubles de la MG du lait sont représentés par les acides gras libres (AGL) et par des composés insaponifiables, dont nous pouvons citer le cholestérol, des hydrocarbures divers, des caroténoïdes (qui confèrent la couleur jaune à la MG) et des vitamines (A, D, E et K) (Mathieu, 1998; Vignola, 2002).

**Tableau 7** : Principaux composants de la matière grasse du lait de vache

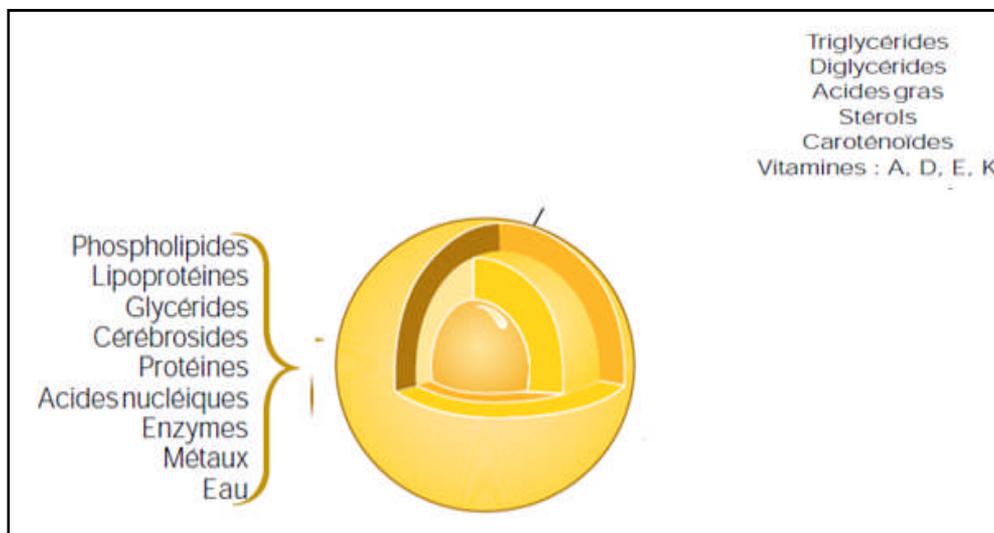
Substance	(g/100g de matières grasses totales)
<b>Substances lipidiques</b>	
<b>Glycérides</b>	<b>96</b>
- triglycérides	2
- diglycérides	0,1
- monoglycérides	1
<b>Glycérophospholipides et sphingolipides</b>	<b>1</b>
- cérides	0,03
- stérides	0,04
<b>Substances non lipidiques et liposolubles</b>	
- acides gras libres	0,7-1
- substances insaponifiables	0,15
	0,4

(Mathieu, 1998)

Les globules gras (GGs) contiennent des noyaux lipidiques non polaires tels que les triglycérides (TGs), les esters de cholestérol, les esters de rétinol, etc. (Jensen, 1989 a,b). Ils sont revêtus de matériaux bipolaires, de phospholipides, de protéines, de cholestérol et d'enzymes, etc. dans une couche lâche appelée membrane de globule gras du lait ou « milk fat globule membrane » (MFGM). La MFGM agit comme un émulsifiant naturel permettant à la MG, hydrophobe, de demeurer dispersée dans le plasma du lait, hydrophile et contribue de ce fait au maintien de l'émulsion (Danthine *et al.*, 2000). Par son action, elle empêche les globules de se regrouper et agit ainsi comme un stabilisateur de l'émulsion (Jensen, 2002). La figure 2 présente un GG de la MG du lait.

Dans le lait de vache, on compte entre 1,5 et 4 milliards de globules gras/mL. Leur taille varie de moins de 1µm jusqu'à 10 µm (Jensen, 2002) voire même jusqu'à 20 µm (Danthine *et al.*, 2000). Près de 80% d'entre eux, représentant 57% de la MG du lait, ont des dimensions comprises entre 1 et 5 µm. Leur diamètre moyen se situe entre 2,5 et 4,5 µm (Boutonnier, 2006).

Les GGs présentent une grande surface (4,6 m<sup>2</sup>/g de MG) de contact aux enzymes lipolytiques rencontrées lors de leur passage dans le tube digestif facilitant la lipolyse des TGs du lait et l'absorption des produits issus de la digestion (Jensen, 2002; Couvreur et Hurtaud, 2007).



**Figure 2 :** Structure d'un globule de matière grasse du lait de vache (Vignola, 2002)

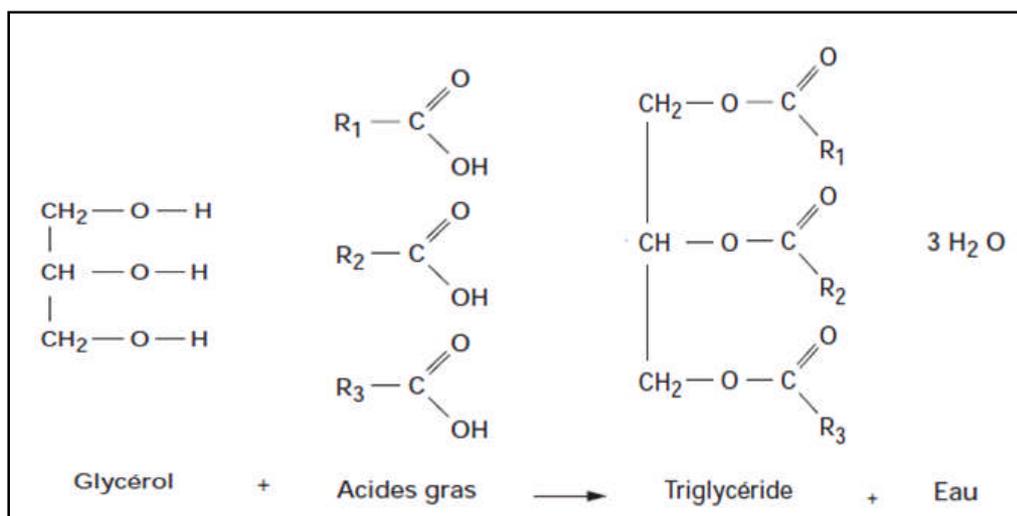
#### II.2.4.2. Glycérides

Les triglycérides, présents sous cette forme (glycérides), constituent près de 98% de la MG du lait (Legrand, 2007). Ce sont des esters de glycérol, formés par condensation de trois molécules d'AG sur une molécule de glycérol, par perte de trois molécules d'eau (Figure 3)

(Cuvelier *et al.*, 2004). On peut bien voir la formation du lien ester entre la fonction acide carboxylique de chaque AG. La structure des TGs influence l'action des enzymes lipolytiques et, par conséquent, les phénomènes d'absorption. Elle est également impliquée dans l'appréciation de la saveur des fromages (Jensen et Newberg, 1995).

Les glycérides peuvent être classés selon, le nombre, la position et l'identité des AG qui estérifient le glycérol (Vignola, 2002 ; Boutonnier, 2006) :

- leur nombre : Lorsqu'une seule fonction alcool est estérifiée par un AG, on parle de monoglycéride ; en présence de deux, il est dénommé diglycéride; s'il y en a trois, c'est un triglycéride ;
- leur position : La localisation des AG sur les triglycérides en trois positions randomisées est identifiée par numération stéréospécifique ou « stereospecific numeration » (sn) ;
- leur nature : On parle de glycéride homogène ou « simple » lorsque les résidus d'AG estérifiés sont identiques, et d'hétérogène ou « mixte » dans le cas contraire. Cependant, la majorité des triglycérides du lait sont mixtes, offrant un large nombre de combinaisons possibles des AG. Ainsi, la composition de la MG du lait est parmi les plus complexes que l'on connaisse (Jensen *et al.*, 1991; Jensen,2002).



**Figure 3 :** Formation d'un triglycéride (Boutonnier, 2006)

### II.2.4.3. Glycérophospholipides et sphingolipides

Ces substances jouent un rôle biologique important en participant, en association avec des glycérides et des protéines, à l'élaboration des membranes des cellules et des globules gras du lait (MFGM).

Les deux extrémités des molécules de tous les glycérophospholipides et sphingolipides ont des propriétés opposées quant à leur affinité pour l'eau. L'une est hydrophile, l'autre est hydrophobe. Ainsi, ces molécules sont amphiphiles.

### II.2.4.4. Glycérophospholipides

Les glycérophospholipides sont considérés comme des constituants mineurs de la MG du lait (1% des lipides totaux).

La structure des glycérophospholipides rappelle celle des triglycérides : l'AG situé en position externe de ces derniers est remplacé par un ensemble acide phosphorique et alcool aminé dans le cas de la phosphatidyléthanolamine et de la phosphatidylcholine (Gnädig *et al.*, 2001; Boutonnier, 2006; Legrand, 2007).

Bitman et Wood (1990) ont étudié la composition des phospholipides au cours du stade de lactation de l'animal. D'après ces auteurs, les phospholipides se subdivisent en 5 grandes sous classes contenant chacune de 25 à 30 types d'AG :

- La sphingomyéline ;
- La phosphatidylcholine (lécithines) ;
- La phosphatidylsérine ;
- Le phosphatidylinositol ;
- La phosphatidyléthanolamine (céphalines).

### II.2.4.5. Glycosphingolipides

Les sphingolipides sont des amides constitués d'un alcool aminé, la sphingosine. Celle-ci est amidifiée et non estérifiée par un AG comme c'est le cas chez les autres lipides.

Cette fraction est constituée principalement de glucosylcéramides et de lactocéramides (Morrison et Smith, 1964), avec une part respective estimée à 35% et 65% du total (Christie *et al.*, 1987).

On retrouve dans les gangliosides bovins l'acide N-acétylneuraminique et l'acide N-glycolylneuraminique (Bushway et Keenan, 1978).

Jensen *et al.* (1991) ont rapporté la composition en phospholipides et en sphingolipides du lait de vache (Tableau 8).

**Tableau 8 :** Composition en phospholipides et sphingolipides du lait de vache

Phospholipides et sphingolipides	Pourcentage moléculaire
Phosphatidylcholine	26,4
Phosphatidyléthanolamine	31,1
Phosphatidylsérine	5,5
Phosphatidylinositol	5,2
Sphingomyéline	28,7
Lysophosphatidylcholine	Trace
Lysophosphatidyléthanolamine	Trace
Plasmalogènes	3,0
Diphosphatidylglycérol	Trace
Céramides	Trace
Cérébrosides (glycolipides neutres)	Trace
Gangliosides	11

(Jensen *et al.*, 1991)

#### II.2.4.6. Cérides et stérides

Ce sont des esters d'alcool et d'AG. Les alcools des cérides sont des alcools gras (longue chaîne carbonée), tandis que ceux des stérides sont des stérols dont le cholestérol fait partie et est le constituant majeur (95% du total). Il se trouve essentiellement dans la membrane du globule gras (MFGM). Un lait entier contient 13 mg/100 mL de cholestérol (Galantier, 2005). Sa quantité est ainsi positivement corrélée avec la teneur en MG des produits laitiers (Jensen *et al.*, 1991).

#### II.2.4.7. Acides gras

Les acides gras (AG) sont les constituants majeurs des différentes classes de lipides que sont les triglycérides, les phospholipides et minoritairement les esters de cholestérol

(Legrand, 2007). La MG du lait de par sa complexité renferme approximativement 400 AG. Ces derniers peu abondants dans le lait sous une forme libre, sont des acides organiques monocarboxyliques à chaîne aliphatique hydrophobe de 4 à 30 atomes de carbone, saturés ou insaturés selon qu'ils contiennent ou non des doubles liaisons (Cuvelier, 2004).

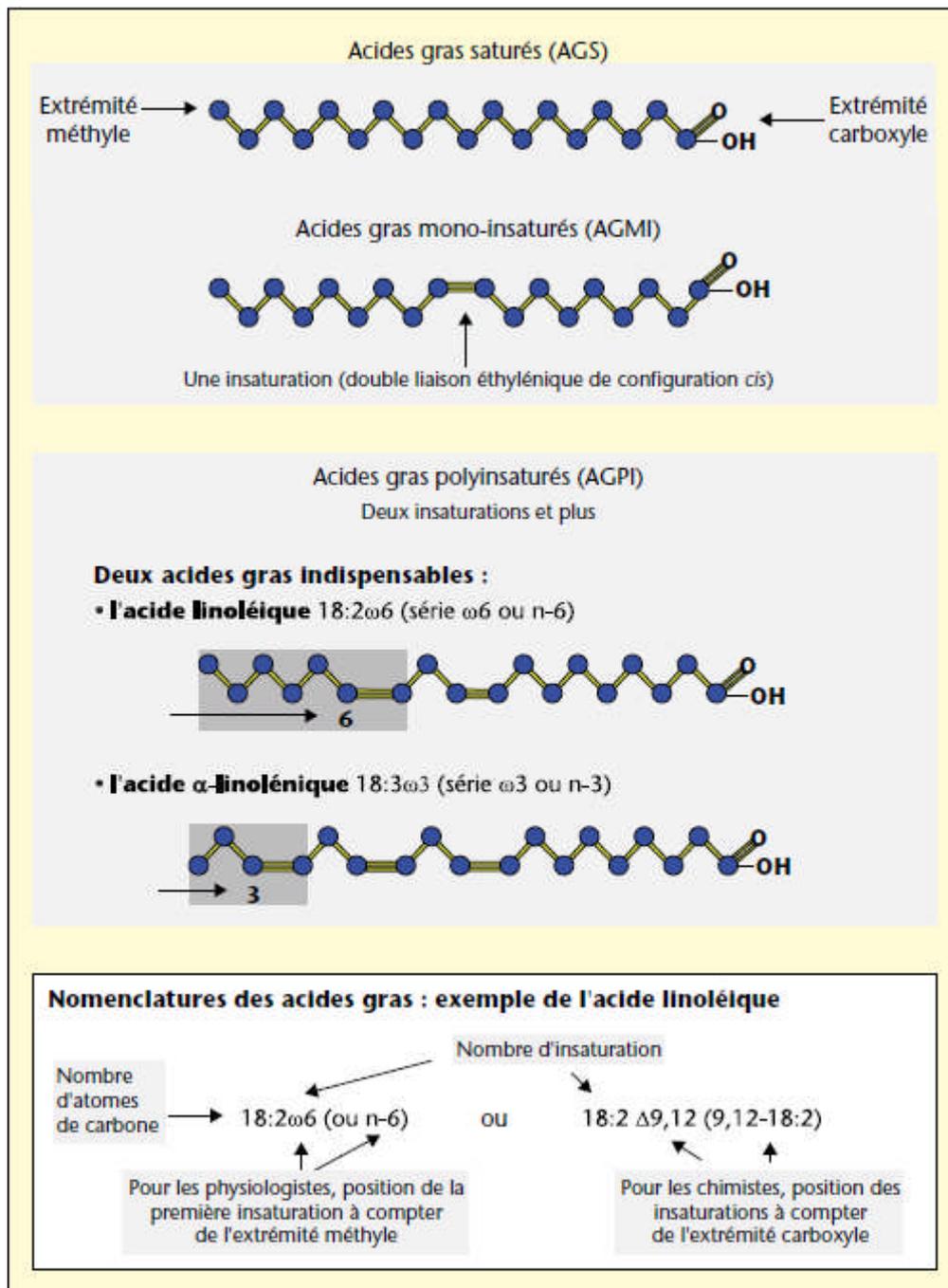
- **Structure et nomenclature des acides gras**

Les AG peuvent être classés de différentes manières selon leur structure (Curvelier, 2004; Guesnet *et al.*, 2005; Boutonnier, 2006; Legrand, 2007), en fonction de :

- La longueur de la chaîne carbonée : On distingue les acides gras à chaînes courtes et moyennes (AGCCM) et les acides gras à chaînes longues (AGCL) ;
- Leur degré d'insaturation : Le nombre de doubles liaisons carbone-carbone dans la molécule ainsi que la position et la structure spatiale (*cis*, *trans*) de ces dernières permettent de distinguer alors les acides gras saturés (AGS) des acides gras monoinsaturés à une double liaison (AGMI) et des acides gras polyinsaturés à plusieurs doubles liaisons (AGPI).

Les doubles liaisons disposées le long de la chaîne hydrocarbonée des AGPI sont systématiquement distantes les unes des autres de trois atomes de carbone (structure vinyl-éther). Elles sont généralement en configuration *cis*, c'est-à-dire que les deux parties de la chaîne hydrocarbonée situées de part et d'autre de la double liaison sont du même côté par rapport au plan de la double liaison. Deux familles d'AGPI se distinguent par la position de la première double liaison située vers l'extrémité méthyle : la famille de l'acide linoléique ou oméga 6 (6<sup>e</sup> position en comptant à partir de l'extrémité méthyle, également dénommée n-6) et celle de l'acide  $\alpha$ -linoléique oméga 3 (3<sup>e</sup> position en comptant à partir de l'extrémité méthyle, ou n-3) (Figure 4). Les physiologistes caractérisent les AG au moyen d'une nomenclature dans laquelle apparaissent successivement le nombre d'atomes de carbone, le nombre de doubles liaisons et la position de la première double liaison numérotée à partir de l'extrémité méthyle terminale. La nomenclature des chimistes se distingue de la précédente par le fait que la position des doubles liaisons est numérotée en comptant les atomes de carbone à partir de l'extrémité carboxyle (numérotation en  $\Delta$ ), qui est la fonction biologiquement active de tous les AG (Curvelier *et al.*, 2004; Guesnet *et al.*, 2005). Certains AGPI constituent des exceptions car ils présentent des structures particulières : présence d'une ou de plusieurs doubles liaisons de configuration *trans* pouvant être conjuguées (formes

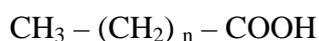
conjuguées de l'acide linoléique ou CLA par exemple) habituellement présentes dans les corps gras hydrogénés ou de ruminants (Martin et Valeille, 2002; Chardigny *et al.*, 2005).



**Figure 4 :** Structure et nomenclature des principales familles d'acides gras (Guesnet *et al.*, 2005).

- **Acides gras saturés**

La formule chimique générale des acides gras saturés (AGS) est la suivante :



La plupart des AG retrouvés à l'état naturel sont à nombre pair de carbones et à chaîne linéaire. Il en existe néanmoins quelques-uns à nombre impair de carbones et à chaîne ramifiée (Curvelier *et al.*, 2004).

Le point de fusion des AG augmente avec la longueur de la chaîne carbonée. Ainsi, les AG à courte chaîne sont liquides à température ambiante, alors que les AG pourvus de 10 atomes de carbone ou plus sont solides (Tableau 9).

Les AGS présents significativement dans la MG du lait, sont des molécules ayant une longueur de chaîne variant de 4 à 18 atomes de carbones. Ces AG représentent approximativement 60-70% des AG totaux. Quantitativement, le plus important d'entre eux, est l'acide palmitique (C16:0) qui représente 25 à 30% du total, tandis que deux autres - les acides myristique (C14:0) et stéarique (C18:0) - ont des valeurs approximatives respectivement estimées à 11 et à 12% des AG totaux (Boutonnier, 2006).

**Tableau 9** : Principaux acides gras du lait de vache

Type	Nom et nombres d'atomes de carbone	Teneur (%)	Température de Fusion (°C)
Acides Gras Saturés (AGS)	Butyrique C4:0	3-4	-8
	Caproïque C6:0	2-5	-3
	Caprylique C8:0	1-1,5	+16
	Caprique C10:0	2-3	+30
	Laurique C12:0	3-4	+42
	Myristique C14:0	11	+54
	Palmitique C16:0	25-30	+62
	Stéarique C18:0	12	+70
Acides Gras Insaturés (AGI)	Palmitoléique C16:1	2	+0,5
	Oléique C18:1	23	+16
	Vaccénique C18:1	2-3	+43
	Linoléique C18:2	2	-5
	Linoléinique C18:3	0,5	-11

(Boutonnier, 2006)

- **Acides Gras Insaturés (AGI) de configuration-*cis***

Les formules générales des AGI sont de type  $C_nH_{2n-1}COOH$  ou  $C_nH_{2n-3}COOH$  ou  $C_nH_{2n-5}COOH$ . Les AGI sont classés selon leur configuration *cis* ou *trans*. Ceux de configuration *cis* contiennent au moins une double liaison non conjuguée dans leur structure. Les AGMI de configuration *cis* sont principalement représentés, par ordre d'importance, par les acides oléique (9c-18:1) et palmitoléique C16:1 avec des teneurs approximatives respectives de 23 et de 2% des AG totaux (Tableau 9).

Les AGPI sont représentés en grande partie par l'acide linoléique (C18:2 - $\omega$ 6) et par l'acide  $\alpha$ -linoléique (C18:3 - $\omega$ 3).

Ces deux AG sont dit «essentiels» car ne pouvant être synthétisés par l'organisme. Ils doivent donc être apportés par l'alimentation. La proportion en acide  $\alpha$ -linoléique semble être affectée par la nature de la ration alimentaire; la concentration est supérieure dans les laits provenant de vaches mises au pâturage comparativement aux vaches recevant une alimentation en stabulation (Hebeisen *et al.*, 1993; Wolf *et al.*, 1995; Cuvelier *et al.*, 2004; Boutonnier, 2006).

- **Les acides gras insaturés de configuration *trans***

Ce sont des AGI contenant au moins une double liaison non conjuguée dans la configuration *trans* c'est-à-dire dont les substituants (ou les atomes d'hydrogène) se situent de part et d'autre du plan de la double liaison (Adrien *et al.*, 1999).

La présence de l'AG *trans*-C18 dans la MG du lait résulte d'une biohydrogénation ruménale incomplète des lipides insaturés provenant du régime alimentaire.

Ces AG ont attiré l'attention des chercheurs, en raison de leurs effets nutritionnels plutôt néfastes. En effet, les acides *trans*- octadécénoïques pourraient augmenter les concentrations en Low Density Lipoprotein (LDL) cholestérol (Mensink et Katan, 1993). La consommation d'AG *trans* est corrélée à l'accroissement des facteurs de risque de maladies cardiovasculaires (Morin, 2005).

Precht et Molkenon (1996) ont séparé 13 isomères du *trans*-18:1 par des techniques chromatographiques.

### II.2.5. Les minéraux

On estime approximativement à 9 g/L, leur teneur dans le lait de vache (Alais *et al.*, 2003). Les minéraux jouent un rôle primordial dans l'organisation de la structure des micelles de la caséine. Le calcium (1,18 g/L) et le phosphore (0,896 g/L), deux éléments fondamentaux de cette structure, sont responsables avec le magnésium (0,105 g/L) de la stabilité de la micelle, tandis que le potassium (1,5 g/L), le sodium (0,445 g/L) et le chlore (0,958 g/L) sont responsables des équilibres ioniques. Les minéraux se répartissent sous forme d'ions solubles dans le sérum et sous forme micellaire insoluble (Amiot *et al.*, 2002).

### II.2.6. Les enzymes

Ce sont des substances organiques de natures protidiques agissant comme catalyseurs dans les réactions biochimiques (Blanc, 1982). On en retrouve une partie sur la membrane du GG (Danthine *et al.*, 2000), mais d'autres cellules du lait les synthétisent également. En fonction de leurs propriétés, ces enzymes joueraient un rôle primordial (Got, 1971) :

- dans la lyse des constituants originels du lait ayant des conséquences importantes sur le plan technologique et sur les qualités organoleptiques du lait (lipase, protéase);
- comme agent antibactérien, en offrant une protection au lait (lactopéroxydase et lysozymes) ;
- comme indicateur de la qualité hygiénique (certaines enzymes sont produites par des bactéries et des leucocytes) ;
- comme indicateur du traitement thermique subi par le lait (phosphatase alcaline, peroxydase et acétylestérase qui sont thermosensibles) ;
- comme indicateur de l'espèce impliquée dans la sécrétion du lait (test de la xanthine-oxydase pour détecter une présence de lait de vache dans le lait de chèvre).

### II.2.7. Les vitamines

Ce sont des molécules plus petites que les protéines et qui jouent un rôle de premier plan car elles participent comme cofacteurs dans les réactions enzymatiques et dans les échanges à l'échelle des membranes cellulaires. De plus, elles ne sont pas synthétisées par l'organisme humain.

Selon leur solubilité, on classe les vitamines en deux classes (Pougheon et Goursaud, 2001; Vignola, 2002) :

- les liposolubles : Ce sont les vitamines A, D, E, K, qui sont associées à la MG ; certaines sont au centre du GG et d'autres à sa périphérie ;
- les hydrosolubles de la phase aqueuse du lait : Ce sont les vitamines C, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, niacine et niacinamides, acide pantothénique, acide folique, vitamine H.

### II.3. Qualité de lait

La qualité d'un produit est définie comme étant l'ensemble des caractéristiques lui permettant de satisfaire les besoins exprimés par les consommateurs (Grenon *et al.*, 2004). En effet, la saveur, l'apparence, la durée de conservation, la valeur nutritive et l'innocuité sont parmi les critères de sélection recherchés par le consommateur (Vignola, 2002), d'autant plus que la notion de qualité a évolué au cours des dernières décennies et ne se limite plus seulement à l'appréciation de la qualité microbiologique du lait (Grenon *et al.*, 2004). Afin de satisfaire des exigences grandissantes des consommateurs, le transformateur doit disposer à l'usine d'un lait de la meilleure qualité qui soit. Ce dernier subit dès la traite, une série de transformations, dont les plus importantes, touchent la dégradation de ses composantes, les changements de la qualité sensorielle, mais également la présence de résidus d'antibiotiques (Vignola, 2002; Grenon *et al.*, 2004).

La notion de qualité a une perception toute particulière, et différente selon les intervenants de la filière laitière auxquels on s'adresse, il faut ainsi l'interpréter sous différentes facettes (Tableau 10).

**Tableau 10** : Principaux aspects de la qualité du lait

Critères de qualité	Contrôles à effectuer
Aspects physiques	Point de congélation, masse volumique, couleur, viscosité, etc.
Aspects chimiques	pH, acidité titrable, résidus d'antibiotiques, taux protéique, taux butyreux, lactose, minéraux, etc.
Aspects microbiologiques	Bactéries, cellules somatiques, virus, etc.
Propriétés de conservation	Flore microbienne, enzymes, oxygène, etc.
Propriétés fonctionnelles	Stabilité à la chaleur, coagulation à la présure, émulsification, etc.
Propriétés biofonctionnelles	Valeur nutritive (teneur en vitamines, minéraux, acides linoléiques conjugués, Oméga-3, probiotiques, etc.), fermentation et hydrolyses enzymatiques (peptides bioactifs, lactose hydrolysé, etc.)

(Grenon *et al.*, 2004)

#### **II.4. Caractéristiques physico-chimiques du lait**

Les propriétés physico-chimiques du lait de bovin ont été soigneusement évaluées en raison de l'importance de plusieurs de ces paramètres dans la perception de la notion de la qualité. Nous pouvons citer :

- **le pH**

On évalue l'état de fraîcheur du lait par la mesure de son pH. En effet, un lait normal doit présenter une valeur comprise entre 6,6 et 6,8. Toute mesure s'écartant de cet intervalle indique une anomalie.

- **l'acidité titrable**

Dès sa sortie du pis, le lait démontre une certaine acidité. Elle est principalement due à la présence de protéines, (surtout les caséines et la lactalbumine), de substances minérales (telles que les phosphates et le dioxyde de carbone) et d'acides organiques (le plus souvent l'acide citrique). On l'appelle « acidité apparente » ou « acidité naturelle » du lait.

- **le point de congélation**

Le point de congélation du lait est inférieur à celui de l'eau en raison des composés dissouts. En effet, la présence de solides solubilisés abaisse le point de congélation. Il est mesuré afin de vérifier si le lait a été dilué ou non, ce qui constitue bien évidemment une fraude. Le point de congélation du lait est l'une de ses caractéristiques physiques les plus constantes. Sa valeur moyenne est située entre  $-0,530\text{ °C}$  et  $-0,575\text{ °C}$  avec une moyenne de l'ordre de  $-0,555\text{ °C}$ . Un point de congélation supérieur à  $-0,530\text{ °C}$  permet de suspecter un ajout d'eau au lait (Neville et Jensen, 1995 ; Vignola, 2002).

- **La densité**

La densité est le rapport de la masse d'une solution ou d'une substance à la masse d'un volume d'eau similaire. Cette propriété est utilisée pour évaluer l'addition d'eau au lait ce qui aura pour conséquence de réduire la gravité spécifique. L'industrie laitière utilise un aréodensimètre pour déterminer la densité du lait. Des corrections sont requises pour les températures de lait qui diffèrent de  $20\text{ °C}$  (Neville et Jensen, 1995).

### III. Les facteurs influençant la composition en acides gras du lait

La composition de la MG du lait des ruminants est unique, du fait de la grande diversité des AG qui y sont rencontrés. Celle-ci augmente sous l'effet conjugué de la biohydrogénation ruminale des AGI d'origine alimentaire, et avec l'étendue des AG synthétisés «*de novo*» dans la glande mammaire. Cette variabilité dans la composition en AG de la MG du lait est influencée par de nombreux facteurs incluant, la génétique et la race, le stade de lactation, l'état sanitaire de l'animal, la saison, ainsi que la qualité de la ration ingérée (Linn, 1988; Hawke et Taylor, 1994; Palmquist *et al.*, 1993; Auldist *et al.*, 1998).

#### III.1. Facteur génétique et race

Goddard (2001) a signalé que les connaissances dans le domaine de la génétique pourraient être intéressantes à mettre en application afin de modifier la composition de la MG. En effet, les méthodes pour y parvenir comprennent le choix de la race, les programmes de sélection et d'amélioration génétique, incluant les tests de descendance, la sélection des taureaux et des vaches à partir de gènes spécifiques.

L'application de facteurs individuels pouvant modifier la composition de la MG dépend de la variabilité génétique des AG individuels et de leurs groupes. L'accent est mis sur les corrélations génétiques et phénotypiques liées à la production de lait et à la proportion et la production des AG, ainsi que sur les relations entre les AG individuels (Samková, 2012).

Il a été démontré que les estimations de l'héritabilité pour les AG individuels et de leurs groupes sont corrélées à la longueur de la chaîne carbonée : les AG *de novo* (C4:0 à C14:0 et la moitié de C16:0) ont une héritabilité (0,31-0,54) plus élevée que les AG provenant de l'alimentation et de la mobilisation des graisses corporelles (AGCL et AGPI) (0,09 - 0,21) (Gibson, 1991; Stoop *et al.*, 2008; Bastin *et al.*, 2011).

Karijord *et al.* (1982), ont conclu à une corrélation génétique positive entre les proportions en AGCCM; et la teneur en MG du lait, tandis que la corrélation était plutôt négative pour la proportion de l'ensemble des AG en C18 (Bauman et Griinari, 2001). La corrélation positive observée entre les AGCC et la teneur en MG est en accord avec les données de Stull et Brown (1964), mais également de Beaulieu et Palmquist (1995). Ces auteurs avaient relevé que les AG allant de C6:0 à C14:0 (en pourcentage par rapport aux AG totaux du lait) étaient dans des proportions de 8 à 42% plus élevés pour la vache Jersey que pour la Holstein et que ces différences étaient indépendantes de la ration alimentaire. Les résultats de la recherche

génétique ont suscité un intérêt grandissant pour les paramètres génétiques liés aux AG. De nombreux auteurs ont prouvé l'existence d'une variabilité génétique et des coefficients d'héritabilité modérés déterminés à partir des résultats de différents pays, de races étudiées, à partir de populations animales et d'échantillons de lait (Soyeurt *et al.*, 2006; Soyeurt *et al.*, 2007; Bobe *et al.*, 2008; Schennink *et al.*, 2008; Mele *et al.*, 2009).

Lawless *et al.* (1996) ont par ailleurs comparé quatre races bovines, la Holstein Irlandaise, la Holstein Allemande, les Montbéliardes et les Normandes au pâturage. Ces auteurs ont rapporté un léger effet de la race pour les Montbéliardes, avec une teneur moyenne en acide linoléique conjugué (ALC) dans la MG du lait de 13% plus élevée comparativement aux autres races. White *et al.* (2001) ont comparé les vaches de races Holstein et Jersey. Les résultats rapportent que les vaches de race Holstein avaient des concentrations en ALC légèrement plus élevées. Résultat confirmé par Auldist *et al.* (2004), qui le justifie par une enzyme stéaryl CoA désaturase moins active chez la race Jersey (Townsend *et al.*, 1997).

La plupart des articles publiés traitant de l'effet de la race ont relevé une variation dans la composition des AG du lait (Carroll *et al.*, 2006; Kliem *et al.*, 2009; Ferlay *et al.*, 2010). Ce qui confère différentes propriétés technologiques au lait avec la possibilité de confectionner des produits laitiers uniques (Auldist *et al.*, 2004; De Marchi *et al.*, 2008).

Les races Holstein et Jersey, ont été les plus fréquemment étudiées (Morales *et al.*, 2000; White *et al.*, 2001; Croissant *et al.*, 2007). Néanmoins, les différences entre races concernant la composition de la MG ont été signalés également pour d'autres, comme la Suisse Brune, la Montbéliarde, la Salers et la Simmental (Agabriel *et al.*, 2001; Moore *et al.*, 2005; Soyeurt *et al.*, 2006; Barłowska *et al.*, 2005). Des études comparatives semblent indiquer que les races laitières à teneurs élevées en MG, ont souvent une composition moins souhaitable (taux plus élevés d'AGS, hypercholestérolémiques et une plus faible proportion d'AGPI que les races à faible rendement laitier (Samková *et al.*, 2012)).

### III.2. Facteur physiologique

A la parturition, les teneurs d'AG en C12:0 à C16:0 sont relativement élevées dans le colostrum bovin (Palmquist, 2006). Les proportions d'AGCL, d'acides stéarique et oléique augmentent rapidement à mesure que la mobilisation du tissu adipeux commence, devenant relativement stable une semaine après la parturition (Laakso *et al.*, 1996). Les proportions et les rendements en AG synthétisés *de novo* dans les glandes mammaires (C6:0 à C16:0)

augmentent pendant les premières semaines de la lactation, avec des diminutions compensatrices en proportions de tous les AG en C18 (Karijord *et al.*, 1982, Lynch *et al.*, 1992). La teneur en acide butyrique est élevée à la parturition sans toutefois augmenter davantage au cours de l'avancement de la lactation (Lynch *et al.*, 1992), ce qui est cohérent avec sa synthèse indépendante de la malonyl-CoA.

Les proportions d'AGCCM dans les MG du lait augmentent à mesure que la mobilisation des tissus adipeux diminue, en raison de l'équilibre énergétique de plus en plus positif et de l'épuisement des tissus adipeux stockés. Le temps requis pour la stabilisation de la composition en AG du lait dépend de la quantité de lipides corporels stockée, du taux butyreux du lait, de l'équilibre énergétique et de l'alimentation (Palmquist, 2006).

Auldist *et al.* (1998) ont étudié l'effet de la période de lactation sur la teneur en ALC dans la MG du lait, en prenant comme exemple des vaches nourries au pâturage. Ces auteurs ont comparé le début, le milieu et la fin de lactation en observant un léger accroissement allant de 7,9mg/g d'ALC en début de lactation jusqu'à 9,7mg/g d'AG en fin de lactation.

Bien qu'ayant travaillé sur un nombre limité d'animaux, Stanton *et al.* (1997) n'ont constaté aucun effet de la période de lactation sur les niveaux des ALC dans la MG du lait.

### III.3. Facteur sanitaire

Les mammites cliniques réduisent la quantité de lait produite ainsi que les teneurs en protéines et le taux butyreux en faisant varier leurs quantités (Hortet et Seegers, 1998). Les pertes en quantité de lait sont estimées à 4-6% ou 300-400 kg/lactation. Celle des lipides étaient de l'ordre de 0,1%, les protéines à 0,05%.

L'effet des mammites sur la concentration d'AG dans le lait de quartier individuel atteint a été étudié par Randolph et Erwin (1973). Le lait positif contenait des concentrations très élevées en AGL et en AGCC (4 à 12 atomes de carbone) en raison d'une activité lipolytique intense, tandis que les concentrations en AG à 16 et 18 atomes de carbone étaient moindres.

### III.4. Facteur saisonnier

Certains travaux (Banni *et al.*, 1996; Lock et Garnsworthy 2003) ont noté l'existence de variations saisonnières dans la composition en ALC du lait. Les teneurs de ces derniers étaient particulièrement plus élevées durant la saison estivale, au moment de la mise à l'herbe.

De nombreux auteurs (Precht et Molketin, 2000; Thordotti *et al.*, 2004) font également mention d'une variation de la teneur en ALC suivant la saison et le pays concerné. Ainsi les

pays nordiques, caractérisés par une ration alimentaire riche en aliment concentré, distribuée durant la période hivernale, ont présenté une proportion (0,58%) plus basse en ALC que les pays du sud de l'Europe (0,89%). Cette différence s'expliquerait par la nature du régime alimentaire de type pastoral en période estivale, avec des concentrations élevées d'AG (n-3) contenus dans les herbages d'été source de synthèse de l'ALC contenu dans le lait.

Les travaux de Jahreis *et al.* (1997), ont relevé des variations dans la composition en AG du lait dépendant du mode de gestion d'élevage du troupeau en question. Ainsi, la teneur en AGS était plus élevée lorsque les vaches étaient en stabulation entravée, tandis que le groupe de vaches en stabulation libre présentait quant à lui, des proportions supérieures en acide linoléique.

Cependant, les températures ambiantes élevées auraient de nombreux effets défavorables sur les performances à la production des animaux en lactation. Chez les vaches laitières, les besoins énergétiques accrus pour répondre aux besoins nécessaires à la thermorégulation, conduiraient à une décroissance dans les rendements en lait (Johnson *et al.*, 2002).

### **III.5. Facteur alimentaire**

#### **III.5.1. Régimes alimentaires à faible taux en matière grasse**

Les régimes alimentaires à très faible taux en MG entraînent une réduction des teneurs en AGCL de type C18 du lait, avec des proportions de C16:0 estimées approximativement à 50% des lipides totaux (Virtanen, 1966; Banks *et al.*, 1976). L'augmentation de la teneur en C18 des régimes alimentaires à faible taux de MG, aboutit à une augmentation linéaire des AG C18 de la MG du lait.

Ainsi les AG provenant des régimes alimentaires sont transférés dans la MG du lait avec une efficacité de 54%. Banks *et al.* (1976) ont estimé à 93% le taux de transfert de l'acide C16 issu de la ration alimentaire, vers le tissu mammaire. Cette valeur exceptionnellement élevée pourrait seulement être attribuée à une prise presque complète des TGs absorbés par le tissu mammaire ; toutefois, les estimations du transfert de l'acide C16 sont fortement bouleversées par les effets du changement de régime alimentaire sur la synthèse «*de novo*».

#### **III.5.2. Acides gras spécifiques**

La composition de la MG du lait est particulièrement influencée par la nature et la proportion des AG du régime alimentaire distribué, ce qui a donné lieu à une littérature très abondante

durant les dernières décennies dans ce domaine (Sutton, 1989; Palmquist *et al.*, 1993; Chilliard *et al.*, 2001a).

La longueur de la chaîne carbonée (C16 versus C18) influence la proportion de ces derniers dans la MG du lait. Les effets du C16 sont plus subtils en raison de la réduction de la synthèse *de novo* de C16:0 lorsque les AGCL sont supplémentés. L'acide palmitique (C16:0) fut accru de 45% à 53% dans le lait quand des suppléments élevés (68%) en C16 furent ajoutés dans la ration (Banks *et al.*, 1976). De la même manière, un supplément en huile de soja (90% en acide C18) a permis d'augmenter la teneur en C18 de la MG du lait de 25 à 60%. Les rendements des AG en C6:0 à C14:0 furent réduits par l'utilisation simultanée de ces deux suppléments, tandis que le rendement du C16:0 fut augmenté par utilisation de l'huile de palme et réduit par utilisation de l'huile de soja (Noble *et al.*, 1969; Banks *et al.*, 1976).

De la même manière, un supplément d'huile de noix de coco (riche en C12 et C14) augmente le rendement et les proportions des AGCC et en C16:0 (Storry *et al.*, 1971).

Une supplémentation de 5% en «oléamide» comme source protectrice d'acide oléique dans le rumen, entraînait une augmentation de 48% de ce dernier, tandis que les proportions de tous les autres AG synthétisés «*de novo*» du lait, à l'exception de l'acide butyrique furent diminuées (Jenkins, 1998; Jenkins, 1999). Un taux de transfert dans la MG du lait estimé à 42- 57% d'acide linoléique, a été rapporté par Hagemester *et al.* (1991) suite à son infusion dans l'abomasum.

### III.5.3. Effet des régimes alimentaires s'appuyant sur les pâturages

Parmi les facteurs qui affectent la composition en AG du lait, il fut démontré que la mise au pâturage conduisait à la production d'un lait avec des niveaux élevés en AGPI, incluant l'ALC (Kelly *et al.*, 1998).

Des études comparatives entre une ration totale mixte et une autre basée sur la mise à l'herbe, ont montré que les concentrations en ALC dans le lait de vaches nourries aux pâturages ont été augmentées de 134% (plage allant de 15 à 396%) (Jahreis *et al.*, 1997; Schroeder *et al.*, 2003).

Celle-ci serait consécutive à une élévation de la production de l'acide *trans*-11 C18:1, dérivé du C18:3 et à sa conversion endogène en ALC dans la glande mammaire par les enzymes désaturase (Chilliard *et al.*, 2001b; Lock *et al.*, 2003).

Les travaux de Murphy *et al.* (1995) ont mis en évidence que l'enrichissement de la ration alimentaire du bétail mis au pâturage avec des graines oléagineuses comme le colza, entraînait

une diminution de la teneur des acides allant de C6:0 à C14:0 et augmentait celle des acides C18:1, C18:2 et C18:3.

En moyenne, l'herbe fraîche contient entre 1 à 3% d'AG dont 55 à 65% sont de type acide linoléique (Chilliard *et al.*, 2001b). La MG du lait obtenue à partir de vaches nourries au pâturage (avec ou sans supplément) avait 2,5 fois plus d'isomères ALC *cis*-9, *trans*-11 que pour une ration totale mixte (Rego *et al.*, 2004).

Les régimes alimentaires oléagineux ont été largement utilisés pour améliorer la composition en AG du lait. Ils sont constitués, soit de la graine entière riche en huile, soit de résidus (tourteaux) obtenus après son extraction. Les graines de colza, de soja et de lin sont riches respectivement en acide oléique (C18:1 n-9), linoléique (C18:2 n-6) et linoléique (C18:3 n-3), ce qui conduit généralement à des niveaux élevés de ces acides dans les produits obtenus.

L'incorporation de l'huile de poissons riche en acide eïcosapentaénoïque (C20:5 n-3) et docosahéxaénoïque (C22:6 n-3) a permis d'augmenter les niveaux d'ALC (Chilliard *et al.*, 2000).

## IV. Les résidus d'antibiotiques dans le lait

### IV.1. Définitions et terminologies

- **Notion de résidus de médicaments vétérinaires**

Pour le Codex Alimentarius (CAC/MISC 5, 1993), les résidus de médicaments vétérinaires comprennent les composés souches ou leurs métabolites ainsi que les impuretés associées au médicament vétérinaire concerné, présents dans toute partie comestible du produit animal.

Le règlement (CE) N° 470/2009 du Parlement Européen et du Conseil du 06 Mai 2009 (CE, 2009) établissant les procédures communautaires pour la fixation des limites de résidus dans les aliments d'origine animale, les définit « comme toutes substances pharmacologiquement actives, qu'il s'agisse de principes actifs, d'excipients ou de métabolites présents dans les liquides et les tissus des animaux après l'administration de médicaments et susceptibles d'être retrouvés dans les denrées alimentaires produites par ces animaux ». Une définition similaire a été adoptée par le Journal Officiel de la République Algérienne Démocratique et Populaire (JORADP) par le Décret Exécutif N° 14-366 du 22 Safar 1436 correspondant au 15 décembre 2014 (JORADP, 2014) fixant les conditions et les modalités applicables en matière de contaminants tolérés dans les denrées alimentaires. Ce dernier définit les résidus de médicaments vétérinaires « comme toutes substances pharmacologiquement actives, qu'il s'agisse de principes actifs, d'excipients ou de produits de dégradation, ainsi que leur de métabolites, restant dans les denrées alimentaires obtenues à partir d'animaux auxquels le médicament vétérinaire en question a été administré ».

- **Délai d'attente**

Le délai d'attente se définit comme étant l'intervalle de temps à respecter entre la dernière administration d'un médicament à usage vétérinaire à l'animal de rente, et la collecte des denrées alimentaires. Il correspond ainsi à la période durant laquelle les productions animales ne peuvent être destinées à la consommation humaine (CE, 2001). De ce fait la durée minimale requise entre le dernier traitement de médicaments recommandé et l'abattage ou la collecte d'aliments (Mitchell, 2005) doit répondre à un schéma thérapeutique bien précis et concerne l'espèce animale, la dose, le rythme et la voie d'administration ainsi que la durée du traitement (Brouillet, 1994; Châtaigner et Stevens, 2005). Passé cette période, les concentrations des résidus de médicaments dans les denrées alimentaires seront inférieures à la limite maximale de résidus (LMR). Le délai d'attente varie d'un médicament à un autre,

selon les conditions d'emploi, et notamment sa voie d'administration et sa posologie (Laurentie et Sanders, 2002).

Le respect de ce temps permet de protéger le consommateur en garantissant des denrées qui présentent des concentrations inférieures ou proches de la LMR (Moulin, 1999; Laurentie et Sanders, 2002).

- **Limite maximale des résidus**

Elle se définit comme étant la concentration maximale en résidus médicamenteux résultant de l'emploi d'un médicament à usage vétérinaire et recommandée par la Commission du Codex Alimentarius (CAC/MISC 5, 1993) comme légalement permise ou estimée acceptable dans ou sur un aliment. Le JORADP (2014) le définit comme étant la concentration maximale de résidu résultant de l'emploi d'un médicament vétérinaire (exprimé en mg/kg ou en microgramme/kg sur la base du poids frais) autorisée dans ou sur un aliment.

La LMR ne doit pas être dépassée lors de l'utilisation du médicament à usage vétérinaire afin de ne présenter aucun risque sanitaire pour le consommateur (Laurentie et Sanders, 2002; Abidi, 2004; Fabre *et al.*, 2006). Selon le Codex Alimentarius (CAC/MISC 5, 1993), cette limite est basée sur le type et la quantité de résidu que l'on juge sans danger toxicologique pour la santé humaine tel qu'il est exprimé par la Dose Journalière Admissible (DJA).

Le calcul des LMRs est effectué en prenant en compte plusieurs aspects notamment la santé du consommateur mais également le risque économique par l'inhibition de la transformation du lait en produits dérivés par exemple (Brouillet, 1994; Verhnes et Vandaele, 2002).

- **Dose journalière admissible**

Le Comité Mixte d'Experts des Additifs Alimentaires ou « The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives » (JECFA), est un comité scientifique international qui est administré conjointement par l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO) et l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Pour chaque molécule mise sur le marché, ce comité d'experts estime la dose journalière acceptable, qui représente la quantité de médicaments vétérinaires que l'Homme peut ingérer quotidiennement pendant toute sa vie sans que cela n'entraîne de risques pour sa santé. Cette estimation est réalisée sur la base d'un poids humain normalisé de 60 kg (CAC/MISC 5, 1993).

## IV.2. Classification des principaux anti-infectieux à usage vétérinaire

Les agents antibactériens peuvent être classés en fonction de leur mécanisme d'action, de leur structure chimique et de leur spectre d'activité. Le plus souvent, la classification est basée sur la structure chimique, qui peut fournir des informations sur les propriétés chimiques, physiques et biologiques. Les différentes familles d'antimicrobiens (cf. Annexe 1) sont : les aminosides, les phénicols, les  $\beta$ -lactames (céphalosporines et pénicillines), les lincosamides, les macrolides, les nitrofuranes, les quinolones, les sulfamides, les tétracyclines.

- **Les Aminosides**

Les aminoglycosides sont des antibiotiques à large spectre, isolés des bactéries *Streptomyces* et *Micromonospora*, qui exercent leurs effets bactériostatique ou bactéricide en bloquant la biosynthèse des protéines bactériennes et en perturbant la perméabilité membranaire de la bactérie (Puyt, 2000; Botsoglou et Fletouris, 2001). Les antibiotiques (streptomycine, dihydrostreptomycine, néomycine, kanamycine) possèdent un spectre plutôt dirigé contre les bactéries à Gram négatif. Leur structure, aux composants très similaires, contient deux ou plusieurs aminoglucides liés par une liaison glycosidique à un groupement aminocyclitol. Ils sont particulièrement indiqués dans le traitement des infections chez les bovins (Gehring *et al.*, 2005). Les aminoglycosides sont généralement administrés par injection intramusculaire, en raison d'une absence d'absorption par voie orale. Les résidus de ces médicaments ont tendance à se concentrer dans le rein car ils sont essentiellement excrétés par les voies urinaires (Turnipseed et Andersen, 2008).

- **Les Phénicols**

Les phénicols (chloramphénicol, florfénicol et thiamphénicol), antibiotiques bactériostatiques à large spectre avec une structure phénylpropanoïde, sont actifs contre divers agents pathogènes. Ils inhibent la biosynthèse des protéines bactériennes (Puyt, 2000; Botsoglou et Fletouris, 2001). Cependant, en raison des effets secondaires graves rapportés (principalement de l'anémie aplasique) chez l'Homme, le chloramphénicol a été interdit dans les années 1990 dans l'UE, en Amérique et également en Algérie. Le thiamphénicol de structure similaire et le florfénicol, dans lequel le groupement nitro (-NO<sub>2</sub>) du chloramphénicol est remplacé par un groupement méthyl sulfonyle (H<sub>3</sub>C-SO<sub>2</sub>) [dans le florfénicol, un groupe hydroxyle (-OH) est également remplacé par un fluor (-F)], ont été autorisés comme substituts du chloramphénicol en raison de leur toxicité moindre (Puyt, 2000).

- **Les  $\beta$ -Lactames**

Les antibiotiques  $\beta$ -lactames sont probablement les médicaments antimicrobiens les plus largement utilisés dans les pratiques vétérinaires actuelles (Shitandi et Sternesjo, 2001). Ils sont divisés en deux sous-catégories : les pénicillines et les céphalosporines. Ces antibactériens ont comme structure commune de base un hétérocycle de thiazolidine, un noyau  $\beta$ -lactame et des chaînes latérales variables qui expliquent les principales différences rencontrées dans leurs propriétés chimiques et pharmacologiques. Dans les pénicillines, le noyau  $\beta$ -lactame est fusionné à un cycle de thiazolidine à cinq chaînons, tandis que dans les céphalosporines, ce même noyau est fusionné à un cycle à six chaînons. Ce type de noyau est responsable de l'activité antimicrobienne mais conduit malheureusement à sa stabilité réduite. Les  $\beta$ -lactames sont en effet thermolabiles, instables dans les alcools et en conditions acides (Mastovska, 2011).

Leur mode d'action est basé sur l'inhibition de la biosynthèse de la paroi cellulaire bactérienne. Cependant, les bactéries se sont révélées souvent résistantes aux antibiotiques  $\beta$ -lactames (Lara *et al.*, 2012). Les pénicillines sont dérivées des champignons de *Penicillium fungi*. Ce sont les premières molécules antibiotiques qui ont montré une efficacité contre les infections causées par des organismes à germes sensibles, généralement à Gram positif (Evaggelopoulou et Samanidou, 2013). Les céphalosporines ont été isolées à partir du champignon *Acremonium*, agissant principalement contre les bactéries à Gram positif, mais des générations successives de telles molécules ont été améliorées pour augmenter l'activité contre les bactéries à Gram négatif (Puyt, 2000).

- **Les Macrolides et Lincosamides**

Les macrolides sont des antibiotiques ayant une structure de base macrocyclique. Ils sont largement utilisés dans la pratique vétérinaire pour traiter les maladies respiratoires et favoriser la croissance et lutter contre les organismes à Gram positif (streptocoques, staphylocoques et *Clostridium*), résistants aux traitements à la pénicilline. L'érythromycine et la tylosine sont parmi les molécules les plus couramment administrées aux animaux destinés à la nutrition humaine (Puyt, 2000). Les antibiotiques de la classe des macrolides ont des structures de base faibles, solubles facilement dans les solvants organiques courants (Tenson *et al.*, 2003).

Les lincosamides (lincomycine, clindamycine et pirlimycine) sont des monoglycosides avec une chaîne latérale acide aminée. La lincomycine a été le premier lincosamide à être

découvert. Il fut isolé à partir de *Streptomyces lincolnensis*. Ces composés sont très efficaces contre un large éventail de bactéries anaérobies à Gram positif. Les macrolides et les lincosamides ciblent le ribosome bactérien et inhibent la synthèse des protéines (Tenson *et al.*, 2003; Mastovska, 2011; Dasenaki *et al.*, 2014).

- **Les Quinolones**

Les quinolones sont des antibiotiques synthétiques à large spectre utilisés en élevage bovin. Ils empêchent l'ADN bactérien de se dupliquer. La première génération de quinolones comprend principalement l'acide oxolinique et l'acide nalidixique qui ne sont efficaces que contre les bactéries à Gram négatif, tandis que les quinolones de la deuxième et de la troisième génération, (telles que la fluméquine et l'enrofloxacin, la danofloxacin et la ciprofloxacine) présentent une activité contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif pour traiter notamment les infections des voies urinaires. Les quinolones sont également des médicaments à usage humain, largement répandu. Leur utilisation croissante chez les animaux destinés à l'alimentation humaine est très préoccupante en raison du développement d'une résistance bactérienne à ces antibiotiques (Brighty et Gootz, 2000; Puyt, 2000).

- **Les Sulfonamides**

Les sulfonamides sont des antibiotiques synthétiques utilisés pour le traitement prophylactique et thérapeutique des infections bactériennes et des protozoaires (Puyt, 2000). Ils partagent un noyau chimique commun issu du sulfanilamide qui est responsable de leur activité antimicrobienne (Mastovska, 2011). Ils ont été utilisés cliniquement depuis plus de 50 ans et, pendant ce temps, plus de 5000 dérivés ont été testés. Les sulfonamides présentent de grandes variations de polarité et des propriétés amphotères. Ils sont souvent administrés conjointement à des substances synthétiques (comme le triméthoprime) qui agissent en synergie.

- **Les Tétracyclines**

Les tétracyclines sont des antibiotiques à large spectre, très utilisés en médecine vétérinaire pour des traitements prophylactique et thérapeutique contre les germes à Gram positif et négatif, bien qu'en élevage bovin, un début de résistance bactérienne ait été relevé depuis plus de 15 ans (Puyt, 2000). Les antibiotiques à tétracyclines sont des inhibiteurs de la synthèse de protéines, en inhibant la liaison de l'aminoacyl-ARNt au complexe ARNm-ribosome et empêchent ainsi la traduction des ARNm bactérien en protéines (Önal, 2011). Les

tétracyclines ont une distribution large et présentent une affinité marquée pour le calcium endogène, notamment osseux et dentaire (Puyt, 2000).

### IV.3. Aspects réglementaires

Afin d'assurer la sécurité des consommateurs, de nombreuses agences à l'échelle mondiale ont mis en place une série de mesures sur les modalités d'utilisation des antimicrobiens, en particulier pour les espèces animales productrices destinées à l'alimentation humaine. Aux Etats-Unis, le service d'inspection de la salubrité des aliments dépendant du ministère de l'Agriculture des États-Unis ou « The US Department of Agriculture's (USDA) Food Safety Inspection Service (FSIS) » est responsable de la sécurité des produits comme les viandes, la volaille et les œufs. L'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments ou « The European Food Safety Authority (EFSA) » est la pierre angulaire de l'évaluation des risques pour l'Union Européenne (UE) en matière de sécurité des aliments destinés à l'alimentation humaine et animale. La Commission du Codex Alimentarius ou « The Codex Alimentarius Commission (CAC) » élabore des normes alimentaires, des lignes directrices et des textes apparentés tels que des codes de pratiques dans le cadre du Comité mixte FAO / OMS d'experts des additifs alimentaires (JECFA).

L'UE a strictement réglementé les contrôles sur l'utilisation d'agents antimicrobiens, en particulier dans les aliments destinés à l'alimentation humaine d'origine animale, en publiant différents règlements et directives. L'utilisation des médicaments vétérinaires a été encadrée par le règlement 470/2009/CE (CE, 2009) du Conseil Européen qui décrit la procédure d'établissement des limites maximales de résidus (LMRs) pour les médicaments vétérinaires dans les denrées alimentaires d'origine animale.

Le Conseil Européen a adopté et mis en œuvre des plans nationaux de surveillance pour des groupes spécifiques de résidus d'antibiotiques. En effet, suite à la directive 96/23/CE, le Conseil a mis en place une série de mesures relatives au contrôle de certaines substances et de leurs résidus dans les animaux vivants et de leurs produits (CE, 1996). Comme présenté dans le tableau 11 (CE, 1996 ; CE, 2010), deux groupes principaux de substances pharmacologiquement actives ont été répertoriés comme étant particulièrement à surveiller :

- Groupe A : Il comprend les substances interdites, comme les hormones et les  $\beta$ -agonistes, et d'autres molécules;

- Groupe B : Il se réfère à des médicaments vétérinaires autorisés pour lesquels des limites maximales de résidus (LMRs) ont été fixées dans différents produits animaux et espèces animales et autres contaminants.

**Tableau 11 :** Médicaments vétérinaires interdits ou autorisés dans l'alimentation humaine et dans les productions animales.

<b>Groupe A : Substances interdites</b>
<b>A.1. Hormones</b>
Stilbènes et dérivés
Agents antithyroïdiens
Stéroïdes
Lactones de l'acide résorcylique (y compris le Zéranol )
<b>A.2. <math>\beta</math>-agonistes</b>
<b>A.3. Autres</b>
Nitrofuranes (incluant la furazolidone)
Diméridazole
Métronidazole
Ronidazole
Chloramphénicol
Dapsone
Chlorpromazine
<b>Groupe B : Médicaments vétérinaires autorisés</b>
<b>B1. Antibactériens</b>
$\beta$ -lactames
Tétracyclines
Macrolides
Aminoglycosides
Sulfonamides et triméthoprim
Quinolones
<b>B.2. Autres médicaments vétérinaires</b>
Anthelminthiques
Anticoccidiostatiques, incluant les nitromidazoles
Carbamates et pyréthroïdes
Carbadox et olaquinox
Sédatifs
Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINSs)
Autres substances pharmacologiquement actives

(CE, 1996 ; CE, 2010)

Plus récemment, le règlement (UE) N°37/2010/CE (CE, 2010) a recensé les substances pharmacologiquement actives et leurs teneurs maximales de résidus (LMRs) autorisées dans

les denrées alimentaires d'origine animale (Tableau 12), ainsi que des composés pour lesquels aucune LMR n'a été fixée étant donné qu'aucun danger pour la santé publique n'a été relevé.

**Tableau 12 :** Limites maximales autorisées de résidus des principales familles d'antibiotiques et de molécules actives selon le règlement de la Commission Européenne N° 37/2010.

Famille d'antibiotique	Molécules actives	LMR lait ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Famille d'antibiotique	Molécules actives	LMR lait ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	
<b><math>\beta</math>-lactamines</b>	Amoxicilline	4	<b>Ansamycines</b>	Rifaximine	60	
	Ampicilline	4	<b>Aminosides</b>	Dihydrostreptomycine	200	
	Benzylpénicilline	4		Gentamicine	100	
	Céfacétrile	125		Kanamycine	150	
	Céfalexine	100		Néomycine	1 500	
	Céfalonium	20		Spectinomycine	200	
	Céfapirine	60		Streptomycine	200	
	Céfazoline	50		<b>Macrolides</b>	Érythromycine	40
	Cefopérazone	50	Spiramycine		200	
	Cefquinome	20	Tilmicosine		50	
	Ceftiofur	100	Tylosine		50	
		Cloxacilline	30	<b>Polymyxines</b>	Bacitracine	100
		Dicloxacilline	30		Colistine	50
		Nafcilline	30	<b>Fluoro-quinolones</b>	Danofloxacine	30
		Oxacilline	30		Enrofloxacine	100
Pénéthamate		4	Fluméquine		50	
<b>Tétracyclines</b>		Oxytétracycline	100		Marboloxacine	75
		Tétracycline	100		<b>Phénicolés</b>	Thiamphénicol
	Chlortétracycline	100	<b>Aminocoumarines</b>	Novobiocine	50	
<b>Sulfamides</b>	Triméthoprimé	50	<b>Lincosamides</b>	Lincomycine	150	
	Sulfonamides	100		Pirlimycine	100	
<b>Ionophores</b>	Monensin	2				

(CE, 2010)

Les exigences relatives à la performance et à la validation des méthodes analytiques utilisées dans le contrôle officiel des résidus à des fins de dépistage et de confirmation sont décrites dans la Décision Européenne 2002/657/CE (CE, 2002). La validation doit démontrer que la

méthode analytique est conforme aux critères applicables quant aux caractéristiques de performances correspondantes.

La législation algérienne par l'article 6 de l'Arrêté Interministériel du 29 Safar 1414 correspondant au 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation (JORADP, 1993) spécifie que « le lait ne doit pas contenir de résidus antiseptiques, antibiotiques et pesticides ». Le Décret exécutif N°14-366 (JORADP, 2014) fixe les conditions et les modalités applicables en matière de contaminants tolérés aux denrées alimentaires destinées à l'alimentation humaine. L'article 5 du décret, stipule que « sont considérés comme contaminants, les résidus de pesticides, et les résidus de médicaments vétérinaires ou les résidus de substances pharmacologiquement actives ». L'article 6, stipule quant à lui que « les denrées alimentaires contenant des résidus de contaminants dépassant les limites maximales tolérées ne doivent pas être mises à la consommation. Les listes ainsi que les limites maximales des résidus de contaminants tolérés dans les denrées alimentaires sont fixées, selon le cas, par arrêté du ministre chargé de la protection du consommateur et du ou des ministre(s) concerné(s) ». L'article 14 mentionne que « Nonobstant les dispositions du présent décret, aucune substance interdite ne peut être présente dans les denrées alimentaires ». Il est à mentionner que le MADRP (2011) a fait mention d'une liste de médicaments homologués et mis sur le marché alors que d'autres sont interdits d'usage à l'image du chloramphénicol (Tableau 13).

**Tableau 13** : Listes des substances actives homologuées et prohibées en Algérie

Liste des substances actives prohibées en Algérie	Molécules (principe actif) anti-infectieuses homologuées en Algérie	
<ul style="list-style-type: none"> <li>•Furaltadone, Furazolidone et tous les autres Nitrofuranes</li> <li>•Ronidazole</li> <li>•Dapsone</li> <li>•Chloramphénicol</li> <li>•Lévamisole</li> <li>•Aristolochia spp. et l'ensemble de ses préparations</li> <li>•Chloroforme</li> <li>•Chlorpromazine</li> <li>•Colchicine</li> <li>•Diméridazole</li> <li>•Métronidazole</li> <li>•Gentamicine</li> <li>•Diazinon</li> <li>•Ciprofloxacine</li> <li>•Céfopérazone</li> <li>•Stilbènes, dérivés des stilbènes, leurs sels et esters</li> <li>•Substances à action thyrostatique</li> <li>•Diaverdine</li> <li>•Lindane</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Acide oxolinique</li> <li>•Amoxicilline</li> <li>•Ampicilline</li> <li>•Apramycine</li> <li>•Benzylpénicilline</li> <li>•Ceftiofur</li> <li>•Céfalexine</li> <li>•Chlortétracycline</li> <li>•Cloxacilline</li> <li>•Colistine</li> <li>•Danofloxacine</li> <li>•Doxycycline</li> <li>•Enrofloxacine</li> <li>•Erythromycine</li> <li>•Florfénicol</li> <li>•Fluméquine</li> <li>•Framycétine</li> <li>•Josamycine</li> <li>•Lincomycine</li> <li>•Marbofloxacine</li> <li>•Néomycine</li> <li>•Nystatine</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Oléandomycine</li> <li>•Oxytétracycline</li> <li>•Rifaximine</li> <li>•Spectinomycine</li> <li>•Spiramycine</li> <li>•Streptomycine</li> <li>•Sulfadiazine</li> <li>•Sulfadiméthoxine</li> <li>•Sulfadimidine</li> <li>•Sulfaguanidine</li> <li>•Sulfaméthoxyypyridazine</li> <li>•Sulfaphénazole</li> <li>•Thiamphénicol</li> <li>•Tilmicosine</li> <li>•Triméthoprim</li> <li>•Tylosine</li> </ul>

(MADRP, 2011)

#### IV.4. Méthodes d'analyse

##### IV.4.1. Tests de dépistage rapide

Ces méthodes sont assez souvent employées pour leur facilité d'utilisation, leur rapidité, leur bonne sélectivité et leur faible coût pour le dépistage des résidus d'antibiotiques. Elles sont basées sur des analyses microbiologiques ou immunologiques ou des essais biologiques (Cháfer-Pericás *et al.*, 2010; Gaudin *et al.*, 2009). Les méthodes de dépistage peuvent généralement fournir des résultats semi-quantitatifs, avec un faible taux de résultats faussement conformes. Toutefois, les tests de dépistage doivent souvent être suivis de méthodes de confirmation (Cháfer-Pericás *et al.*, 2011).

##### IV.4.2. Méthodes de confirmation

Les techniques de séparation, à l'exemple de la chromatographie liquide (CL) à haute performance et l'électrophorèse capillaire (EC), ont été largement utilisées pour l'analyse des

résidus de médicaments vétérinaires dans des échantillons alimentaires. La confirmation des analytes cibles repose principalement sur la comparaison avec le temps de rétention ( $T_R$ ) du standard (Botsoglou et Fletouris, 2001).

- **Electrophorèse capillaire**

L'électrophorèse capillaire (EC) est une technique analytique séparative ayant la capacité de déterminer simultanément différents analytes avec une grande efficacité et une résolution élevée (Opekar *et al.*, 2009). L'EC est une alternative adéquate aux techniques chromatographiques, principalement lorsque seules de petites quantités d'échantillons sont disponibles.

Lorsque les analytes possèdent des propriétés physico-chimiques particulières ou sont sous forme ionisable et lorsqu'ils ne peuvent être analysés par des techniques chromatographiques, l'EC prend le relais puisque c'est un outil analytique qui gagne en importance et qui a élargi aujourd'hui son champ d'application, principalement dans les domaines de l'analyse des aliments et des médicaments (Robledo et Smyth, 2009; Castro-Puyana *et al.*, 2010). Toutefois, peu de travaux ont été présentés pour la détermination simultanée de différents groupes de médicaments vétérinaires avec cette technique (Juan-Garcia *et al.*, 2007; Vera-Candioti *et al.*, 2010).

- **Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse**

Les techniques LC-MS fournissent une approche universelle applicable au plus grand nombre de médicaments vétérinaires. Elles sont devenues de ce fait les techniques de choix dans le domaine de l'analyse des résidus antimicrobiens dans les denrées alimentaires (Marazuela et Bogialli, 2013).

La combinaison de la spectrométrie de masse (SM) en tandem avec la pression d'ionisation atmosphérique ou « atmospheric pressure ionization tandem mass spectrometry » (API-MS/MS), avec la chromatographie liquide (CL) est actuellement la technique la plus utilisée dans l'analyse des résidus antimicrobiens (Ardrey, 2003). Pour les composés allant de la polarité modérée à élevée, l'ionisation par électrospray ou « Electrospray ionization » (ESI) constitue la technique d'ionisation la plus utilisée dans le couplage SM-CL pour l'analyse des contaminants organiques et domine ainsi le champ d'application de l'analyse antibactérienne (Crotti *et al.*, 2013).

#### IV.5. Problèmes induits par la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait

Après avoir été administré à l'animal, le médicament à usage vétérinaire est généralement d'abord métabolisé par le foie, puis l'essentiel du principe actif est excrété par les différentes voies terminales que sont l'urine et les fèces. Aussi, ces produits pourraient se retrouver également dans les productions animales, notamment dans le lait, les viandes et les œufs. Ainsi, l'usage d'un médicament à titre préventif ou curatif, aura systématiquement pour conséquence, si certaines règles d'usage ne sont pas respectées (posologie et dosage excessif, voies d'administrations inadaptées et non respect du délai d'attente...etc.) d'accroître le risque que ce dernier se retrouve même en faible quantité dans les denrées alimentaires d'origine animale et donc en fin de chaîne alimentaire chez l'Homme (Fabre *et al.*, 2010).

Les problèmes induits par la présence d'inhibiteurs dans le lait ont grandement évolué durant les dernières décennies. Initialement, leur recherche était dictée par la nécessité de prévenir des problèmes d'ordre technologiques, notamment dans les différents processus de transformation du lait en produits dérivés (Sachot, et Puyt, 2001). Aujourd'hui, la recherche et la détection des inhibiteurs dans le lait et dérivés, s'intègre également dans « une démarche dite de qualité » visant avant tout l'aspect sanitaire par la protection de la santé du consommateur.

La notion d'inhibiteurs correspond par conséquent à un problème d'ordre technologique et la notion de résidus correspond quant à elle à un problème sanitaire (Fabre *et al.*, 2002).

##### IV.5.1. Problèmes sanitaires

- **Risques allergiques**

Les réactions allergiques ayant une origine alimentaire surviennent essentiellement chez des sujets génétiquement prédisposés et susceptibles de réagir même à des doses très faibles. Pour qu'une allergie ou une hypersensibilité se déclare, il faut que l'organisme ait été en contact au moins deux fois avec l'agent allergène. Le premier contact est sensibilisant et permet à l'organisme de reconnaître l'agent allergène, tandis que le second est déclenchant, et provoque la crise (Demolay *et al.*, 2003).

Théoriquement, les résidus médicamenteux, dont en particulier ceux ayant un noyau  $\beta$ -lactame dans les denrées d'origines animales comme le lait par exemple, pourraient provoquer des réactions allergiques chez un individu déjà sensibilisé sans pour autant être considérés comme un agent sensibilisant car les quantités semblent être trop faibles dans

l'aliment consommé pour qu'ils soient à l'origine d'une sensibilisation primaire de l'individu (Labie, 1981; Brouillet, 1994). Des cas d'allergies aux résidus de pénicilline dans les aliments d'origine animale ont été scientifiquement prouvés, bien qu'exceptionnels, puisque seulement quelques rares cas d'allergie imputables à la pénicilline à la suite d'une consommation de produits laitiers, ont été recensés à travers le monde (Federicci-Mathieu, 2000). Pour la pénicilline par exemple, les services de santé publique se sont grandement inquiétés de la présence de cette dernière dans tous les produits laitiers. En effet sur des sujets déjà sensibilisés, des quantités de l'ordre de 0,03 UI/ml dans le lait pourraient être suffisantes pour entraîner des réactions allergiques (Jepsen, 1973; Pepin et Boudene, 1977). Ces mêmes instances encouragent le renforcement des contrôles de ces molécules allergisantes que sont les résidus d'antibiotiques dans les approvisionnements laitiers.

Les familles d'antibiotiques le plus souvent incriminées dans les réactions allergiques en médecine humaine, sont les pénicillines, suivies des sulfamides. Les  $\beta$ -lactames agissent comme des haptènes et induisent une réponse immunologique hétérogène, à la fois humorale et cellulaire. C'est le noyau  $\beta$ -lactame qui jouerait le rôle d'allergène (Châtaigner et Stevens, 2005; Demoly, 2008).

- **Risques toxiques**

Un grand nombre d'antibiotiques administrés sous forme thérapeutique aux animaux domestiques sont également approuvés pour l'usage humain. Ces molécules se sont avérées relativement sûres. Des toxicités aiguës et chroniques ont été évaluées et ont bien été documentées (NRC, 1999).

Les risques toxiques pouvant survenir chez l'Homme dépendent de nombreux paramètres. Nous pouvons citer notamment la famille d'antibiotique incriminée, si cette dernière n'a pas été désactivée durant le processus de fabrication de l'aliment, de la quantité ingérée puis absorbée par le tractus digestif (Ecckhoutte, 1978).

La probabilité de la toxicité aiguë des drogues vétérinaires ou de leurs métabolites provenant des tissus animaux est extrêmement faible (Bories, 1986). Cependant, la possibilité de toxicité chronique exprimée sur le long terme existe avec des effets cumulatifs mutagéniques, tératogéniques ou cancérogènes, lesquels sont difficiles à évaluer mais pouvant se produire (Burgat, 1984 ; Derache, 1986).

Des médicaments à usage vétérinaire, avec un potentiel élevé de toxicité simple ou multiple pour la santé des personnes les ayant consommées, ont été interdits pour certains par la

Commission Européenne et par notre pays pour leur usage chez les animaux domestiques.

Nous pouvons citer à titre d'exemple :

- le chloramphénicol (Guy *et al.*, 2004; Fabre *et al.*, 2006) qui a été impliqué comme agent causal dans de nombreux cas d'anémies aplasiques après avoir été utilisé notamment comme médicament ophtalmique à de faibles doses (Kerberve, 1971; Keck, 1981; Milhaud, 1981).
- des sulfonamides qui ont été largement utilisés à concentrations sub-thérapeutiques et thérapeutiques dans l'alimentation et dans les productions animales. Mais la préoccupation croissante concerne leur potentiel cancérigène et mutagénique ainsi que leur toxicité sur la glande thyroïde qui ont conduit à diminuer progressivement leur usage, à allonger les délais d'attentes et à intensifier la surveillance de ce résidu.
- les résidus de tétracycline qui peuvent réversiblement ralentir la croissance du squelette et irréversiblement décolorer les dents des jeunes enfants âgés de moins de 8 ans, leur dépôt dans l'organisme entraînant de ce fait de graves troubles de la croissance ainsi que des troubles dentaires par suite de leur pouvoir complexant avec le calcium (Ecckhoutte, 1978; Puyt, 2000).
- les pénicillines qui peuvent se montrer toxiques, mais seulement après des prises à des posologies très élevées (Milhaud, 1981).

#### **IV.5.2. Risques d'antibiorésistance et de déséquilibre de la microflore digestive du consommateur**

- **Risques d'antibiorésistance**

Le risque lié à l'apparition d'une antibiorésistance est une menace grandissante bien documentée (Van der kreek, 1984; Mitchell *et al.*, 1998; NRC, 1999; Van den Bogaard, 2001). En effet, l'utilisation abusive d'antibiotiques en médecine humaine et en médecine vétérinaire conduit inmanquablement à la sélection de bactéries résistantes (Schwarz et Chaslus-Dancla, 2001). Le risque d'antibiorésistance consécutif à un usage massif d'antibiotiques en élevage est donc bien réel. L'usage d'antibiotiques dans les productions animales a été souvent associé au développement de la résistance antibiotique humaine. Les animaux alimentés avec des niveaux prophylactiques bas en antibiotiques peuvent sélectionner des bactéries résistantes à ces derniers et/ou à d'autres molécules (Turnipseed, 1998).

Il est important de faire la distinction entre la résistance naturelle et la résistance acquise. La résistance acquise qui nous intéresse dans le cas des résidus antibiotiques dans le lait,

représente quant à elle, l'acquisition de nouveaux gènes capables de rendre le germe insensible à une molécule ou à un groupe de molécules. Cette modification peut être obtenue soit par mutation de l'ADN chromosomique, ou soit par transfert d'ADN (plasmide ou transposons) (Videaud, 1973).

La résistance inclut trois types de mécanismes :

- La modification de la cible de l'antibiotique ;
- La synthèse d'enzymes capables d'inactiver les antibiotiques (cas des pénicillinases plasmidiques produites par les entérobactéries qui les rendent résistants aux pénicillines (Yala *et al.*, 2001)) ;
- La diminution de la perméabilité bactérienne aux antibiotiques.

L'antibiotique agit en sélectionnant les germes porteurs des plasmides qui permettent de lui résister. Ces porteurs de plasmides sont susceptibles, sous certaines circonstances, de transférer leur antibio-résistance à des germes pathogènes notamment pour l'Homme. Les résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale à des concentrations supérieures aux LMRs pourraient contribuer à l'apparition d'une forme de résistance des bactéries chez l'Homme même si les observations enregistrées montrent que ce risque reste plutôt faible (Maghium, 2002; Serieys, 2003; Sanders *et al.*, 2011). L'exemple de médicaments ayant montré une augmentation de cas de résistances bactériennes à partir de productions animales est celui des fluoroquinolones.

L'accroissement de l'antibiorésistance des micro-organismes en médecine humaine, est plutôt à rechercher dans certaines pratiques médicales humaines, notamment le recours abusif à l'antibiothérapie, à l'automédication, au non respect des traitements médicaux prescrits, à une hausse vertigineuse du nombre de personnes déficientes avec un développement alarmant de graves maladies dues à des bactéries opportunistes (Federicci-Mathieu, 2000).

- **Risques de déséquilibre de la microflore digestive du consommateur**

Le tube digestif de l'être humain est un lieu où cohabitent différentes espèces bactériennes dominées par une flore anaérobie stricte (Clostridies, *Eubactérium*...) qui, par sa croissance limite le développement d'une autre flore constituée de lactobacilles et d'entérobactéries (Person, 1981).

La perturbation de cette flore dominante par des antibiotiques (cyclines, sulfamides) pourrait entraîner la prolifération d'autres micro-organismes pathogènes pour l'Homme (*E.coli*, *Candida albicans*, *Salmonella sp.*...) (Fabre et Joyes, 2000; Abidi, 2004).

### IV.5.3. Problèmes technologiques

Les inquiétudes initiales qui ont trait à la présence de résidus antimicrobiens dans l'alimentation humaine n'ont pas été exprimées par les consommateurs eux même, mais plutôt par les transformateurs laitiers qui ont constaté que le lait contaminé inhibait les starters industriels utilisés dans la fabrication de produits laitiers fermentés et influençait les résultats des tests de réduction des indicateurs colorés utilisés dans le contrôle de la qualité du lait (Mitchell *et al.*, 1998). La sensibilité des cultures starters thermophiles et mésophiles pour la fabrication de produits fermentés de haute valeur ajoutée comme le yaourt, le fromage, ou le beurre, nécessite ainsi l'usage de matières premières biotechnologiquement sûres (Turnipseed, 1998).

- **Importance des micro-organismes en industrie laitière**

Les bactéries lactiques (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactococcus lactis*, etc. (Tableau 14)) jouent un rôle essentiel comme ferments, en acidifiant le lait par transformation du lactose en acide lactique. L'abaissement du pH (Mietton *et al.*, 1994; Robb, 2006), permet la coagulation des caséines, le développement de l'arôme et l'inhibition des flores indésirables (Brouillet, 1994; Abidi, 2004; Fabre *et al.*, 2006).

**Tableau 14 :** Propriétés de quelques micro-organismes utilisés en technologie laitière

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

(Veisseyre, 1975; Alais, 1984)

- **Sensibilité des ferments aux antibiotiques**

Les souches bactériennes lactiques sont particulièrement sensibles à de très faibles doses d'antibiotiques (Fabre et Joyes, 2000; Brouillet, 2002), et plus spécifiquement aux médicaments vétérinaires à noyau  $\beta$ -lactame. Une concentration de résidu d'antibiotique de l'ordre de 0,01 à 0,05 UI.mL<sup>-1</sup> se traduit par des défauts d'acidification et de maturation des yaourts (Tableau 15). Cette situation à fort impact a encouragé la mise en place des premiers kits pouvant détecter ces molécules dans le lait. La conséquence de la présence de ces résidus se traduit généralement soit par la mortalité de la souche (bactéricidie) ou soit au niveau de la production d'acide (Keys *et al.*, 1979).

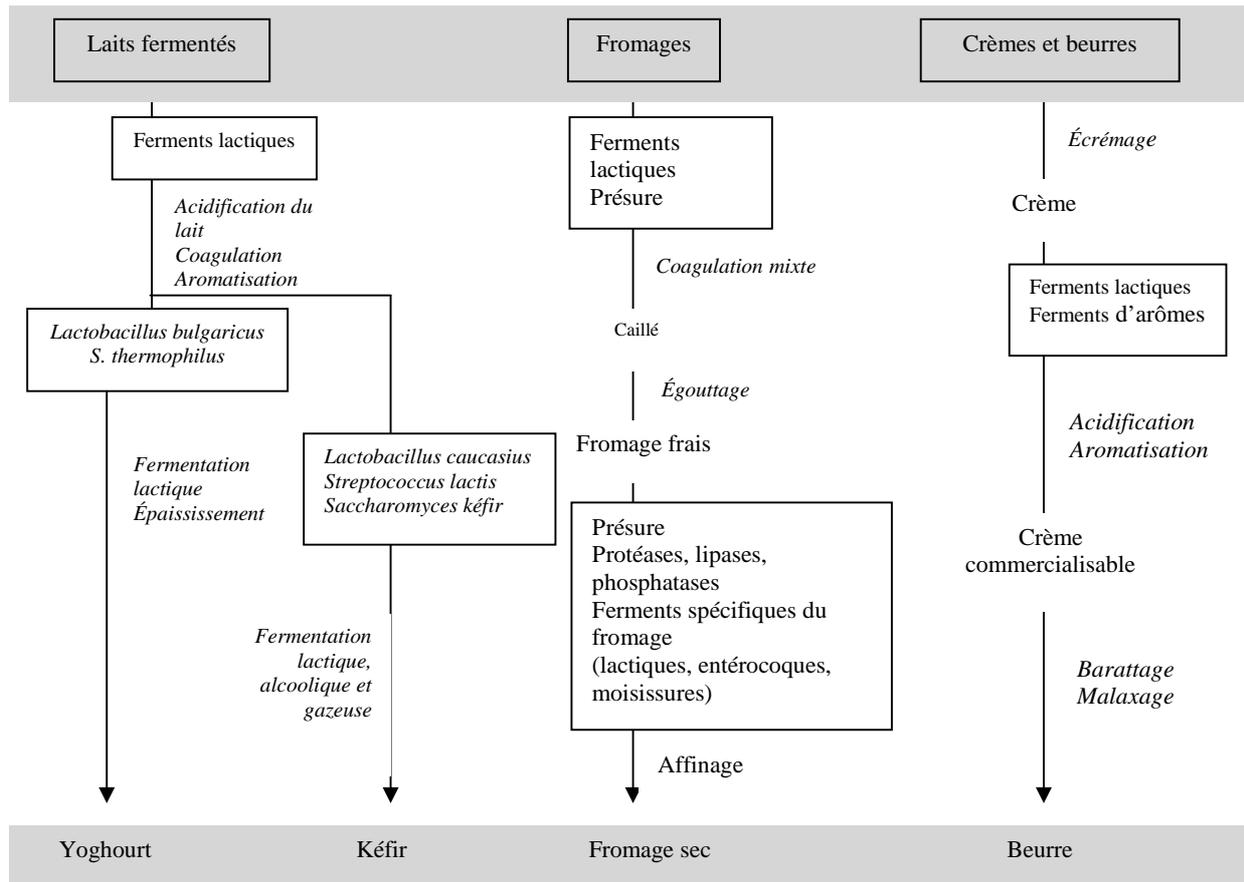
**Tableau 15** : Sensibilité de souches technologiques à la pénicilline

Souche bactérienne	Propriétés	Concentration en pénicilline inhibant la croissance (UI.mL <sup>-1</sup> )
<i>Streptococcus cremoris</i>	Coagulation spontanée	0,05-0,10
<i>Streptococcus lactis</i>	Coagulation spontanée	0,10-0,30
Starters Streptococci		0,10
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Acidification et maturation (spécifique des yoghourts)	0,01-0,05
<i>Streptococcus faecalis</i>		0,30
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	Acidification-viscosité	0,30-0,60
<i>Lactobacillus acidophilus</i>		0,30-0,60
<i>Lactobacillus caucasicus</i>	Fermentation du kéfir	
<i>Lactobacillus casei</i>	Maturation des fromages	0,30-0,60
<i>Lactobacillus lactis</i>	Maturation des fromages et acidification	0,25-0,50
<i>Lactobacillus helveticus</i>	Maturation des fromages et acidification	0,25-0,50
<i>Lactobacillus citrovorum</i>	Ferment d'arôme (crèmerie et beurrerie)	0,05-0,10
<i>Propionibacterium shermanii</i>		0,05-0,10

(Albrigh *et al.*, 1961; Form, 2003)

- **Conséquences de l'inhibition des ferments**

La présence de résidus d'antibiotiques à une certaine concentration provoque l'inhibition partielle ou totale de la croissance des ferments. Cela se traduit par de nombreux défauts pouvant prendre de multiples aspects (Figure 5) qui touchent à la fois la qualité du produit fini en fin de chaîne de production et le rendement de fabrication (Labie, 1981; Brouillet, 1994; Fabre *et al.*, 2006; Robb, 2006).



**Figure 5 :** Schémas d'obtention de différents produits laitiers fermentés et conséquences observées par la présence de résidus d'antibiotiques (Form, 2003).

#### • Conséquences financières

Toute présence de résidus d'antibiotiques dans le lait destiné à être livré à l'industrie laitière constitue un risque important. En effet pour le collecteur laitier algérien, cette présence se traduira par une perte de la matière première en raison du refus de l'industrie laitière de se faire livrer un lait positif au test de dépistage. Ainsi il suffit d'une contamination consciente ou inconsciente du lait d'une seule vache sous traitement antibiotique intra-mammaire par exemple, pour rendre impropre à la livraison à l'industrie laitière un camion de plusieurs milliers de litres de lait. En Europe, en sus de cette perte de matière première, le producteur est soumis à une pénalisation financière pour la livraison incriminée ainsi que d'une

suspension périodique des livraisons, avec les conséquences que cela peut avoir sur la vie de l'exploitation (Dehareng, 2007; Fabre *et al.*, 2010). A l'heure actuelle en Algérie, Il n'existe pas de texte législatif sanctionnant financièrement sous forme d'amendes, le producteur ou le fermier laitier en cas de résultat positif à l'un des contrôles de la qualité du lait livré à l'industriel laitier. Néanmoins, depuis ces dernières années, certaines industries laitières notamment celles relevant du secteur étatique, effectuent, un contrôle systématique de toutes les livraisons des collecteurs de lait.

Pour le transformateur, la présence de résidus dans le lait entraîne la perte de matière première. Cette perte est liée à l'interdiction de manipuler et à fortiori d'utiliser un lait contenant des résidus de substances pharmacologiquement actives. En Algérie, un camion dont le résultat de contrôle à l'entrée de l'usine serait positif, est systématiquement refoulé, à défaut d'être détruit, en raison de l'absence d'un texte législatif clair en ce sens. De plus, la présence de résidus inhibiteurs peut entraîner la perte d'une quantité importante de matière première mise à fermenter dans le but de produire des produits laitiers dérivés (fromage, yaourt....etc.).

Deuxième partie  
à Partie Expérimentale

**A. Problématique Matériels et  
Méthodes**

## **Etude 1 : Etude de l'effet du stade de lactation sur la qualité nutritionnelle du lait de vache (notamment sa fraction lipidique) dans trois fermes situées dans la région du proche Algérois**

### **1. Introduction**

Le lait, tient une place de choix dans les habitudes de consommation de la population du pays comme source de protéines animales, compte tenu des prix exorbitants affichés par les viandes. Face à cette réalité et en raison de la faiblesse des quantités de lait produites, l'état algérien tente de restructurer, sans succès pour le moment, cet important secteur d'activité du pays, à travers différents programmes mis en place ces dernières années, pour essayer d'endiguer les importations en poudre de lait toujours aussi croissantes (Zaida, 2016; Makhoul et Montaigne, 2017). Quelques travaux ont été menés dans le pays sur le niveau de la production laitière (Djermoun et Chehat, 2012; Benyounes *et al.*, 2013) ou sur la qualité nutritionnelle ou hygiénique du lait (Hakem *et al.*, 2012 ; Adjlane-Kaouche *et al.*, 2014), mais peu d'entre eux se sont intéressés à l'étude de sa composition en acides gras. A cet effet, les travaux de Heck *et al.* (2009) ont montré que le producteur peut influencer le niveau de production du lait à la ferme selon la ration journalière distribuée, contrairement à d'autres facteurs d'élevages comme la saison.

Face à ce constat, nous avons étudié dans ce volet, l'influence du stade de lactation sur quelques paramètres physico-chimiques du lait produit dans trois fermes laitières, situées dans la région du proche Algérois.

Les objectifs étaient :

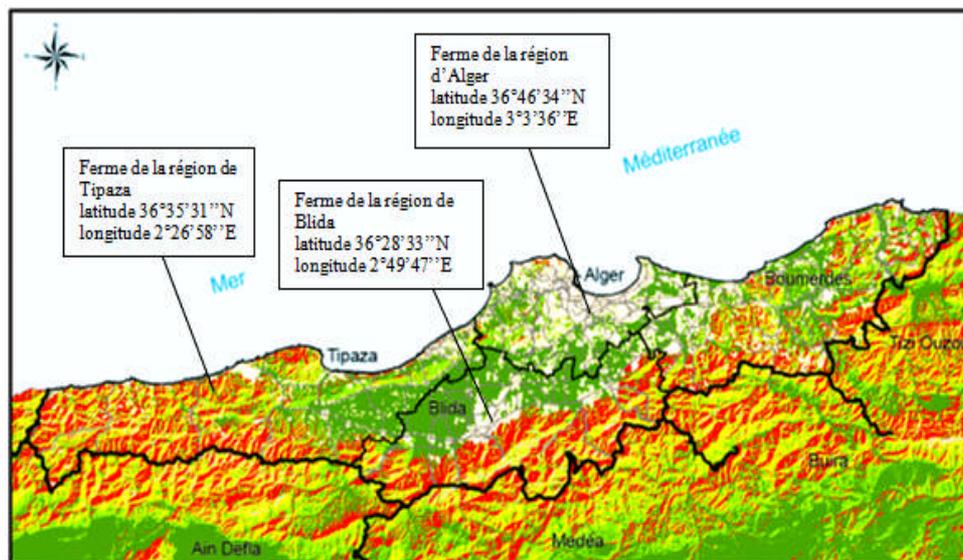
- d'évaluer l'effet du stade de la lactation sur la qualité nutritionnelle du lait de vache.
- d'étudier la fraction en acides gras du lait produit à différents stades de lactation.
- d'évaluer le stade de lactation idéal pour le consommateur et le transformateur.

### **2. Critères de choix des exploitations**

Dans la présente étude, ont été retenues les exploitations comprenant des animaux importés à haut potentiel de production laitière, telles que les vaches de races Holstein et Montbéliarde.

Le choix de la région centre comme zone d'étude a été porté en fonction de l'importance de sa production laitière selon les chiffres transmis par les directions des services agricoles (DSA) et vétérinaires (DSV) de la wilaya d'Alger. A l'intérieur de cette région, les wilayas de Blida, d'Alger et de Tipaza (Figure 6) ont été sélectionnées en raison de l'importance de leur production laitière, estimée respectivement à 60, à 50 et à 40 millions de litres /an (MADRP, 2014).

La taille de l'effectif bovin a été évalué à 10000 têtes dont 6030 vaches laitières réparties dans la wilaya de Tipaza (source : DSA de la wilaya de Tipaza dans [www.reporters.dz](http://www.reporters.dz), 2014), 18976 têtes dont 8966 vaches laitières pour la wilaya de Blida (Anonyme, 2013) et 22777 têtes dont 5215 vaches laitières pour la wilaya d'Alger (DSA, 2013). Le nombre d'établissements laitiers implantés dans la région (75 à Alger, 29 à Blida et 6 à Tipaza) (MADRP, 2012), permettant de réceptionner le lait ou de le transformer en produits dérivés a constitué un critère supplémentaire qui a motivé notre choix.



**Figure 6** : Répartition des régions sélectionnées pour l'étude

(<http://journals.openedition.org/mediterranee/7267>)

La sélection des fermes d'élevage (Figure 6) dans les zones retenues a été réalisée sur la base des critères suivants :

- Le type d'aliment distribué ;
- La disponibilité d'un réseau de collecte pour la commercialisation du lait ;
- Un effectif supérieur ou égal à 50 vaches laitières ;

- La présence de vaches laitières saines en phase de lactation pouvant assurer une production laitière en continue durant toute l'étude ;
- La garantie du suivi vétérinaire régulier des vaches de l'exploitation.

Trois exploitations de vaches laitières ont été ainsi sélectionnées (une par région) comptant un effectif total de 340 sujets (Tableau 16).

Une exploitation de vache laitière pour chacune des régions répondant aux critères présélectionnés a été retenue, totalisant un effectif de 340. Le nombre de vaches laitières échantillonnées mensuellement est de 267 (Tableau 16).

**Tableau 16** : Répartition de l'effectif bovin dans les trois régions considérées

<i>Région</i>	<i>Effectif bovin (Têtes)</i>	<i>Vaches laitières (Têtes)</i>
<b>Alger</b>	105	85
<b>Tipaza</b>	151	104
<b>Blida</b>	84	78
<b>Total (Têtes)</b>	<b>340</b>	<b>267</b>

### 3. Conditions expérimentales

#### 3.1. Alimentation des vaches laitières

L'expérimentation s'est déroulée dans les conditions réelles d'élevage pratiquées par les éleveurs, avec une alimentation similaire pour les trois fermes, celle-ci était composée de foin d'avoine, de paille et d'aliment concentré (Tableau 17). Le rationnement en fourrage (vert) était à volonté dans les trois exploitations retenues. Le tableau 18 désigne la nature et le calendrier de distribution des fourrages pendant l'expérimentation alors que l'abreuvement se faisait 3 à 4 fois par jour.

**Tableau 17** : Formulation des rations alimentaires distribuées au niveau des 3 fermes étudiées.

Composition de la ration	Pourcentage
Foin d'avoine	42
Paille	19
Aliment concentré	39
<b>Total</b>	<b>100</b>
<b>Aliment concentré</b>	
Maïs/grains	33
Son de blé	57
Orge/grains	8
Minéraux et vitamines	2
<b>Total</b>	<b>100</b>

**Tableau 18** : Calendrier de distribution des fourrages au niveau des exploitations.

Exploitation	Août	Sep	Oct	Nov	Dec	Jan	Fev	Mars	Avr	Mai	Jui	Juil
Trèfle				←————→								
Luzerne	←————→											←————→
Orge vert				←————→								
Sorgho	←————→											←————→
Avoine	←————→											
Maïs	←————→										←————→	

### 3.2. Procédure d'échantillonnage du lait

Dans le but d'homogénéiser l'effectif à étudier, nous avons sélectionné les vaches par numéro de lactation, avec une période de vêlage s'échelonnant du 1<sup>er</sup> août au 31 octobre de la même année (2014). Le statut sanitaire de l'animal devait être sain au cours de l'échantillonnage

avec absence de toute pathologie telle que les infections cliniques de la glande mammaire susceptibles de modifier la composition du lait étudié.

L'effectif bovin impliqué dans cette étude est constitué de races importées de Bovins Laitiers Modernes (BLM) ayant pour origine l'Europe principalement, et réputés pour leur haut niveau de production laitière comme la Holstein et la Montbéliarde.

Au cours de l'étude, l'effet du stade de lactation a été évalué indépendamment des autres facteurs d'élevage.

Pour chaque période de lactation, les prélèvements de lait ont été réalisés au niveau des trois exploitations laitières, durant la traite du matin à raison d'un échantillon par animal et par mois. La période de suivi s'échelonnant jusqu'au 10<sup>ème</sup> mois de lactation.

Lors de cette étude, trois périodes de lactation ont été prises en considération :

- Période de début de lactation, correspondant aux trois premiers mois (1<sup>er</sup> au 3<sup>ème</sup>);
- Période du milieu de lactation, correspondant du 4<sup>ème</sup> au 6<sup>ème</sup> mois;
- Période de fin de lactation, du 7<sup>ème</sup> au 10<sup>ème</sup> mois.

Après lavage et nettoyage des trayons, une quantité de lait individuel a été recueillie dans des flacons stériles, étiquetés avec les informations relatives à la date du prélèvement, le numéro d'identification de la vache et le code de l'exploitation.

Les échantillons sont conservés au froid à  $\pm 4^{\circ}\text{C}$ , pour être analysés le jour même, tandis qu'une autre quantité a été conservée à  $-20^{\circ}\text{C}$  pour les besoins d'analyse des acides gras de la matière grasse du lait. Ces analyses ont concerné un total de 267 échantillons prélevés chaque mois afin de déterminer le pH, l'acidité titrable, la densité, l'extrait sec total et dégraissé, ainsi que le taux protéique (TP) et butyreux (TB); soit environ 30 échantillons à analyser par jour. En outre, parmi les échantillons analysés précédemment, une fois par mois pour chacune des fermes d'élevages sous étude, dix (10) échantillons ont été choisis pour évaluer le profil en acides gras de la matière grasse du lait, sur la base d'une parité entre les races, afin de représenter l'effectif total (267 têtes) des vaches laitières.

### **3.3. Analyses physico-chimiques du lait de chaque ferme**

Les analyses physico-chimiques suivantes ont été réalisées en triplicata sur chaque échantillon de lait (cf. Annexe 2) :

### 3.3.1. pH initial

Le pH initial du lait entier a été déterminé à 20°C dès son arrivée au laboratoire, à l'aide d'un pH-mètre.

### 3.3.2. Acidité titrable

L'acidité titrable du lait a été déterminée par titrage à l'hydroxyde de sodium en présence de phénolphthaléine comme indicateur coloré conformément à la norme NF V 04-206 (AFNOR, 1969).

### 3.3.3. Densité

La densité a été déterminée à l'aide d'un aréomètre à masse volumique pour le lait selon la norme NF V 04-204 (AFNOR, 2004).

### 3.3.4. Extrait sec total et dégraissé

L'extrait sec total (EST) a été déterminé à l'aide d'un dessiccateur à infrarouge. L'extrait sec dégraissé (ESD) représente la différence entre l'EST de l'échantillon et son taux butyreux (TB) :

$$\text{ESD} = \text{EST} - \text{TB}.$$

### 3.3.5. Taux protéique

Le taux protéique a été obtenu après mesure de la teneur en azote total (NT) par la méthode de Kjeldahl (ISO 8968-1, IDF 020-1 : 2014).

### 3.3.6. Taux butyreux et d'acides gras

La teneur du lait en matières grasses (TB) a été déterminée par la méthode acido-butyrométrique de Gerber (NF 04-210, 2000). Les résultats sont exprimés en grammes de matière grasse par litre de lait.

Pour convertir les taux de matière grasse en AG, il faut appliquer un facteur de conversion (0,945) dérivé de la proportion des AG contenus dans les matières grasses du lait et des produits laitiers (Paul et Southgate, 1978).

### 3.3.7. Etude du profil en acides gras de la matière grasse du lait

La détermination du TB fournit des informations globales qui restent insuffisantes pour rendre compte de l'origine des AG présents, de leur nature et de leur quantité. L'analyse qualitative et quantitative des AG permet une caractérisation de l'identité de la MG.

#### 3.3.7.1. Préparation des esters méthyliques

Les AG de la MG du lait extraite par la méthode de Röse Gottlieb (ISO 1211 : 2010, IDF 1 : 2010), ont été analysés sous forme d'esters méthyliques pour éviter les inconvénients liés à l'excessive polarité de la fonction acide de ces AG.

Les esters méthyliques ont été obtenus à partir des triglycérides selon la méthode décrite par la norme ISO (ISO 12966-2 : 2011), en utilisant l'isooctane pour chromatographie (2 mL) et une solution méthanolique d'hydroxyde de potassium (0,1 mL) pour une prise d'essai de 0,1 g de MG.

#### 3.3.7.2. Analyse des esters méthyliques par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

Le profil en AG de la MG du lait a été établi par l'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) des esters méthyliques, ainsi obtenus.

- **Equipement** : Chromatographe en phase gazeuse (Agilent GC., modèle 6890) équipé d'un Spectromètre de masse (Agilent GC-MS., modèle 5973), comme présenté dans les figures 7 et 8 ;
- **Gaz Vecteur** : Hélium ;
- **Débit** : 0,5 mL/min ;
- **Température de l'injecteur** : 250°C ;
- **Volume d'échantillon injecté** : 1 µL en mode split (1:20) ;
- **Colonne** : Capillaire en polyéthylène glycol (PEG), HP-Wax (60m, 0,25 mm de diamètre interne (d.i.), épaisseur de film 0,25 µm (USA)) ;
- **Température de la colonne** : La température initiale du four est de 40°C (en isotherme pendant 4 min.), suivie d'une montée de température à raison de 10°C/min. jusqu'à 140°C. Elle est maintenue à cette température durant 1 min. et pour finir, un gradient de température de 2°C/min. est appliqué jusqu'à 240°C avec une isotherme de 2 min. Le temps total de l'analyse est de 67 min. ;

- **Température du détecteur :** Température de la source d'ionisation : 230°C  
Température de l'analyseur quadripôle : 150°C.
- **Energie de collision :** 70 eV ;
- **Série étalon :** Mélange standard de 37 Esters Méthyliques d'Acides Gras (EMAG) du commerce (Supelco, Inc., Bellefonte, PA, USA; Référence N° 47885-U) ;
- **Logiciel :** utilisé pour identifier les pics chromatographiques (logiciel de traitement des données MSD ChemStation, NIST'02 (US National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA). Le logiciel ChemStation requiert le système d'exploitation Microsoft Windows XP Professionnel SP3 ou Windows Vista Professionnel SP1. La fonction « tableur » du logiciel ChemStation requiert MicroSoft Excel.



**Figure 7 :** Chromatographe en phase gazeuse (Agilent GC., modèle 6890) couplé au spectromètre de masse (Agilent GC-MS., modèle 5973)



**Figure 8 :** Echantillons d'acides gras en phase d'analyse GC-MS par autosampler

La GC-MS est une méthode d'analyse immédiate qualitative et semi quantitative. Les solutés sont caractérisés par leurs temps d'émergence ou temps de rétention ( $T_R$ ).

Lorsqu'un signal est intégré, le logiciel :

- identifie les temps de début et de fin d'élution de chaque pic ;
- détecte le sommet de chaque pic ;
- construit une ligne de base, et calcule l'aire, la hauteur et la largeur de chaque pic.

Une fois que les pics ont été intégrés et identifiés, l'étape suivante de l'analyse est la «quantification». Cette dernière utilise la surface du pic d'un composé dans un échantillon pour déterminer sa concentration en pourcentage.

### **3.4. Analyse statistique**

Les résultats d'analyses des caractéristiques physico-chimiques du lait en fonction du stade de lactation ont été considérés comme étant significatifs au seuil  $p < 0,05$ . Le traitement statistique des résultats a été effectué à l'aide du logiciel Statistica 12 (2013).

#### **3.4.1. Analyse de la variance**

Les données ont été traitées par analyse de la variance (ANOVA à 1 facteur). Ce test s'applique lorsque l'on mesure une variable explicative catégorielle (facteur de variabilité) qui a de l'influence sur la distribution d'une variable continue à expliquer (Pavlinov, 2000).

Lorsque les résultats de l'ANOVA sont significatifs ( $p < 0,05$ ), le test Duncan est appliqué pour comparer les moyennes deux à deux. Pour cette comparaison, seulement un seuil de signification de 5% a été retenu.

## **Etude 2 : Analyses physico-chimiques et détection de résidus d'antibiotiques sur des laits livrés à l'industrie laitière de la région centre du proche Algérois.**

### **1. Introduction**

Les antibiotiques sont largement utilisés comme médicaments pour traiter d'innombrables infections bactériennes à la fois chez les êtres humains et les animaux. La pratique de l'administration de ces composés synthétiques chez les bovins, est prophylactique pour prévenir les maladies ou thérapeutiques principalement pour lutter contre les infections de la glande mammaire, du tractus digestif ou respiratoire des mammifères. Ces molécules antibiotiques, suite à leur excrétion dans le lait, et à leur consommation, exposeraient l'Homme à des risques pour sa santé, tels que la survenue de résistances bactériennes et des effets secondaires allergiques (Martins-Júnior, 2007), mais également peuvent être à l'origine de l'inhibition totale ou partielle de phénomènes fermentaires d'origine bactérienne sources d'importantes pertes financières pour les établissements laitiers (Ben-Mahdi et Ouslimani, 2009).

Ce travail a eu pour objectif d'évaluer les qualités physico-chimique et sanitaire du lait livré à des unités de transformation en produits dérivés, situées dans la région centre du pays. Cette étude s'inscrit dans la continuité du précédent volet, qui a permis de déterminer la qualité nutritionnelle du lait issu de trois fermes d'élevage de bovins, et a porté sur la recherche de résidus d'antibiotiques dans le lait distribué par un important réseau de collecteurs et destiné à la transformation pour chacune des régions ciblées, limitrophes de l'Algérois. Un échantillon de chaque lait réceptionné en unité de transformation a également fait l'objet d'analyses physico-chimiques.

Trois structures industrielles laitières et de transformation du lait en produits dérivés ont été retenues, dont deux étatiques, réparties respectivement dans les wilayas d'Alger et de Boumerdes, la dernière privée, étant située dans la wilaya de Blida.

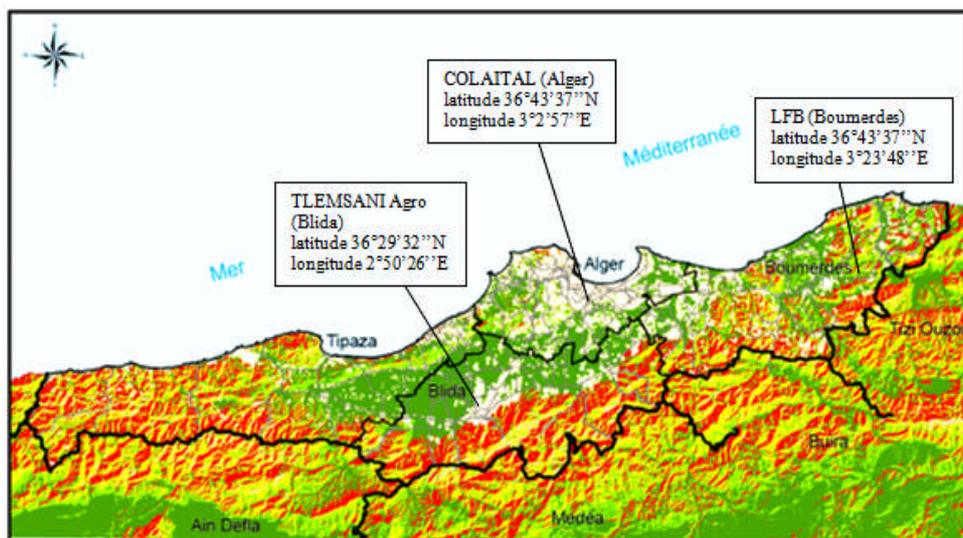
Les unités ont été retenues sur la base d'un certain nombre de critères de sélection. Le premier est l'importance des volumes de lait réceptionnés *in situ* quotidiennement. L'autre critère concerne le devenir du lait, ce dernier est soit commercialisé en sachet après avoir subi au préalable une pasteurisation obligatoire, soit transformé en produits dérivés au niveau de chacune des unités. L'existence d'un important réseau de collecte constitué de camions

citernes isothermiques desservant régulièrement chacune des unités, est un autre critère ayant contribué à conforter le choix final.

## 2. Présentation des unités objet de l'étude

L'étude s'est déroulée au niveau de trois (3) industries de collecte, de production et de transformation laitière, toutes situées dans la région centre du pays (Figure 9). Il s'agit de :

- Laiterie-Fromagerie de Boudouaou, wilaya de Boumerdes ;
- Laiterie Colaital de Birkhadem, wilaya d'Alger ;
- Fromagerie Tlemsani Agro (ex-Trèfle) wilaya de Blida.



**Figure 9** : Répartition géographique des trois industries de production et de transformation laitière sélectionnées pour l'étude dans les régions de Boumerdes, Alger, Blida (<http://journals.openedition.org/mediterranee/7267>).

### 2.1. Laiterie-Fromagerie de Boudouaou (wilaya de Boumerdes)

#### 2.1.1. Description de l'unité

La Laiterie-Fromagerie de Boudouaou (LFB) appartient à GIPLAIT (Groupe Industriel des Productions Laitières). Cette unité industrielle étatique est une entreprise dotée d'un capital de 550.740.000 DA. La production a commencé en 1978, sous l'ancienne appellation ONALAIT. Elle s'étend sur une superficie de 7 hectares, située à l'entrée de la ville de Boudouaou, commune faisant partie de la wilaya de Boumerdes, à environ 40 kilomètres à l'est d'Alger. La filiale emploie un effectif estimé à 418 employés au 31 décembre 2016. Elle a comme principale activité la production et la commercialisation des laits de consommation et de produits laitiers. Le chiffre d'affaire annuel, est estimé à 4.359.295.791 DA.

L'unité est composée :

- d'un atelier pour la production de lait pasteurisé ;
- d'un atelier pour la production de fromage fondu pasteurisé (conditionné en barres et en portions) ;
- d'un atelier pour la production de fromage stérilisé ;
- d'un atelier pour la production de fromage de type Edam ;
- d'un atelier pour la production de l'ben ;
- de caves d'affinages et de chambres froides ;
- de locaux de stockage des matières premières (cheddar, poudre de lait,...etc.) ;
- d'une salle de préparation de l'emballage ;
- d'une station de traitement des eaux usées ;
- d'un laboratoire d'analyses physico-chimique et microbiologique ;
- de bâtiments administratifs des services généraux et sociaux.

### 2.1.2. Répartition des régions pour la collecte du lait

La LFB reçoit principalement son lait de fermes situées dans certaines communes de la wilaya d'Alger (Dar el Beïda, Alger, Ain Taya), mais surtout et principalement des communes de la wilaya de Boumerdes (Afir, Ben choud, Boudouaou, Boumerdes, Corso, Dellys, Hamadi, Khemis el Khechna, Legata, Ouled Heddadj, Ouled Hellal, Ouled Moussa, Réghaïa, Rouïba, Thénia, Tijelabine, et Zemmouri).

### 2.1.3. Gamme de produits fabriqués

L'unité assure la production :

- de lait pasteurisé et conditionné en sachet (LPC) ;
- de lait cru entier et partiellement écrémé ;
- du petit lait « l'ben » pasteurisé ;
- de fromage fondu et pasteurisé (Boîtes de 8, 16 et 24 portions et barres de 450 et 900g) ;
- de fromage fondu et stérilisé de 100 et 200g destiné à l'Armée Nationale Populaire (ANP) et aux collectivités ;
- de fromage à pâte pressée et non cuite de type Edam (boule de 500 g) ;
- de poudre de lait instantané (sachet 19 g destiné à l'ANP) ;
- de crème fraîche en pots de 180 mL.

#### **2.1.4. Capacité de production du complexe laitier (estimée en 2016)**

- Pour le lait de consommation

Lait pasteurisé et conditionné en sachet : 587 000 L/J.

Lait cru : 12 000 L/J.

Petit lait « l'ben » pasteurisé : 13 000 L/J.

- Pour les produits laitiers

Fromage fondu et pasteurisé en barres : 2 T/J.

Fromage fondu et pasteurisé en portions : 3,8 T/J.

Fromage fondu et stérilisé : 5,5 T/J

Fromage à pâte pressée type Edam : 7 T/J.

### **2.2. Laiterie COLAITAL de Birkhadem (wilaya d'Alger)**

#### **2.2.1. Description de l'unité**

Située dans la commune de Birkhadem, COLAITAL constitue sans nul doute un important complexe laitier pour cette localité. Cette unité de production publique s'étend sur une superficie de 5 hectares, dont la moitié est occupée par des ateliers destinés à la collecte et à la production de lait et de ses dérivés à savoir des ateliers pour la recombinaison du lait, de sa pasteurisation, de son conditionnement et de sa distribution. Le reste du site est réservé aux bâtiments administratifs et aux hangars. Le 04 Janvier 1998, ORLAC devient COLAITAL-SPA, intégrée toutefois au groupe GIPLAIT. La filiale emploie un effectif estimé à 987 employés au 31 décembre 2016. Sa capacité de production évaluée à 250 000 L/J est destinée essentiellement à couvrir les besoins des consommateurs de la capitale en matière de lait et dérivés. Quant au chiffre d'affaire annuel, il est estimé à 3.661.800.384 DA.

Une rotation de 2 à 3 fois 8 heures est assurée pour la fabrication du lait en sachets et des autres produits.

#### **2.2.2. Répartition des régions pour la collecte du lait**

L'unité de Birkhadem reçoit son lait principalement de fermes situées dans les communes d'Alger-ouest (Birkhadem, Birtouta, Chéraga, Ouled Chebel, Soudania, Zeralda) et d'Alger-est (Ain Taya, Dar El Beïda, H'raoua, Réghaïa, Rouïba).

#### **2.2.3. Gamme de produits fabriqués**

L'unité de Birkhadem assure la production et la fabrication de plusieurs gammes de produits laitiers :

- lait pasteurisé et conditionné en sachets (LPC) ;
- lait cru entier et partiellement écrémé ;
- lait UHT (Ultra Haute Température) ;
- petit lait « l'ben » pasteurisé ;
- beurre (conditionné en paquets de 250 g et en mono doses) ;
- crème fraîche en pot.

#### **2.2.4. Capacité de production de l'unité (estimée en 2016)**

- Lait pasteurisé et conditionné en sachets : 167 355 000 L/an ;
- Lait fermenté en sachets : 4 106 000 L/an ;
- Crème fraîche : 13 572 000 litres équivalents/an ;
- Beurre : 8 197 000 litres équivalents/an.

### **2.3. Fromagerie TLEMSANI AGRO (BLIDA)**

#### **2.3.1. Description de l'unité**

TREFLE Spa, créée en 2001, est une unité industrielle spécialisée dans les productions laitière et fromagère. L'unité s'étend sur une superficie de 4 hectares. Cette importante entreprise privée de production pour la région est située dans la zone industrielle de la commune de Ben Boulaid, wilaya de Blida. Depuis le 07 Mars 2013, l'unité est dirigée par TLEMSANI Mahmoud, et a été baptisée TLEMSANI Agro. Néanmoins, elle continue de commercialiser pour quelque temps encore son produit, le camembert sous le label « Trèfle ». L'entreprise est dotée d'un capital social de 675.000.000 DA, tandis que son chiffre d'affaire est estimé à 97.346.281 DA.

L'unité est composée :

- d'un atelier pour la collecte du lait ;
- d'un atelier pour la fabrication du fromage ;
- d'un laboratoire d'analyses physico-chimiques ;
- d'un hâloir et de caves d'affinage ;
- d'une chambre froide ;
- de locaux de stockage des matières premières ;
- de bâtiments administratifs ;
- de bâtiments pour la gestion des services généraux et sociaux.

### 2.3.2. Répartition des régions pour la collecte du lait

L'unité de transformation de Blida reçoit son lait principalement de fermes situées dans les communes des wilayas de Blida (Birtouta, Blida, Boufarik) et de Tipaza (Ahmeur El Ain, Attatba, Berbessa, Bourkika, Koléa, Sidi-Rached).

### 2.3.3. Gamme de produits fabriqués

Elle produit uniquement du fromage à pâte molle à croûte fleurie de type Camembert nommé « La belle des champs ». Le produit est commercialisé dans de nombreux étals de la région centre du pays, notamment à Blida, Alger, Tipaza, Boumerdes....etc.

### 2.3.4. Capacité de production (estimée en 2016)

L'unité reçoit jusqu'à 9000L de lait par jour, destiné à produire du camembert (conditionnement en boîtes de 250 et 500 g). La capacité de production annuelle est estimée à 416 tonnes/an.

## 3. Conditions expérimentales

Un échantillonnage hebdomadaire a été réalisé sur une période de trois mois durant l'année 2016 au niveau de chacune des unités étudiées. Celui-ci a concerné le lait de mélange acheminé par un réseau constitué de camions citernes de collecteurs.

Ce lait constitue un mélange pour l'ensemble de la collecte au cours de la tournée journalière réalisée lors de la visite de chaque ferme d'exploitation.

Sitôt livré, un prélèvement de chaque lait acheminé par le collecteur à la laiterie a été réalisé afin de l'analyser *in situ* le jour même, pour d'une part évaluer sa qualité physico-chimique, et d'autre part pour, vérifier sa qualité sanitaire en recherchant une éventuelle présence de résidus d'antibiotiques à usage vétérinaire.

Tandis qu'une autre fraction a été conservée dans des flacons stériles avec un étiquetage réalisé sur ces derniers comportant le nom du collecteur et la date de l'échantillonnage pour être ensuite stockés à -20°C pour d'autres investigations.

La répartition du nombre de fermes régulièrement suivies au cours de l'étude est représentée dans le tableau 19.

**Tableau 19 :** Nombre d'échantillons, de collecteurs et de fermes affiliées prélevés dans le cadre de l'étude.

Wilaya	Nombre d'échantillons réalisés au cours de l'étude	Nombre de collecteurs	Nombre de fermes affiliées
Alger	126	15	186
Blida	51	6	38
Boumerdes	97	9	77
Total	274	30	301

#### 4. Analyses du lait de collecte

Les échantillons collectés ont été soumis aux analyses physico-chimiques décrites dans l'étude 1 en sus de la recherche de résidus antibiotiques. Celle-ci a concerné un total de 274 échantillons examinés au cours de cette étude.

##### 4.1. Analyses physico-chimiques du lait de collecte (cf. étude 1)

##### 4.2. Recherche de résidus d'antibiotiques dans le lait

En premier lieu un screening des échantillons par BetaStar<sup>®</sup> Combo a été réalisé en vue de détecter une éventuelle présence de résidus d'antibiotiques. Les échantillons positifs ont été ensuite analysés par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) en vue de la confirmation de leur positivité.

##### 4.2.1. Détection des résidus d'antibiotiques par le test BetaStar<sup>®</sup> Combo

L'ensemble des échantillons réceptionnés, a été analysé par une méthode de détection dite « rapide », utilisant le test BetaStar<sup>®</sup> Combo (Neogen Corporation, Lansing, MI, USA), basé sur l'emploi d'une méthode immuno-chromatographique de type "Récepteur Assay" pour la détection de résidus d'antibiotiques appartenant aux familles des  $\beta$ -lactames et des tétracyclines à des teneurs parfois inférieures aux Limites Maximales des Résidus (LMRs) telles que définies par la Commission de Régulation Européenne (EU) N°37/2010 (Tableau 20).

**Tableau 20** : Limites de détection des molécules antibiotiques par le BetaStar® Combo.

Groupe	Substance	LMR ( $\mu\text{g/Kg}$ )	Limite de détection ( $\mu\text{g/Kg}$ )
<b>Pénicillines</b>	Benzylpénicilline	4	4
	Ampicilline	4	4
	Amoxicilline	4	4
	Oxacilline	30	5
	Cloxacilline	30	5
	Dicloxacilline	30	6
	Nafcilline	30	12
<b>Céphalosporines</b>	Ceftiofur	100	90
	Desfuroylceftiofur	100	1000
	Cefquinome	20	8
	Céfazoline	50	40
	Céphapirine	60	9
	Désacétylcéphapirin	60	3
	Céfacétrile	125	40
	Cefopérazone	50	8
	Céfaléxine	100	700
	Céfalonium	20	5
<b>Tétracyclines</b>	Tétracycline	100	100
	Oxytétracycline	100	100
	Chlortétracycline	100	35
	Doxycycline	–	14

(Reybroeck et Ooghe, 2012)

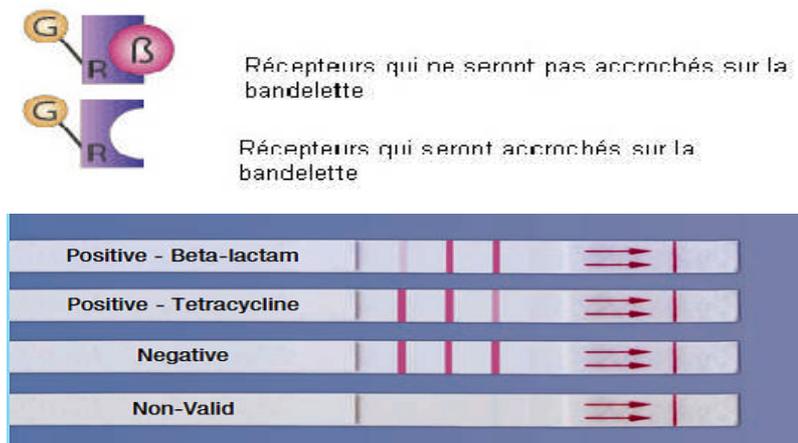
#### 4.2.1.1. Principe de l'analyse

Le test (Hansen, 2009) est basé sur l'emploi d'un récepteur spécifique lié à des particules d'or. Au cours de la première étape d'incubation, les antibiotiques  $\beta$ -lactames et tétracyclines, s'ils sont présents dans l'échantillon de lait, se lient à ce récepteur.

Pendant la deuxième étape d'incubation, le lait migre sur un support immunochromatographique qui présente trois bandes de capture (Figure 10) :

- une bande retient tous les récepteurs qui ne se sont pas liés avec les antibiotiques  $\beta$ -lactames. Par contre, si les antibiotiques de type  $\beta$ -lactames sont présents dans l'échantillon de lait inconnu, objet de l'analyse, ils se lient donc au récepteur au cours

- de la première étape, ainsi la bande n'apparaîtra pas pendant la deuxième étape d'incubation ;
- une bande retient tous les récepteurs qui ne se sont pas liés avec les antibiotiques tétracyclines. Par contre, si les antibiotiques de type tétracyclines sont présents dans l'échantillon de lait inconnu à analyser, ils se lient donc au récepteur au cours de la première étape, ainsi la bande n'apparaîtra pas pendant la deuxième étape d'incubation ;
  - une troisième bande sert de référence.



**Figure 10 :** Principe de la méthode pour la recherche de résidus d'antibiotiques utilisant le testBetaStar<sup>®</sup> Combo (Gaudin, 2005 ; [http://www.haes.co.id/supports/pdf\\_2012/Neogen\\_Drug\\_Residue\\_Kits.pdf](http://www.haes.co.id/supports/pdf_2012/Neogen_Drug_Residue_Kits.pdf)).

#### 4.2.1.2. Mode opératoire et interprétation

Les instructions fournies par le fabricant (Neogen Corporation, Lansing, MI, USA) ont été rigoureusement suivies (cf. Annexe 2).

#### 4.2.2. Identification des résidus d'antibiotiques par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse

##### 4.2.2.1. Matériels & Méthodes

###### ▪ Etalons

Les molécules à usage vétérinaire utilisées sont de haute pureté (>90%). Ainsi, l'amoxicilline, l'ampicilline trihydrate, le céfaclor, et le céfadroxil ont été acquis auprès de Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany). Le sel monohydrate d'oxacilline sodée, le sel monohydrate de cloxacilline sodée, le sel de pénicilline V potassique, le

sel d'hydrate de dicloxacilline sodée, le sel de céfazoline sodée, la céfalexine, le sulfate de cefquinome, le céfalonium hydrate et le ceftiofur ont été acquis auprès de Fluka (Buchs, Switzerland); la céfapirine sodée a été acquise auprès de Santa Cruz Biotech (Heidelberg, Germany); le sel de pénicilline G sodée, le sel de cefopérazone sodée ont été acquis auprès de Alfa Aesar (Karlsruhe, Germany).

▪ **Solvants et consommables**

- L'acétonitrile (grade HPLC) et le méthanol (grade HPLC et LC-MS) sont de provenance Merck (Darmstadt, Germany).
- L'acide formique (grade LC-M) est de provenance Fischer Chemical.
- Un filtre à membrane en cellulose régénérée (CR) d'un diamètre de 15 mm et de 0,22  $\mu\text{m}$  de diamètre de pores ont été acquis auprès de Phenomenex (Torrance, CA, USA).

▪ **LC-MS/MS**

- Nous avons utilisé le couplage LC-MS/MS dans le mode d'ionisation ESI positive. Le couplage d'un chromatographe en phase liquide avec le spectromètre de masse doit assurer la vaporisation du soluté et de l'éluant dont le débit doit être limité à des gammes de pression compatibles via un tube capillaire.

Le couplage de séparation (spectrométrie de masse) en phase liquide utilise comme source d'ion, l'ionisation électro-spray ou électro-nébulisation (ESI, *Electrospray Ionization*).

Cette source d'ions, fait partie d'un mode dénommé « ionisation-nébulisation » basée sur la formation d'un nébulisat contenant des ions solvatés à la sortie d'un tube capillaire. Il en résulte la formation d'un brouillard de gouttelettes ou à la formation d'ions. Le soluté à analyser pénètre dans la source via un capillaire métallique sous un débit de 100  $\mu\text{L}/\text{min}$ . Un champ électrique de 4 000 volts est établi entre le capillaire et une électrode annulaire. Ce champ électrique intense charge les gouttelettes de liquide qui se forment à la sortie du capillaire. Le solvant contenu dans les gouttelettes est évaporé par collisions avec un gaz inerte (l'azote). Au fur et à mesure de cette évaporation, la taille des gouttelettes diminue, augmentant ainsi la répulsion électrostatique entre charges de même signe. Lorsque cette répulsion électrostatique devient supérieure aux forces de

tension superficielle, la gouttelette se scinde en gouttelettes de plus petites tailles et le processus peut se reproduire jusqu'à conduire à des ions totalement désolvatés, éventuellement multiplement chargés. Un rideau de gaz inerte circule devant le capillaire d'extraction afin de faciliter l'élimination des molécules du solvant (Ardrey, 2003; Arpino, 2007).

Une partie de ces ions est extraite à travers un système de diaphragmes et introduite par l'intermédiaire d'un système de lentilles électrostatiques dans l'analyseur du spectromètre de masse.

Des pompes quadripolaires, sont nécessaires pour obtenir un vide suffisant dans les zones d'accélération et d'analyse des ions. l'ionisation par électro-spray conduit à des ions de type  $(M + nH)^{n+}$  ou  $(M - nH)^{n-}$ . « n » étant le nombre de charges (Crotti *et al.*, 2013).

- Le chromatographe liquide couplé à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) de marque Thermo Fisher Scientific (San Jose, CA, USA) est constitué d'un système Accela UHPLC Thermo connecté à l'instrument triple quadropole Access Quantum Thermo Scientific TSQ avec autosampler (Figure 11).

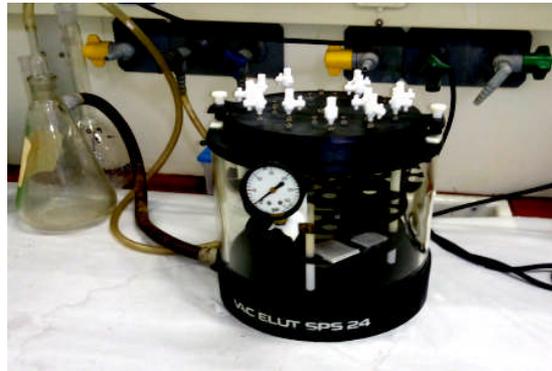


**Figure 11** : Instrument LC-MS/MS avec ses compartiments

- La colonne chromatographique de type Atlantis T3 C18 (100mm X 2.1mm, 3 $\mu$ m, Waters) est protégée par une pré-colonne.
- **Système d'extraction en phase solide (SPE)**
  - Ce dispositif a été acquis auprès de Supelco (Bellafonte, USA). Il est constitué d'une chambre en verre ainsi que d'une vanne de commande et détendeur de

pression installée, de robinets d'arrêt, de pointes d'aiguilles, de bouchons Luer et d'un couvercle permettant de disposer simultanément jusqu'à 24 cartouches SPE. Un support à 24 positions peut également être placé dans l'enceinte (Figure 12).

- Une série de cartouches SPE Strata-X de provenance Phenomenex (Torrance, CA, USA).



**Figure 12** : Instrument d'Extraction en Phase Solide.

#### ▪ Equipements divers de laboratoire

- Centrifugeuse à 4000 rpm/min. Rotofix 32 A Benchtop centrifuge (Hettich GmbH & Co, Merck, Canada).
- Bain à ultrason avec contrôle du temps et de la température (Selecta, Barcelone, Espagne).
- Unité de production d'eau ultra pure : Millipore Direct-Q UV (Merck, USA).
- Vortex.
- Agitateur horizontal.
- pH mètre: HACH HQ 30d.
- Balance de précision : Shimadzu AUW320.
- Evaporateur rotatif.

#### ▪ Procédure d'extraction des résidus d'antibiotiques à partir des échantillons de lait

Elle a été réalisée de la manière suivante :

- Préparation d'une manière indépendante de substances standards et de solutions mères, pour chacune des molécules antibiotiques, par pesée des substances actives,

de manière à obtenir une concentration de 1mg/mL. Chaque solution est conservée sous condition réfrigérée (+4°C) pour une durée ne dépassant pas un mois.

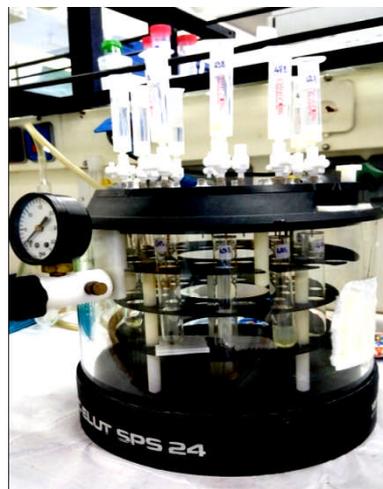
- Préparation d'une mixture de solution standard de travail en utilisant l'eau ultra pure comme solvant de dilution de manière à obtenir une concentration de 1µg/mL. La mixture est conservée sous condition réfrigérée (+4°C) pour une durée ne dépassant pas une semaine.
- Préparation de solutions pour la préparation de l'échantillon et la procédure d'extraction en phase solide (SPE) :
  - PBS (Phosphate Buffer Solution) solution tampon de monohydrogénophosphate de potassium, par pesée de 2,1760 g de  $K_2HPO_4$  dans 250 mL d'eau ultra pure.
  - Préparer une mixture de solution à 5 mM de formiate d'ammonium dans le méthanol (grade LC/MS), dans le rapport 95: 5 (v/v).
- Préparation des phases mobiles adaptées aux conditions chromatographiques.
  - Phase mobile (A) : Méthanol : acide formique à 0,1% (95:5).
  - Phase mobile (B) : Eau : acide formique à 0,1%.
- Le programme des gradients d'élution utilisé est détaillé dans le tableau 21.

**Tableau 21** : Programme du gradient d'élution et paramètres du mode d'ionisation ESI+ (électro-spray ionisation positive) pour les composés analysés.

Electrospray ionisation positive				
Programmation du gradient			Paramètres ESI	
Temps (min.)	% A	% B		
0	98	2	Tension du capillaire	4000 V
3	98	2	Température du capillaire de transfert	270°C
20	0	100	Pression du gaz de nébulisation	30 psi
30	0	100	Pression du gaz de désolvatation	10 a.u.

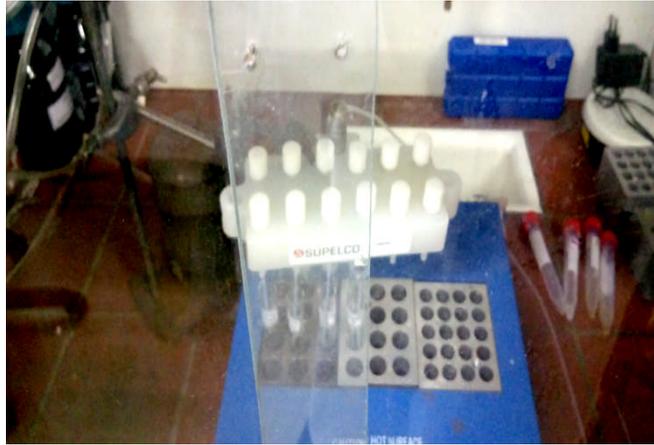
- Débit : 100 µL/min.

- Préparation d'un essai blanc et d'échantillons fortifiés de contrôle pour chaque série d'analyses, par ajout de 50  $\mu\text{L}$  et 150  $\mu\text{L}$  de la mixture de la solution standard de travail.
- La préparation de l'échantillon se déroule de la manière suivante :
  - l'échantillon de lait (environ 1g) subit d'abord l'étape de déprotéinisation par utilisation de la solution tampon de PBS. Passer au vortex.
  - on procède alors à l'élimination de la matière grasse (MG) du lait par ajout d'acétonitrile. Passer au vortex et aux ultrasons.
  - à ce niveau de la procédure, il est impératif de nettoyer l'échantillon afin d'éliminer les interférences et les artéfacts en utilisant les cartouches SPE Strata– X. L'étape d'extraction SPE est décrite comme suit :
    - activation/équilibre des cartouches (colonne) ;
    - chargement de l'échantillon sur la cartouche ;
    - étape de lavage pour éliminer les interférences ;
    - étape de séchage ;
    - étape d'élution des composés sous intérêt (Figure 13).



**Figure 13** : Etape d'élution des composés sous intérêt par SPE.

- Evaporation des échantillons en utilisant un système sous reflux avec incubateur à sec (Figure 14).



**Figure 14 :** Evaporation à sec des échantillons.

- Etape de reconstitution de l'échantillon par une solution à 5 mM de formiate d'ammonium dans le méthanol (95: 5).
- Après filtration, un volume de 10  $\mu$ L est injecté dans l'instrument LC-MS/MS (Figure 11) dans le but de rechercher et d'identifier les molécules d'antibiotiques à usage vétérinaire.
- Les paramètres utilisés sont fixés dans le mode Electro-spray Ionisation positive (ESI+).
- La réaction « Selected reaction monitoring » (SRM) est utilisée pour l'identification des molécules antibiotiques, deux transitions ayant été sélectionnées pour cette identification.
- Traitement des données et des résultats par le logiciel Xcalibur software (Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA, USA).

## **B. RÉSULTATS ET DISCUSSION**

## **Etude 1 : Etude de l'effet du stade de lactation sur la qualité nutritionnelle du lait de vache (notamment sa fraction lipidique) dans trois fermes situées dans la région du proche Algérois.**

Plusieurs facteurs influenceraient la reproduction des élevages bovins laitiers (Belhadia *et al.*, 2013; Miroud *et al.*, 2014) et la composition physico-chimique du lait dont particulièrement sa fraction en acides gras. En effet, la ration alimentaire proposée aux vaches laitières serait le principal facteur de variation de cette composition (Palmquist *et al.*, 1993).

Cependant, d'autres facteurs échappant au contrôle de l'éleveur pourraient également jouer un rôle considérable. Des études ont évoqué la saison, le numéro de lactation, l'état sanitaire de l'animal ainsi que le stade de lactation (Månsson, 2008; Heck *et al.*, 2009). Dans la littérature la durée de référence des lactations dans les systèmes d'exploitations modernes s'étalerait sur 305 jours, soit 10 mois de lactation (Togashi et Lin, 2003). En Algérie, des études ont relevé des cas de dépassements de la durée de la période de lactation, dûs le plus souvent à une mauvaise fertilité des animaux, ou à de mauvaises conditions d'élevage (Miroud *et al.*, 2014).

Nous pouvons citer parmi ces causes :

- une alimentation habituellement carencée ;
- une insémination tardive ;
- un allongement des intervalles entre les vêlages ou entre le vêlage et la prochaine insémination ;
- un allongement anormal de la durée de tarissement de l'animal ;
- des maladies à l'instar des mammites ;
- la mort accidentelle de l'animal.

L'ensemble de ces facteurs aura pour conséquence de conduire à une faiblesse de la production laitière et à l'accroissement de la taille de l'effectif.

La présente étude s'est attachée à déterminer l'éventuel effet du stade de lactation sur l'évolution de la qualité physico-chimique du lait et par conséquent sur sa qualité nutritionnelle dans les conditions d'élevages réelles opérées par les éleveurs dans trois fermes de la région centre de l'Algérois et ce jusqu'au 10<sup>e</sup> mois de lactation. La fraction lipidique du lait a été analysée y compris sa teneur en MG et en AG, afin de connaître la répartition de ces derniers et son impact potentiel sur la santé du consommateur.

## 1. Résultats des principales caractéristiques physico-chimiques du lait

Les paramètres sélectionnés, au cours de cette étude, sont parmi ceux qui reflètent le mieux la qualité du lait, à savoir : le pH, l'acidité titrable, la densité, l'extrait sec total (EST) et l'extrait sec dégraissé (ESD), les taux butyreux (TB) et protéiques (TP), ainsi que le taux d'acides gras (AG). La composition en AG de la matière grasse (MG) du lait a également été déterminée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) afin d'évaluer la répartition de ces derniers au cours des différents stades de lactation retenus. Les résultats, (moyenne  $\pm$  écart-type) pour l'ensemble des animaux échantillonnés, sont présentés dans le tableau 22.

**Tableau 22 :** Résultats de l'effet du stade de lactation sur la composition physico-chimique du lait

<i>Paramètres physico-chimiques</i>	<i>Stade de lactation</i>			<i>P</i>
	<i>Début</i>	<i>Milieu</i>	<i>Fin</i>	
<b>pH</b>	6,6 $\pm$ 0,06	6,65 $\pm$ 0,02	6,67 $\pm$ 0,02	NS
<b>Acidité (°D)</b>	17,93 $\pm$ 0,95 <sup>a</sup>	17,26 $\pm$ 0,16 <sup>a,b</sup>	16,69 $\pm$ 0,18 <sup>b</sup>	*
<b>Densité</b>	1030,93 $\pm$ 0,23 <sup>a,b</sup>	1030,27 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	1031,66 $\pm$ 0,75 <sup>a</sup>	*
<b>EST (g/L)</b>	120,73 $\pm$ 2,39 <sup>b</sup>	120,37 $\pm$ 0,58 <sup>b</sup>	126,37 $\pm$ 2,90 <sup>a</sup>	*
<b>ESD (g/L)</b>	84,93 $\pm$ 0,04	84,20 $\pm$ 0,15	85,02 $\pm$ 0,93	NS
<b>TP (g/L)</b>	30,43 $\pm$ 0,87	31,64 $\pm$ 0,34	31,86 $\pm$ 0,70	NS
<b>TB (g/L)</b>	35,8 $\pm$ 2,80 <sup>b</sup>	36,17 $\pm$ 0,66 <sup>b</sup>	41,11 $\pm$ 2,72 <sup>a</sup>	*
<b>AG (g/L)</b>	33,83 $\pm$ 2,64 <sup>b</sup>	34,18 $\pm$ 0,63 <sup>b</sup>	38,85 $\pm$ 2,57 <sup>a</sup>	*

p : Probabilité ; <sup>NS</sup> : p>0,05 ; \* : p<0,05 ; \*\* : p<0,01 ; \*\*\* : p<0,001 ; Les valeurs avec lettres différentes sur la même ligne sont significativement différentes entre elles (p<0,05), test de Duncan. La lettre « a » correspond à la moyenne ajustée la plus élevée. L'absence de lettres sur une même ligne indique l'absence d'une différence significative.

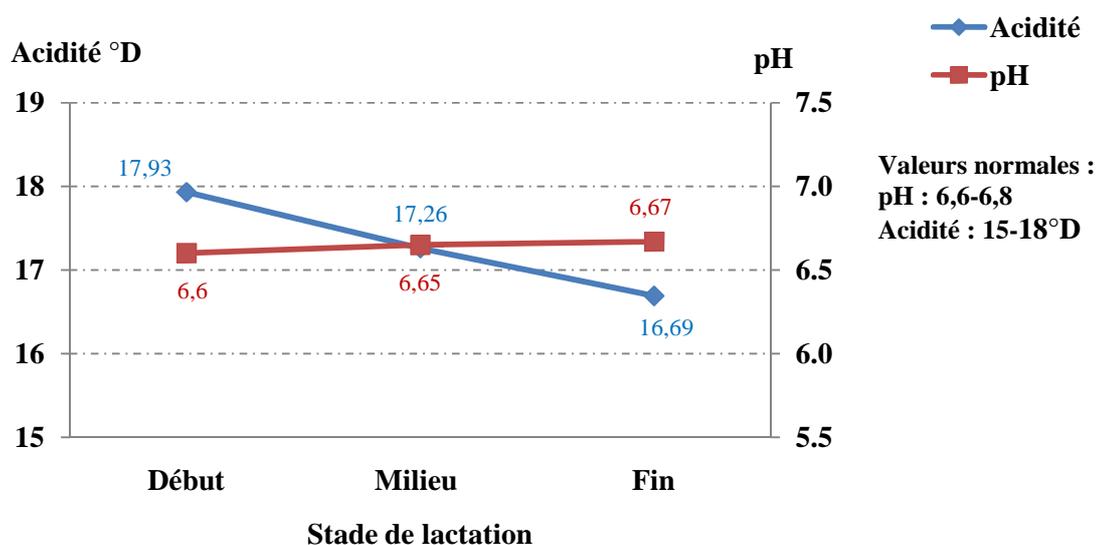
Les résultats de l'analyse de la variance (ANOVA à un facteur) au niveau des 3 exploitations laitières mentionnés dans le tableau 22, ont montré un effet significatif (p<0,05) du stade de lactation sur l'acidité, la densité, l'EST, le TB ainsi que sur la proportion en AG du lait, tandis qu'elle n'a montré aucun effet significatif (p>0,05) sur le pH, l'ESD et le TP.

### 1.1. Acidité titrable et pH

L'acidité titrable a varié significativement (p<0,05) au cours du stade de lactation. Celle-ci a amorcé une décroissance régulière du début à la fin de la période de lactation (Tableau 22 ;

Figure 15). Ainsi, la valeur maximale a été atteinte en début de période de lactation ( $17,93 \pm 0,95$  °D) tandis que la valeur la plus faible a été enregistrée en fin de période ( $16,69 \pm 0,18$  °D). On relève également que l'acidité titrable a été élevée en début et en milieu de lactation comparativement à la fin de lactation avec  $+1,24$  °D, ce qui corrobore les résultats de Coulon *et al.* (1988) avec  $+1,10$  °D. Cet auteur a également noté que le lait de début de lactation est plus acide que celui de fin de période. Rodriguez *et al.* (1985), qui ont étudié sur un groupe de vaches de race Holstein, l'effet du stade de lactation sur la variation des paramètres physico-chimiques du lait, ont signalé une décroissance significative ( $p < 0,05$ ) de l'acidité titrable du début au milieu pour s'élever ensuite légèrement en fin de stade de lactation. Tsioulpas *et al.* (2007) ont pour leur part enregistré une valeur de  $16$  °D au terme du 3<sup>e</sup> mois de lactation.

Par ailleurs, les valeurs du pH au cours de la période de lactation, sont restées relativement stables (Tableau 22, Figure 15), et sont conformes aux normes :  $6,6 - 6,8$  (Vignola, 2002). Tsioulpas *et al.* (2007) ont relevé une valeur de  $6,7$  au 90<sup>e</sup> jour du stade de lactation, très proche de nos résultats ( $6,6$ ) au cours de cette période. Ainsi, nos résultats corroborent ceux de Summer *et al.* (2003) puisqu'ils n'ont relevé aucun effet significatif ( $p > 0,05$ ) du stade de lactation sur la variation de la valeur du pH, cette dernière demeurant stable ( $6,74 \pm 0,06$ ) durant toute la période de lactation. Les valeurs de pH, plus faibles en début qu'en fin de lactation, pourraient être expliquées d'après Ostersen *et al.* (1997) par le fait que la vache se trouve dans une balance énergétique négative durant cette période, avec une production de concentrations élevées de citrate dans le lait.

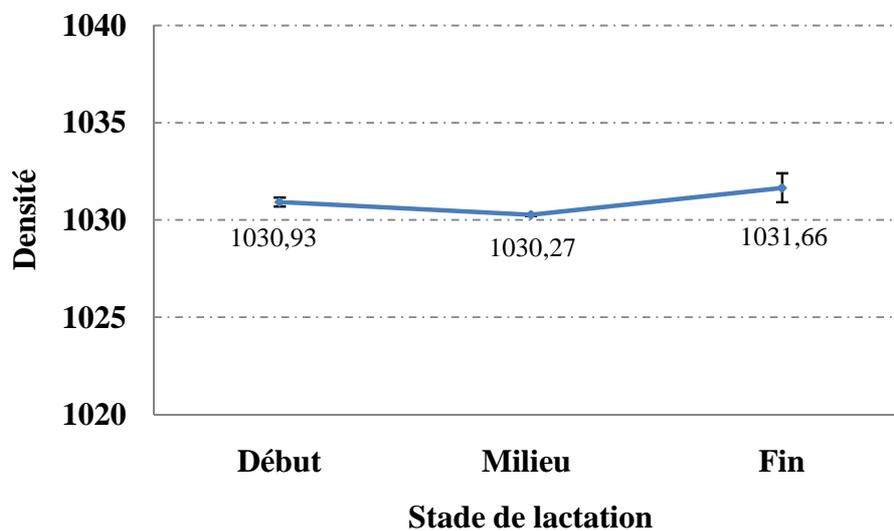


**Figure 15** : Evolution de l'acidité titrable et du pH du lait de vache

## 1.2. Densité

Pour les trois stades de lactation étudiés, la densité du lait est restée conforme aux normes admises : 1028-1034 (Vignola, 2002; Mahaut *et al.*, 2003). L'analyse statistique par ANOVA à un facteur a montré une influence significative du stade de lactation ( $p < 0,05$ ) sur la densité du lait, avec une augmentation allant du milieu à la fin de ce stade avec passage de la valeur de  $1030,27 \pm 0,04$  à  $1031,66 \pm 0,75$  (Tableau 22, Figure 16).

Pour leur part, Benyounes *et al.* (2013) ont noté une augmentation hautement significative ( $p < 0,01$ ) de la densité entre le début et le milieu du stade de lactation ( $1030 \pm 0,51$  vs  $1031 \pm 0,68$ ).



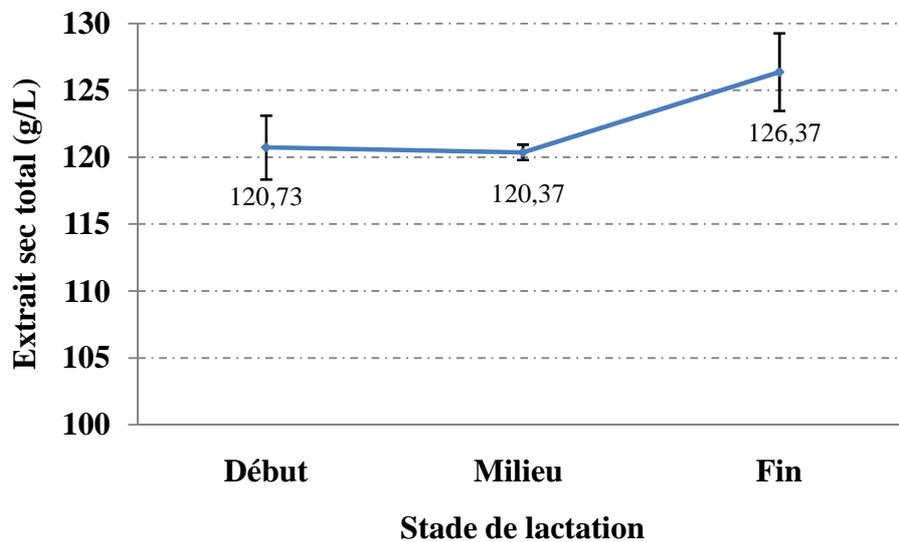
**Figure 16** : Evolution de la densité du lait de vache

## 1.3. Extrait sec total

L'extrait sec total (EST) a montré une tendance inversée de celle de l'acidité titrable, puisqu'il est à son maximum en fin de lactation ( $126,37 \pm 2,90$  g/L) relativement plus faible au début ( $120,73 \pm 2,39$  g/L) et au milieu du stade de lactation ( $120,37 \pm 0,58$  g/L) (Tableau 22, Figure 17).

Ce résultat est conforme à celui obtenu par Benyounes *et al.* (2013) qui ont relevé une augmentation très hautement significative ( $p < 0,001$ ) de l'EST du milieu à la fin du stade de lactation ( $121,65 \pm 6,77$  vs  $127,72 \pm 8,11$  g/L respectivement). Cette tendance est également en accord avec les résultats obtenus par Nantapo *et al.* (2014) qui ont étudié l'effet du jour de lactation sur la composition physico-chimique du lait de vaches mises au pâturage.

En 1996, Auldist *et al.* ont étudié les effets du comptage cellulaire somatique et du stade de lactation sur la qualité du lait destiné à la fabrication fromagère. Les résultats similaires aux nôtres, ont montré que l'EST variait significativement ( $p < 0,05$ ) entre le début et la fin du stade de lactation (127,8 g/L vs 139,6 g/L respectivement).



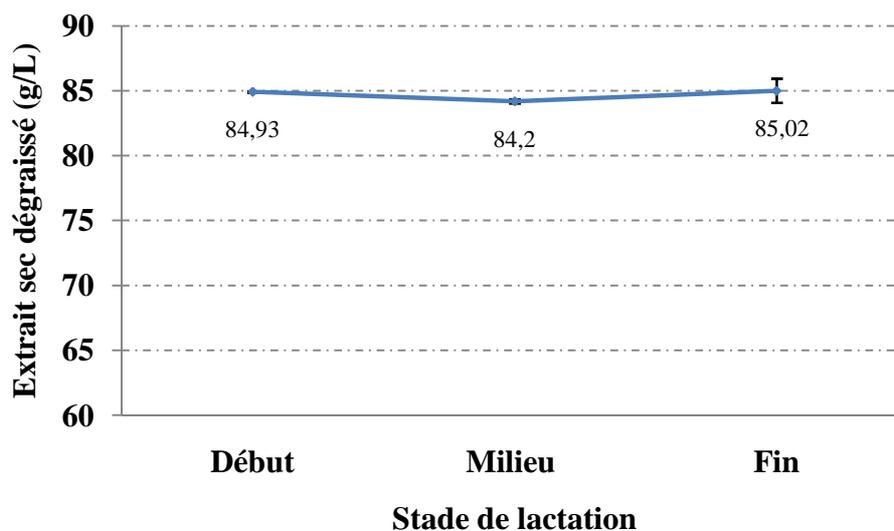
**Figure 17 :** Evolution de l'extrait sec total du lait de vache

#### 1.4. Extrait sec dégraissé

L'extrait sec dégraissé (ESD) appelé aussi « solides non gras », représente tous les solides du lait moins la matière grasse (Vignola, 2002). Le tableau 22 et la figure 18, illustrent l'évolution de l'ESD en fonction de la période de lactation.

Les résultats de l'analyse de variance montrent que les valeurs de l'ESD sont restées relativement stables au cours de la période de lactation ( $p > 0,05$ ), avec des teneurs variant de  $84,20 \pm 0,15$  g/L à  $85,02 \pm 0,93$  g/L, valeurs légèrement inférieures aux normes admises : 86-90g/L (AFNOR, 2010). Par ailleurs, les valeurs de l'ESD enregistrées sont supérieures aux teneurs composant le lait cru de vache (60-80 g/L) étudié par Boudalia *et al.* (2016).

Nantapo *et al.* (2014) ont cependant noté une influence du stade de lactation sur l'ESD, passant respectivement de  $69 \pm 0,13$ g/L à  $75 \pm 0,18$  g/L, du milieu à la fin du stade de lactation.

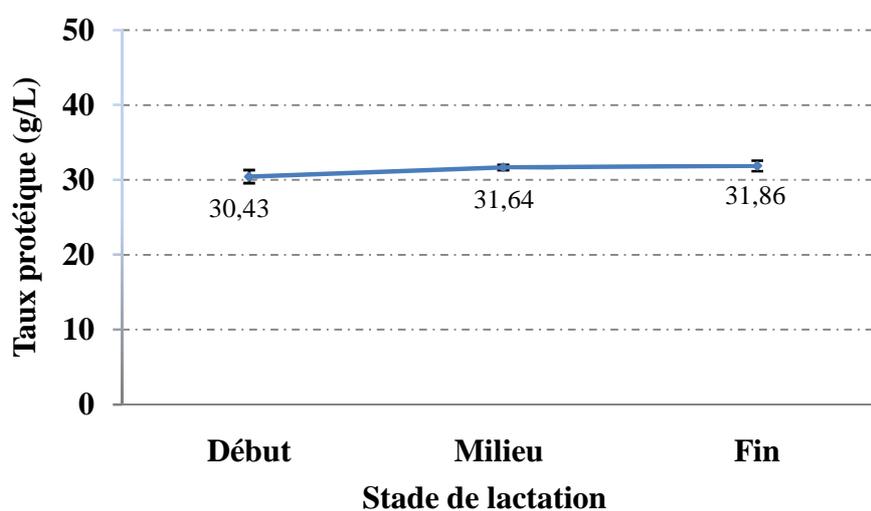


**Figure 18 :** Evolution de l'extrait sec dégraissé du lait de vache

### 1.5. Taux protéique

L'analyse de la variance ANOVA à un facteur, n'a montré aucun effet significatif ( $p > 0,05$ ) du stade de lactation sur la variation de la teneur en protéines (TP) du lait (Tableau 22).

Les valeurs de TP ont cependant, légèrement augmenté du début au milieu, pour rester relativement constantes jusqu'à la fin de la période de lactation (passant de  $30,43 \pm 0,87$  g/L à  $31,64 \pm 0,34$  g/L et enfin à  $31,86 \pm 0,70$  g/L) (Figure 19).



**Figure 19 :** Evolution du taux protéique du lait de vache

Les travaux de Tsioulpas *et al.* (2007) n'ont fait mention d'aucune variation significative ( $p > 0,05$ ) de la teneur du TP à 30 jours, 60 jours et 90 jours du début de lactation.

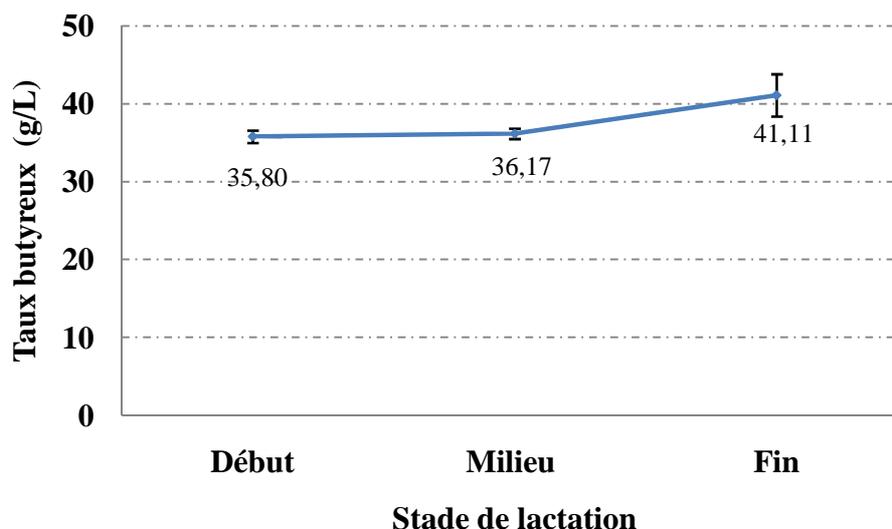
Cependant, Ostersen *et al.* (1997) ont noté une augmentation hautement significative ( $p < 0,01$ ) du TP au fur et à mesure de l'avancement du stade de lactation, en évoluant de 30,8 g/L à la 9<sup>e</sup> semaine (début de lactation), à 32,9 g/L à la 24<sup>e</sup> semaine (milieu de lactation), pour atteindre une valeur finale de 38,4 g/L à la 43<sup>e</sup> semaine (fin de lactation). Les travaux de Summer *et al.* (2003) allant dans le même sens; font mention d'une teneur en TP plus faible en début qu'en fin de stade de lactation ( $29,0 \pm 0,26$  g/L vs  $36,4 \pm 0,38$  g/L respectivement). Garnsworthy *et al.* (2006) ont également montré une variation très significative des teneurs en TP au cours de la lactation avec une augmentation hautement significative ( $p < 0,01$ ) du milieu à la fin du stade de lactation (32,2 g/L vs 35,2 g/L). Ainsi, ces travaux, sont arrivés à la conclusion que le stade de lactation jouerait un rôle majeur dans la variation de la composition du lait.

En 2012, Ducháček *et al.* ont remarqué une tendance à la baisse du TP jusqu'à la 7<sup>e</sup> semaine, pour amorcer une augmentation jusqu'à la fin de la lactation. La teneur moyenne en TP variait de 30,4 à 35,6 g/L.

La même tendance à la hausse au cours de l'évolution du stade de lactation a été signalée par Benyounes *et al.* en 2013, dans l'étude de l'effet du stade de lactation sur la composition physico-chimique du lait. Ainsi, le niveau de protéines retrouvé a été plus élevé ( $p < 0,01$ ) en fin de stade de lactation ( $34,2 \pm 1,44$  g/L) et n'augmenterait que légèrement du début au milieu du stade de lactation ( $32,4 \pm 1,20$  g/L et  $32,9 \pm 1,51$  g/L respectivement). Les teneurs élevées en protéines s'expliqueraient par une protéolyse plus réduite en fin qu'en milieu de lactation ce qui pourrait améliorer le rendement fromager durant cette phase (Ostersen *et al.*, 1996).

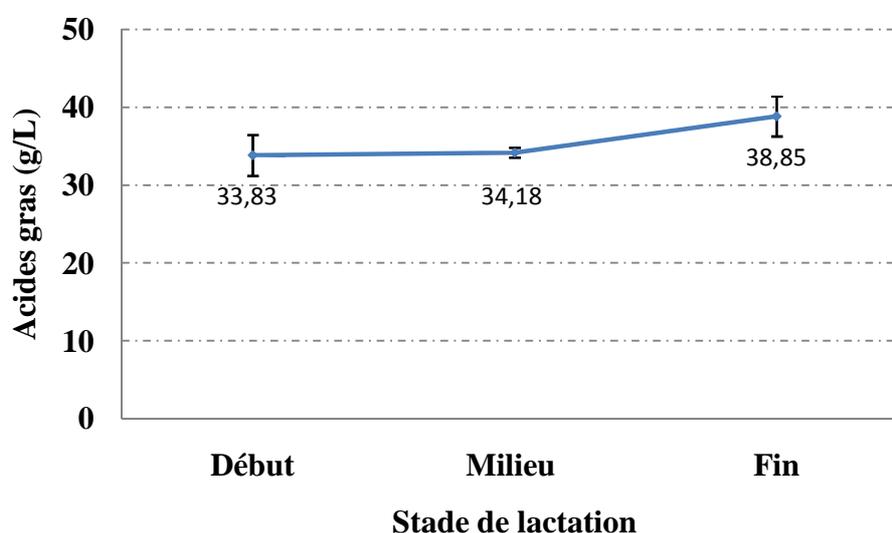
### 1.6. Taux butyreux et d'acides gras

L'analyse de la variance a montré l'existence d'une influence significative ( $p < 0,05$ ) du stade de lactation sur l'évolution du taux butyreux (TB) du lait, celle-ci est plus marquée entre le milieu et la fin du stade de lactation, enregistrant ainsi une augmentation passant de  $36,17 \pm 0,66$  g/L à  $41,11 \pm 2,72$  g/L (Tableau 22, Figure 20). En Algérie, le TB est une caractéristique importante de la qualité du lait lors de son payement. De ce fait, l'évolution de sa teneur est prise en considération notamment par les industries de transformation du lait en produits dérivés.



**Figure 20** : Evolution du taux butyreux du lait de vache

Il en est de même pour les acides gras (AG) qui ont augmenté au cours de la progression du stade de lactation, avec les plus basses teneurs en début de stade ( $33,83 \pm 2,64$  g/L), pour croître significativement ( $p < 0,05$ ) de  $34,18 \pm 0,63$  g/L à  $38,85 \pm 2,57$  g/L du milieu à la fin du stade de lactation (Tableau 22, Figure 21).



**Figure 21** : Evolution de la teneur en acides gras du lait de vache

Les teneurs minimales en TB et en AG enregistrées dans notre étude, correspondent aux moyennes des trois premiers mois de lactation, période caractérisée par la survenue d'une phase de dépression coïncidant avec le pic de production laitière (Coulon *et al.*, 1991; Garnsworthy *et al.*, 2006; Cranix *et al.*, 2008; Legarto *et al.*, 2014) ; ceci pourrait expliquer

leur faiblesse observée durant cette période par rapport au reste de la lactation. Elles augmentent par la suite, au fur et à mesure de l'avancement de la lactation.

Legarto *et al.* (2014) ont noté que le TB évolue de façon inverse de celle de la production laitière. Une baisse du TB est enregistrée jusqu'au 50<sup>e</sup> jour de la lactation, pour augmenter ensuite de +5,5 à +7,2 g/L. Coulon *et al.* (1991) rapportent une tendance similaire avec des taux maximaux en début de lactation, minimaux entre le 2<sup>e</sup> et le 3<sup>e</sup> mois, et en hausse jusqu'à la fin de la lactation, avec des écarts atteignant 7 g/L entre les mois extrêmes. Dans ce même ordre d'idée, Duchaček *et al.* (2012) ont remarqué que les différences du TB sont plus prononcées que les changements du TP durant les 17 premières semaines de la lactation.

Lors de leur étude sur l'influence du stade de lactation, Benyounes *et al.* (2013) ont conclu à une tendance très similaire à la notre, avec un TB augmentant très significativement ( $p < 0,01$ ) du milieu à la fin de la lactation passant de  $38,7 \pm 4,92$  g/L à  $41,9 \pm 5,58$  g/L. Il en est de même pour Summer *et al.* (2003) qui ont noté une augmentation très significative ( $p < 0,01$ ) du TB du début à la fin de la lactation ( $31,4 \pm 0,61$  g/L vs  $37,9 \pm 0,78$  g/L respectivement).

Par contre, Garnsworthy *et al.* (2006) ont observé une évolution inverse du TB, avec une décroissance hautement significative ( $p < 0,01$ ) entre le début et le milieu de la lactation (50,4 g/L vs 40,3 g/L). Ceci s'expliquerait par le fait que ces auteurs ont travaillé par jour de lactation de l'animal et non par période de lactation comme nous l'avons fait dans notre étude. Ainsi ces auteurs, ont classé le 13<sup>e</sup> jour de lactation comme étant le début du stade de lactation, le 130<sup>e</sup> jour devenant ainsi le milieu de ce stade. De ce fait, au 13<sup>e</sup> jour de lactation, le TB reste relativement élevé par rapport à la moyenne du début de la période de lactation enregistrée dans notre étude, en raison de la mobilisation des graisses corporelles de l'animal survenant dans les premiers jours qui suivent le vêlage et donc le tout début de la lactation. Cette tendance est confirmée également par Craninx *et al.* (2008).

## 2. Résultats du profil en acides gras du lait

La caractérisation des acides gras (AG) du lait, après dérivatization chimique en esters méthyliques a été réalisée par la mise en évidence d'une série de pics chromatographiques, analysés par le logiciel de traitement des données MSD Chemstation NIST'02 (US National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA).

L'analyse qualitative et semi-quantitative des chromatogrammes de chaque échantillon de lait estérifié a été réalisée par spectrométrie de masse en utilisant les données spectrales existant dans la bibliothèque Wiley 7N.L mais également les résultats fournis d'une part par les temps de rétention et d'autre part, par l'ordre d'élution défini par la série étalon de 37 esters méthyliques d'acides gras (EMAG) comme mentionné dans la figure 22.

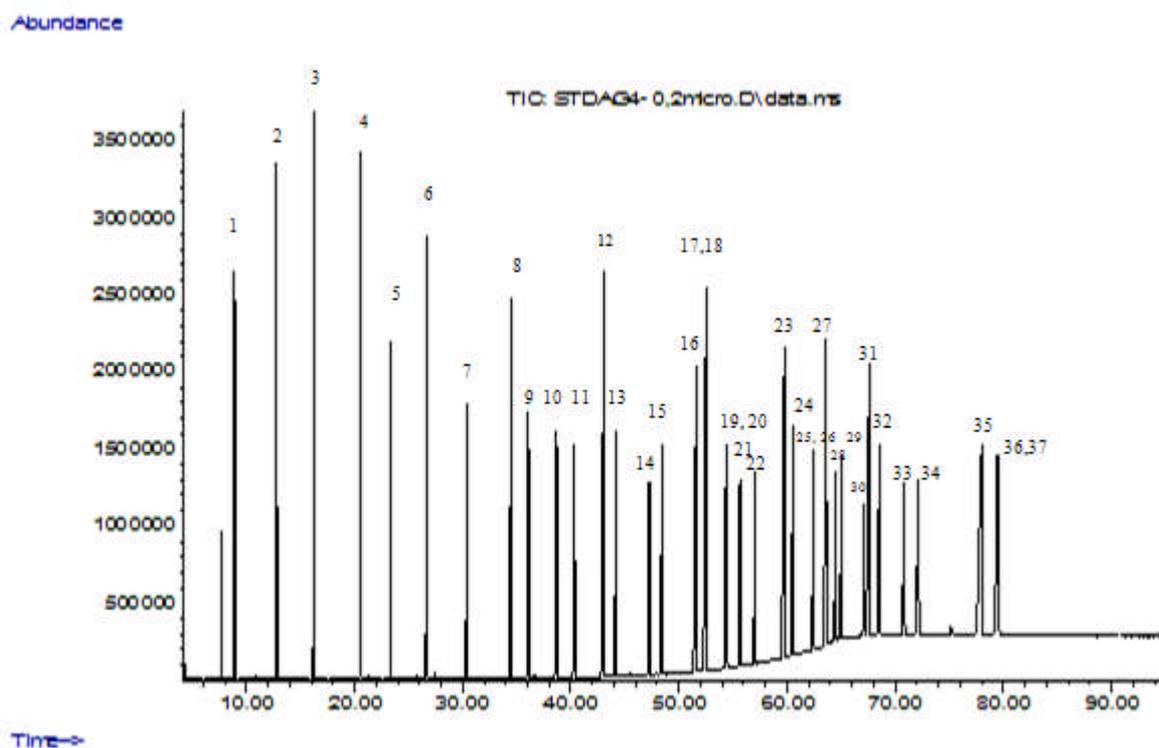
L'injection de l'échantillon, effectuée par GC-MS, sous les mêmes conditions opératoires que celles du mélange étalon d'EMAG a permis de confirmer d'une part, l'ordre d'élution et d'autre part, d'identifier les principaux pics chromatographiques d'acides gras.

Ainsi, 14 pics d'EMAG ont été identifiés comme reporté dans un exemple d'analyse d'un échantillon de lait de vache (Figure 23, cf. Annexe 3).

L'ordre d'élution des AG dans chaque échantillon est établi en premier lieu selon le nombre d'atomes de la chaîne carbonée et en second lieu, selon le degré d'insaturation.

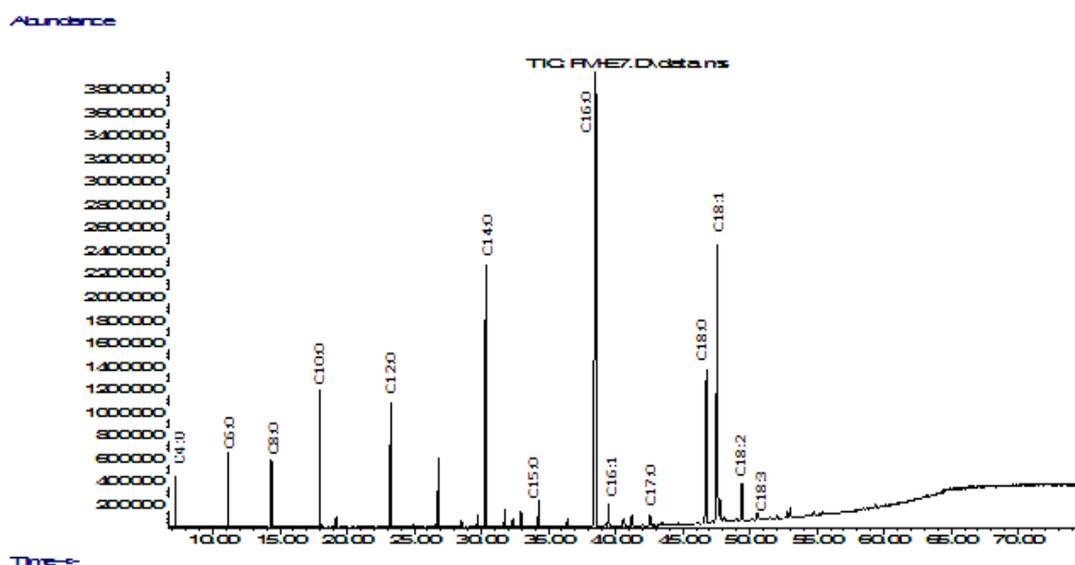
Dans l'exemple de l'échantillon de lait reporté dans la figure 23, les résultats ont permis de caractériser un total de 10 acides gras saturés (AGS) et de 4 acides gras insaturés (AGI) dont 2 mono et 2 poly-insaturés. Parmi ceux-ci, nous avons identifié :

- 9 acides gras saturés à chaîne courte et moyenne (AGCCM) de moins de 18 atomes de carbone, allant de C4:0 à C17:0 ;
- 1 acide gras saturé C18:0 à chaîne longue (AGCL) à 18 atomes de carbone ;
- 2 acides gras mono-insaturés (AGMI) : C16:1 et C18:1 ;
- 2 acides gras poly-insaturés (AGPI) : C18:2 et C18:3.



**Figure 22 :** Chromatogramme d'une série étalon de 37 EMAG analysés par GC-MS.

(1) C4:0 ; (2) C6:0 ; (3) C8:0 ; (4) C10:0 ; (5) C11:0 ; (6) C12:0 ; (7) C13:0 ; (8) C14:0 ; (9) C14:1 ; (10) C15:0 ; (11) C15:1 ; (12) C16:0 ; (13) C16:1 ; (14) C17:0 ; (15) C17:1 ; (16) C18:0 ; (17) C18:1 9*c* ; (18) C18:1 9*t* ; (19) C18:2 9*c*,12 ; (20) C18:2 9*t*,12*t* ; (21) C18:3 6*c*,9*c*,12*c* ; (22) C18:3 9*c*,12*c*,15*c* ; (23) C20:0 ; (24) C20:1 11*c* ; (25) C20:2 11*c*,14*c* ; (26) C20:3 8*c*, 11*c*, 14*c* ; (27) C21:0 ; (28) C20:3 11*c*,14*c*,17*c* ; (29) C20:4 ; (30) C20:5 5*c*,8*c*,11*c*,14*c*,17*c* ; (31) C22:0 ; (32) C22:1 ; (33) C22:2 ; (34) C23:0 ; (35) C24:0 ; (36) C22:6 4*c*,7*c*,10*c*,13*c*,16*c*,19*c* ; (37) C24:1 15*c*.



**Figure 23 :** Chromatogramme de quelques esters d'acides gras communs du lait.

(C4:0 : acide butyrique ; C6:0 : acide caproïque ; C8:0 : acide caprylique ; C10:0 : acide caprique ; C12:0 : acide laurique ; C14:0 : acide myristique ; C15:0 : acide pentadécanoïque ; C16:0 : acide palmitique ; C16:1 : acide palmitoléique ; C17:0 : acide margarique ; C18:0 : acide stéarique ; C18:1 : acide oléique ; C18:2 : acide linoléique ; C18:3 : acide linoléique)

L'analyse semi-quantitative des esters d'acides gras, a été effectuée à l'aide du logiciel de traitement des données MSD Chemstation, afin de déterminer la proportion de chaque AG dans le lait.

L'analyse de la variance (ANOVA à un facteur) a été appliquée pour évaluer l'existence d'éventuelles différences au niveau de la composition en AG du lait étudié en fonction du stade de lactation. Lorsque les résultats ANOVA se sont révélés significatifs, le test de Duncan est utilisé pour comparer les moyennes en pourcentage (Tableau 23).

**Tableau 23 :** Teneurs moyennes ( $\pm$  écart-type) en acides gras du lait de vaches en fonction du stade de lactation

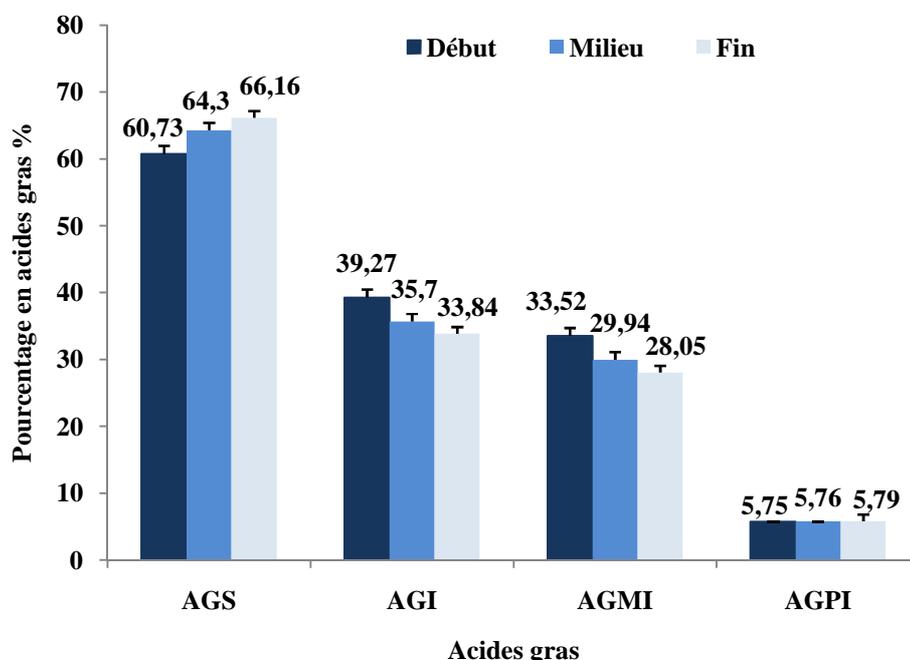
<i>Acides gras (%)</i>	<i>Stade de lactation</i>			<i>P</i>
	<i>Début</i>	<i>Milieu</i>	<i>Fin</i>	
<b>AGS</b>	<b>60,73<math>\pm</math>1,21<sup>c</sup></b>	<b>64,30<math>\pm</math>1,09<sup>b</sup></b>	<b>66,16<math>\pm</math>0,26<sup>a</sup></b>	<b>***</b>
<i>AGMI</i>	33,52 $\pm$ 1,18 <sup>a</sup>	29,94 $\pm$ 1,16 <sup>b</sup>	28,05 $\pm$ 0,13 <sup>c</sup>	***
<i>AGPI</i>	5,75 $\pm$ 0,02	5,76 $\pm$ 0,04	5,79 $\pm$ 0,06	NS
<b>AGI</b>	<b>39,27 <math>\pm</math> 1,20<sup>a</sup></b>	<b>35,70 <math>\pm</math> 1,13<sup>b</sup></b>	<b>33,84 <math>\pm</math> 0,16<sup>c</sup></b>	<b>***</b>

**AGS** : acides gras saturés ; **AGMI** : acides gras mono-insaturés ; **AGPI** : acides gras poly-insaturés ; **AGI** : acides gras insaturés ; *P* : Probabilité ; <sup>NS</sup> :  $p > 0,05$  ; \* :  $p < 0,05$  ; \*\* :  $p < 0,01$  ; \*\*\* :  $p < 0,001$  ; Les valeurs avec lettres différentes sur la même ligne sont significativement différentes entre elles ( $p < 0,05$ ), test de Duncan. La lettre « a » correspond à la moyenne ajustée la plus élevée. L'absence de lettres sur une même ligne indique une absence de différence significative.

Les résultats de l'analyse de la variance (ANOVA à un facteur) ont montré un effet significatif ( $p < 0,05$ ) du stade de lactation sur le profil en AG du lait avec un effet très hautement significatif ( $p < 0,001$ ) sur les acides gras saturé (AGS), les acides gras insaturés (AGI), notamment les acides gras mono-insaturés (AGMI), tandis qu'il n'a montré aucun effet significatif ( $p > 0,05$ ) sur les acides gras polyinsaturé (AGPI).

Dans notre étude, la part des AGS augmente significativement de 60,73 $\pm$ 1,21% à 64,30 $\pm$ 1,09% du début au milieu de la lactation pour atteindre une valeur de 66,16 $\pm$ 0,26 % en sa fin (Figure 24). Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Soyeurt *et al.* (2008) et Legarto *et al.* (2014) qui ont rapporté une augmentation de 3 à 6 points dans les 4 à 6 premiers mois de lactation. Soyeurt *et al.* (2008) ont observé que les teneurs en AGS décroissaient rapidement jusqu'au pic de lactation pour augmenter lentement ensuite.

Pour les transformateurs de lait, les hautes teneurs en AGS améliorent certes la conservation et la stabilité des produits finis en prolongeant leur durée de vie, mais ceci se fait peut être au détriment de la santé du consommateur où une augmentation du risque de maladies cardiovasculaires serait possible (Nantapo *et al.*, 2014).



**Figure 24 :** Evolution de la proportion des acides gras du lait de vache

Les AGS, constituants majoritaires des AG du lait, ont souvent la réputation d'être nocifs quand ils sont consommés en excès et de manière excessive. Il ne faut, toutefois, plus les considérer dans leur globalité mais plutôt bien de façon individuelle car ils n'auraient pas tous les mêmes effets délétères, puisque certains AGCC pouvant par exemple exercer un effet hypocholestérolémiant (Rouille et Montourcy, 2010).

Par ailleurs, la proportion des AGI diminue significativement de  $39,27 \pm 1,20\%$  à  $35,70 \pm 1,13\%$  du début au milieu ( $p < 0,001$ ) de la lactation pour atteindre une valeur de  $33,84 \pm 0,16\%$  ( $p < 0,05$ ) en fin de stade. Les AGMI ont également observé une tendance similaire avec des valeurs évoluant de  $33,52 \pm 1,18\%$  à  $29,94 \pm 1,16\%$  du début au milieu du stade ( $p < 0,001$ ) pour atteindre  $28,05 \pm 0,13\%$  en fin de lactation ( $p < 0,05$ ). Cependant, tout au long des trois stades de lactation le taux des AGPI est resté constant aux alentours des  $5,75\%$  (Tableau 23, Figure 24).

## 2.1. Acides gras saturés

Les résultats détaillés de l'analyse statistique de l'évolution du profil en acide gras saturés en fonction du stade de lactation sont reportés dans le tableau 24.

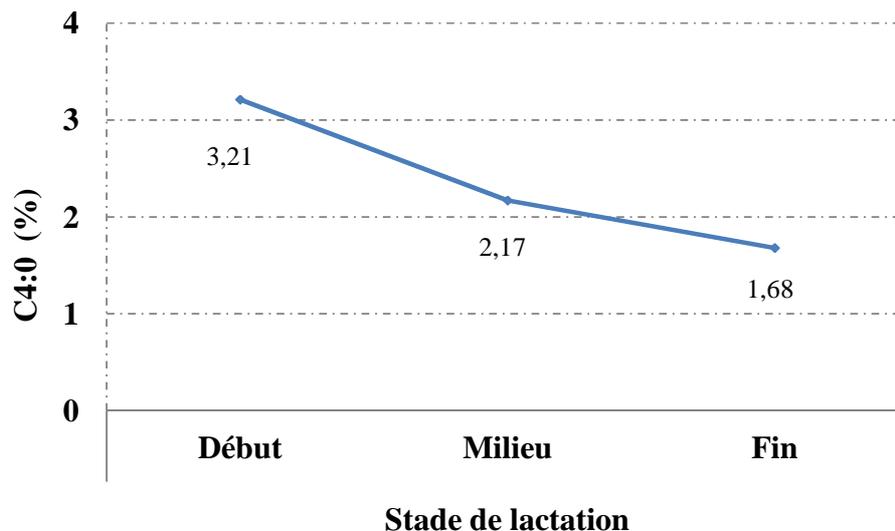
**Tableau 24 :** Teneurs moyennes ( $\pm$  écart-type) en acides gras saturés à chaînes courtes, moyennes et longues du lait de vaches en fonction du stade de lactation

Acides gras (%)	Stade de lactation			P	
	Début	Milieu	Fin		
AGCCM	(C4:0)	3,21 $\pm$ 0,36 <sup>a</sup>	2,17 $\pm$ 0,27 <sup>b</sup>	1,68 $\pm$ 0,13 <sup>c</sup>	***
	(C6:0)	0,63 $\pm$ 0,05	0,49 $\pm$ 0,21	0,8 $\pm$ 0,16	NS
	(C8:0)	0,82 $\pm$ 0,21	0,83 $\pm$ 0,12	0,86 $\pm$ 0,05	NS
	(C10:0)	2,25 $\pm$ 0,22 <sup>b</sup>	2,27 $\pm$ 0,23 <sup>b</sup>	2,63 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>	*
	(C12:0)	2,93 $\pm$ 0,33 <sup>b</sup>	3,37 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup>	3,53 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup>	*
	(C14:0)	8,9 $\pm$ 0,46 <sup>b</sup>	11,7 $\pm$ 1,07 <sup>a</sup>	12,6 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup>	***
	(C15:0)	1,26 $\pm$ 0,07	1,39 $\pm$ 0,15	1,47 $\pm$ 0,1	NS
	(C16:0)	27,5 $\pm$ 1,17 <sup>b</sup>	30,7 $\pm$ 0,97 <sup>a</sup>	31,8 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	***
AGCL	(C18:0)	11,5 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	9,3 $\pm$ 0,69 <sup>b</sup>	8,5 $\pm$ 0,11 <sup>c</sup>	***
Autres		1,66 $\pm$ 0,08	1,88 $\pm$ 0,15	1,72 $\pm$ 0,16	NS

AGCCM : acides gras à chaînes courtes et moyennes ; AGCL : acides gras à chaînes longues ; P : Probabilité ; NS : P>0,05 ; \* : P<0,05 ; \*\* : p<0,01 ; \*\*\* : p<0,001 ; Les valeurs avec lettres différentes sur la même ligne sont significativement différentes entre elles (P<0,05), test de Duncan. La lettre « a » correspond à la moyenne ajustée la plus élevée. L'absence de lettres sur une même ligne indique une absence de différence significative.

### 2.1.1. Acide butyrique

Parmi les AGS, l'acide butyrique (C4:0) a été parfaitement identifié sous les conditions expérimentales que nous nous sommes fixées, ceci a été possible par utilisation d'une colonne capillaire en polyéthylène glycol (David *et al.*, 2005). Cet acide a diminué de manière très hautement significative (p<0,001) du début à la fin de la lactation, en passant progressivement de 3,21 $\pm$ 0,36 % à 2,17 $\pm$ 0,27 % puis à 1,68 $\pm$ 0,13 % (Figure 25). Il en ressort que les laits de vaches de début du stade de lactation de la région centre de l'Algérois, sont significativement plus riches en C4:0 que ceux de milieu et de fin de lactation. Ces résultats sont en accord avec certains travaux (Kay *et al.*, 2005; Garnsworthy *et al.*, 2006; Stoop *et al.*, 2009).



**Figure 25** : Evolution de la proportion d'acide butyrique en fonction du stade de lactation

Des études expérimentales effectuées «*in vitro*» confèrent un rôle bénéfique à l'acide C4:0, et notamment une action anticarcinogène par inhibition de la croissance de cellules tumorales (Velazquez *et al.*, 1996; Parodi, 1999; Huda-Faujan *et al.*, 2010). Cet AG bloquerait les récepteurs aux œstrogènes des cellules cancéreuses du sein et activerait des enzymes intervenant dans la réparation de l'ADN (Planchon *et al.*, 1991). De plus, dans le but d'étudier l'effet du butyrate alimentaire sur la cancérogenèse, l'étude expérimentale de Yanagi *et al.* (1993) effectuée sur l'animal a démontré que l'addition de 6% de butyrate, réduirait l'incidence de carcinomes et d'adénocarcinomes mammaires chimiquement induits.

Par ailleurs, d'autres études expérimentales ont souligné le rôle prépondérant occupé par l'acide butyrique dans la prévention et le traitement de la colite ulcéreuse, de la maladie de Crohn et du cancer du côlon (Marchetti *et al.*, 1997; Pouillart, 1998; Di Sabatino *et al.*, 2005). Cet AG réputé principal substrat énergétique des colonocytes, semblerait également être efficace pour stimuler la prolifération physiologique des cellules de la muqueuse intestinale. A cet effet toute diminution du taux de cet AG dans les colonocytes pourrait contribuer à la genèse de la colite ulcéreuse (Roediger, 1982; Sakata, 1987; Cummings, 1997).

Ainsi, la teneur élevée en acide butyrique en début de stade de lactation par rapport aux autres AGCCM, s'expliquerait par le fait que sa synthèse n'est pas du tout inhibée car, issue de deux origines indépendantes de l'inhibition de l'Acétyl CoA Carboxylase. A savoir, une moitié proviendrait directement de 4 atomes de carbones préformés, nommé  $\beta$ -Hydroxybutyrate,

l'autre moitié serait formée par une voie indépendante, à partir du Malonyl-CoA par condensation d'unités acétyles (Palmquist, 1993; Palmquist, 2006).

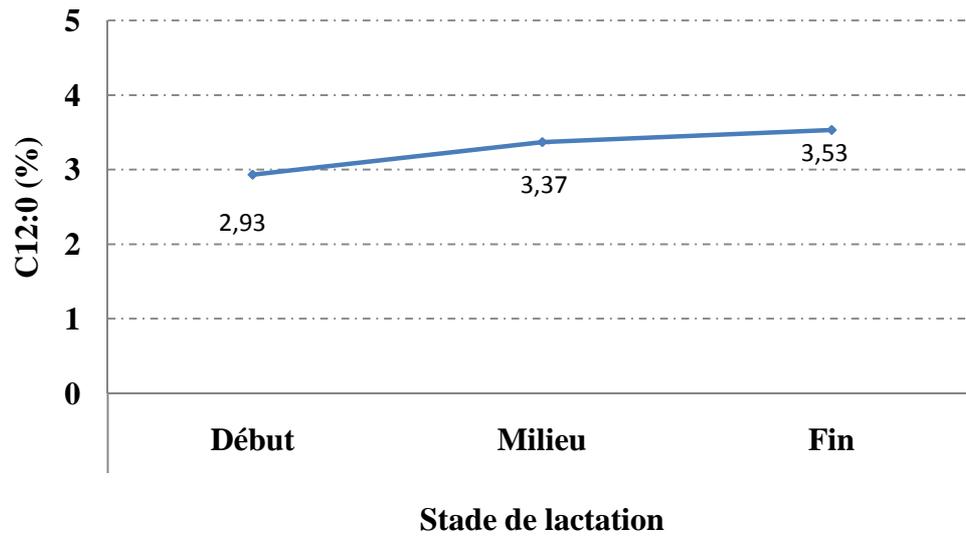
### 2.1.2. Acides laurique, myristique et palmitique

Les acides laurique, myristique et palmitique font partie des acides gras à chaînes courte et moyenne (AGCCM).

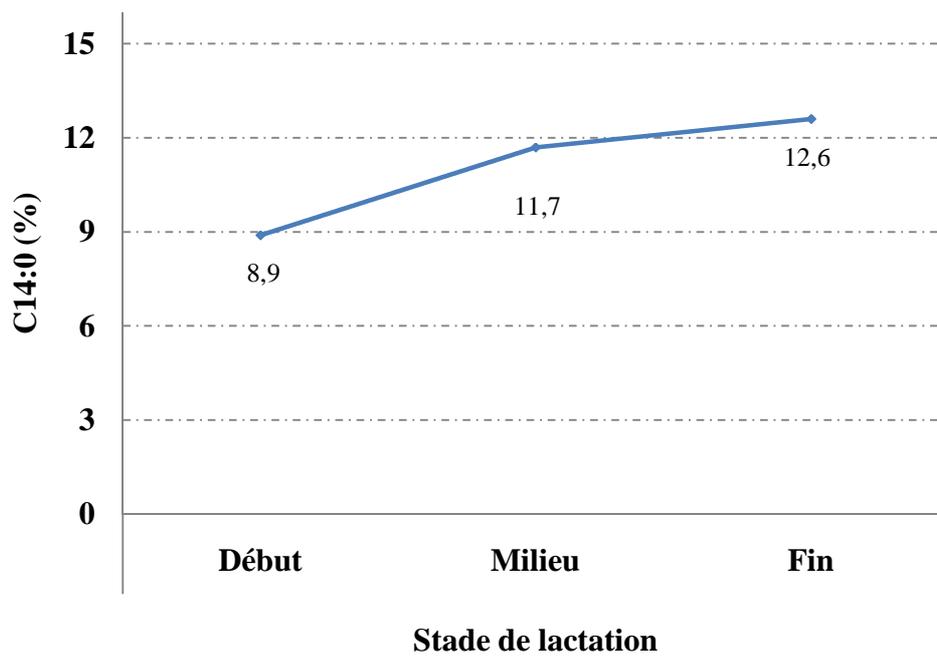
L'analyse statistique, a montré que les acides laurique (C12:0), myristique (C14:0) et palmitique (C16:0), ont augmenté significativement ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$  respectivement) du début au milieu de la lactation d'un ordre respectif de +0,44%, +2,80 % et +3,20 %, pour se stabiliser ensuite jusqu'à la fin de celle-ci (Figures 26-28).

Ces trois acides augmenteraient la cholestérolémie plasmatique totale et le LDL-cholestérol avec des valeurs s'accroissant chez les sujets prédisposés et hypercholestérolémiques (Hayes et Khosla, 1992; Kris-Etherton et Diestchy, 1997; Barber *et al.*, 1997; Williams, 2000; Parodi, 2004). Les travaux de Temme *et al.* (1996) ont montré que les acides laurique et palmitique sont hypercholestérolémiques, avec cependant un caractère plus marqué pour l'acide laurique qui augmenterait davantage les concentrations en cholestérol total que l'acide palmitique. Vergroesen *et al.* (1971) ont relevé un effet comparable des acides laurique et myristique sur les concentrations en cholestérol sérique. Cependant, selon Zock *et al.* (1994), comparativement à l'acide palmitique, l'acide myristique augmenterait d'environ 1,5 fois la cholestérolémie plasmatique totale et de 1,3 fois les concentrations en LDL-cholestérol; par contre pour Tholstrup *et al.* (1994) ces deux acides auraient un effet similaire sur les concentrations en cholestérol total et en LDL-cholestérol.

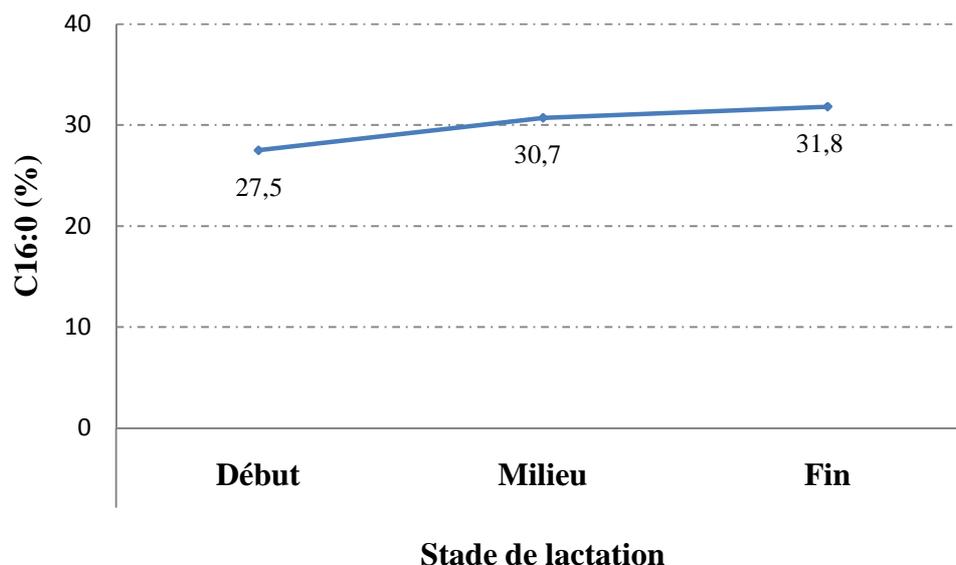
Par conséquent, à partir de l'ensemble des travaux évoqués ci-dessus, la présence de ces AG à des teneurs élevées dans le lait ne serait pas forcément souhaitable.



**Figure 26 :** Evolution de la proportion d'acide laurique en fonction du stade de lactation



**Figure 27 :** Evolution de la proportion d'acide myristique en fonction du stade de lactation



**Figure 28 :** Evolution de la proportion d'acide palmitique en fonction du stade de lactation

Stoop *et al.* (2009) ont observé une augmentation du C16:0 de l'ordre de +2,1%, entre le début et le milieu de la lactation, ce qui est conforme à la tendance observée dans notre étude (+3,2%). Kay *et al.* (2005) ont signalé une influence hautement significative ( $p < 0,01$ ) du stade de lactation sur la teneur en C12:0, C14:0 et C16:0 entre la 1<sup>ère</sup>, la 8<sup>e</sup> et la 16<sup>e</sup> semaine de lactation, ce qui est corroboré nos résultats. Une tendance similaire a également été enregistrée par Bitman et Wood (1990).

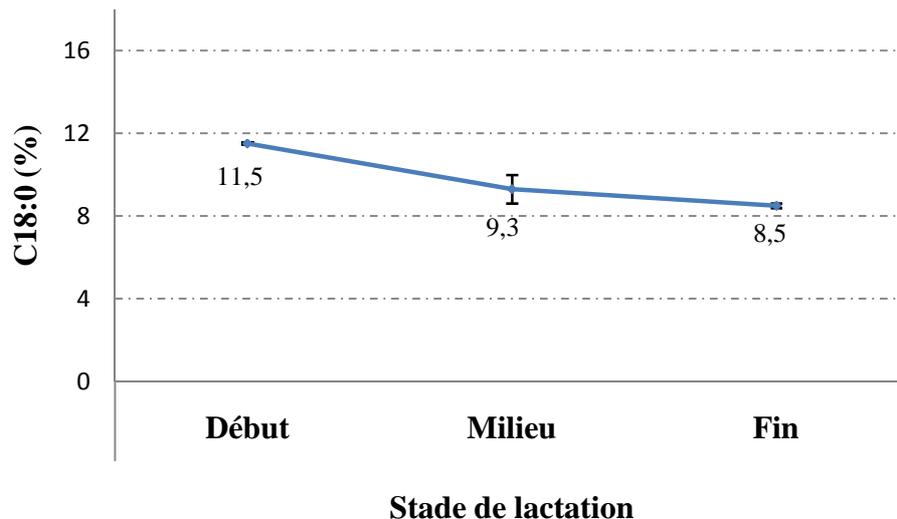
Toutefois, Craninx *et al.* (2008) ont relevé des proportions constantes du C16:0 qui seraient liées aux origines multiples de cet AG. Une partie provenant des synthèses *de novo* dans la glande mammaire; et la seconde de la mobilisation des graisses corporelles lorsque les vaches sont en équilibre énergétique négatif.

Eastridge et Palmquist (1988) ont noté une proportion en AGCCM (exception faite du C4:0), faible à la 1<sup>ère</sup> semaine de lactation, mais qui augmentait régulièrement avec de hautes teneurs dès la 12<sup>e</sup> semaine coïncidant au 3<sup>e</sup> mois de lactation. Cette tendance s'expliquerait par la levée de l'inhibition sur la synthèse *de novo* dans la glande mammaire, exercée par la mobilisation des lipides corporels (Garnsworthy *et al.*, 1992; Palmquist, 2006).

Il est intéressant de rappeler que les AGCC, issus des synthèses *de novo* dans la glande mammaire constituent une importante source d'énergie pour le consommateur puisque rapidement synthétisés dans le tractus digestif et métabolisés par le foie (Palmquist, 2006).

### 2.1.3. Acide stéarique

L'analyse statistique de l'influence du stade de lactation sur la proportion en AG, a révélé que le taux d'acide stéarique (C18:0), plutôt élevé en début de lactation, a baissé linéairement et significativement ( $p < 0,001$ ) en milieu (-2,2%) et en fin de lactation (-0,8%) (Figure 29). Cette tendance est en accord avec les résultats obtenus par Craninx *et al.* (2008), Stoop *et al.* (2009), Bilal *et al.* (2014) et Bainbridge *et al.* (2016).



**Figure 29** : Evolution de la proportion d'acide stéarique en fonction du stade de lactation

Selon les travaux de Kris-Etherton et Diestchy (1997), l'acide stéarique qui fait partie des acides gras à longues chaînes (AGLC) du lait, ne modifie que très peu la cholestérolémie. D'autres études (Bonanome *et al.*, 1988; Aro *et al.*, 1997) ont montré qu'une substitution de certains AG hypercholestérolémiants par de l'acide stéarique, ou sa consommation régulière sous forme de régimes alimentaires à hautes teneurs pendant une longue période, entraînait une baisse très hautement significative ( $P < 0,001$ ) de la cholestérolémie totale (-13%) et de la concentration en LDL cholestérol (-21%), effets bénéfiques pour la santé humaine. Ces travaux ont conclu que l'acide stéarique serait aussi efficace que l'acide oléique pour abaisser le taux de cholestérol plasmatique lorsqu'il remplace l'acide palmitique dans le régime alimentaire.

De plus, une autre étude (Hunter *et al.*, 2010) a mis en évidence l'effet protecteur de l'acide stéarique (C18:0) sur certaines maladies cardio-vasculaires, avec un effet favorable sur les concentrations en LDL-cholestérol plasmatiques.

Cependant, une possible interaction positive de l'acide stéarique sur l'induction et le développement du diabète de type 2 a été récemment mise en évidence par De Souza *et al.* (2015).

Néanmoins, à partir de l'ensemble des travaux ci-dessus développés il semblerait que la présence de l'acide stéarique dans le lait serait à encourager.

## 2.2. Acides gras insaturés

Les résultats détaillés de l'analyse statistique portant sur l'évolution du profil en acide gras insaturés en fonction du stade de lactation sont présentés dans le tableau 25.

**Tableau 25 :** Teneurs moyennes ( $\pm$  écart-type) en acides gras insaturés du lait de vache en fonction du stade de lactation

Acides gras (%)	Stade de lactation			P	
	Début	Milieu	Fin		
AGMI	(C16:1)	2,4 $\pm$ 0,28 <sup>a</sup>	2,26 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup>	1,91 $\pm$ 0,12 <sup>b</sup>	*
	(C18:1)	30,4 $\pm$ 0,98 <sup>a</sup>	26,9 $\pm$ 1,3 <sup>b</sup>	25,5 $\pm$ 0,08 <sup>b</sup>	***
AGPI	(C18:2)	5,5 $\pm$ 0,02	5,51 $\pm$ 0,04	5,55 $\pm$ 0,05	NS
	(C18:3)	0,24 $\pm$ 0,01	0,25 $\pm$ 0,01	0,25 $\pm$ 0,02	NS

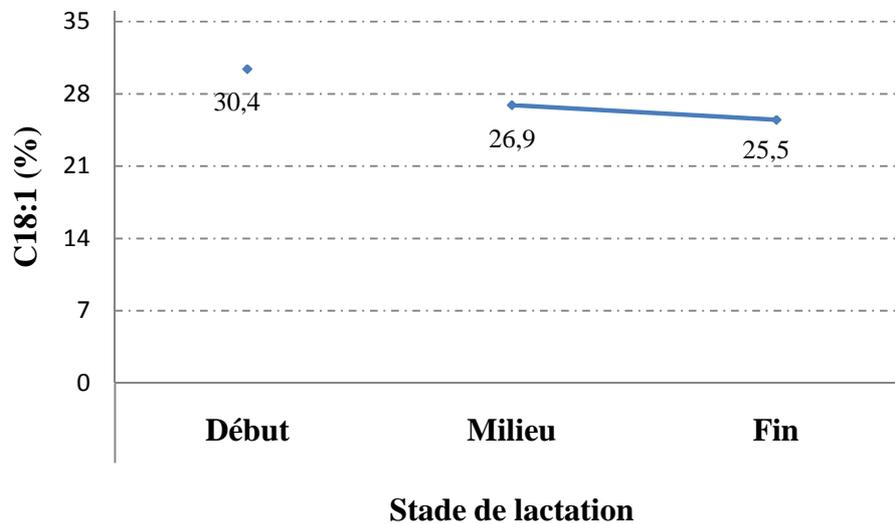
AGMI : acides gras mono-insaturés ; AGPI : acides gras poly-insaturés. P : Probabilité ; <sup>NS</sup> : P>0,05 ; \* : P<0,05 ; \*\* : p<0,01 ; \*\*\* : p<0,001 ; Les valeurs avec lettres différentes sur la même ligne sont significativement différentes entre elles (P<0,05), test de Duncan. La lettre « a » correspond à la moyenne ajustée la plus élevée. L'absence de lettres sur une même ligne indique une absence de différence significative.

### 2.2.1. Acide oléique

Les résultats de l'analyse chromatographique, ont mis en évidence certaines difficultés à discerner les isomères du C18:1 en raison de la nature de la colonne capillaire utilisée sous nos conditions opératoires (colonne de type PEG), laquelle ne permet malheureusement pas d'isoler et de discerner les isomères géométriques *cis* et *trans*. Cette insuffisance a également été confirmée par d'autres travaux ayant utilisé ce même type de phase stationnaire pour séparer les AG du lait (White *et al.*, 2001; David *et al.*, 2005).

Néanmoins, parmi les isomères C18:1, l'AGI connu pour être majoritaire et le plus abondant dans le lait est l'acide oléique C18:1 *cis*-9 (Jensen, 2002; Månsson, 2008; Lopez-Huertas, 2010).

L'analyse statistique de l'évolution de l'AG C18:1, a permis de constater l'existence d'une influence très hautement significative ( $p < 0,001$ ) du stade de lactation, et que ce dernier a présenté des teneurs élevées en début de lactation ( $30,4 \pm 0,98$  %) pour décroître régulièrement en milieu ( $26,9 \pm 1,3$  %) puis en fin de lactation ( $25,5 \pm 0,08$  %) (Figure 30).



**Figure 30** : Evolution de la proportion d'acide oléique en fonction du stade de lactation

L'acide oléique semblerait jouer un rôle bénéfique pour la santé humaine. Des études ont en effet démontré qu'il diminuerait le LDL-cholestérol et les triglycérides plasmatiques, tout en élevant les taux plasmatiques du HDL-cholestérol (Kris-Etherton et Yu, 1997; Lopez-Huertas, 2010). Ainsi, cet AG pourrait jouer un rôle intéressant en diminuant les facteurs de risques des maladies cardiovasculaires et coronariennes chez les sujets sains ou ceux présentant une hypercholestérolémie modérée (Carrero *et al.*, 2004).

Les études qui ont été entreprises par de nombreux auteurs (Palmquist *et al.*, 1993; Kay *et al.*, 2005; Ducháček *et al.*, 2012; Nogalski *et al.*, 2012; Samková *et al.*, 2012), vont dans le même sens et sont en accord avec nos résultats. Elles suggèrent que la teneur élevée en C18:1 durant le début de la lactation s'expliquerait par le fait que la vache laitière se trouve dans une situation de balance énergétique négative avec, d'une part, un accroissement de la mobilisation des AGCL à partir des réserves de tissus adipeux et une inhibition de la synthèse *de novo* des AGCCM dans la glande mammaire, et d'autre part, une faible quantité ingérée de la ration, d'où la faible disponibilité des précurseurs en AG (acétate,  $\beta$ -hydroxybutyrate).

Ces changements observés, indiqueraient une relation compensatrice entre les concentrations en AGCCM du lait et les AG provenant des lipides circulatoires : généralement, ces derniers augmenteraient tandis que le C18:0 et C18:1 décroîtraient au cours de la progression de la lactation (Bitman et Wood, 1990; Craninx *et al.*, 2008). Certains auteurs (Garnsworthy *et al.*, 2006; Stoop *et al.*, 2009) ont toutefois, noté une remontée des acides C18:0 et C18:1 en fin de lactation. Des études (Palmquist, 2006; Månsson, 2008) ont en effet, démontré que les AG allant du C4:0 au C14:0, ainsi qu'environ 50% du C16:0, résultaient de la synthèse *de novo* dans la glande mammaire tandis que les AGCL, tel que C18:1, étaient fournis à partir des lipides de la circulation sanguine et résultaient de sources diététiques ou de lipides de dépôt.

### 2.2.2. Acides linoléique et $\alpha$ -linoléinique

Les acides gras poly-insaturés (AGPI) comprennent les familles des omégas 3 (n-3) et des omégas 6 (n-6), chacune d'elles ayant des propriétés biochimiques uniques et des effets cardiovasculaires cliniques divergents (Ramsden *et al.*, 2013). Une hausse des AGPI est en général un objectif à rechercher pour améliorer le profil nutritionnel des laits. En effet, l'acide  $\alpha$ -linoléinique semblerait jouir de certains avantages cardiovasculaires non négligeables (De Caterina, 2011). Cependant, il n'existe aucune preuve d'essai clinique prouvant que le remplacement des acides gras saturés (AGS) par l'acide linoléique (n-6), sans augmentation simultanée d'autres AGPI et notamment de l'acide  $\alpha$ -linoléinique (n-3), puisse réduire le risque de maladie cardiovasculaire ou des cas de décès. Ainsi, les avantages cliniques de l'AGPI le plus abondant retrouvé dans le lait, en l'occurrence l'acide linoléique, n'ont pas été établis (Ramsden *et al.*, 2013).

L'analyse statistique a montré que, les acides linoléique (C18:2) et  $\alpha$ -linoléinique (C18:3) n'ont révélé aucun changement significatif au cours de la lactation (Tableau 25). Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Bitman et Wood (1990) et Legarto *et al.* (2014).

Wang *et al.* (2013) ont, toutefois, noté une baisse significative (-0,32 %) de la teneur en C18:2 entre le début et la fin de la lactation mais n'ont décelé aucune différence avérée pour le C18:3. Garnsworthy *et al.* (2006), Craninx *et al.* (2008) ainsi que Nantapo *et al.* (2014) ont enregistré une influence significative du stade de lactation sur la variation de la teneur en C18:2 et C18:3, ces derniers étant considérés comme des « acides gras essentiels » et nécessaires à la santé humaine (Connor, 2000; Parodi, 2004). De ce fait, les proportions élevées en C18:2 relevées dans cette étude, renseignent sur la bonne qualité nutritionnelle du lait du proche algérois et de sa richesse en AGPI.

## **Etude 2 : Analyses physico-chimiques et détection de résidus d'antibiotiques sur des laits livrés à l'industrie laitière de la région centre du proche Algérois.**

Le lait de par sa composition très complexe et variée, peut constituer un danger potentiel pour celui qui le consomme notamment en raison des risques de présence de résidus antimicrobiens même à l'état de traces (Aggad *et al.*, 2009).

La présence de résidus d'antibiotiques dans les aliments d'origine animale peut être à l'origine d'allergies pouvant aller de légères éruptions cutanées à l'angio-œdème ou au choc anaphylactique mortel, de modifications de la flore intestinale, de résistances bactériennes et d'inhibitions de phénomènes de fermentation et de défauts de maturations en industrie laitière (Mensah *et al.*, 2014). Les  $\beta$ -lactames sont le plus souvent incriminés tandis que les effets causés par les macrolides sont plutôt rares (Dewdney *et al.*, 1999; Raison-Peyron *et al.*, 2001).

De plus les adultérations, constituent d'autres risques à prendre en considération, pour s'assurer de la qualité du lait sur le plan sanitaire, et qui ne peut être garantie que par un contrôle préalablement rigoureux et efficace (Jones, 1999).

Concomitamment aux traitements administrés aux bovins en phase de tarissement ou en lactation, très souvent entrepris de manière anarchique, et à l'instar d'autres pays en voie de développement (Shitandi et Kihumbu, 2005), l'absence de programmes de contrôle des résidus d'antibiotiques dans le lait en Algérie est un véritable manque à combler. Cet état de fait, nous a incités à nous intéresser de plus près à ce problème de santé publique, l'intérêt étant d'évaluer la situation hygiénique et sanitaire du lait collecté, puis livré aux industries laitières par un important réseau de collecteurs en prenant soin de cibler une unité par région étudiée, toutes étant situées au centre du pays.

La qualité du lait des trois (deux étatiques et une privée) industries laitières de collecte et de transformation du lait en produits dérivés, localisées respectivement dans les wilayas d'Alger, de Boumerdes et de Blida, a été étudiée en réalisant une série d'analyses physico-chimiques (pH, acidité, densité, extrait sec total (EST) et dégraissé (ESD), taux butyreux (TB)) mais également en effectuant une recherche de résidus d'antibiotiques sur chaque lait réceptionné.

## 1. Résultat des analyses physico-chimiques du lait de collecte

Les résultats de l'analyse statistique ANOVA à un facteur ont montré un effet hautement significatif ( $p < 0,001$ ) de la région considérée sur l'acidité, la densité, le taux butyreux (TB) et l'extrait sec total (EST), à l'inverse du pH (Tableau 26).

**Tableau 26 :** Analyses physico-chimiques du lait de collecte en fonction de la région considérée.

Paramètres physico-chimiques		Alger	Blida	Boumerdes	P
pH	Moy.	6,7±0,11	6,6±0,09	6,5±0,13	NS
	Min.	6,4	6,4	6,2	
	Max.	7,2	6,8	6,9	
Acidité (°D)	Moy.	15,94±1,52 <sup>c</sup>	18,09±0,92 <sup>a</sup>	16,73±1,38 <sup>b</sup>	***
	Min.	10	16,5	14	
	Max.	21	21	21	
Densité	Moy.	1029,09±1,09 <sup>b</sup>	1030,59±0,91 <sup>a</sup>	1028,61±0,92 <sup>c</sup>	***
	Min.	1026,7	1028,4	1026	
	Max.	1031,8	1033,8	1031	
TB (g/L)	Moy.	32,96±3,11 <sup>b</sup>	35,25±4,10 <sup>a</sup>	31,92±2,62 <sup>c</sup>	***
	Min.	23	27	22	
	Max.	42	41,5	41	
EST (g/L)	Moy.	117,09±5,27 <sup>b</sup>	123,95±5,58 <sup>a</sup>	114,55±4,11 <sup>c</sup>	***
	Min.	105,56	108,09	103,69	
	Max.	129,81	133,48	126,49	

P : Probabilité ; <sup>NS</sup> :  $P > 0,05$  ; \* :  $P < 0,05$  ; \*\* :  $p < 0,01$  ; \*\*\* :  $p < 0,001$  ; Les valeurs avec des lettres différentes sur la même ligne sont significativement différentes entre elles ( $P < 0,05$ ), test de Duncan. La lettre « a » correspond à la moyenne ajustée la plus élevée. L'absence de lettres sur une même ligne indique une absence de différence significative.

### 1.1. acidité titrable et pH

Nous constatons à partir des résultats du tableau 26, qu'il existe une différence très hautement significative ( $p < 0,001$ ) de l'acidité du lait pour les unités d'Alger, Blida et Boumerdes, avec des valeurs respectives de 15,94±1,52°D, 18,09±0,92°D et de 16,73±1,38°D.

Les acidités du lait des unités d'Alger et de Boumerdes restent comprises dans l'intervalle usuellement recommandé (Alais, 1984; JORADP 1993), contrairement à celle de l'unité de Blida qui s'écarte légèrement de la valeur maximale admise (18°D). L'acidité, la plus élevée, enregistrée dans l'unité de Blida serait probablement due au fait que l'échantillonnage,

coïncidant avec la livraison, s'était déroulé durant la journée du Samedi, puisque les collecteurs avaient emmagasiné à leur niveau la collecte du Vendredi (considéré comme étant jour de repos hebdomadaire). Pour cette raison la valeur de l'acidité relevée à Blida dépassait légèrement la limite admise, et était due principalement à la dégradation microbienne du lactose en acide lactique (acidification lactique).

L'acidité titrable a montré des variations importantes des écart-types puisque des valeurs minimales respectives de l'ordre de 10°D, 16,5°D et 14°D avaient été enregistrées à Alger, Blida et Boumerdes, alors que des teneurs maximales de 21°D avaient été atteints pour l'ensemble des unités étudiées (Tableau 26). Ces cas de non-conformité ont d'ailleurs, constitué le premier motif de rejet de ces laits avec une part évaluée à 47,56 % pour l'ensemble des régions étudiées, la région d'Alger venant en tête (51,51 %), suivie de près dans cet ordre par Blida (50 %) et finalement par Boumerdes (36,84 %) (Figures 31-34).

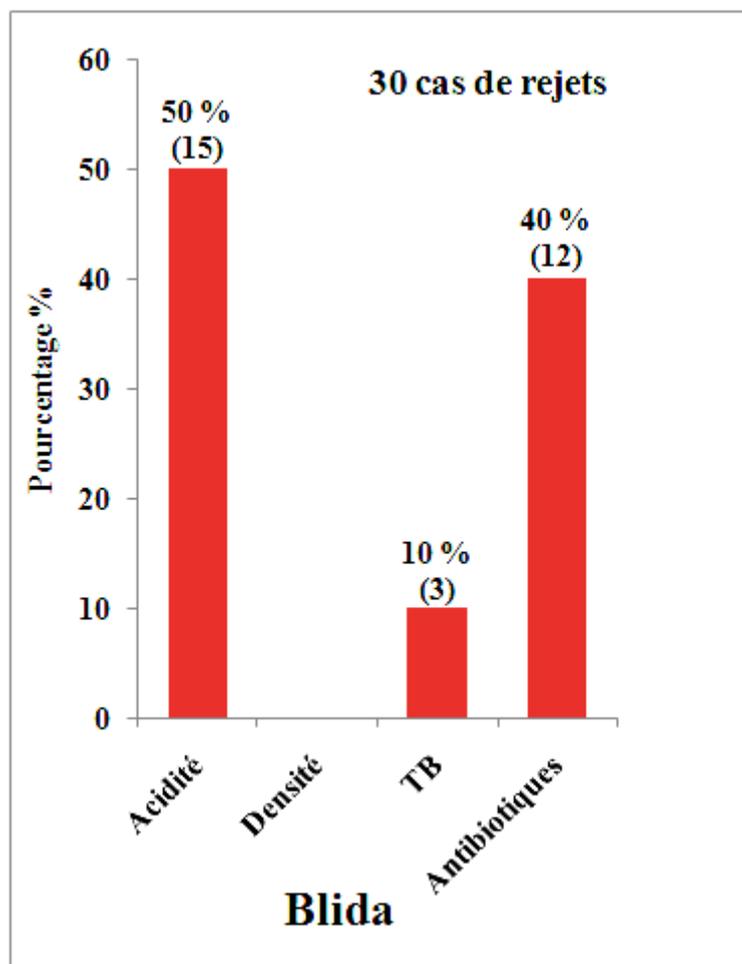


Figure 31 : Répartition des motifs de rejets du lait pour l'unité de Blida

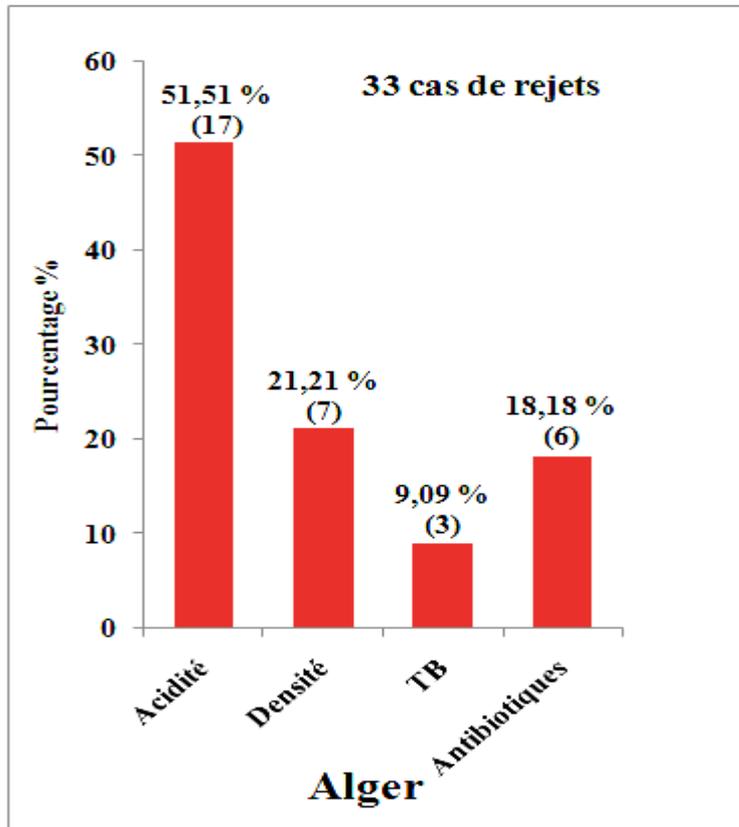


Figure 32 : Répartition des motifs de rejets du lait pour l'unité d'Alger

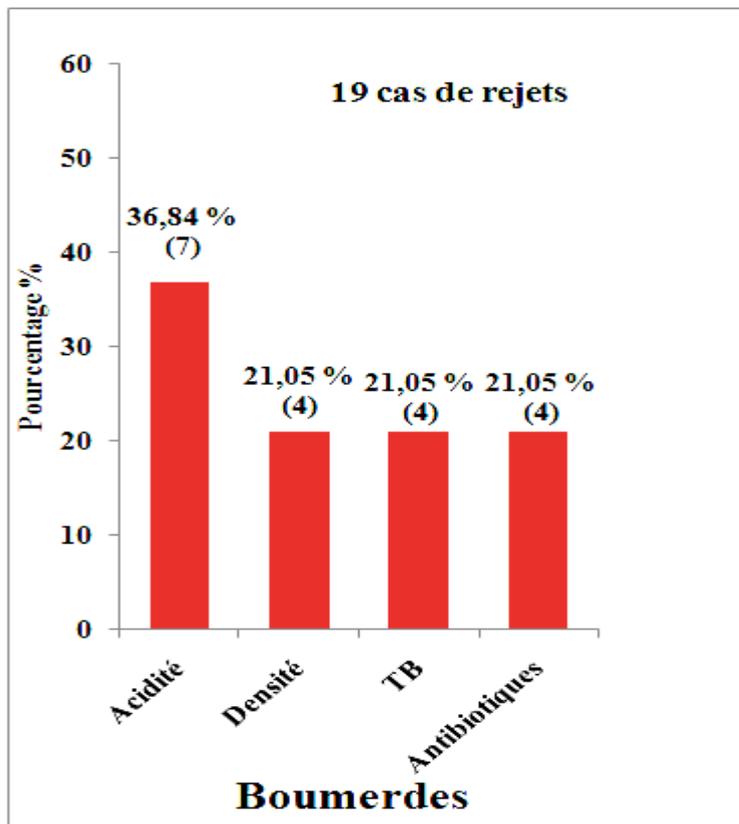
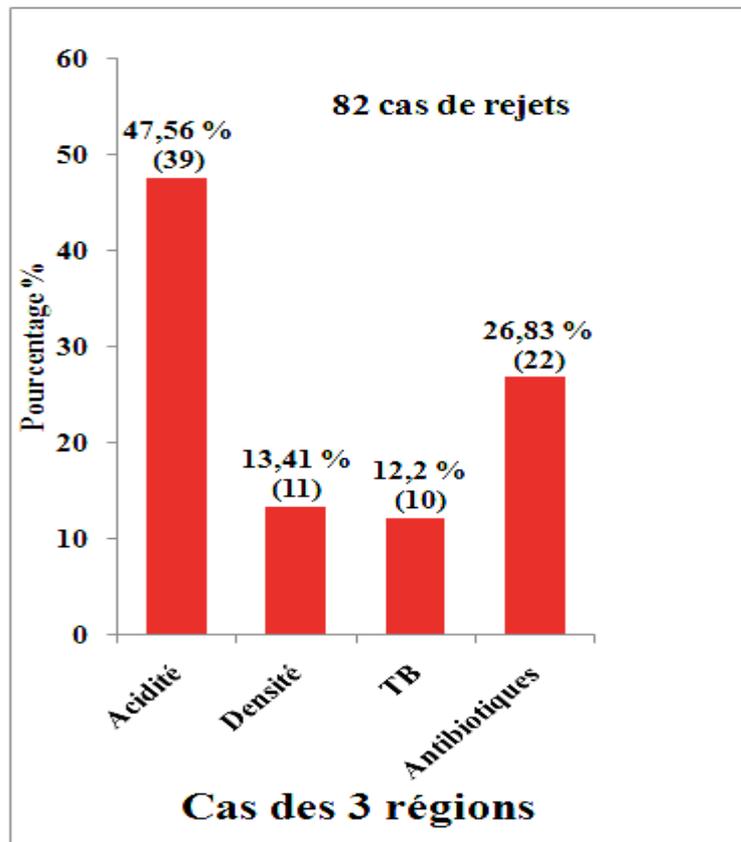


Figure 33 : Répartition des motifs de rejets du lait pour l'unité de Boumerdes



**Figure 34 :** Répartition des motifs de rejets du lait pour l'ensemble des trois unités

Par ailleurs, nous avons remarqué l'absence d'effet de la région considérée sur le pH, l'évolution restant plutôt stable dans l'intervalle (6,6-6,8) usuellement adopté.

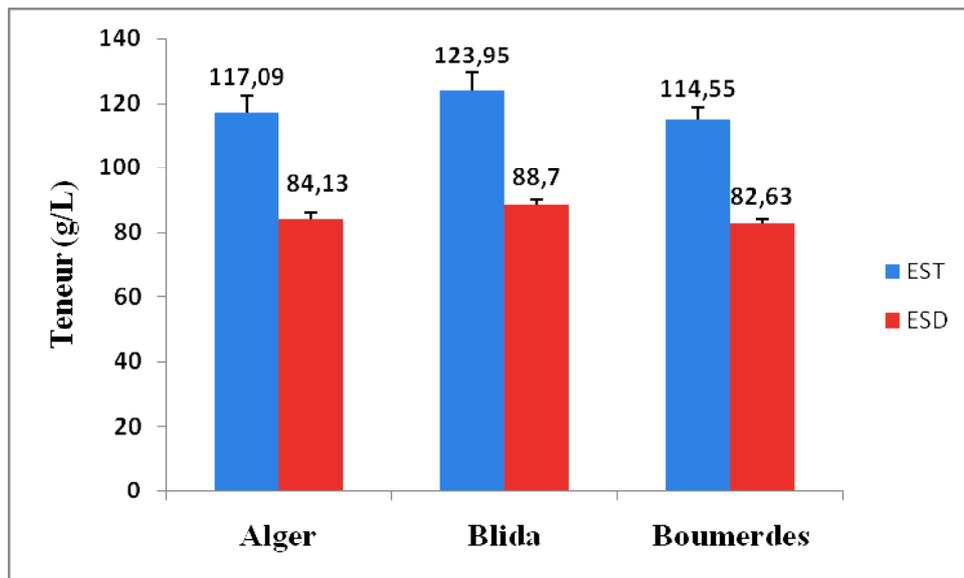
Néanmoins la laiterie de Boumerdes a enregistré une valeur moyenne de pH du lait autour de 6,56 soit légèrement en dehors de cet intervalle (Mathieu, 1998).

En associant le pH à l'acidité, nous constatons qu'une acidité comprise entre 15°D et 18°D (Alais, 1984) ne garantit pas l'état de fraîcheur d'un lait. En effet, bien que la teneur de l'acidité du lait (15°D à 18°D) de l'unité de Boumerdes soit comprise dans l'intervalle établi par Alais (1984), la valeur de son pH ( $6,5 \pm 0,13$ ) reste toutefois en dehors de l'intervalle (6,65– 6,85) préconisé par Mathieu (1998). Ce lait reste néanmoins acide et nous pousse à supposer qu'il connaît une altération par acidification à priori naturelle mais qui demeure au final apparente.

## 1.2. Extrait sec total et dégraissé

L'extrait sec total regroupe l'ensemble des substances présentes dans le lait à l'exclusion de l'eau.

La figure 35 présente les valeurs moyennes de l'extrait sec total (EST) et dégraissé (ESD) propres à chaque unité d'Alger, de Blida et de Boumerdes.



**Figure 35 :** Valeurs moyennes de l'extrait sec total et dégraissé pour chaque unité de transformation (Alger, Blida et Boumerdes).

La figure 35 et le tableau 26, montrent des teneurs en EST voisines ( $117,09 \pm 5,27$  g/L et  $114,55 \pm 4,11$  g/L respectivement) pour les unités d'Alger et de Boumerdes avec un écart non significatif ( $p > 0,05$ ) de 2,54 g/L. Ces valeurs ne rejoignent pas les données bibliographiques, à savoir l'intervalle de 125 - 130 g/L, établi par Mathieu (1998) ou encore la moyenne de (127 g/L) donnée par Alais (1984). L'unité de Blida présente quant à elle la plus grande teneur en EST ( $123,95 \pm 5,58$  g/L), pour un écart très hautement significatif ( $p < 0,001$ ) de +6,86 g/L et +9,4 g/L respectivement par rapport aux valeurs d'Alger et de Boumerdes. Si cette valeur ne s'aligne pas avec celles de la littérature citées précédemment, elle reste néanmoins pour cette unité, la plus proche comparativement aux deux autres. Pour Croguennec *et al.* (2008), l'augmentation ou la diminution de l'EST a une relation directe avec la variation du TP et du TB.

Par ailleurs, la teneur en ESD varie de manière très hautement significative ( $p < 0,001$ ) pour l'ensemble des unités, la plus grande valeur ( $88,7 \pm 1,48$  g/L) étant localisée à Blida, avec

respectivement des écarts de +4,57 g/L et +6,07 g/L par rapport aux unités d'Alger et de Boumerdes.

La valeur de l'ESD de l'unité de Blida ( $88,7 \pm 1,48$  g/L) est légèrement inférieure de celles de l'intervalle (90 - 96 g/L) adopté par la littérature (Mathieu, 1998). Par contre, à Alger et à Boumerdes, les teneurs estimées respectivement à  $84,13 \pm 2,16$  g/L et à  $82,63 \pm 1,49$  g/L restent largement inférieure à cet intervalle-témoin, ce qui laisse supposer que le lait a subi un mouillage (Latyrfall, 1997).

### 1.3. Densité

La densité du lait cru est comprise entre 1030 et 1033 (Alais, 1984). Un mouillage diminuerait cette dernière. Or, les résultats obtenus (Tableau 26) montrent que les valeurs de densité des laits des unités d'Alger et de Boumerdes sont respectivement inférieures à la densité minimale, de -0,91 et -1,39.

Les valeurs minimales (1026,0 et 1026,7) enregistrées respectivement au niveau des laiteries de Boumerdes et d'Alger ont constitué pour ces 2 pôles laitiers un motif de rejet estimé respectivement à 21,05 % et à 21,21% pour cause de mouillage, car considérée comme fraude (Figures 32-33).

### 1.4. Taux butyreux

La figure 36 reporte les valeurs moyennes des taux butyreux (TB) mesurés respectivement dans les unités d'Alger, de Blida et de Boumerdes.

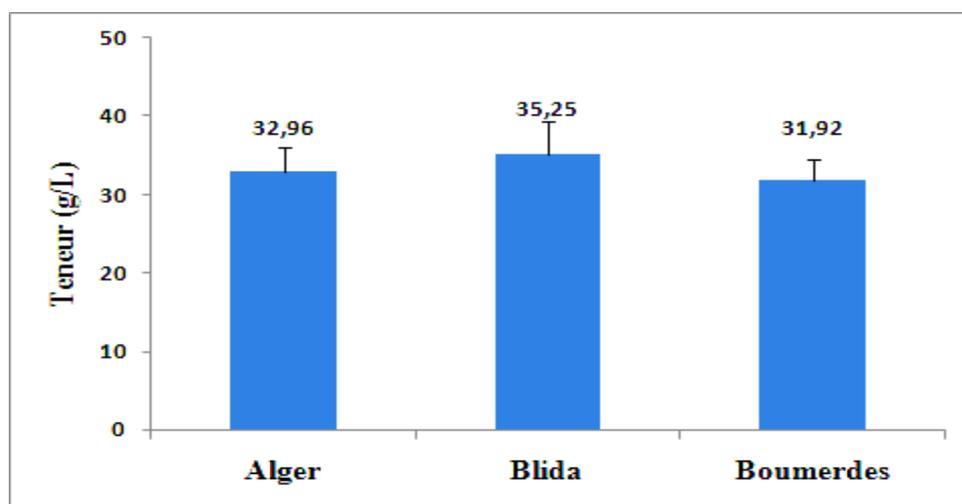


Figure 36 : Teneurs moyennes du taux butyreux du lait des 3 unités

Les valeurs du TB des unités d'Alger et de Boumerdes, sont d'un même ordre de grandeur ( $32,96 \pm 3,11$  g/L et  $31,92 \pm 2,62$  g/L respectivement) mais restent cependant largement en deçà de la moyenne (de 38 g/L) établie par Mathieu (1998), ou encore de celle (de 34 g/L) retenues par le JORADP (1993) ou Alais (1984). L'unité de Blida présente quant à elle de manière très hautement significative ( $p < 0,001$ ), la plus grande valeur du TB ( $35,25 \pm 4,10$  g/L), pour un écart estimé respectivement à  $+2,29$  g/L et  $+3,33$  g/L par rapport aux valeurs d'Alger et de Boumerdes. Pour cette unité blidéenne, cette valeur est certes inférieure à la moyenne ci-dessus préconisée par Mathieu (1998) mais répond à l'inverse à celle (de 34 g/L) établie par le JORADP (1993) et Alais (1984).

Cette différence de compositions en TB pourrait être imputable, d'une part, à des facteurs intrinsèques (race, individu et stade de lactation) et d'autre part à des facteurs extrinsèques (alimentation, saisons et conditions d'élevages) (Lemoine, 2010; Lock *et al.*, 2013).

Des teneurs minimales, basses, et en dessous de la norme ont été enregistrées pour les trois laiteries (Tableau 26), avec des cas d'écémages suspectés, motif de rejet estimé à 12,2 % pour les trois laiteries (Figure 34). Pour ce motif et par ordre décroissant celle de Boumerdes avait le plus grand pourcentage (21,05 %), suivie dans cet ordre par Blida (10 %) et Alger (9,10 %) (Figures 31-33).

## **2. Résultats de la recherche de résidus d'antibiotiques dans le lait de collecte**

La recherche d'une éventuelle présence de résidus d'antibiotiques à usage vétérinaire comprend en premier lieu un screening de chaque échantillon de lait réceptionné en laiterie. Cette analyse a été réalisée au moyen du test BetaStar<sup>®</sup> Combo (Neogen Corporation, Lansing, MI, USA) dans le but de détecter toute présence de résidus d'antibiotiques appartenant aux familles des  $\beta$ -lactames et/ou des tétracyclines. Les échantillons se révélant positifs aux  $\beta$ -lactames ont été par la suite analysés par Chromatographie Liquide couplée à la Spectrométrie de Masse en tandem (LC-MS/MS).

Au total, 274 échantillons de lait ont été analysés. Ceux-ci proviennent de la distribution effectuée par les collecteurs aux industries laitières. Le tableau 16, reporte la répartition des échantillons : 126 (Alger), 51 (Blida) et 97 (Boumerdes).

### 2.1.Cas de la laiterie COLAITAL de Birkhadem (Alger)

A partir de 186 fermes, le lait a été échantillonné grâce à un réseau de 15 collecteurs. Les résultats d'analyse des 126 échantillons issus de la collecte sont présentés dans le tableau 27. Grâce au test BetaStar<sup>®</sup> Combo, 6 échantillons se sont révélés uniquement positifs à des résidus de la famille des  $\beta$ -lactames (Tableau 27, Figure 37).

**Tableau 27** : Répartition du nombre de collecteurs, de fermes, et d'échantillons analysés au test BetaStar<sup>®</sup> Combo pour l'unité d'Alger.

Laiterie de la région d'Alger	COLAITAL Birkhadem
Nombre de collecteurs	15
Nombre de fermes affiliées	186
Nombre d'échantillons analysés	126 (100%)
Nombre d'échantillons négatifs au test BetaStar <sup>®</sup> Combo	120
Nombre d'échantillons positifs au test BetaStar <sup>®</sup> Combo	6 (4,76%)
$\beta$ -lactames	6
Tétracyclines	0



**Figure 37** : Exemple d'un échantillon de lait négatif au test d'antibiotique (à gauche) et positif à la famille des  $\beta$ -lactames (à droite) –photo personnelle-

## 2.2. Cas de la Fromagerie TLEMSANI AGRO (BLIDA)

Le lait a été échantillonné à partir d'un réseau de 6 collecteurs au cours de la tournée journalière des 38 fermes d'élevage. Les résultats d'analyse des 51 échantillons de lait collectés sont présentés dans le tableau 28. Ils ont permis de mettre en évidence la présence de 12 échantillons positifs au BetaStar<sup>®</sup> Combo; parmi ces derniers, 10 appartiennent à la famille des  $\beta$ -lactames, les 2 restants faisant partie de la famille des tétracyclines (Tableau 28, Figure 38).

**Tableau 28 :** Répartition du nombre de collecteurs, de fermes, et d'échantillons analysés au test BetaStar<sup>®</sup> Combo pour l'unité de Blida

Laiterie de la région de Blida	Fromagerie TLEMSANI AGRO
Nombre de collecteurs	6
Nombre de fermes affiliées	38
Nombre d'échantillons analysés	51 (100%)
Nombre d'échantillons négatifs au test BetaStar <sup>®</sup> Combo	39
Nombre d'échantillons positifs au test BetaStar <sup>®</sup> Combo	12 (23,53%)
$\beta$ -lactames	10
Tétracyclines	2



**Figure 38 :** Exemple d'échantillons de lait positifs à la famille des  $\beta$ -lactames (à gauche) et des tétracyclines (au milieu et à droite) –photo personnelle-

### 2.3.Cas de la Laiterie-Fromagerie de Boudouaou (wilaya de Boumerdes)

Le lait a été échantillonné à partir de la tournée effectuée par un réseau de 9 collecteurs auprès de 77 fermes. Les résultats d'analyse des 97 échantillons de lait collectés sont présentés dans le tableau 29. Ils ont permis de révéler 4 échantillons positifs au test BetaStar<sup>®</sup> Combo, appartenant tous à la famille des  $\beta$ -lactames (Tableau 29).

**Tableau 29** : Répartition du nombre de collecteurs, de fermes, et d'échantillons analysés au test BetaStar<sup>®</sup> Combo pour l'unité de Boumerdes.

Laiterie de la région de Boumerdes	Laiterie-Fromagerie de Boudouaou (LFB)
Nombre de collecteurs	9
Nombre de fermes affiliées	77
Nombre d'échantillons analysés	97 (100%)
Nombre d'échantillons négatifs au test BetaStar <sup>®</sup> Combo	93
Nombre d'échantillons positifs au test BetaStar <sup>®</sup> Combo	4 (4,12%)
$\beta$ -lactames	4
Tétracyclines	0

### 2.4.Analyse globale

Un total de 274 prélèvements de lait a donc été effectué durant cette étude, menée auprès de trois industries laitières de la région centre du pays (Alger, Blida, Boumerdes). Les collecteurs au nombre de 30 ont effectué des rotations auprès de 301 fermes d'élevage de bovins laitiers. Les résultats obtenus ont révélé la positivité de 22 échantillons au test BetaStar<sup>®</sup> Combo, parmi eux 20 appartenant à la famille des  $\beta$ -lactames, tandis que les 2 restants font partie de la famille des tétracyclines (Tableau 30).

**Tableau 30** : Répartition du nombre de collecteurs, de fermes, et d'échantillons analysés au test BetaStar<sup>®</sup> Combo au niveau des 3 établissements laitiers industriels

<b>Etablissements industriels</b>	<b>COLAITAL Birkhadem (Alger) Fromagerie Tlemsani Agro (Blida) LFB (Boumerdes)</b>
Nombre de collecteurs	30
Nombre de fermes affiliées	301
Nombre d'échantillons analysés	274 (100%)
Nombre d'échantillons négatifs au test	252
<b>BetaStar<sup>®</sup> Combo</b>	
Nombre d'échantillons positifs au test	22 (8,03%)
<b>BetaStar<sup>®</sup> Combo</b>	
β-lactames	20
Tétracyclines	2

Les résultats ont mis en évidence des cas de contamination du lait de collecte provenant de l'ensemble des unités étudiées (Alger, Blida et Boumerdes) par des résidus d'antibiotiques (β-lactames et/ou tétracyclines).

Sur 274 échantillons analysés, 22 se sont révélés positifs aux résidus d'antibiotiques (soit un taux de contamination de l'ordre de 8,03%) après avoir été testés par le BetaStar<sup>®</sup> Combo (Tableau 30).

De plus, parmi ces derniers, et uniquement à Blida, dix (10) l'ont été aux β-lactames et deux (2) seulement aux tétracyclines. Ainsi, ces résultats confirment le fait que l'usage des antibiotiques de la famille des pénicillines tient toujours une place prépondérante dans les pratiques thérapeutiques des vétérinaires en Algérie (Ouslimani, 2008; Ben-Mahdi et Ouslimani, 2009).

Ces résultats, dans leur globalité, avec un taux de prévalence de 8,03% d'échantillons positifs aux résidus d'antibiotiques, montrent que ce taux est légèrement supérieur à ceux obtenus dans d'autres travaux réalisés en Algérie, et notamment à celui de Tarzaali (2009) qui a estimé la moyenne de positivité avérée du lait aux résidus d'antibiotiques par le Delvotest SP<sup>®</sup> à 5,09% dans trois wilayas du pays (Alger, Blida et Tipaza). Certains travaux (Shata *et al.*, 2015) ont toutefois, révélé que la sensibilité de ce dernier pour les substances antibiotiques est élevée à l'inverse de sa sélectivité. D'autres auteurs (Layada *et al.*, 2016) ont reporté un nombre élevé de faux négatifs, lors de l'utilisation de cet instrument qui nécessite

de surcroît une période d'incubation de trois heures avant d'effectuer la lecture du résultat, alors que seulement 5 minutes sont nécessaires pour le BetaStar Combo<sup>®</sup> pourvu d'une haute sélectivité. Aussi, la plus importante fonctionnalité du BetaStar Combo<sup>®</sup> est sa capacité de différencier les antibiotiques  $\beta$ -lactames et tétracyclines, alors que le Delvotest SP n'indique que la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait sans pouvoir préciser leur nature spécifique (Ghidni *et al.*, 2002; Shata *et al.*, 2015).

D'autres travaux réalisés dans le pays, notamment par Ben-Mahdi et Ouslimani en 2009, ont évalué à 9,6% le nombre de cas positifs aux résidus d'antibiotiques, taux avoisinant le nôtre, même si le nombre d'échantillons était relativement plus important (760).

Cependant, les résultats rapportés dans la présente étude sont nettement inférieurs à ceux d'autres travaux, où selon Tarzaali *et al.* (2008), sur 110 échantillons de lait provenant de l'unité de Beni-Tamou de Blida, 65,46% d'entre eux se sont révélés positif aux bêta-lactamines. Aggad *et al.* (2009) ont étudié les qualités hygiénique et sanitaire de 17 échantillons de lait acheminé via un réseau de collecte destiné à une laiterie de l'ouest Algériens, et ont évalué à 29,4% le taux de contamination du lait par des résidus d'antibiotiques. Pour leur part, Titouche *et al.* (2013), ont estimé à 46,78% la proportion de laits positifs aux résidus d'antibiotiques dans la région de Tizi-Ouzou, alors que des valeurs moyennes de l'ordre de 35% avaient été trouvées par Adjlane-Kaouche *et al.* (2014) dans d'autres régions du centre-nord du pays. Pour sa part Layada *et al.* (2016) ont évalué à 65,46% la proportion de laits positifs dans la région de Guelma. Ces travaux ont ainsi mis en évidence des valeurs bien supérieures à nos présents résultats.

Comparativement à nos résultats, d'autres pays en voie de développement ont également rapporté des proportions élevées de laits révélés positifs aux résidus d'antibiotiques : le Burkina Faso (51,72%) (Bagré *et al.*, 2015), le Nigéria (40,8%) (Olatoye *et al.*, 2016), le Ghana (35,5%) (Aning *et al.*, 2007), le Kenya (14,9-31,4%) (Shitandi et Sternesjö, 2001; Kang'ethe *et al.*, 2005; Orwa *et al.*, 2017), le Mali (16,70%) (Bonhofoh *et al.*, 2002) et la Tanzanie (36%) (Kurwijila *et al.*, 2006). Au Pakistan, Khasheli *et al.* (2008) ont pour leur part évalué à 36,50% la proportion de laits positifs aux  $\beta$ -lactames.

L'étude des proportions affichées par les unités d'Alger et de Boumerdes, révèle que les taux de positivité, respectivement de l'ordre de 4,76% et de 4,12% seulement, est donc proches de certaines teneurs trouvées en Europe, notamment en Croatie, où sur 1259 échantillons de lait analysés, seulement 3% de cas étaient positifs au Delvotest SP (Bilandžić *et al.*, 2011). Ces résultats montrent donc une maîtrise assez satisfaisante des conditions d'élevages, de traite et de collectes par les éleveurs et les collecteurs dans ces deux régions. Cette démarche est

renforcée par la mise en place depuis plusieurs années d'un plan de surveillance des résidus d'antibiotiques sur tout lait réceptionné au niveau des deux laiteries de la région (Alger et Boumerdes). Nos résultats sont confortés par ceux rapportés par Ben-Mahdi et Ouslimani (2009), qui n'ont répertorié aucune présence de résidus d'antibiotiques dans le lait individuel collecté en provenance de certaines fermes de la wilaya d'Alger. Toutefois ces auteurs, ont évalué à 12,5% le taux de contamination du lait par les résidus d'antibiotiques à partir des exploitations situées dans la wilaya de Boumerdes. Cette proportion plus élevée, relativement à celle de notre étude, s'expliquerait par le fait que ces auteurs ont analysé le lait individuel de la vache, tandis que notre lait provenait de la collecte de plusieurs fermes pouvant renfermer des résidus d'antibiotiques en proportion « diluée » en raison des volumes additionnés.

L'absence observée de résidus de tétracyclines a été mentionnée dans des travaux effectués dans certaines régions d'Iran où sur 67 échantillons de lait de tank analysés en 2012, aucun n'avait présenté de résidus concernant cette famille d'antibiotiques (Mokhtari *et al.*, 2013).

Selon Tarzaali *et al.* (2008), 89,09% du lait analysé provenant de la laiterie de Béni-Tamou de Blida était positif aux tétracyclines. Ce résultat serait lié à un usage excessif et mal entrepris de cette molécule par les praticiens et/ou les éleveurs de cette localité. Il est à signaler que l'ensemble des échantillons positifs aux tétracyclines répertoriés dans notre travail (2 cas) ont été localisés dans la région de Blida, où avait été enregistré un pourcentage global de 23,53% d'échantillons positifs aux antibiotiques.

Cette proportion, jugée plutôt élevée par rapport aux unités d'Alger et de Boumerdes, s'expliquerait par la toute récente mise en place d'un dispositif de surveillance de résidus d'antibiotiques au niveau du laboratoire de la fromagerie TLEMSANI Agro, et ce grâce à l'acquisition en début d'année 2016 de l'équipement BetaStar<sup>®</sup> Combo, qui a permis d'examiner à compter de cette date toute livraison effectuée par camion citerne. Ainsi il est à constater, qu'aussi bien les éleveurs que les collecteurs n'ont pas encore suffisamment adopté les bonnes pratiques de gestion d'élevage afin d'éviter que le lait d'une vache sous traitement ou qu'une ferme présentant un tank contaminé ne soit collecté et contamine ainsi citerne et le réseau de collecte.

Le fait qu'un lait collecté se révèle être positif aux résidus d'antibiotiques, laisse supposer non seulement qu'une ou plusieurs erreurs aient été commises en amont par l'éleveur ou le collecteur, en raison d'une mauvaise utilisation des médicaments ou du non respect du délai d'attente qui sont le résultat d'une méconnaissance du sujet par manque de sensibilisation de la part du vétérinaire, ou pour être carrément ignorée de manière délibérée par

l'éleveur (Tarzaali, 2009; Fabre *et al.*, 2010). Le traitement des mammites est la principale cause de contamination du lait par des résidus d'antibiotiques (Brouillet, 1994; Fabre *et al.*, 1996; Mitchell *et al.*, 1998; Federicci-Mathieu, 2000; Le Poutre et Petit, 2000; Titouche *et al.*, 2013). Cette prescription serait considérée comme la première raison d'utilisation des antibiotiques en thérapeutique vétérinaire, avec un traitement au tarissement à l'origine de 20% de détection de résidus inhibiteurs dans le lait livré aux laiteries, contre 50% pour le traitement des mammites cliniques en lactation (Sérieys, 2003). S'il faut en plus tenir compte de l'importance des doses administrées à une vache, il n'est ainsi pas étonnant de constater qu'incorporer le lait d'une vache traitée peut rendre positive une analyse d'une citerne de stockage de 50 000 à 100 000 litres de lait (Brouillet, 2002).

Les absences ou mauvais marquages d'animaux en cours de traitement, peuvent être une autre cause qui conduirait à la présence d'une vache sous traitement en salle de traite. Le manque ou l'absence de rinçage de la griffe provenant d'une vache sous traitement médicamenteux pourrait être également une autre source de contamination. Le fait de ne pas respecter certaines consignes simples comme séparer et traire les animaux en délai d'attente en dernier, pourrait contribuer à augmenter le risque que le lait d'un animal sous traitement se retrouve mélangé avec ceux d'animaux sains et ainsi contribuer à contaminer le tank de la ferme et par ricochet la citerne de tout le camion du collecteur (Fabre *et al.*, 2010).

Le lait cru produit localement en Algérie est distribué à travers deux circuits, à savoir :

-le circuit de collecte qui représente l'essentiel de la production nationale : le lait dans ce cas a pour origine les élevages agréés subissant un contrôle sanitaire régulier. Ce lait est destiné aux industries laitières où il est pasteurisé ou transformé;

-le circuit informel constitué souvent par les élevages de petite taille et/ou non agréés échappant à tout contrôle sanitaire. Ce lait est destiné aux crémeries, à l'autoconsommation familiale ou à la vente aux abords de la route au mépris des règles élémentaires d'hygiène. Ce circuit occupe une place importante, puisqu'environ 80% du lait produit échappe au traitement industriel (Bencharif, 2001; Tarzaali, 2009; Srairi, 2013).

A ce jour, il n'existe malheureusement pas en Algérie, une législation contraignante (pénalités, destruction de laits positifs) obligeant par exemple les collecteurs à contrôler chaque citerne ou tank de ferme avant une livraison aux industries laitières. En effet, peu de collecteurs effectuent régulièrement un contrôle antibiotique avant le ramassage des laits au niveau de chaque ferme, en raison de l'absence d'une législation claire dans ce sens, tout comme il n'y a pas de mesures de sanctions contre les éleveurs qui insidieusement mettent en

vente un lait provenant à la fois d'un mélange de vaches saines et d'autres sous traitements antibiotiques compromettant ainsi tout le volume de lait du camion citerne du collecteur et par conséquent la santé du consommateur.

Pour les industries laitières étatiques comme celle de la LFB (wilaya de Boumerdes) ou de COLAITAL de Birkhadem (wilaya d'Alger), il est interdit de livrer tout lait se révélant être positif au test antibiotique.

Les textes législatifs algériens stipulaient que le lait destiné à la consommation humaine ne devait contenir aucune substance antibiotique (JORADP, 1993). Ces textes ont par la suite évolué pour introduire la notion de Limites Maximales de Résidus (LMRs) mais sans spécifications précises (JORADP, 2014). Les textes réglementaires fixant soit les modalités de recherche des résidus d'antibiotiques sur le terrain, soit les LMRs par molécules et par denrée alimentaire n'existent malheureusement pas encore en Algérie. Le test BetaStar<sup>®</sup> Combo utilisé lors de cette étude a permis la détection de résidus d'antibiotiques appartenant aux familles  $\beta$ -lactames et tétracyclines pour des teneurs proches des LMRs, préalablement fixées par la Commission Européenne (CE, 2010; Neogen, 2012; CAC/MRL 2, 2015; Layada *et al.*, 2016).

### 3. Identification des molécules d'antibiotiques détectées au BetaStar<sup>®</sup> Combo

L'analyse des 20 échantillons, positifs aux  $\beta$ -lactames, par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) dans le mode d'ionisation par électrospray (ESI) avec utilisation de standards, a permis d'identifier chaque composé.

La généralisation de l'utilisation de l'analyse en triple quadripôle est principalement due à sa performance opérationnelle plus facile, à une meilleure robustesse pour l'analyse de routine et à un coût relativement faible (Marazuela et Bogialli, 2013).

L'identification d'un échantillon positif aux résidus d'antibiotiques est établie conformément aux critères établis dans la décision de la Commission Européenne 2002/657/CE (CE, 2002) lorsque le rapport du temps de rétention relatif ( $T_R$ ) de l'analyte dans l'échantillon à celui dissous dans la solution standard est de l'ordre de  $\pm 2,5\%$  de tolérance. Les deux mesures de réactions sélectionnées (*Selected Reaction Monitoring*, SRM) pour l'analyte (Tableau 31) doivent être présentes dans l'échantillon (dans un ratio d'ions correct et un rapport signal/bruit  $>3$ ). Le rapport d'intensité des deux transitions MS/MS (quantificateur et

qualificateur) correspond à celui obtenu en utilisant des échantillons « blancs » enrichis dans le domaine de la tolérance définie (Dasenaki et Thomaidis, 2015).

**Tableau 31 :** Paramètres SRM et temps de rétention relatifs ( $T_R$ ) de diverses molécules antibiotiques sous les conditions d'expérimentation.

Composés	Ion précurseur (m/z)	Ions produits (m/z) transition 1	CE (eV)	Ions produits (m/z) transition 2	CE (eV)	S-lens	$T_R$ (min)
Pénicilline G (M)	308,8	173,8	16	127,9	26	93	9,99
Pénicilline V (M)	324,8	173,7	16	127,9	26	86	10,81
Ampicilline	349,9	173,8	17	106,0	25	89	8,18
Amoxicilline	365,8	348,3	9	113,8	20	77	6,56
Oxacilline (M)	375,8	173,7	18	143,8	31	97	10,75
Cloxacilline (M)	409,8	177,6	32	173,6	19	80	10,95
Dicloxacilline (M)	443,7	211,4	33	127,9	29	115	11,63
Céfalexine	347,9	173,8	14	157,9	5	84	7,58
Céfadroxil	363,9	133,9	29	113,9	18	77	6,63
Céfaclor	367,8	173,8	15	106	27	93	7,93
Céfapirine	423,8	291,5	14	151,8	23	85	6,85
Céfazoline	454,8	322,5	10	155,8	17	80	8,41
Céfalonium	458,9	336,6	10	151,7	20	73	7,74
Ceftiofur	523,8	241,0	25	165,9	31	97	9,56
Cefquinome	529,0	395,8	12	133,9	15	89	6,93
Cefopérazone	645,9	529,3	12	142,7	32	90	8,49
Pénicilline G	335,1	176,1	15	160,0	10	87	10,92
Pénicilline V	351,2	160,0	11	114,1	31	64	11,46
Oxacilline	402,1	242,9	13	114,1	32	65	11,40
Cloxacilline	436,2	276,7	13	114,0	33	84	11,47
Dicloxacilline	470,1	310,8	15	114,0	33	101	12,01

S-lens : lentilles

Les résultats préliminaires obtenus ont ainsi fait ressortir que la cloxacilline et la pénicilline G avec leurs métabolites de dégradation étaient les principales molécules thérapeutiques en médecine vétérinaire impliquées dans la contamination du lait des 3 unités étudiées (Figures 39-46).

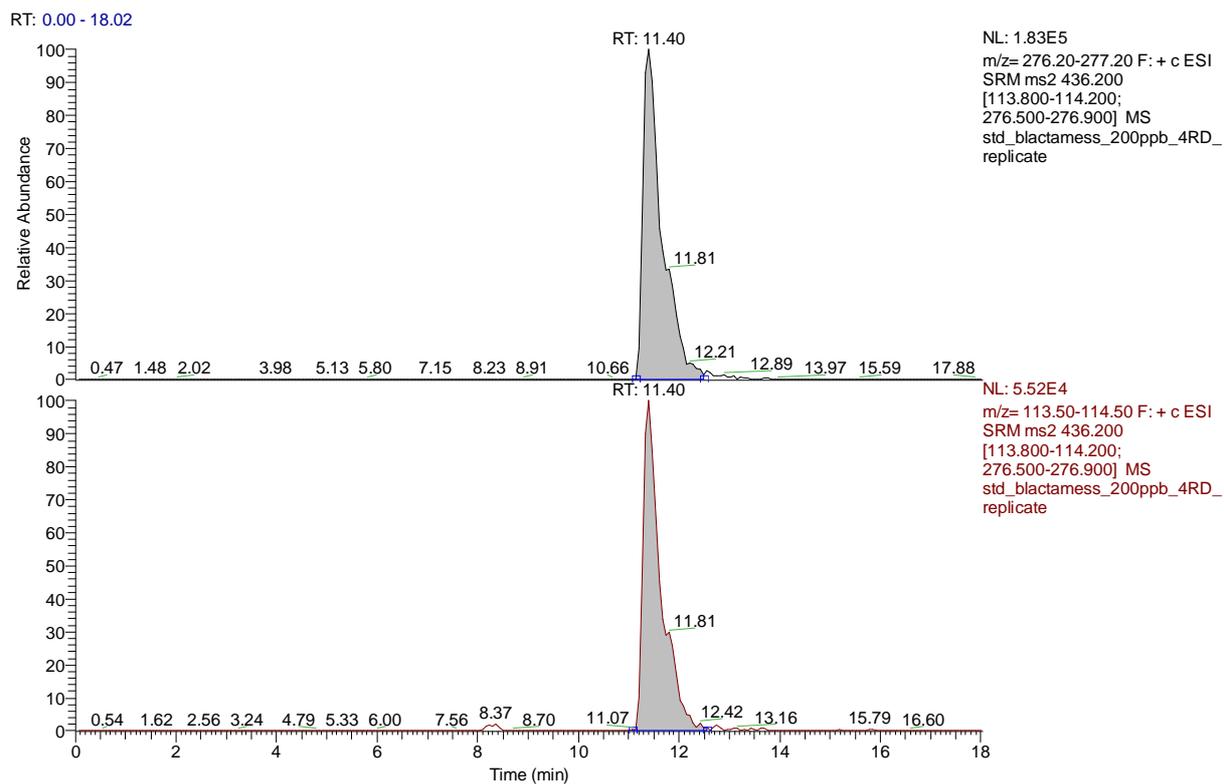


Figure 39 : Chromatogramme du standard de la cloxacilline.

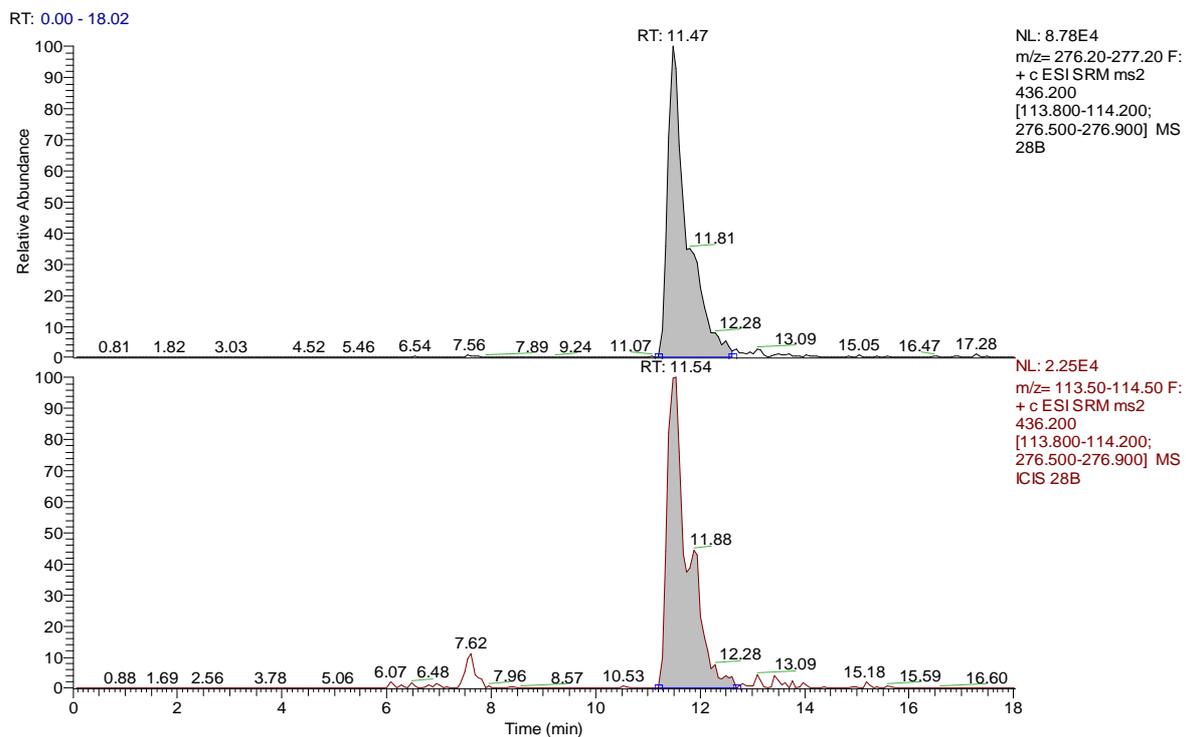
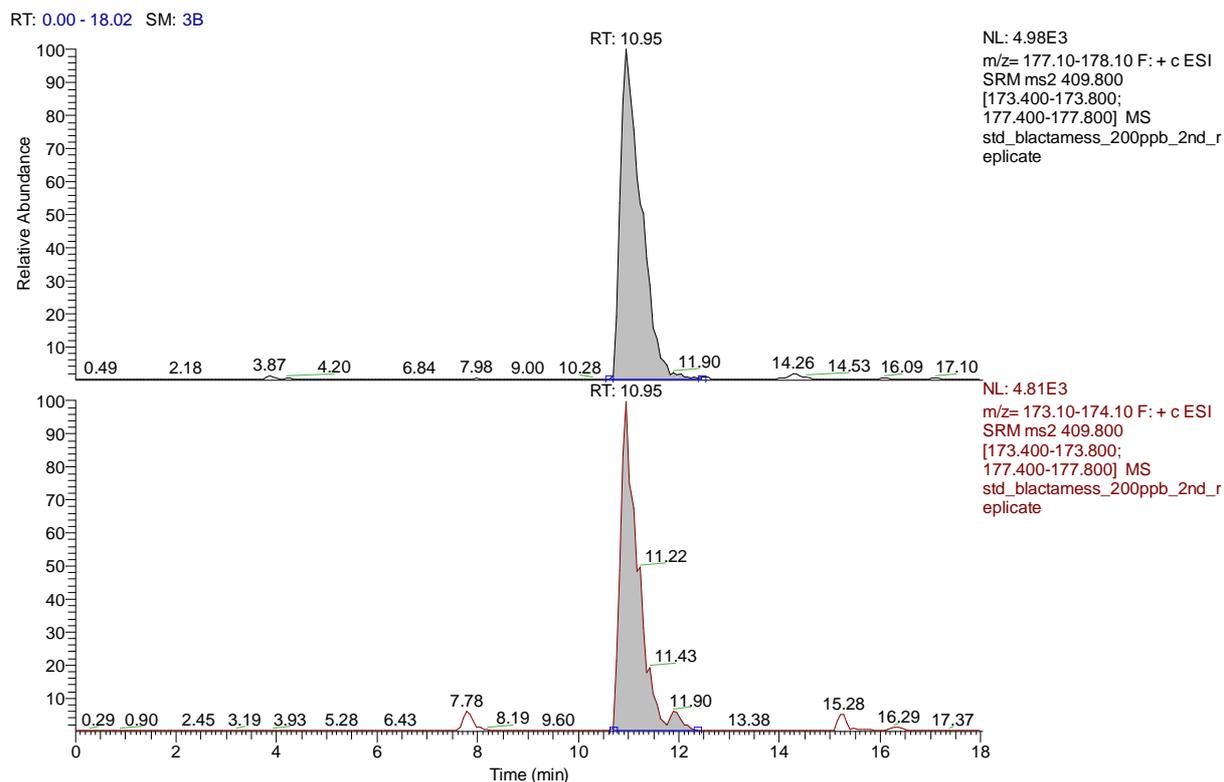
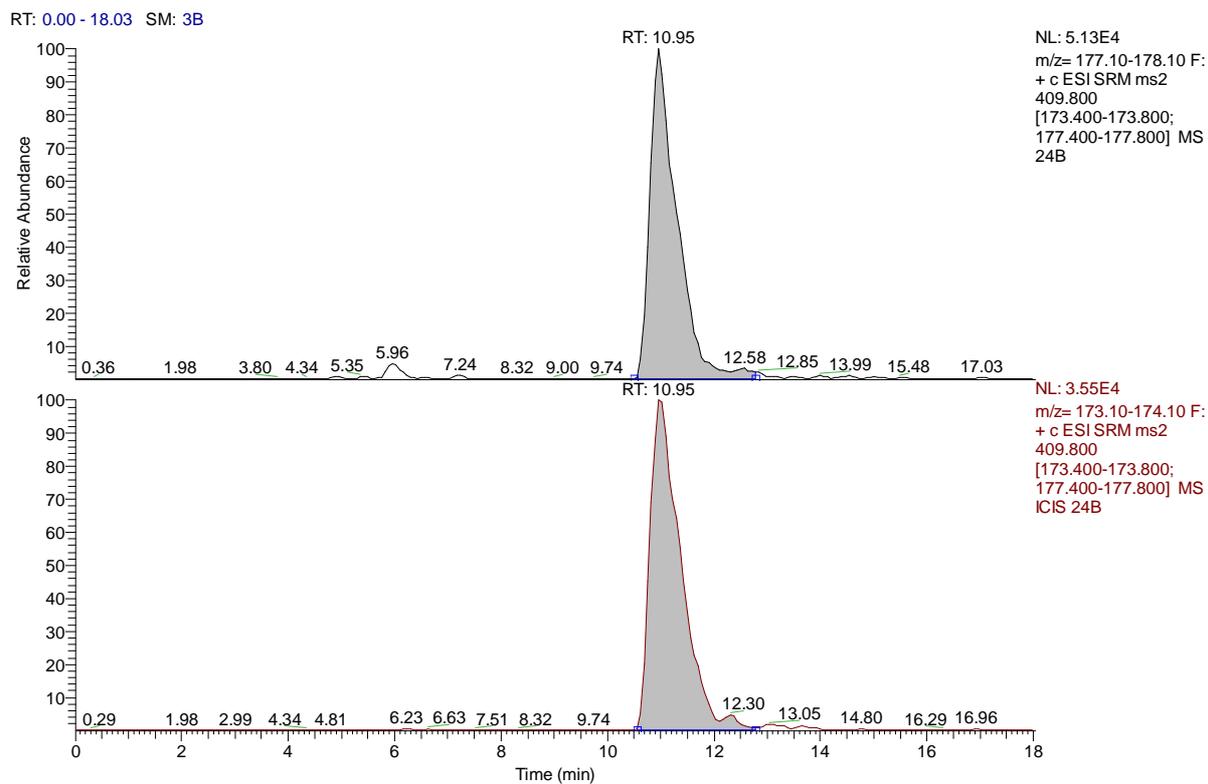


Figure 40 : Chromatogramme de la cloxacilline détectée dans l'échantillon de lait (E<sub>1</sub>) positif réceptionné à l'unité de Blida.



**Figure 41 :** Chromatogramme du standard de la cloxacilline sous forme de métabolites.



**Figure 42 :** Chromatogramme de la cloxacilline sous forme de métabolites détectée dans un échantillon de lait positif (E<sub>2</sub>) réceptionné à l'unité COLAITAL d'Alger.

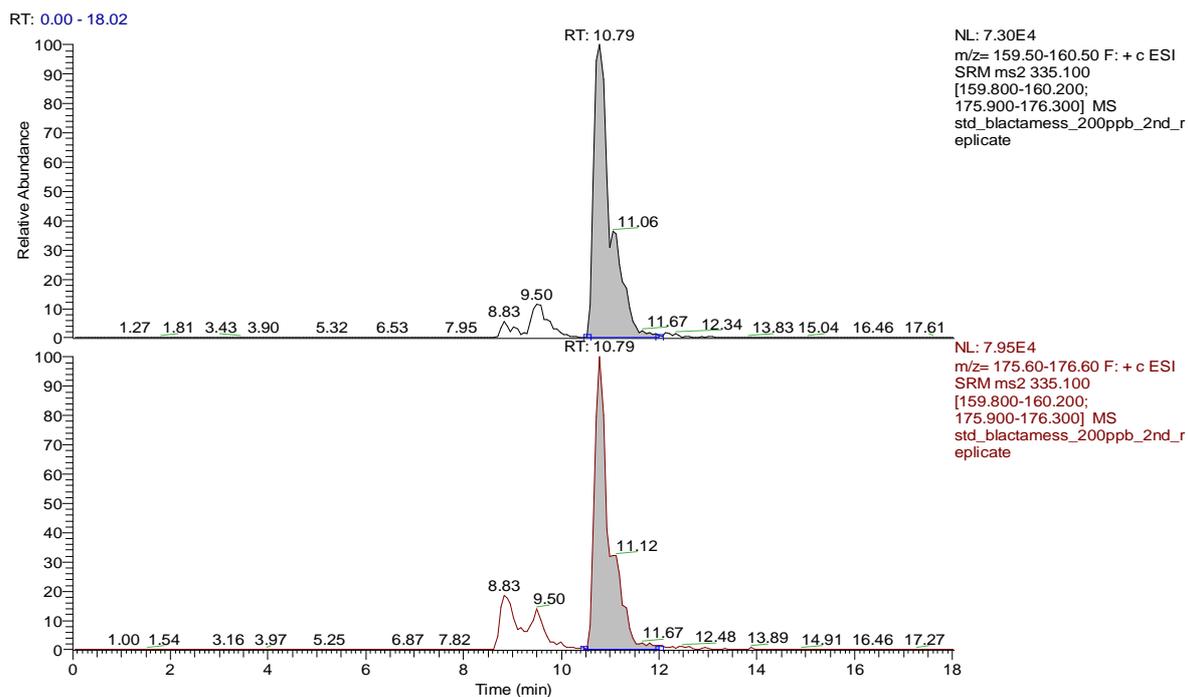


Figure 43 : Chromatogramme du standard de la pénicilline G.

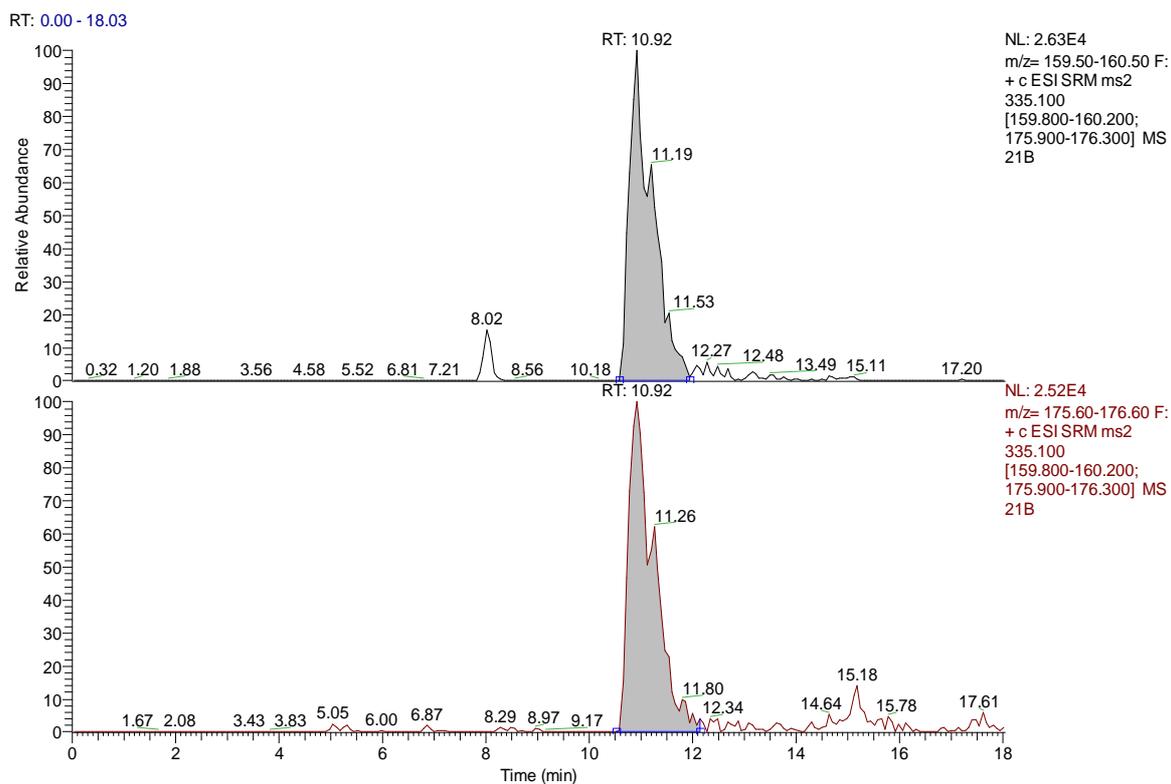
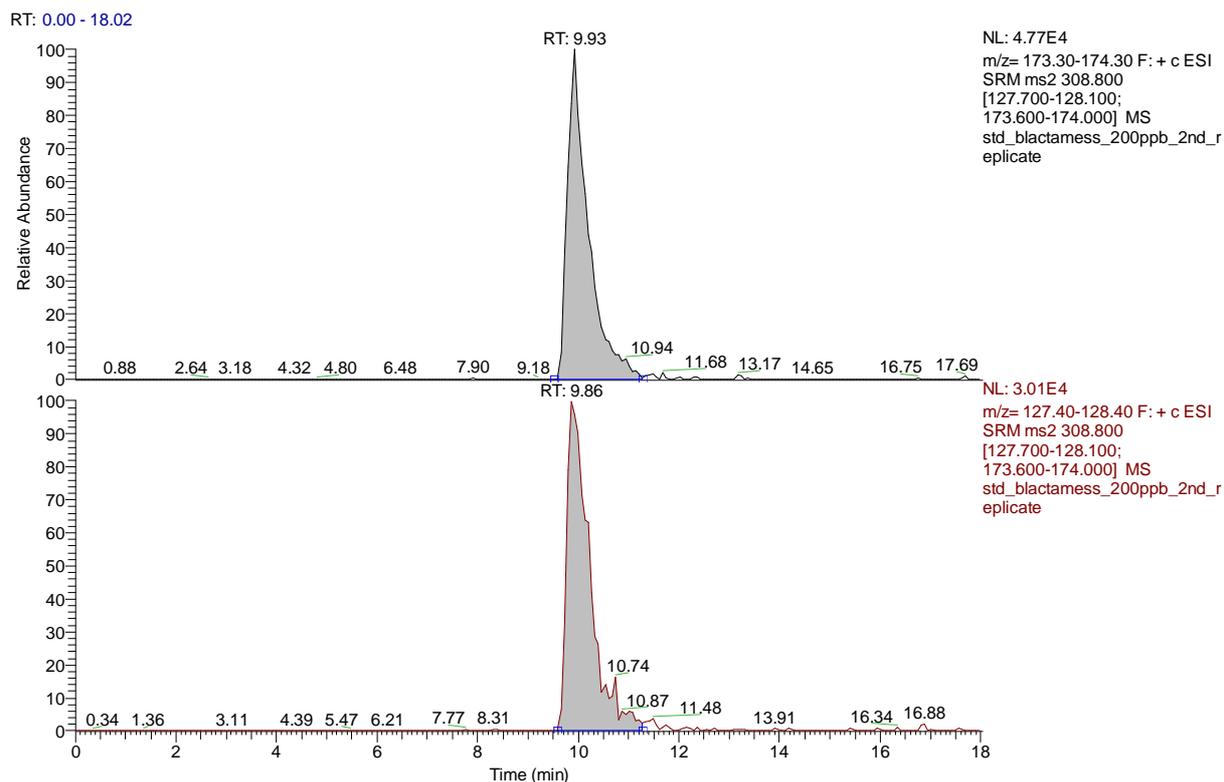
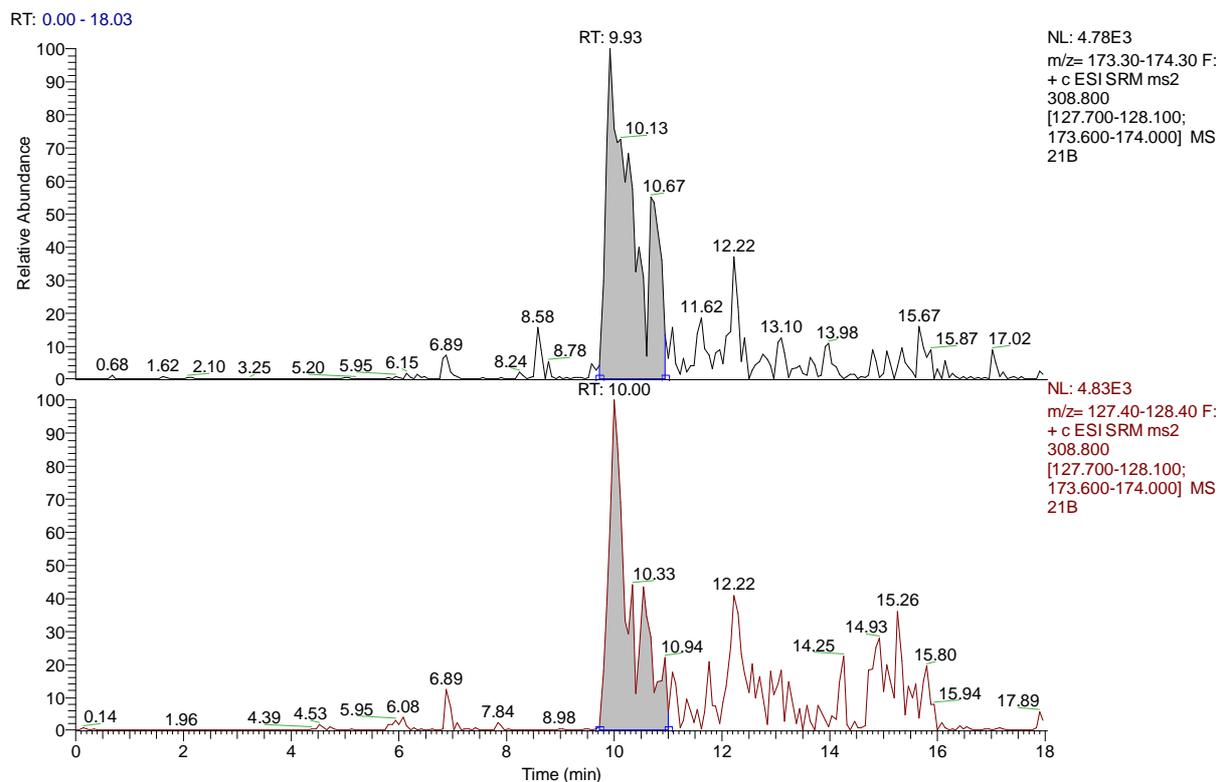


Figure 44 : Chromatogramme de la pénicilline G détectée dans un échantillon de lait positif (E<sub>1</sub>) réceptionné à l'unité COLAITAL d'Alger.



**Figure 45 :** Chromatogramme du standard de la pénicilline G sous forme de métabolites.



**Figure 46 :** Chromatogramme de la pénicilline G sous forme de métabolites détectée dans un échantillon de lait positif (E<sub>1</sub>) réceptionné à l'unité COLAITAL d'Alger.

D'autres molécules, comme la cefopérazone, l'ampicilline, le céfador, l'oxacilline, la dicloxacilline et leurs métabolites de dégradation (Figures 47-54 et Tableau 32) ont également été décelées dans une moindre mesure dans les échantillons analysés.

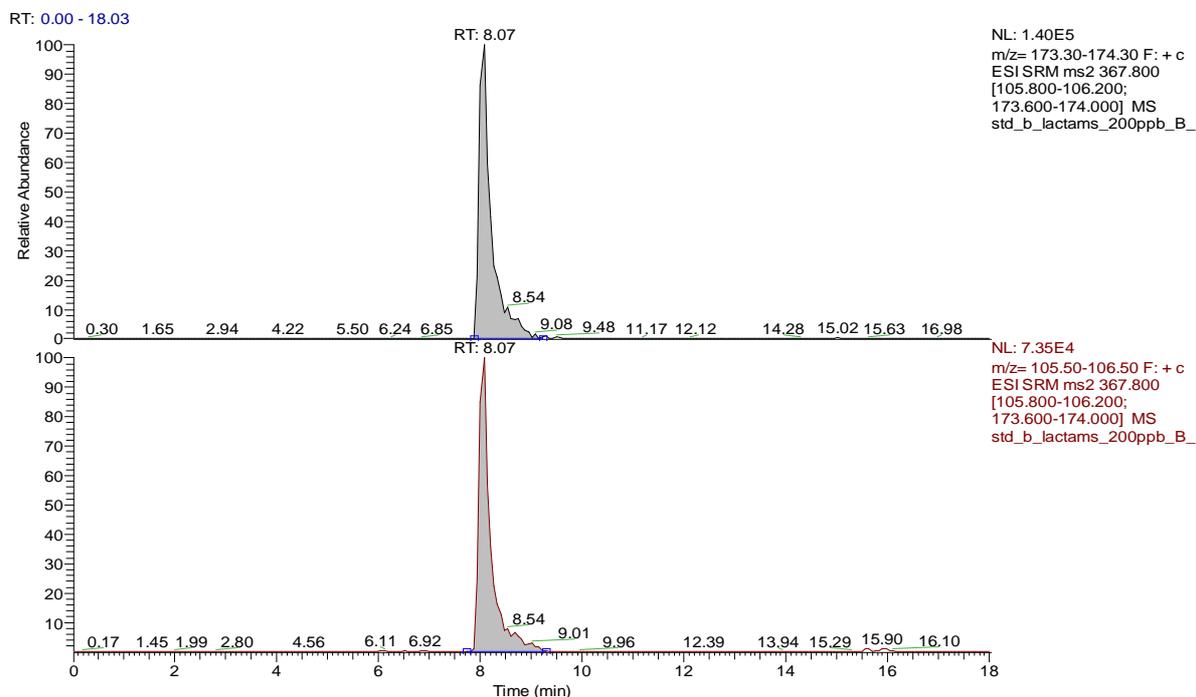


Figure 47 : Chromatogramme du standard de céfador.

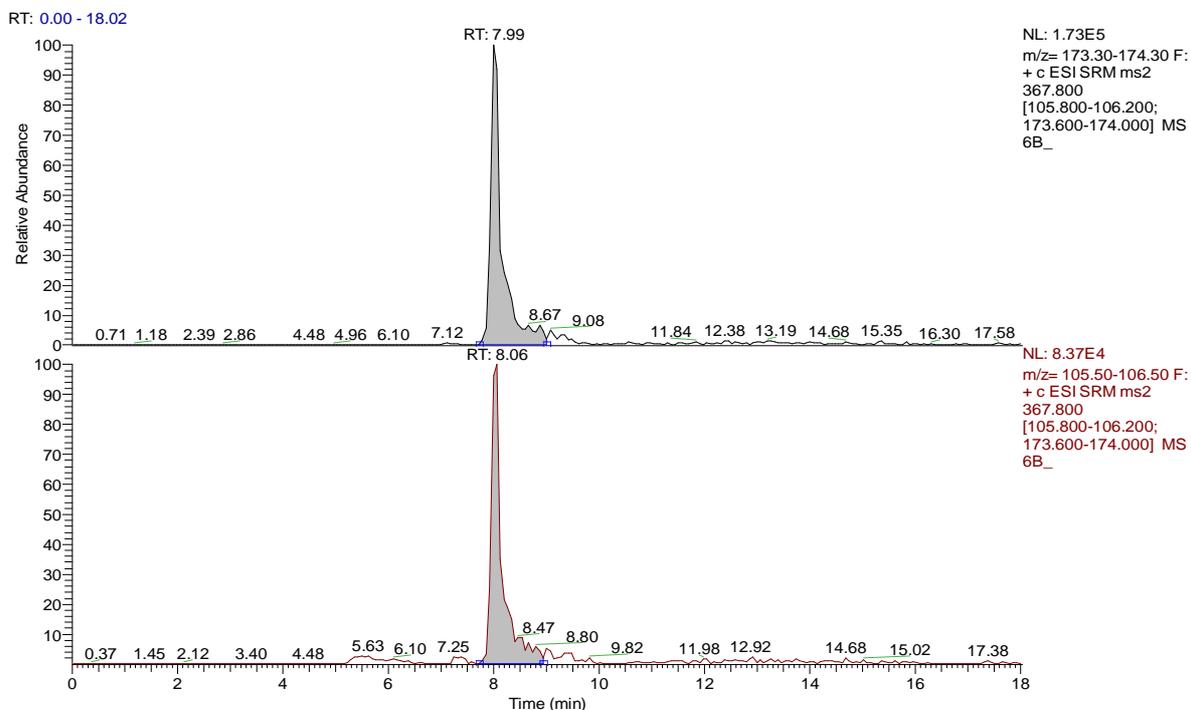
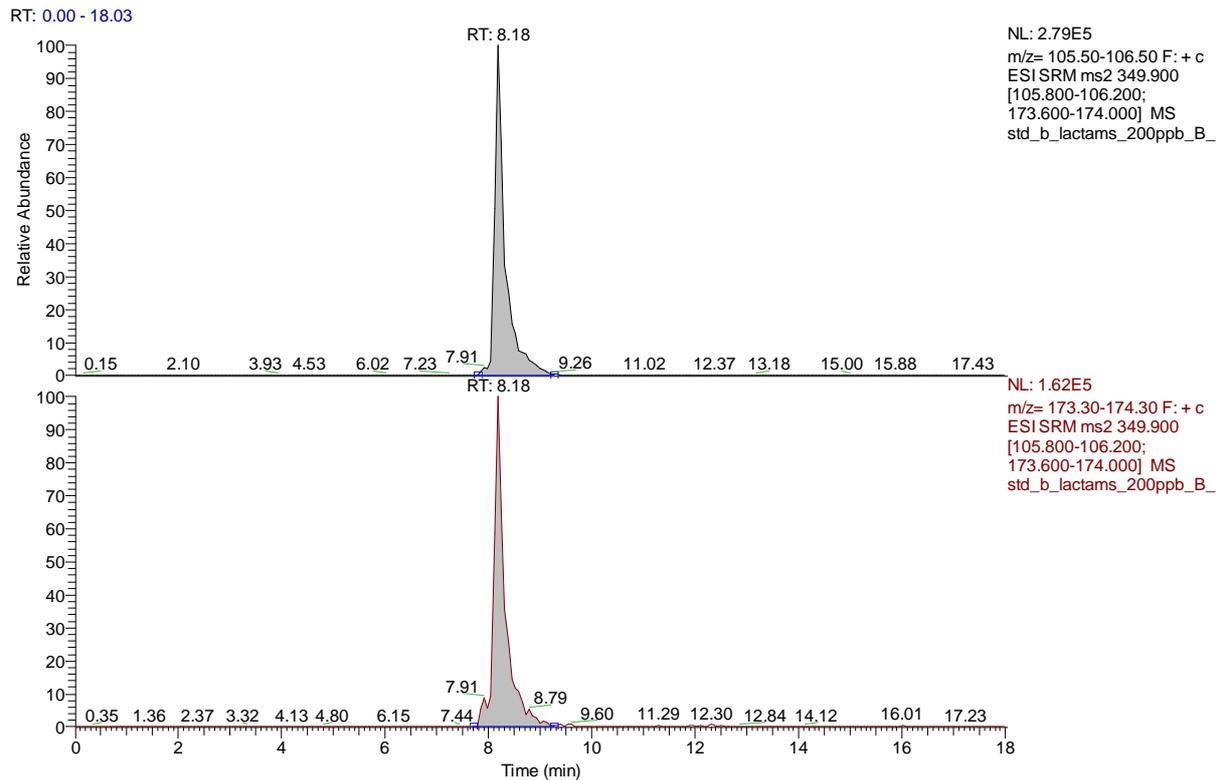
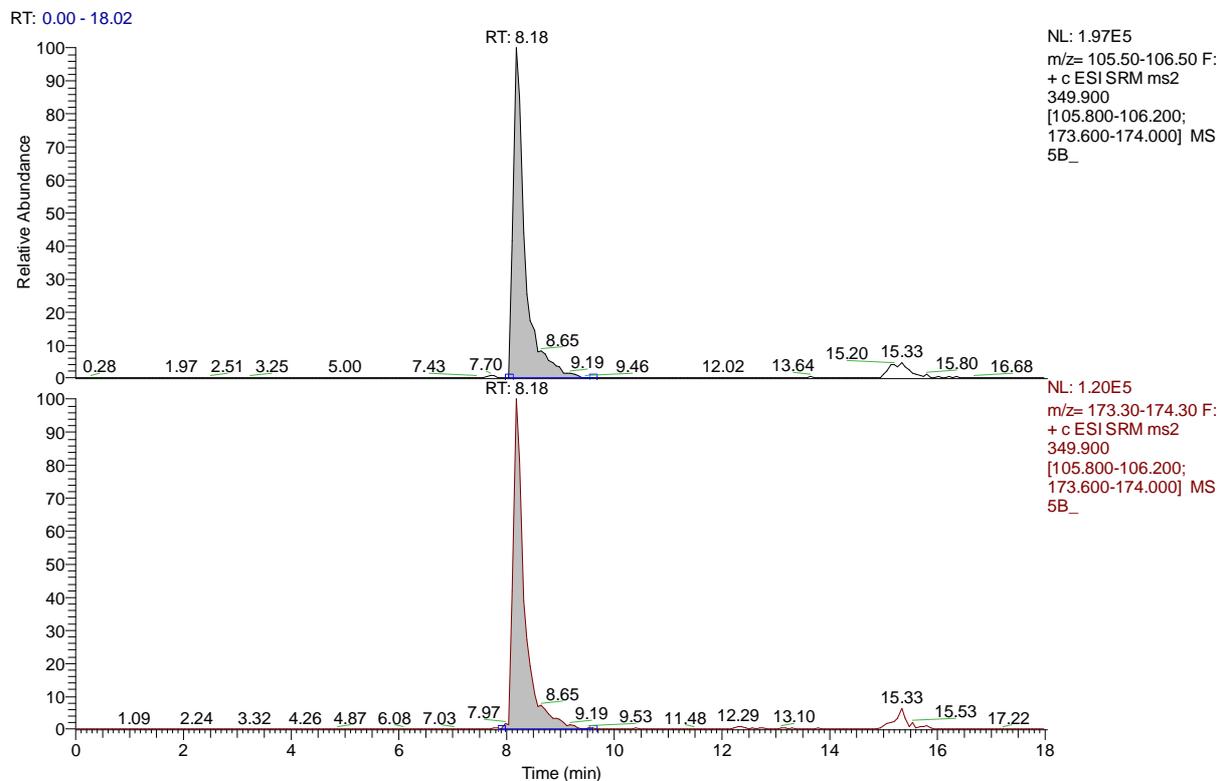


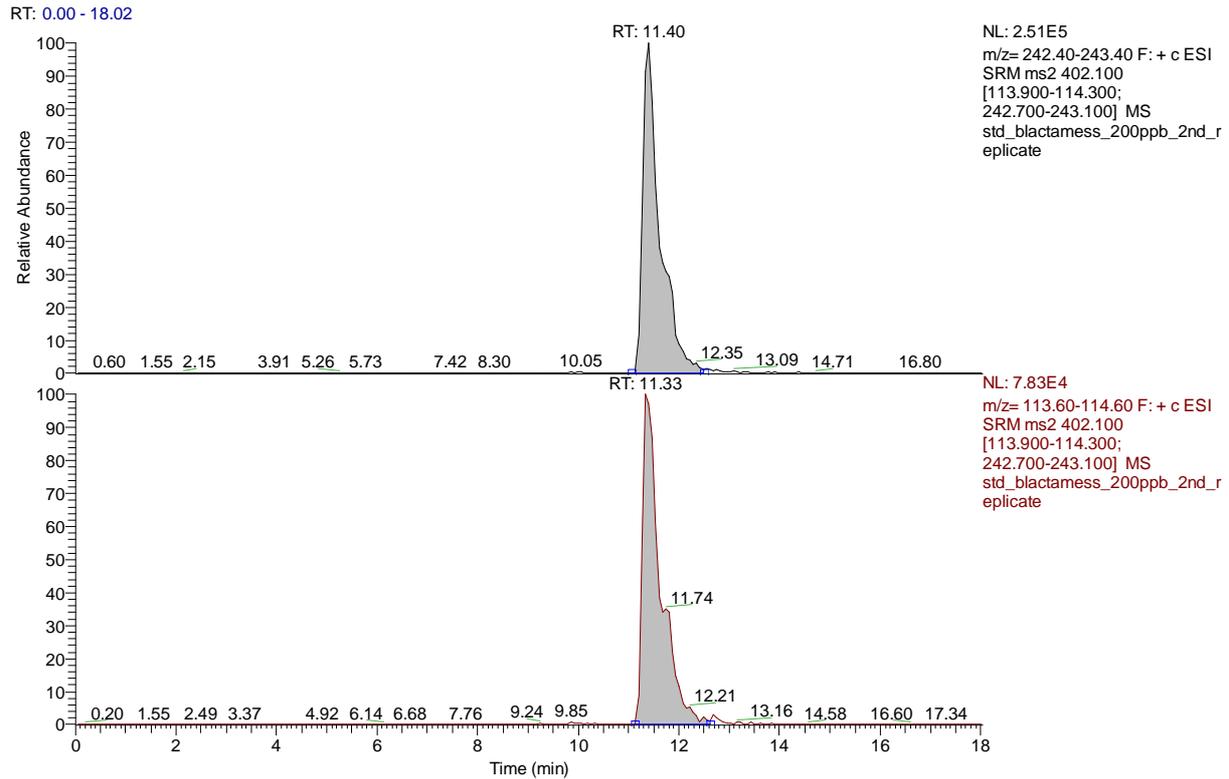
Figure 48 : Chromatogramme du céfador détecté dans un échantillon de lait positif (E<sub>3</sub>) réceptionné à l'unité LFB de Boumerdes.



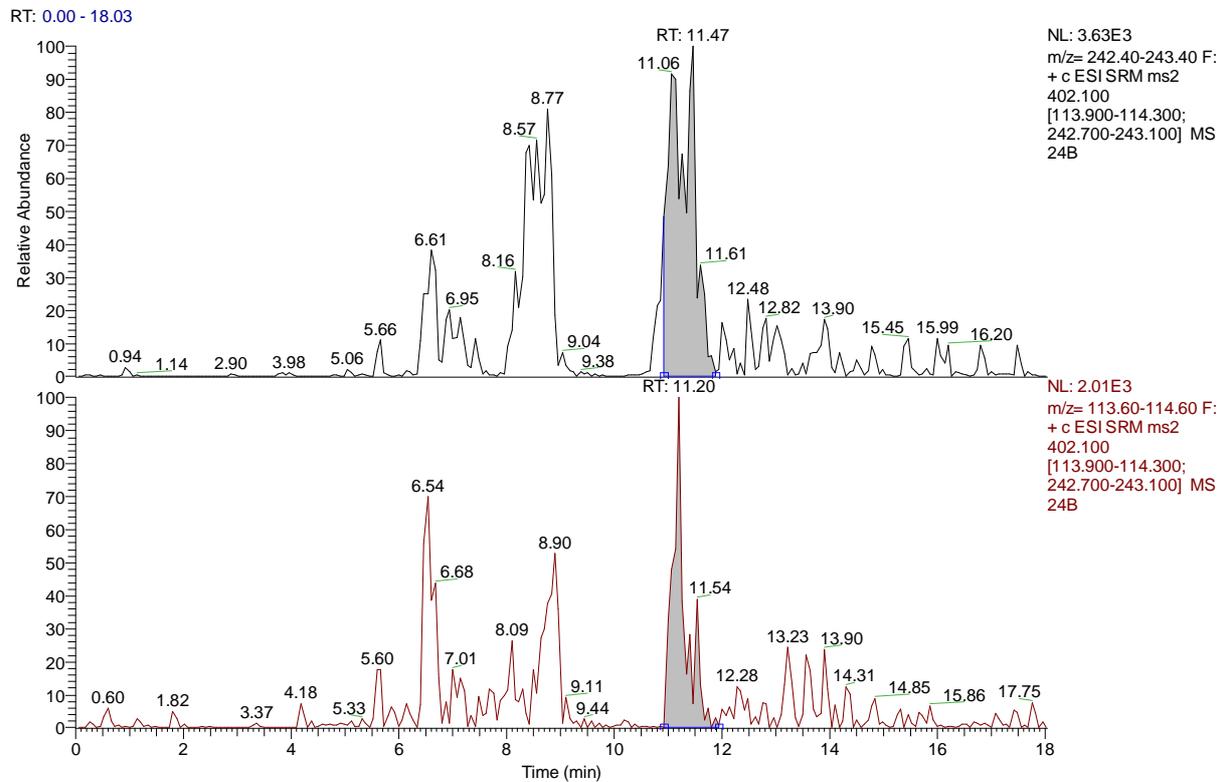
**Figure 49 :** Chromatogramme du standard de l'ampicilline.



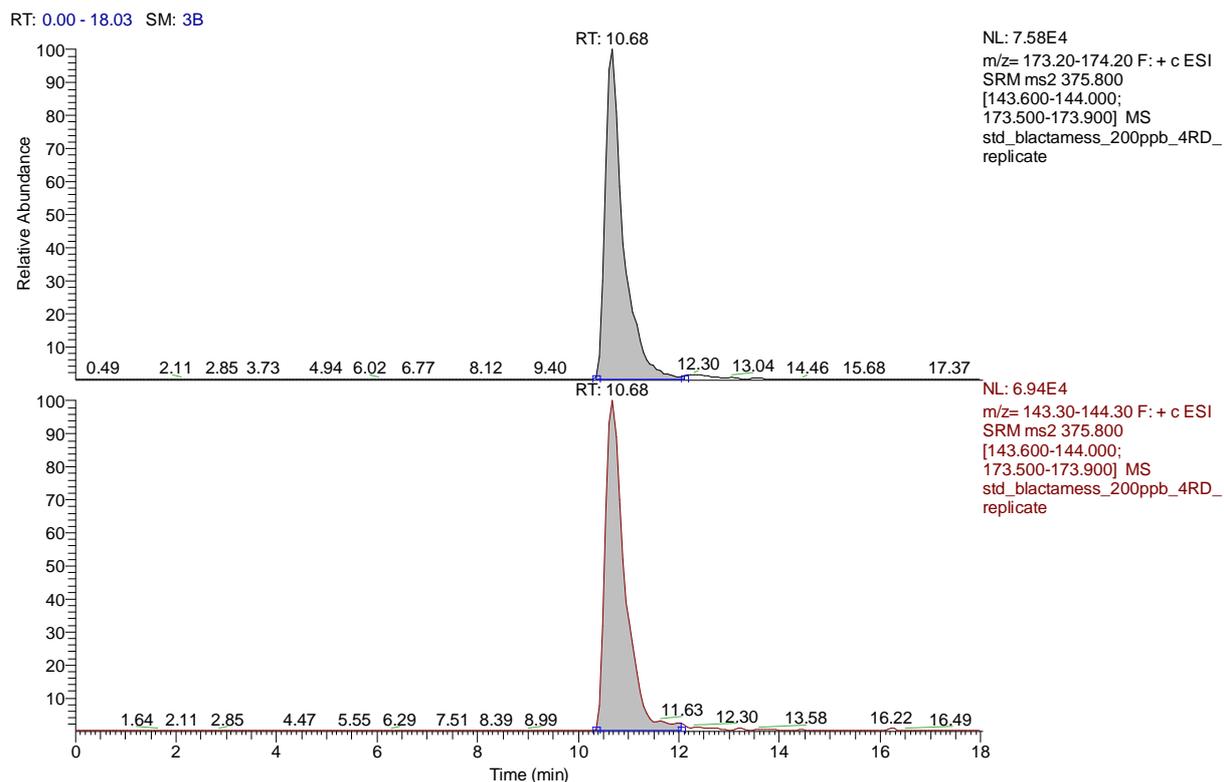
**Figure 50 :** Chromatogramme de l'ampicilline détectée dans un échantillon de lait positif (E<sub>2</sub>) réceptionné à l'unité LFB de Boumerdes.



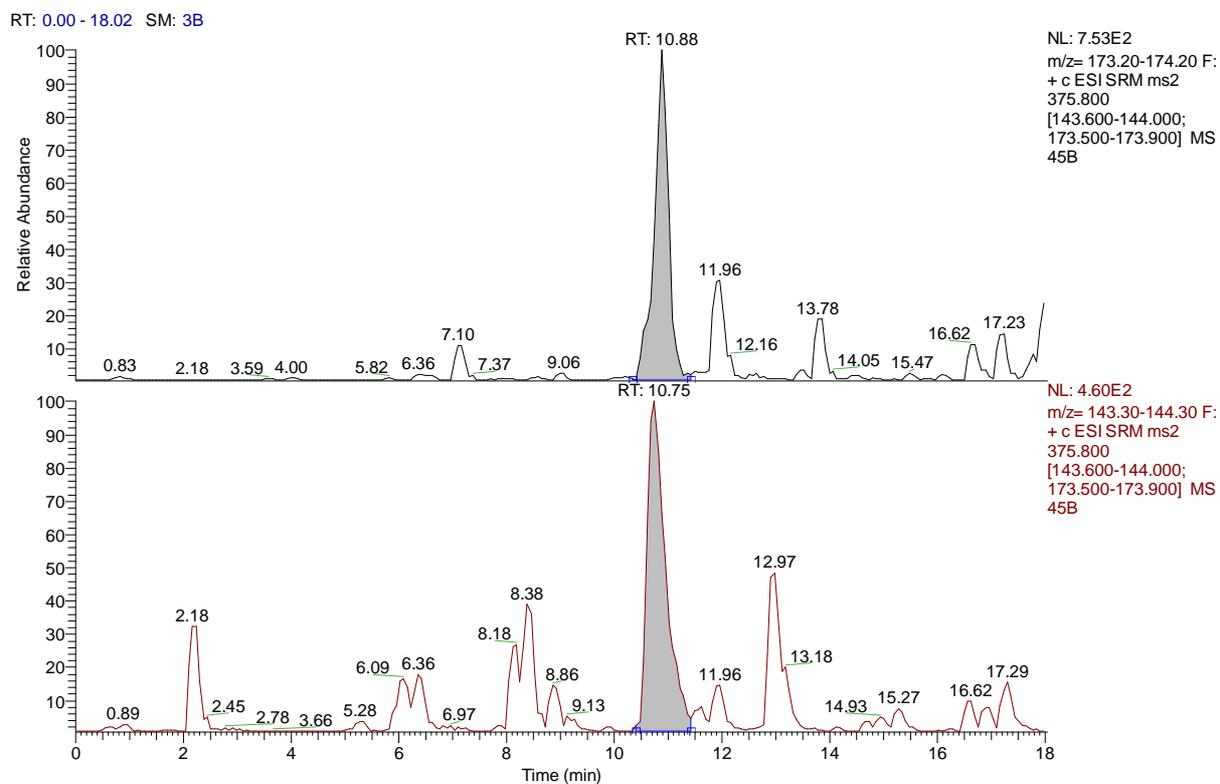
**Figure 51 :** Chromatogramme du standard de l'oxacilline.



**Figure 52 :** Chromatogramme de l'oxacilline détectée dans un échantillon de lait positif (E<sub>2</sub>) réceptionné à l'unité COLAITAL d'Alger.



**Figure 53 :** Chromatogramme du standard de l'oxacilline sous forme de métabolites.



**Figure 54 :** Chromatogramme de l'oxacilline sous forme de métabolites détectée dans un échantillon de lait positif (E<sub>6</sub>) réceptionné à l'unité TLEMSANI Agro de Blida.

**Tableau 32 :** Principales molécules antibiotiques identifiées par LC-MS/MS sur les échantillons positifs au BetaStar® Combo.

Molécule antibiotique impliquée	Nombre d'échantillons positifs	Pourcentage par rapport au total (%)
Cloxacilline-Métabolites	10/20	50
Cloxacilline	10/20	50
Pénicilline G-Métabolites	8/20	40
Pénicilline G	5/20	25
Ampicilline	3/20	15
Céfaclor	3/20	15
Oxacilline	3/20	15
Dicloxacilline	2/20	10
Dicloxacilline Métabolites	1/20	5
Oxacilline-Métabolites	1/20	5
Cefopérazone	1/20	5

Sur les 20 échantillons contrôlés positifs au test BetaStar® Combo, 47 molécules d'antibiotiques ont été identifiées et réparties sur les 3 unités d'Alger, de Blida et de Boumerdes (Tableau 33).

**Tableau 33 :** Répartition géographique des molécules identifiées par LC-MS/MS.

Molécule antibiotique impliquée	Alger	Blida	Boumerdes	Total molécules
Cloxacilline-Métabolites	3	6	1	10
Cloxacilline	2	6	2	10
Pénicilline G-Métabolites	4	4	0	8
Pénicilline G	2	3	0	5
Ampicilline	0	2	1	3
Céfaclor	0	1	2	3
Oxacilline	2	1	0	3
Dicloxacilline	0	1	1	2
Dicloxacilline Métabolites	0	0	1	1
Oxacilline-Métabolites	0	1	0	1
Cefopérazone	0	0	1	1
Total	13	25	9	47

Les résultats mentionnés dans le tableau 33, montrent que parmi les 47 molécules identifiées, plus de la moitié (25) relèvent uniquement de la fromagerie TLEMSANI Agro de Blida, ceci confirme la nécessité du renforcement des bonnes pratiques d'hygiène, d'élevage et de collecte des exploitations affiliées à cette unité, qui doit commencer par un travail de sensibilisation de tous les acteurs de la filière au risque encouru par la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait et de ses dérivés. Le constat observé dans la région de Blida, est

conforté par les résultats rapportés par Tarzaali *et al.* (2008), qui ont évalué à 65,46% le taux de contamination du lait par les  $\beta$ -lactames au niveau de la laiterie Beni-Tamou de Blida.

Le reste est partagé entre la laiterie COLAITAL d'Alger (13 molécules) et la LFB de Boudouaou (9 molécules). Néanmoins, force est de constater les efforts fructueux qui ont été déployés par les différents intervenants évoluant au niveau des deux industries précitées, grâce notamment, à la mise en place d'un plan de surveillance des résidus d'antibiotiques depuis sa mise en place en 2012 et en vigueur à ce jour. En effet, par rapport au chiffre total échantillonné, nous relevons une faiblesse du nombre de cas positifs aux  $\beta$ -lactames. Ainsi, sur un total de 97 échantillons prélevés à l'unité LFB, 4 seulement se sont révélés positifs aux  $\beta$ -lactames (4,12%) avec 9 molécules antibiotiques impliquées et identifiées. Quant à elle, l'unité COLAITAL d'Alger a enregistré 6 échantillons positifs aux  $\beta$ -lactames (4,76%) sur un total de 126, avec l'implication de 13 molécules d'antibiotiques (Tableau 33).

A partir des tableaux 33 et 34, on note également que, comparativement à la LFB de la wilaya de Boumerdes, la pénicilline G et la cloxacilline ainsi que leurs métabolites de dégradation, sont les molécules les plus fréquemment identifiées, dans les unités TLEMSANI Agro de Blida et COLAITAL d'Alger. D'ailleurs, le ratio des molécules antibiotiques identifiées/nombre d'échantillons positifs aux résidus d'antibiotiques est évalué respectivement à 2,17; 2,25 et 2,5 pour les unités d'Alger, de Boumerdes, et de Blida. Ce résultat montre une nouvelle fois, que la présence et le nombre de molécules antibiotiques vétérinaires sont plus accentués au niveau des exploitations affiliées à la fromagerie de la wilaya de Blida.

Ainsi, les résultats obtenus à travers cette étude, se rapprochent de ceux de Tarzaali (2009), qui lors d'un sondage mené sur terrain auprès de 249 vétérinaires praticiens Algériens, a conforté la conclusion que les molécules de la famille des  $\beta$ -lactames sont les plus fréquemment utilisées en médecine vétérinaire. La pénicilline G se situe parmi les molécules les plus largement utilisées en Algérie, du fait de son large spectre d'action, de son efficacité, de son association à un délai d'attente plus court que d'autres, mais surtout à sa disponibilité et à son coût réduit (Tarzaali, 2009 ; Ben-Mahdi et Ouslimani, 2009; Titouche *et al.*, 2013).

En outre, nos résultats son similaires à ceux de plusieurs travaux (Poutrel, 2004; Bendali *et al.*, 2007) qui rapportent que la cloxacilline est de loin, l'une des molécules les plus utilisées en élevage bovin laitier, dans les traitements préventifs ou curatifs des mammites bovines. Le large spectre d'action de cet antibiotique contre les germes pathogènes expliquerait en partie sa fréquente utilisation. En effet, la prédominance des résidus de cloxacilline laisse penser que

cette molécule serait largement utilisée dans les exploitations affiliées aux industries laitières étudiées, sa présence restant plus marquée dans les unités d'Alger et de Blida.

L'une des raisons pour laquelle, ces molécules sont détectées serait le non-respect du délai d'attente, mais aussi probablement des posologies administrées élevées, avec des risques avérés de surdosage (Tarzaali, 2009; Fabre *et al.*, 2010). Les vétérinaires auraient ainsi tendance à augmenter les doses pour « obtenir » plus d'efficacité de la part de la molécule, surtout lors de la première injection en traitement d'attaque; ce qui pourrait conduire à un allongement du délai d'attente de la molécule. Cet état de fait, prouve le manque de sensibilisation et de connaissance des données pharmacologiques des praticiens. Certains vétérinaires incriminent les éleveurs en les déclarant responsables du non-respect du délai d'attente, afin d'éviter les pertes économiques qui en découlent, ou critiquent leur indifférence totale vis-à-vis du risque sur la santé publique. Une minorité de vétérinaires évoquent également le manque d'informations et de sensibilisation des éleveurs envers le respect du délai d'attente (Rahal, 2007; Ouslimani, 2008; Tarzaali, 2009).

L'autre raison évoquée est l'automédication pratiquée par l'éleveur en Algérie, avec très peu de connaissance, voire même, un mauvais usage des molécules manipulées, créant une situation d'anarchie totale. Le traitement des mammites, réalisé le plus souvent, sans diagnostic préalable et avec une automédication très répandue pratiquée par les éleveurs eux mêmes, corrobore l'une des raisons citées ci-dessus (Sérieys, 2004; Rahal, 2007; Tarzaali, 2009).

Notons enfin, que deux échantillons de lait parmi ceux révélés positifs au BetaStar® Combo n'ont montré aucune présence de molécules antibiotiques par LC-MS/MS. Ces derniers sont localisés au niveau des laiteries TLEMSANI Agro de Blida et COLAITAL d'Alger (Tableau 34). Deux hypothèses permettraient d'expliquer cet état de fait : soit ces échantillons seraient positifs à des molécules autres que celles sélectionnées dans cette étude, soit ils se révéleraient être de faux positifs au test rapide, notamment lorsque des teneurs anormales en taux butyreux sont enregistrées (Reybroeck et Ooghe, 2012) ou lorsque le comptage cellulaire somatique dans le lait est élevé (Shata *et al.*, 2015).

**Tableau 34 :** Répartition géographique des molécules antibiotiques identifiées par LC-MS/MS sur les échantillons de lait positifs au test rapide BetaStar® Combo.

Région	Nombre total d'échantillons positifs aux $\beta$ -lactames (BetaStar® Combo)	Numéro d'échantillon positif (BetaStar® Combo)	Molécule identifiée (LC-MS/MS)	Nombre de molécules identifiées (LC-MS/MS)	Nombre total de molécules	Ratio molécules antibiotiques identifiées/nombre d'échantillons positifs
Alger	6	E <sub>1</sub>	Pénicilline G	2	13	2,17
			Pénicilline G (M)			
		E <sub>2</sub>	Pénicilline G (M)	4		
			Oxacilline			
			Cloxacilline			
		E <sub>3</sub>	Aucune	0		
			Cloxacilline (M)			
		E <sub>4</sub>	Cloxacilline	2		
			Cloxacilline (M)			
		E <sub>5</sub>	Pénicilline G (M)	3		
			Cloxacilline (M)			
			Oxacilline			
E <sub>6</sub>	Pénicilline G	2				
	Pénicilline G (M)					
Boumerdes	4	E <sub>1</sub>	Cefopérazone	3	9	2,25
			Cloxacilline			
			Cloxacilline (M)			
		E <sub>2</sub>	Ampicilline	4		
			Dicloxacilline			
			Dicloxacilline (M)			
		E <sub>3</sub>	Cloxacilline	1		
			Céfaclor			
E <sub>4</sub>	Céfaclor	1				

Région	Nombre total d'échantillons positifs aux $\beta$ -lactames (BetaStar® Combo)	Numéro d'échantillon positif (BetaStar® Combo)	Molécule identifiée (LC-MS/MS)	Nombre de molécules identifiées (LC-MS/MS)	Nombre total de molécules	Ratio molécules antibiotiques identifiées/nombre d'échantillons positifs
Blida	10	E <sub>1</sub>	Ampicilline	4	25	2,5
			Cloxacilline			
			Cloxacilline (M)			
			Pénicilline G (M)			
		E <sub>2</sub>	Cloxacilline (M)	2		
			Cloxacilline			
		E <sub>3</sub>	Pénicilline G	2		
			Pénicilline G (M)			
		E <sub>4</sub>	Pénicilline G	2		
			Pénicilline G (M)			
		E <sub>5</sub>	Aucune	0		
		E <sub>6</sub>	Ampicilline	5		
			Céfaclor			
			Oxacilline (M)			
			Cloxacilline (M)			
			Cloxacilline			
		E <sub>7</sub>	Dicloxacilline	4		
			Cloxacilline (M)			
			Oxacilline			
			Cloxacilline			
E <sub>8</sub>	Pénicilline G	2				
	Pénicilline G (M)					
E <sub>9</sub>	Cloxacilline (M)	2				
	Cloxacilline					
E <sub>10</sub>	Cloxacilline (M)	2				
	Cloxacilline					

**CONCLUSION**  
**ET**  
**RECOMMANDATIONS**

Les résultats de la présente étude, montrent que, par rapport aux laits de vache de milieu et de fin de stade de lactation, ceux de début présentent des qualités nutritionnelles intéressantes pour le consommateur avec une richesse en acide butyrique (C4:0), et en acides gras insaturés (notamment en C18:1 et C18:2) ainsi qu'une proportion plus faible en acides gras saturés (C12:0, C14:0, C16:0) réputés néfastes pour la santé humaine. De ce fait, les transformateurs des produits laitiers auraient donc plus intérêt à utiliser des laits de début de stade de lactation, afin d'offrir un produit de meilleure qualité nutritionnelle à des consommateurs de plus en plus exigeants.

La composition du lait de vaches importées et introduites en Algérie, pourrait être ainsi ajustée, selon les besoins et les conditions de fabrication des transformateurs. En effet, il est tout à fait envisageable pour les fermiers de produire un lait de mélange de qualité, à haute valeur nutritionnelle, en groupant des vèlages du tiers d'effectifs et par stade de lactation distinct. Cette solution serait intéressante à mettre en place car pratique et peu coûteuse, ce qui permettra d'atténuer et de corriger aisément les différences induites par les stades de lactation. Cette étude a également montré d'importantes variations dans la composition physico-chimique du lait cru et a permis d'évaluer la qualité sanitaire du lait collecté et versé aux 3 unités de production et de transformation du lait de la région Centre du proche Algérois, en mettant en évidence une présence de résidus d'antibiotiques dans des proportions variable d'une wilaya à une autre.

Ce résultat montre la grande part de responsabilité :

- des éleveurs, due à l'automédication pratiquée, au non respect des délais d'attente après le traitement des animaux et le manque de sensibilisation face au risque que représente la présence de résidus d'antibiotiques et au danger que cela peut faire peser sur la santé du consommateur;
- des vétérinaires, pour la non maîtrise de la manipulation des médicaments;
- de l'industriel, en raison de la perte de la matière première par inhibition ou altération des processus de fermentation.

Toutes ces carences aboutiront forcément à la perte d'importants volumes de lait collecté, puisque notre étude a relevé que la présence de résidus d'antibiotiques constituait le deuxième motif de rejet du lait après l'acidité.

Notre étude a également mis en lumière, les actions frauduleuses notamment des pratiques théoriquement interdites d'écémage et de mouillage du lait opérées par une minorité d'éleveurs ou de collecteurs.

Enfin, il devient plus que nécessaire de renforcer et de compléter les textes législatifs existants, tout particulièrement ceux relatifs à la fixation des limites maximales de résidus d'antibiotiques par des procédures et des modalités de détection et de quantification des antibiotiques ainsi que par des textes législatifs plus coercitifs vis-à-vis des contrevenants et des fraudeurs, en encourageant la mise en place d'un système de pénalités mais également en imposant la destruction de laits révélés positifs afin de garantir au consommateur un produit sain et de qualité.

# **PERSPECTIVES**

A travers les résultats exposés dans cette étude, les perspectives qui seront amenées à être développées pour de futurs travaux doivent avoir pour principaux objectifs d'améliorer la production et la qualité du lait produit dans le pays.

-Il serait en effet intéressant au vu de l'importance du cheptel bovin, constitué d'une part non négligeable de vaches laitières de race locale, d'améliorer leur potentiel génétique de production laitière ce qui permettrait de les intégrer davantage dans le circuit de collecte, d'autant que ces races sont douées d'une rusticité élevée leur conférant une adaptabilité supérieure aux contraintes locale tant climatiques que d'élevage.

Il serait également judicieux :

- D'étudier la composition physico-chimique et plus particulièrement la matière grasse lait produite par ces races dans les conditions réelles d'élevage, afin de déterminer la répartition des acides gras réputés bénéfiques pour la santé humaine.  
Par ailleurs, des études ont montré que l'alimentation tenait une place prépondérante dans les variations de certains paramètres du lait, et constitue par la même occasion un élément pouvant se révéler déterminant dans l'évaluation de sa qualité. Par conséquent, l'élaboration d'outils permettant une meilleure maîtrise de différents facteurs alimentaires pourrait constituer une aide conséquente à l'éleveur dans le cadre de la maîtrise de son élevage et lui permettrait de mieux maîtriser les coûts alimentaires de son élevage, en nette augmentation ces dernières années.
- D'étudier la composition physico-chimique du lait d'autres espèces productrices dont l'apport global reste non-négligeable, à l'instar du lait cru ovin, caprin et camelin. Surtout que notre pays reste à ce jour malheureusement dépendant aux importations de la poudre de lait. En effet, ces espèces s'adaptent facilement aux conditions climatiques souvent difficiles, et pourraient participer à l'essor de la « filière lait ».
- De mettre en place à travers tout le pays un plan de contrôle national des résidus d'antibiotiques afin d'évaluer la qualité du lait livré aux industries laitières. Il serait également intéressant d'étendre ces analyses aux dérivés du lait, comme le fromage, le yaourt, et l'ben.
- D'élargir le travail d'investigation et l'étendre à d'autres familles d'antimicrobiens non ciblées à travers cette étude, à l'instar des sulfamides, des fluoroquinolones, des aminosides, des macrolides....etc. En effet, ces molécules n'étant pas forcément détectées par les différents équipements disponibles au niveau des établissements

laitiers, il serait judicieux d'évaluer l'impact réel d'une éventuelle présence de ces derniers dans le lait livré par le circuit de collecte et intégré dans les procédés de transformation.

- Rechercher l'éventuelle présence de molécules interdites d'usage en thérapeutique vétérinaire chez les animaux de rente.

## **Résumé**

Ce travail a eu pour objectifs, d'une part, d'étudier l'influence du stade de lactation sur la qualité nutritionnelle du lait, et d'évaluer d'autre part sa qualité sanitaire.

Les résultats des analyses physico-chimiques du lait de trois fermes situées dans la région centre du pays (Alger, Blida et Tipaza) ont mis en évidence l'existence d'un effet significatif ( $p < 0,05$ ) du stade de lactation sur le taux butyreux (TB), sans toutefois révéler d'effet notable ( $p > 0,05$ ) sur le taux protéique (TP). Un effet très hautement significatif ( $p < 0,001$ ) a été enregistré sur les acides gras saturés (AGS) qui sont faibles en début de stade de lactation ( $60,73 \pm 1,21\%$ ) pour augmenter cependant très significativement ( $p < 0,01$ ) à la fin de celui-ci ( $66,16 \pm 0,26\%$ ). Une influence très hautement significative ( $p < 0,001$ ) a également été notée pour les acides gras mono-insaturés (AGMI), mais sans révéler pour autant d'effet significatif ( $p > 0,05$ ) sur les acides gras polyinsaturés (AGPI).

Pour leur part, les acides gras à chaînes courtes et moyenne (AGCCM), exception faite du C4:0, étaient en proportions plutôt faibles en début de stade de lactation, pour augmenter au fur et à mesure de sa progression, tandis que les acides gras à chaînes longues (AGCL), et plus particulièrement les C18:0 et C18:1, montraient quant à eux, une tendance inverse, avec des proportions plus élevées en début de lactation ( $11,5 \pm 0,04\%$  et  $30,40 \pm 0,98\%$  respectivement). Cette étude n'a cependant montré aucun effet significatif sur les teneurs en C18:2 et C18:3. Le lait de vache de début de stade de lactation, est très significativement ( $p < 0,001$ ) plus riche en C4:0 réputé bénéfique pour la santé humaine, que celui de milieu et de fin de lactation ( $3,21 \pm 0,36\%$  vs  $2,17 \pm 0,27\%$  et  $1,68 \pm 0,13\%$  respectivement).

La proportion en C12:0, C14:0, C16:0, tenue pour responsable de l'augmentation du cholestérol plasmatique total et du LDL-cholestérol, dont la présence à des taux élevés n'est pas souhaitée par les nutritionnistes, est plus élevée en fin qu'en début de lactation. Le C18:1, réputé bénéfique pour la santé humaine, a affiché des taux élevés en début de lactation, pour diminuer très significativement ( $p < 0,01$ ) de -3,5% en milieu de lactation. Les résultats de cette étude conduisent à la conclusion que le lait du début de stade de lactation posséderait des qualités nutritionnelles intéressantes aussi bien pour le consommateur que pour l'industrie de transformation laitière.

Les résultats d'analyse de 274 échantillons de lait livrés à trois unités laitières de la région centre proche de l'Algérois (Alger, Blida, Boumerdes), ont montré un effet hautement significatif ( $p < 0,001$ ) de la région considérée sur les paramètres physico-chimiques étudiés. L'acidité non-conforme a constitué le premier motif de rejet du lait (47,56%), suivie par la présence de résidus d'antibiotiques (26,83%), la densité non-conforme (13,41%) et le TB non-conforme (12,20%). L'étude a également révélé 22 cas (8,03%) de contamination du lait par les résidus d'antibiotiques. Parmi ces derniers, 90,91% se sont montrés positifs aux  $\beta$ -lactames tandis que seulement 9,09% l'ont été aux tétracyclines.

Les résultats obtenus démontrent l'urgence de mettre en place de bonnes pratiques d'élevage et d'hygiène dans la collecte en débutant nécessairement par un profond travail de sensibilisation et de formation de tous les acteurs de la filière.

**Mots clé :** lait, stade de lactation, acide gras, résidus d'antibiotiques, qualités nutritionnelle et sanitaire.

## **Abstract**

The aim of this work is, on one hand, to study the influence of lactation stage effect on milk nutritional quality and on the other hand to evaluate its nutritional intake.

The physico-chemical results of milk analysis from three dairy farms, located in the surrounding of Algiers area (Algiers, Blida and Tipaza) show a significant effect ( $p < 0.05$ ) of the lactation stage on Fat Levels (FL) but without revealing a noticeable effect ( $p > 0.05$ ) on Protein Levels (TP). A very significant effect ( $p < 0.001$ ) is observed on Saturated Fatty Acids (SFA), which were in weak proportions at the beginning of the lactation stage ( $60.73 \pm 1.21\%$ ), very significantly ( $p < 0.01$ ) increasing at the end of this latter ( $66.16 \pm 0.26\%$ ). A very significant influence ( $p < 0.001$ ) is also noticed for monounsaturated fatty acids (AGMI), but without exposing any significant effect ( $p > 0.05$ ) on milk polyunsaturated fatty acids (PUFA).

The Short and Medium Chain Fatty Acids (SMCFA), except for C4:0, reveal relatively low proportions at early lactation stage and increase while progressing, whereas Long Chain Fatty Acids (LCFA), and more markedly C18:0 and C18:1, show an inverse trend, with higher proportions at early lactation ( $11.5 \pm 0.04\%$  and  $30.40 \pm 0.98\%$  respectively). However, this study shows no significant effect on C18:2 and C18:3 levels. The cows' milk from early lactation stage is very significantly ( $p < 0.001$ ) richer in C4:0, which is beneficial to human health, than those in mid and late lactation ( $3.21 \pm 0.36\%$  vs  $2.17 \pm 0.27\%$  and  $1.68 \pm 0.13\%$ , respectively).

The proportion of C12:0, C14:0, C16:0 that will be held responsible for the increase in total plasma cholesterol and LDL-cholesterol, whose presence at high levels is not expected by nutritionists, is higher at the end than at the early lactation stage. C18:1, which is considered to be beneficial to human health, shows high levels at early lactation, significantly ( $p < 0.01$ ) decreasing in mid lactation by  $-3.5\%$ . The results of this study conclude that milk from early lactation stage would have more interesting nutritional qualities to both consumers and dairy processing industries.

The results of the analysis of 274 milk samples delivered to three dairy units in the surrounding of Algiers area (Algiers, Blida, Boumerdes) show a highly significant ( $p < 0.001$ ) effect on the physico-chemical parameters studied. Non-compliant acidity is the first pattern of milk rejection (47.56%), followed by antibiotic residues (26.83%), non-compliant density (13.41%), and the non-compliant FL (12.20%). The study also revealed 22 cases (8.03%) of milk contamination by antibiotic residues. From these, 90.91% were positive for  $\beta$ -lactams while only 9.09% were positive for tetracyclines.

The results show the pressant to put in place good practices of breeding and hygiene in the collection which must necessarily begin with a deep awareness-raising and training of all the actors.

**Key words:** milk, lactation stage, antibiotic residues, nutritional and healthy qualities.

## ملخص

كان الهدف من هذا العمل دراسة تأثير مرحلة الرضاعة على الجودة الغذائية للحليب وتقييم جودته الصحية أظهرت نتائج التحاليل الفيزيائية والكيميائية للحليب من ثلاث مزارع في المنطقة الوسطى من البلاد (الجزائر، البلدية، تيبازة) وجود تأثير معنوي ( $P < 0.05$ ) لمرحلة الرضاعة ولكن لم يلاحظ أي تأثير معنوي ( $P > 0.05$ ) على مستوى البروتين. لوحظ وجود تأثير معنوي جدا ( $P < 0.001$ ) على الأحماض الدهنية المشبعة، والتي كانت منخفضة عند بداية مرحلة الرضاعة ( $60.73 \pm 1.21\%$ )، ولكن بشكل ملحوظ جدا ( $P < 0.01$ ) في نهايته ( $66.16 \pm 0.26\%$ ). ولوحظ أيضا تأثير كبير جدا ( $P < 0.001$ ) للأحماض الدهنية الأحادية غير المشبعة، لكنه لم يكشف عن تأثير كبير ( $P > 0.05$ ) على الأحماض الدهنية غير المشبعة.

وفي الوقت نفسه، تم العثور على الأحماض الدهنية قصيرة السلسلة والمتوسطة السلسلة (باستثناء C4: 0) لتكون منخفضة نسبيا في المراحل الأولى من الرضاعة، لتزداد تدريجيا، في حين الأحماض، وعلى الأخص C18: 0 و C18: 1، أظهرت اتجاه معاكس، مع نسب أعلى في بداية الرضاعة ( $11.5 \pm 0.04\%$  و  $30$ ،  $40 \pm 0.98\%$  على التوالي) ومع ذلك، لم تظهر هذه الدراسة أي تأثير كبير على مستويات C18: 2 و C18: 3. حليب البقرة في بداية مرحلة الرضاعة هو معنويا جدا ( $P < 0.001$ ) أكثر ثراء في C4: 0، ويعتبر أن يكون مفيدا لصحة الإنسان من حليب في منتصف وأواخر الرضاعة ( $3.21 \pm 0.36\%$  مقابل  $2.17 \pm 0.27\%$  و  $1.68 \pm 0.13\%$  على التوالي).

كانت نسبة C12:0، C14:0، C16:0، مسؤولة عن الزيادة في مجموع الكوليسترول في البلازما، الذي لا يرغب فيه خبراء التغذية بمستويات عالية، هو أكثر في وقت متأخر من الرضاعة. أظهرت نتائج الدراسة أن نسبة C18:1، التي تعتبر مفيدة لصحة الإنسان، أظهرت مستويات عالية في الرضاعة المبكرة، لتقل معنويا ( $P < 0.01$ ) بنسبة  $3.5\%$  في منتصف الرضاعة. وأدلت نتائج هذه الدراسة إلى استنتاج أن الحليب في مرحلة مبكرة من الرضاعة سيكون له صفات غذائية ذات أهمية لكل من المستهلك ومؤسسات صناعة الحليب.

أظهرت نتائج تحليل 274 عينة حليب تم تسليمها إلى ثلاث وحدات ألبان في منطقة الجزائر العاصمة (الجزائر، البلدية، بومرداس) تأثيرا معنويا ( $P < 0.001$ ) على موصفات الدراسات الفيزيائية والكيميائية. وسجلت. وكانت الحموضة غير المتوافقة هي النمط الأول من رفض الحليب ( $47.56\%$ )، تليها بقايا المضادات الحيوية ( $26.83\%$ )، والكثافة غير المتوافقة ( $13.41\%$ )، و محتوى الدهون غير المتوافق ( $12.20\%$ ). وكشفت الدراسة أيضا عن 22 حالة ( $8.03\%$ ) من تلوث الحليب بقايا المضادات الحيوية. من هذه،  $90.91\%$  كانت إيجابية بينما لاكتام في حين أن  $9.09\%$  فقط كانت إيجابية لالنتراسكلين. وتظهر النتائج مدى حاجية وضع ممارسات جيدة للتربية والنظافة في جمع الحليب يبدأ بالضرورة بعمل عميق للتوعية والتدريب لجميع الجهات الفاعلة في هذا القطاع.

الكلمات الدالة: الحليب، مرحلة الرضاعة، الأحماض الدهنية، بقايا المضادات الحيوية، الصفات الغذائية والصحية.

**RÉFÉRENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES**

1. **Abidi K., 2004.** « Résidus d'antibiotiques dans le lait de boisson. Thèse : Médecine vétérinaire ». École nationale de médecine vétérinaire de Sidi Thabet, Tunisie, p. 6-23.
2. **Adjlane-Kaouche S., R. Benhacine, F. Ghozlane, and A. Mati., 2014.** «Nutritional and Hygienic Quality of Raw Milk in the Mid-Northern Region of Algeria: Correlations and Risk Factors». *The Scientific World Journal*. 7p.
3. **Adrien J., J. Potus, R. Frangne, 1999.** « La Science Alimentaire de A à Z », Lavoisier Tec & Doc ed, Paris 477p.
4. **AFNOR. 2010.** « Lait et produits laitiers. Méthodes d'analyse. Recueil des normes (Association Française de Normalisation) ». AFNOR Editions, France.
5. **Agabriel C., J.-B. Coulon, C. Journal, B. De Rancourt.2001.** « Composition chimique du lait et systèmes de production dans les exploitations du Massif Central ». *INRA Prod. Anim.*, 14 (2), 119-128.
6. **Aggad H. , F. Mahouz, Y. Ahmed Ammar, M. Kihal. 2009.** « Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien ». *Revue Méd. Vét.*, 2009, 160, 12, 590-595.
7. **Alais C., 1984.** « Science du lait principes des techniques laitière », 4<sup>ème</sup> Edition, Sepaic, Paris 814 p.
8. **Alais, Linden G., L. Miclo. 2003.** « Biochimie alimentaire ». 5<sup>ème</sup> Ed., Dunod, Paris, p.p, 163-189.
9. **Albright J.L., S.L. Tuckey & G.T. Woods. 1961.** « Antibiotics in milk – a review». *J. Dairy Sci.* 44,779-801.
10. **Amiot J., S. Fournier, et Y. Lebeuf. 2002.** « Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyses du lait », in: Vignola, C. « Science et technologie du lait, transformation du lait », Edit Presses internationales polytechniques, Quebec, 1-30.
11. **Andrews A.T. 1979.** « The formation and structure of some proteose peptone components ». *J. Dairy Res.*, 46, 215-218.
12. **Aning K.G., E.S. Donkor, A. Omore, G.K. Nurah, E.L.K. Osafo and S. Staal. 2007.** « Risk of Exposure to Marketed Milk with Antimicrobial Drug Residues in Ghana». *The Open Food Science Journal*. 1, 1-5.
13. **Anonyme, 2013.** «Andi, wilaya de Blida: Invest in Algeria». <http://www.andi.dz/PDF/monographies/Blida.pdf>.
14. **Ardrey, R. E. 2003.** «Interface Technology. Chapter 4. In Book: Liquid Chromatography-Mass Spectrometry: An Introduction ». John- Wiley & Sons, Ltd. 75-127.

15. **Aro, A., M. Jauhiainen, et R. Partanen. 1997.** «Stearic acid, *trans* fatty acids, and dairy fat: effect on serum and lipoprotein lipids, apolipoproteins, lipoprotein (a), and lipid transfer protein healthy subjects », *Am. J. Clin. Nutr.*, 65: 1419-1426.
16. **Arpino P. 2007.** « Couplages chromatographiques avec la spectrométrie de masse. I ». *Techniques de l'ingénieur*, P1490 : 1-18.
17. **Auldist M. J., S. Coats, B. J. Sutherland, J. J. Mayes, G. H. McDowell, G. L. Rogers. 1996.** «Effects of somatic cell count and stage of lactation on raw milk composition and the yield and quality of Cheddar cheese». *Journal of Dairy Research*, 63 : 269-280.
18. **Auldist M. J., B. J. Walsh and N. A. Thomson. 1998.** «Seasonal and lactational influences on bovine milk composition in New Zealand». *J. Dairy Research* 65:33, 401-411.
19. **Auldist M.J., K.A. Johnston, N.J.White, W.P. Fitzsimons, M.J. Boland. 2004.** « A comparison of the composition, coagulation characteristics and Cheese making capacity of milk from Friesian and Jersey dairy cows». *J. Dairy Research* 71: 51-57.
20. **Bagré T. S., S. Samandoulougou, M. Traoré, D. Illy, G. Bsadjo- Tchamba, H. Bawa-Ibrahim, S. C. Bouda, A. S. Traoré, N. Barro. 2015.** « Détection biologique des résidus d'antibiotiques dans le lait et produits laitiers de vache consommés à Ouagadougou, Burkina Faso». *Journal of Applied Biosciences*. 87 : 8105-8112.
21. **Bainbridge M.L., L.M. Cersosimo, A.D.G. Wright & J. Kraft. 2016.** « Content and composition of branched-chain fatty acids in bovine milk are affected by lactation stage and breed of dairy cow». *PLoS ONE* 11(3): e0150386.
22. **Banks W., J.L. Clapperton, M.E. Ferrie. 1976.** «Effect of feeding fat to dairy cows receiving a fat- deficient basal diet. II. Fatty acid composition of milk fat». *J. Dairy Research*. 43: 219-227.
23. **Banni S., G. Carta, M.S. Contini, E.Angioni, M. Deiana, M.A.Desse, M.P.Melis, F.P. Corongiu. 1996.** «Characterisation of conjugated diene fatty acids in milk, dairy products and lamb tissues». *Nutritional Biochemistry* 7: 150-155.
24. **Barber M.C, R.A. Clegg, M.T. Travers & R.G. Vernon. 1997.** «Lipid metabolism in the lactating mammary gland». *Biochim Biophys Acta*. 1374: 101-126.
25. **Barłowska J., Z. Litwińczuk & B.Topyla. 2005.** «Physical-chemical parameters of milk from different cow breeds in spring-summer feeding period». *Med. Weter.* 61, 937-939 (en Polonais, abstract en Anglais).

26. **Bastin C., N. Gengler & H. Soyeurt. 2011.** «Phenotypic and genetic variability of production traits and milk fatty acid contents across days in milk for Walloon Holstein first-parity cows». *J. Dairy Sci.* 94, 4152-4163.
27. **Bauman, D.E., Griinari, J.M. 2001.** « Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat syndrome » *Livestock Production Science.* 70: 15-29.
28. **Beaulieu, A.D. et Palmquist, D.L. 1995.** « Differential effects of high fat diets on fatty acid composition in milk of Jersey and Holstein cows». *J. Dairy Sci.* 78:1336-1344.
29. **Belhadia M. A. et H. Yakhlef, 2013.** «Performances de production laitière et de reproduction des élevages bovins laitiers, en zone semi-aride: les plaines du haut Cheliff, Nord de l'Algérie». *Livestock Research for Rural Development*, 25 (6) 2013.
30. **Bencharif A. 2001.** «Stratégies des acteurs de la filière lait en Algérie: états des lieux et problématiques. In : Padilla M. (ed.), Ben Saïd T. (ed.), Hassainya J. (ed.), Le Grusse P. (ed.). «Les filières et marchés du lait et dérivés en Méditerranée : état des lieux, problématique et méthodologie pour la recherche». Montpellier : CIHEAM, 2001. p. 25-45 (Options Méditerranéennes : Série B. Etudes et Recherches; N°32).
31. **Bendali F., P. Roussel, V. David, A. Gentillhomme et A. Serment. 2007.** « Les substances inhibitrices en élevages laitiers : Synthèse bibliographique et identification des molécules utilisées », p 80.
32. **Ben-Mahdi, M.H. and S. Ouslimani. 2009.** «Mise en Évidence De Résidus d'Antibiotiques Dans le Lait de Vache Produit Dans l'Algérois». *European Journal of Scientific Research*, Vol. 36, No. 3, 357-362.
33. **Benyounes A., H.E. Bouriache & F. Lamrani. 2013.** «Effet du stade de lactation sur la qualité physico-chimique du lait de vache Holstein élevée en région Est d'Algérie». *Livestock Research for Rural Development* 25 (7) July 2013.
34. **Bilal G., R. I. Cue, A. F. Mustafa, and J. F. Hayes. 2014.** «Effects of parity, age at calving and stage of lactation on fatty acid composition of milk in Canadian Holsteins». *Can. J. Anim. Sci.* 94: 401-410.
35. **Bilandžić N., B. S. Kolanović, I. Varenina, G. Scortichini, L. Annunziata, M. Brstilo and N. Rudan. 2011.** «Veterinary drug residues determination in raw milk in Croatia». *Food Control*, 22, 1941-1948.
36. **Bitman J. et L.D. Wood. 1990.** « Changes in Milk Fat Phospholipids During Lactation », *J. Dairy Sci.*, 73:1208-1216.
37. **Blanc 1982.** « Les protéines du lait à activité enzymatique et hormonale ». *Le lait*, 62 : 350-395.

38. **Bobé G., J.A.M. Bormann, G.L.Lindberg, A.E. Freeman & D.C. Beitz. 2008.** «Short communication: Estimates of genetic variation of milk fatty acids in US Holstein cows». *J. Dairy Sci.* 91, 1209-1213.
39. **Bonanome A. and S.M. Grundy.1988.** « Effect of Dietary Stearic Acid on Plasma Cholesterol and Lipoprotein Levels». *N. Engl. J. Med.* 318:1244-1248.
40. **Bonhofoh B., H. Traoré, C. F. Simbé, I.O. Alfaroukh, J. Nicolat, B. Rehberger, Z. Farah, et J. Zinsstag. 2002.** «Hygiène et qualité du lait et des produits laitiers au mali ». Atelier lait sain pour le Sahel Bamako.
41. **Bories G., 1986.** «Médicaments vétérinaires et sécurité alimentaires, aspects analytiques du problème des résidus», *Bull. des G.T.V.*, 01, 61-64.
42. **Botsoglou N.A. et D.J. Fletouris. 2001.** « Drug residues in foods, pharmacology, food safety and analysis ». Marcel Dekker, Inc, New York, 2001.
43. **Boudalia, S., D. Benati, R. Boukharouba, B. Chemakh and M. Chemmam. 2016.** «Physicochemical properties and hygienic quality of raw and reconstituted milk in the region of Guelma-Algeria». *Int. J. Agric. Res.*, 11: 77-83.
44. **Boutonnier J.L. 2006.** « Matière grasse laitière - Composition, organisation et propriétés ». *Techniques de l'Ingénieur*, f6320, 16p.
45. **Brighty K.E. and T.D. Gootz. 2000.** «Chemistry and mechanism of action of the Quinolone antibacterials (Chapter 2), The Quinolones». V.T. Andriole, ed. Elsevier, Connecticut, U.S.A.
46. **Brignon G., B. Ribadeau Dumas, J.C. Mercier, J.P. Pélissier, B.C. Das. 1977.** « Complete amino acid sequence of bovine  $\alpha_{s2}$ -casein ». *FEBS Lett.*, 76, 274-279.
47. **Brouillet P. 1994.** «Maîtrise de la présence d'inhibiteurs dans le lait, Revue : recueil de médecine vétérinaire». N° 170, Juin-Juillet 1994, p. 443-454.
48. **Brouillet P. 2002.** «Résidus de médicaments dans le lait et tests de détection». *Bull. des GTV* n°15. Mai-Juin 2002, p. 25-41.
49. **Burgat V. 1984.** « Allergy and residues. I Safety and quality in Food », Edit Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 143-157.
50. **Bushway A. et T. Keenan. 1978.** « Composition and synthesis of three higher ganglioside analogs in bovine mammary tissue », *Lipids*, 13: 59-65.
51. **CAC/MISC 5-1993-** «Glossaire de termes et définitions (pour les résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments) ». 4 p.

52. **CAC/MRL 2. Codex Alimentarius Commission. 2015.** «Maximum residue limits (MRLs) and risk management recommendations (RMRs) for residues of veterinary drugs in foods Updated as at the 38th Session of the Codex Alimentarius Commission, July 2015».
53. **Caroll, S.M., E.J. DePeters, S.J. Taylor, M. Rosenberg, H. Perez-Monti, & V.A. Capps. 2006.** «Milk composition of Holstein, Jersey and Brown Swiss cows in response to increasing levels of dietary fat». *Anim. Feed Sci. Technol.* 131, 451-473.
54. **Carrero J. J., L. Baró, J. Fonollá, M. González-Santiago, A. Martínez-Férez, R. Castillo, J. Jiménez, J. J. Boza, E. López-Huertas. 2004.** « Cardiovascular effects of milk enriched with  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acids, oleic acid, folic acid, and vitamins E and B6 in volunteers with mild hyperlipidemia ». *Nutrition.* 20: 521-527.
55. **Castro-Puyana M., A.L. Crego and Marina M.L. 2010.** «Recent advances in the analysis of antibiotics by CE and CEC». *Electrophoresis*, vol. 31, 229-250.
56. **CE (Commission Européenne), 1996.** « Directive 96/23/CE Du Conseil relative aux mesures de contrôle à mettre en œuvre à l'égard de certaines substances et de leurs résidus dans les animaux vivants et leurs produits». *J. Off. de l'Union Européenne*, L125, 10-32.
57. **CE (Commission Européenne). 2001.** « Directive 2001/82/CE du parlement européen et du conseil du 6 novembre 2001 instituant un code communautaire relatif aux médicaments vétérinaires ». *J. Off. de l'Union Européenne*, L 311, 1-129.
58. **CE (Commission Européenne). 2002.** « Décision 2002/657/CE de la commission du 12 Août 2002 portant modalités d'application de la directive 96/23/CE du conseil en ce qui concerne les performances des méthodes d'analyse et l'interprétation des résultats ». *J. Off. de l'Union Européenne*, L221, 8-36.
59. **CE (Commission Européenne). 2009.** «Règlement N°470/2009 du parlement Européen et du conseil du 6 mai 2009. établissant des procédures communautaires pour la fixation des limites de résidus des substances pharmacologiquement actives dans les aliments d'origine animale, abrogeant le règlement (CEE) N° 2377/90 du Conseil et modifiant la directive 2001/82/CE du Parlement européen et du Conseil et le règlement (CE) N°726/2004 du Parlement européen et du Conseil». *J. Off. de l'Union Européenne*, L152, 11-22.

60. **CE (Commission Européenne). 2010.** « Règlement N°37/2010 de la commission du 22 décembre 2009 relatif aux substances pharmacologiquement actives et à leur classification en ce qui concerne les limites maximales de résidus dans les aliments d'origine animale ». *J. Off. de l'Union Européenne*, L15, 1-72.
61. **Cháfer-Pericás C., A. Maquieira, R. Puchades. 2010.** « Fast screening methods to detect antibiotic residues in food samples ». *Trends in Analytical Chemistry*, vol. 29, 1038-1049.
62. **Cháfer-Pericás C., A. Maquieira, R. Puchades, J. Miralles and A. Moreno. 2011.** « Multiresidue determination of antibiotics in feed and fish samples for food safety evaluation. Comparison of immunoassay vs LC-MS-MS ». *Food Control*, vol. 22, 993-999.
63. **Chardigny J.M., C. Malpuech-Brugere, J.L. Sebedio 2005.** «CLAs, nature, origin and some metabolic aspects». *OCL*; 12.
64. **Châtaigner. B, A. Stevens. 2005.** «Investigation sur la présence de résidus d'antibiotiques dans les viandes commercialisées a Dakar». Institut Pasteur de Dakar, p. 6-9.
65. **Cherfaoui A. 2003.** « Essai diagnostic stratégique d'une entreprise publique en phase de transition. Le cas LFB (Algérie) ». Thèse Master Science, Montpellier : CIHEAM/IAMM, 119p.
66. **Cherif E. 2013.** « Un marché mondial de quoi aiguïser les appétits ». *Agroligne*, N°90, 5-19.
67. **Chilliard Y., A. Ferlay, M. Doreau. 2000.** «Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, *trans* and conjugated fatty acids». *Annales de Zootechnie* 49: 181-205.
68. **Chilliard Y., A. Ferlay, et M. Doreau. 2001a.** « Contrôle de la qualité nutritionnelle des matières grasses du lait par l'alimentation des vaches laitières : acides gras *trans*, polyinsaturés, acide linoléique conjugué », *INRA Prod. Anim.*, 323-335.
69. **Chilliard Y., A. Ferlay, M. Doreau. 2001b.** «Effect of different type of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids». *Livestock Production Science*, 70: 31-48.
70. **Chrisitie W. W., R. C. Noble, et C. Davies. 1987.** « Phospholipids in milk and dairy products », *J. Soc. Dairy Technol.* 40:10-12.

71. **CNIS (Centre National de l'Informatique et des Statistiques). 2017.** «Statistiques du commerce extérieur de l'Algérie. Période: 2016». [http://www.douane.gov.dz/pdf/r\\_periodique/Rapport%20annee%202016.pdf](http://www.douane.gov.dz/pdf/r_periodique/Rapport%20annee%202016.pdf)
72. **Connor W.E., 2000.** «Importance of n-3 fatty acids in health and disease». *Am. J. Clin. Nutr.* 71: 171–175.
73. **Coulon J.B., D. Roybin, E. Congy, & A. Garret. 1988.** «Composition chimique et temps de coagulation du lait de vache : facteurs de variation dans les exploitations du pays de Thônes». *INRA Prod. Anim.*, 1 (4), 253-263.
74. **Coulon J.B., Y. Chilliard, & B. Rémond. 1991.** «Effets du stade physiologique et de la saison sur la composition chimique du lait de vache et ses caractéristiques technologiques (aptitude à la coagulation, lipolyse) ». *INRA Prod. Anim.*, 4 (3), 219-228.
75. **Couvreur S., C. Hurtaud.2007.** « Le globule gras du lait : sécrétion, composition, fonctions et facteurs de variation ». *INRA Prod. Anim.*,20 (5), 369-382.
76. **Craninx M., A. Steen, H. Van Laar, T. Van Nespén, J. Martín-Tereso, B. De Baets, & V. Fievez. 2008.** « Effect of lactation stage on the odd- and branched-chain milk fatty acids of dairy cattle under grazing and indoor conditions ». *J. Dairy Sci.* 91: 2662–2677.
77. **Croguennec T., R. Jeantet, G. Brulé. 2008.** « Fondements physicochimiques de la technologie laitière ». Lavoisier, Techn. et Doc., Paris, 160 p.
78. **Croissant A.E., S.P. Washburn, L.L. Dean, M.A. Drake. 2007.** «Chemical Properties and Consumer Perception of Fluid Milk from Conventional and Pasture-Based Production Systems». *J. Dairy Sci.* 90: 4942-4953.
79. **Crotti S., I. Isak, P. Traldi. 2013.** « Advanced Spectroscopic Detectors for Identification and Quantification : Mass Spectrometry ». Chapter 14 in book published by Fanali S., P.R. Haddad, C.F. Poole, P. Schoenmakers, D. Lloyd. «Liquide chromatography applications». Elsevier edition. 307-327.
80. **Cummings J.H. 1997.** « Short-chain fatty acid enemas in the treatment of distal ulcerative colitis ». *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*9:149–153.
81. **Cuvelier C., J.-F. Cabaraux, I. Dufrasne, J.-L. Hornick, L. Istasse. 2004.** « Acides gras : Nomenclature et sources alimentaires ». *Ann. Méd. Vét.*, 148 : 133-140.
82. **Danthine S., C. Blecker, M. Paquot, N. Innocente, C. Deroanne. 2000.** « Évolution des connaissances sur la membrane du globule gras du lait : synthèse bibliographique ». *Le Lait* 80, 209–222.

83. **Dasenaki M., A.A. Bletsou and N.S. Thomaidis. 2014.** «Antibacterials (chapter 38), Handbook of food analysis». Third Edition by Leo M.L. Nollet and Fidel Toldra, Eds., CRC Press, Boca Raton, FL, in press.
84. **Dasenaki M. et N. Thomaidis. 2015.** «Multi-residue determination of 115 veterinary drugs and pharmaceutical residues in milk powder, butter, fish tissue and eggs using liquid chromatography–tandem mass spectrometry». *Analytica Chimica Acta*, 880 : 103–121
85. **David F., P. Sandra, A. K. Vickers. 2005.** « Column Selection for the Analysis of Fatty Acid Methyl Esters. Application Food Analysis». Palo Alto, CA: Agilent Technologies, Inc. USA, 5989-3760EN.
86. **Davies D. T., C. Holt, and W. W. Christie. 1983.** «The composition of milk. Ch. 5 in Biochemistry of Lactation». T. B. Mepham, ed. Amsterdam: Elsevier”.
87. **De Caterina R. 2011.** « n-3 fatty acids in cardiovascular disease». *N. Engl. J. Med.*, 364:2439-50.
88. **Dehareng F. 2007.** «Nouvelle réglementation concernant le contrôle de la qualité et de la composition du lait cru. Journée d'études « Laboratoire National de Référence ». Lait et Produits laitiers –Bruxelles, 11 mai 2007-[http://www.favv-afsca.fgov.be/labos/vorming/doc07/2007-05-11\\_Nouvelle-reglementation-lait-cru\\_fr.pdf](http://www.favv-afsca.fgov.be/labos/vorming/doc07/2007-05-11_Nouvelle-reglementation-lait-cru_fr.pdf) (12/02/2009).
89. **De Marchi M., G. Bittante, R. Dal Zotto, C. Dalvit, & M. Cassandro. 2008.** «Effect of Holstein Friesian and Brown Swiss breeds on quality of milk and cheese». *J. Dairy Sci.* 91, 4092-4102.
90. **Demoly P., D. Hillaire-Buys, N. Raison-Peyron, P. Godard, F.-B. Michel, J. Bousquet. 2003.** « Identifier et comprendre les allergies médicamenteuses ». *Médecine/Science*, Vol. 19, N°3, 327-336.
91. **Demoly P. 2008.** «Prise en charge des suspicions d'allergies aux antibiotiques. Diagnosis of antibiotic allergy ». *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique*, 48 : S32-S38.
92. **Derache R., 1986.** «Toxicologie et sécurité des aliments», Edit Lavoisier, Tech &Doc, Paris, p 594.

93. **De Souza R. J., A. Mente, A. Maroleanu, A. I. Cozma, V. Ha, T. Kishibe, E. Uleryk, P. Budyłowski, H. Schönemann, J. Beyene, S. S. Anand. 2015.** «Intake of saturated and trans unsaturated fatty acids and risk of all cause mortality, cardiovascular disease, and type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis of observational studies». *BMJ*. 351:h3978 doi: 10.1136/bmj.h3978.
94. **Dewdney J. M., L. Maes, J. P. Raynaud, F. Blanc, J. P. Scheid, T. Jackson, S. Lens, and C. Verschueren. 1991.** «Risk assessment of antibiotic residues of  $\beta$ -lactams and macrolides in food products with regard to their immuno-allergic potential». *Food and Chemical Toxicology*, 29, 477-483.
95. **Di Sabatino A., R. Morera, R. Ciccocioppo, P. Cazzola, S. Gotti, F.P. Tinozzi, S. Tinozzi, G.R. Corazza. 2005.** « Oral butyrate for mildly to moderately active Crohn's disease». *Aliment. Pharmacol. Ther.* 22:789–794.
96. **Djermoun A., F. Chehat. 2012.** « Le développement de la filière lait en Algérie : de l'autosuffisance à la dépendance ». *Livestock Research for Rural Development*. Vol. 24, <http://www.lrrd.org/lrrd24/1/abde24022.htm>.
97. **DSA. Direction des Services Agricoles. 2013.** «Répartition des élevages et de l'effectif bovin dans la wilaya d'Alger». 78 p.
98. **Ducháček J., M. Vacek, L. Stádník, J. Beran, & M. Okrouhlá. 2012.** «Changes in milk fatty acid composition in relation to indicators of energy balance in Holstein cows». *Acta univ. agric. et silvic. Mendel. Brun.*, 2012, LX, No. 1, pp. 29–38.
99. **Eastridge M. L., and D. L. Palmquist. 1988.** « Supplemental energy as calcium soaps beginning at two or six weeks of lactation». *J. Dairy Sci.* 71(Suppl. I): 254.(Abstr.)
100. **Ecckhoutte, M., 1978.** « Antibiotiques et alimentation humaine », *Revue de Méd.Vét.*, 125, (5), 717-740.
101. **Eigel W.N., J.E. Butler, C.A. Ernstrom. 1984.** «Nomenclature of proteins of cow's milk: fifth revision». *J. Dairy Sci.*, 67: 1599-1631.
102. **El Hassani S. K. 2013.** « La Dépendance Alimentaire en Algérie: Importation de Lait en Poudre versus Production Locale, Quelle Evolution? ». *Mediterranean Journal of Social Sciences*, 4 (11), 152-158.
103. **Evangelopoulou E.N. and V.F. Samanidou. 2013.** «Development and validation of an HPLC method for the determination of six penicillin and three amphenicol antibiotics in gilthead seabream (*Sparus Aurata*) tissue according to the European Union Decision 2002/657/EC». *Food Chemistry*, Vol. 136, 1322-1329.

104. **Fabre. J.M et D. Joyes. 2000.** «Résidus dans le lait : observation des inhibiteurs bien utiliser les médicaments proceedings : lait, qualité et santé» p. 10-12.
105. **Fabre J.M., J.P. Moretain, et X. Berthelot. 2002.** «Evolution de la méthode interprofessionnelle de recherche des résidus d’antibiotiques dans le lait », *Bull. des GTV.*, N° 15, 172-178.
106. **Fabre J.M, O. Bouquet, C. Petit. 2006.** «Extrait du livre : Comprendre et prévenir les risques de résidus d’antibiotiques dans les denrées d’origine animale» p. 25-47.
107. **Fabre J.M., G. Bosquet, P. Sans. 2010.** «Méthode HACCP en élevage laitier : Prévention du risque de résidus antibiotiques et intérêt d’un test de recherche des inhibiteurs». *Bull. des GTV-* N°52 Février 2010.105-116.
108. **Farrell H. M., Jr. R. Jimenez-Flores, G. T. Bleck, E. M. Brown, J. E. Butler, L. K. Creamer, C. L. Hicks, C. M. Hollar, K. F. Ng-Kwai-Hang and H. E. Swaisgood 2004.** «Nomenclature of the Proteins of Cows’ Milk—Sixth Revision ». *J. Dairy Sci.* 87:1641–1674.
109. **Federicci-Mathieu C. 2000.** «Résidus dans le lait et sécurité alimentaire : quels risques ? quels moyens de maîtrise ? » Revue : *Bull. des GTV*, n°7, Avril-Mai 2000, p. 21-22.
110. **Ferlay, A., Martin, B., Lerch, S., Gobert, M., Pradel, P. & Chilliard, Y., 2010.** «Effects of supplementation of maize silage diets with extruded linseed, vitamin E and plant extracts rich in polyphenols, and morning vs. evening milking on milk fatty acid profiles in Holstein and Montbeliarde cows». *Animal*, 4, 627-640.
111. **Form G. 2003.** «Les résidus inhibiteurs dans le lait – Evolution des méthodes de détections – Facteurs de risque en région Rhône-Alpes». Thèse de doctorat vétérinaire. Université Claude-Bernard-Lyon I, 102 pp.
112. **Galantier M., B. Bernard. 2005.** « En Pratique : Connaissance et place du lait et des produits laitiers dans une alimentation équilibrée ». *Cah. Nutr. Diét.*, 40, *Hors série 1*, Volume 40, Supplement 1, Pages 57-63.
113. **Garnsworthy P. C. and C. D. Huggett. 1992.** « The influence of the fat concentration of the diet on the response by dairy cows to body condition at calving». *Anim. Prod.* 54:7.
114. **Garnsworthy P.C., L.L. Masson, A.L. Lock, & T.T. Mottram. 2006.** «Variation of milk citrate with stage of lactation and *de novo* fatty acid synthesis in dairy cows». *J. Dairy Sci.* 89: 1604–1612.

115. **Gaudin V. 2005.** « Dossier de reconduction de la validation AFNOR du test Beta-s.t.a.r. Test rapide de détection de résidus actifs d'antibiotiques de la famille des beta-Lactames (pénicillines, céphalosporines) dans le lait ». 19 p.
116. **Gaudin V., C. Hedou, A. Rault, P. Sanders, E. Verdon. 2009.** « Comparative study of three screening tests, two microbiological tube tests, and a multi-sulphonamide ELISA kit for the detection of antimicrobial and sulphonamide residues in eggs ». *Food Additives and Contaminants*, vol. 26, 427-440.
117. **Gehring R., S.R. Haskell, M.A. Payne, A.L. Craigmill, A.I. Webb and J.E. Riviere. 2005.** « Aminoglycoside residues in food of animal origin ». *Journal of the American Veterinary Medical Association*, Vol. 227, N° 1, 63-66.
118. **Ghidini S., E. Zanardi, G. Varisco and R. Chizzolini. 2002.** « Prevalence of molecules of  $\beta$ -lactam antibiotics in bovine milk Lombardia and Emilia Romagna (Italy) ». *Ann. Fac. Medic. Vet. Di parma*, 22: 245-252.
119. **Gibson J.P., 1991.** « The potential for genetic change in milk fat composition ». *J. Dairy Sci.* 74, 3258-3266.
120. **Gnädig S., J.M. Chardigny, J.L. Sébédio. 2001.** « Les lipides in: Debry, G., Lait, Nutrition et Santé », Edit Lavoisier, Tech & Doc, Paris, 3-42.
121. **Goddard M., 2001.** « Genetics to improve milk quality ». *Aust. J. Dairy Technol.* 56, 166-170.
122. **Got R., 1971.** « Les enzymes du lait ». *Ann. Nutr. Alim.*, 25, 291-311.
123. **Grenon C., S. Fournier, J. Goulet. 2004.** « Symposium sur les bovins laitiers : Lait de qualité ». 33p.
124. **Guesnet P., J.-M. Alessandri, P. Astorg, F. Pifferi, M. Laviaille. 2005.** « Les rôles physiologiques majeurs exercés par les acides gras polyinsaturés (AGPI) ». *OCL*, N° 5-6, 333-343.
125. **Guillou H., J.P. Pelissier, R. Grappin. 1986.** « Méthodes de dosage des protéines du lait de vache ». *Le Lait*, 66 (2), 143-175.
126. **Guillou H., G. Miranda et J.-P. Pelissier. 1987.** « Analyse quantitative des caséines dans le lait de vache par chromatographie liquide rapide d'échange d'ions (FPLC) ». *Le Lait*, 67 (2), 135-148.
127. **Gurr M. I. and J. L. Harwood. 1991.** « Lipid Biochemistry » 4th Ed. Chapman & Hall, New York.

128. **Guy P, D.Royer, P.Mottier, E. Gremaud, A. Perisset, R. Stadler. 2004.** «Quantitative determination of chloramphenicol in milk powders by isotope dilution liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry». *Journal of Chromatography A*, N°1054, p. 365–371.
129. **Hagemeister H., D. Precht, M. Franzen, C.A. Barth. 1991.** « $\alpha$ -Linoleic transfer into milk fat and its elongation by cows». *Fat Science Technology* 93: 387-391.
130. **Hakem (ex. Akam) A., B. Yabrir, D. Khelef, A. Laoun , F. Mouffok, N. El-Gallas, Y. Titouche, R. Ben Aissa. 2012.** «Evaluation of Microbial Quality of Raw Milk into two Dairies Mitidja's Farms (Algeria) ». *Bulletin USAMV, Veterinary Medicine* 69, 1-2.
131. **Hansen C. 2009.** «Betastar® Combo Rapid Test Kits Product Information». 3p.
132. **Hawke J.C., M.W. Taylor. 1994.** «Influence of nutritional factors on the yield, composition and physical properties of milk fat». In «Advanced Dairy Chemistry: Lipids». 2<sup>nd</sup> eds. (P.F. Fox, ed), Chapman and Hall, London pp. 37-38.
133. **Hayes K.C. et P. Khosla. 1992.** «Dietary fatty acids thresholds and cholesterolemia ». *FASB J*, 6: 2600-2607.
134. **Hebeisen D.F., F. Hoeflin, H.P. Resurch, E. Junker, et B.H. Lauterburg. 1993.** «Increased concentrations of omega-3 fatty acids in milk and platelet rich plasma of grass-fed cows », *Int. J. Vit. Nut. Res.*, 63: 229-233.
135. **Heck J.M.L., H.J.F. Van Valenberg, J. Dijkstra, & A.C.M. Van Hooijdonk. 2009.** «Seasonal variation in the Dutch bovine raw milk composition». *J. Dairy Sci.* 92 : 4745–4755.
136. **Hortet P. et H. Seegers. 1998.** «Loss in milk yield and related composition changes resulting from clinical mastitis in dairy cows». *Prev. Vet. Med.* 37:1–20.
137. **Huda-Faujan N., A.S. Abdulmir, A.B. Fatimah, O. Muhammad Anas, M. Shuhaimi, A.M. Yazid, and Y.Y. Loong. 2010.** «The Impact of the Level of the Intestinal Short Chain Fatty Acids in Inflammatory Bowel Disease Patients Versus Healthy Subjects ». *Open Biochem. J.* 4: 53–58.
138. **Hunter J.E., J. Zhang & P.M. Kris-Etherton. 2010.** «Cardiovascular disease risk of dietary stearic acid compared with trans, other saturated, and unsaturated fatty acids: a systematic review». *Am. J. Clin. Nutr.* 91: 46–63.
139. **ISO 1211: 2010 IDF 1: 2010 (E).** International Organization of Standardization (ISO), Geneva.
140. **ISO 12966-2: 2011 (E).** International Organization of Standardization (ISO), Geneva.

141. **ISO 8968-1, IDF 020-1: 2014 (E).** International Organization of Standardization (ISO), Geneva.
142. **ITELV. 2012.** «L'Agriculture 50 ans de labour et de labeur. Dynamiques de développement de la filière lait en Algérie ». *Bulletin technique Agro-élevage*, N°6, 2p.
143. **Jahreis G., J. Fristche, H. Steinhart. 1997.** «Conjugated linoleic acid in milk fat: high variation depending on production system». *Nutrition Research*, 9: 1479-1484.
144. **Jenkins T.C. 1998.** «Fatty acid composition of milk from Holstein cows fed oleamide or canola oil». *J. Dairy Research*. 81: 794-800.
145. **Jenkins T.C. 1999.** «Lactation performance and fatty acid composition of milk from Holstein cows fed 0 to 5% oleamide». *J. Dairy Sci.* 82: 295-350.
146. **Jenness R. 1985.** «Biochemical and nutritional aspects of milk and colostrum». Ch. 5 in *Lactation*, B. L. Larson, ed. Ames: Iowa State University Press.
147. **Jensen R. G. 1989a.** «The Lipids of Human Milk». pp. 7-42. CRC Press, Boca Raton, FL.
148. **Jensen R. G. 1989b.** « Lipids in human milk-Composition and fat soluble vitamins». In « Textbook of Gastroenterology in Infancy». (E. Lebenthal, ed.), 2nd Ed., pp. 57-208. Raven Press, New York.
149. **Jensen R.G., A.M. Ferris et C.J. Lammi-keefe. 1991.** «Symposium: milk fat-composition, function, and potential for change: The Composition of Milk Fat». *J. Dairy Sci.*, 74:3228-3243.
150. **Jensen R. et D. Newburg, 1995.** « Bovine milks lipids. In: Jensen, R., Handbook of milk composition », Academic Press, San Diego, 543-576.
151. **Jensen R.G. 2002.** « The composition of bovine milk lipids: January 1995- December 2000 », *J. Dairy Sci.* 85: 295-350.
152. **Jepsen A. 1973** « Les résidus de désinfectants et d'antibiotiques dans le lait », in Adrin. J., « Valeur alimentaire du lait ». La maison Rustique, Paris, 457-464.
153. **Johnson H.D., K.J. Spencer, W. Manula, N.F. Meador, P.S. Katti. 2002.** «Influence of water sprays and wind in hot humid environments on milk yield, metabolic and thermoregulatory functions». In «18<sup>th</sup> Conference on Agriculture and Forest Meteorology and Conference on Biometeorology and Aerobiology». Lafayette. Indiana pp. 330-333.
154. **Jones G. M., C.C. Stallings. 1999.** «Reducing Heat Stress for Dairy Cattle». Department of Dairy Science, Virginia Technology, pp. 404 – 200.

- 155. JORADP, N°69 du 11 Joumada El Oula 1414 correspondant au 27 Octobre 1993.**  
« Arrêté interministériel du 29 Safar 1414 correspondant au 18 août 1993, Relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation».16-20.
- 156. JORADP, N°74 du 3 Rabie El Aouel 1436 correspondant au 25 Décembre 2014.**  
«Décret exécutif n°14-366 du 22 Safar 1436 correspondant au 15 décembre 2014. fixant les conditions et les modalités applicables en matière de contaminants tolérés dans les denrées alimentaires».13-14.
- 157. Journet M., R. Verite et B. Vignon. 1975.** « L'azote non protéique du lait : facteurs de variation ». *Le lait*, N°543-544, 212-223.
- 158. Juan-Garcia A., G. Font and Y. Pico. 2007.** «Simultaneous determination of different classes of antibiotics in fish and livestock by CE-MS». *Electrophoresis*, vol. 28, 4180-4190.
- 159. Kaci M., S.Yahiaoui. 2017.** « Étude lait conditionné et boissons lactées algérie ». Capitalisation des acquis des programmes Algérie/UE-PME 1 et PME 2.
- 160. Kali S., M. Benidir, K. Ait Kaci, B. Belkheir, M.T. Benyoucef. 2011.** «Situation de la filière lait en Algérie, approche analytique d'amont en aval». *Livestock Reaserch For Rural Devloppment*, 23 (8).
- 161. Kaminogawa S., K. Yamauchi, 1972.** «Decomposition of I3-casein by milk protease. Similarity of the decomposed products to temperature sensitive and R-caseins». *Agric. Biol. Chem.*, 36, 255- 260.
- 162. Kang'ethe E. K., G. O. Aboge, S. Arimi, M., L. W. Kanja, A. O. Omore and J. J. McDermott. 2005.** «Investigation of risk of consumingmarketed milk with antimicrobial residues in Kenya». *Food Control*, 16: 349-355.
- 163. Kaouche-Adjlane S. 2015.** « La filière laitière en Algérie. Etat des lieux et focus sur quelques contraintes de développement ». CIHEAM, Watch Letter, N°35, 6p.
- 164. Karijord N. Standal, and O. Syrstad. 1982.** «Sources of variation in composition of milk fat». *Z. Tierz. Zuechtungsbiol.* 99:81.
- 165. Kay J.K., W.J. Weber, C.E., Moore, D.E. Bauman, L.B. Hansen, , H. Chester-Jones, , B.A. Crooker & L.H. Baumgard. 2005.** «Effects of week of lactation and genetic selection for milk yield on milk fatty acid composition in Holstein cows». *J. Dairy Sci.* 88:3886–3893.
- 166. Keck G., 1981.** « Chloramphénicol : antibiotique à risque », *Rec.Méd.Vét.*, 157 (6), 507-513.

167. Kelly M.L., Kolver, D.S., Bauman, D.E., Van Ambrugh, M.E., Muller, L.D. 1998. «Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating dairy cows». *J. Dairy Sci.* 81: 1630-1636.
168. Kerberve L. et Richard, J., 1971. « Influence des résidus de désinfectants dans le lait sur l'activité de quelques streptocoques lactiques », *Rev. Lait. Franç.*, (57), 17- 32.
169. Keys J. E., Pearson R. E. & Weinland B. T. 1979. «Starter culture, temperature and antibiotic residue in fermentation of mastitic milk to feed dairy calves». *J. Dairy Sci.* 62, 1408-1414.
170. Khaskheli M., R.S. Malik, M.A. Arain, A.H. Soomro and H.H. Arain. 2008. «Detection of  $\beta$  - Lactam Antibiotic Residues in Market Milk». *Pakistan Journal of Nutrition* 7 (5): 682-685.
171. Kherzat B. 2007. « Essai d'évaluation de la politique laitière en perspective de l'adhésion de l'Algérie à l'Organisation Mondiale du Commerce et à la zone de libre échange avec l'union Européenne ». Mémoire de Magister, Institut National Agronomique, El Harrach, 124p.
172. Kliem K.E., Aikman, P.C., Humphries, D.J., Morgan, R., Shingfield, K.J. & Givens, D.I., 2009. «Effect of replacing calcium salts of palm oil distillate with extruded linseeds on milk fatty acid composition in Jersey and Holstein cows». *Animal*, 3, 1754-1762.
173. Kris-Etherton P.M. et J. Diestchy. 1997. « Design criteria for studies examining individual fatty acid effects on cardiovascular disease risk factor: human and animal studies ». *Am. J. Clin. Nutr.*, suppl, 65: 1590-1596.
174. Kris-Etherton, P.M. et S. Yu. 1997. « Individual fatty acids effects on plasma lipids and lipoproteins: human studies ». *Am. J. Clin. Nutr.*, suppl, 65: 1628-1644.
175. Kurwijila L. R., A. Omoro, S. Staal, and N.S.Y. Mdoe. 2006. «Investigation of the Risk of Exposure to Antimicrobial Residues Present in Marketed Milk in Tanzania». *Journal of Food Protection*, Vol. 69, No.(10) 2487–2492.
176. Laakso P., P. Manninen, J. Makinen, H. Kallio. 1996. « Postparturition changes in the triacylglycerols of cow colostrums». *Lipids*. 31, 937–943.
177. Labie CH., 1981. « Disposition législatives destinées à éviter la présence de résidus dans le lait », *Rec. Med. Vet.*, 157, 161-167.
178. Lara F.J., M. del Olmo-Iruela, C. Cruces-Blanco, C. Quesada-Molina and A.M. Garcia-Campana. 2012. «Advances in the determination of b-lactam antibiotics by liquid chromatography». *Trends in Analytical Chemistry*, vol. 38, 52-66.

179. **Latyrfall C., 1997.** «Etude des frauds du lait cru: mouillage et écrémage». Ecole Inter états des Sciences et Médecine Vétérinaire (E.I.S.M.V), p.p 10-48.
180. **Laurentie M., P. Sanders. 2002.** «Résidus de médicaments vétérinaires et temps d'attente dans le lait». *Bull. des GTV*, n°15, Avril-Mai-Juin 2002, p. 51-55.
181. **Lawless F., J.J. Murphy, G.Kjellmer, J.F. Conolly, R. Devery, S. Aherne, M. O'Shea, C. Stanton. 1996.** «Effect of diet on bovine milk fat conjugated linoleic acid content». *Irish Journal of Agriculture and Food Research* 35:208-211.
182. **Layada S., D.E. Benouareth, W. Coucke and M. Andjelkovic. 2016.** «Assessment of antibiotic residues in commercial and farm milk collected in the region of Guelma (Algeria) ». *International Journal of Food Contamination*, 3:19.
183. **Legarto J., M. Gelé, A.Ferlay, C. Hurtaud, G. Lagriffoul, I. Palhière, J.-L.Peyraud, B. Rouillé, & P. Brunschwig. 2014.** «Effets des conduites d'élevage sur la production de lait, les taux butyreux et protéique et la composition en acides gras du lait de vache, chèvre et brebis évaluée par spectrométrie dans le moyen infrarouge». *INRA Prod. Anim.*, 27 (4), 269-282.
184. **Legrand P. 2007.** «Les acides gras : structures, fonctions, apports nutritionnels conseillés ». *Cah. Nutr. Diét.*, 42 Hors série 1, 1S7-1S12.
185. **Lemoine R., 2010.** «Quelle alimentation pour quels laits». RLF N°700, p.p. 14-15.
186. **Le Poutre, D. et C. Petit. 2000.** «Maîtrise des résidus dans le lait : le rôle du vétérinaire praticien ». *Bull. des GTV*. n° 8, 199-203.
187. **Linn G.C.1988.** «Factors affecting the composition of milk from dairy cows». In «Designing Foods: Animal Product Options in the Marketplace». National Academy of Sciences. ISBN: 0-309-53552-2, 384p.
188. **Lock A.L., P.C. Garnsworthy, 2003.** «Seasonal variation in milk conjugated linoleic acid and  $\Delta 9$ - desaturase activity in dairy cows». *Livestock Production Science* 9: 47-59.
189. **Lock A. L., C. L. Preseaul, J. E. Rico, K. E. Deland, M.S. Allen. 2013.** «Feeding a C16:0 enriched fat supplement increased the yield of milk fat and improved conversion of feed to milk». *J.Dairy Sci.*, 96, 6650-6659.
190. **Lopez-Huertas E., 2010.** «Health effects of oleic acid and long chain omega-3 fatty acids (EPA and DHA) enriched milks». A review of intervention studies. *Pharmacol. Res.* 61, 200-207.
191. **Lynch J.M., D.M. Barbano, D.E. Bauman, G.F. Hartnell, M.A. Nemeth. 1992.** «Effect of a prolonged-release formulation of N-methionyl bovine somatotropin (Sometribove) on milk fat». *J. Dairy Sci.* 75, 1794–1809.

- 192. Madani T., H. Yakhlef, N. Abbache. 2003.** «Les races bovines, ovines, caprines et camelines. Evaluation des besoins en matière de renforcement des capacités nécessaires à la conservation et l'utilisation durable de la biodiversité importante pour l'agriculture en Algérie. Recueil des communications, Atelier N° 3 « Biodiversité Importante pour l'Agriculture ».MATE – GEF / PNUD Projet ALG / 97/G31 Alger 22-23/01/2003, pp. 44 – 51.
- 193. M.A.D.R. P. 2011.** «Liste de médicaments à usage vétérinaire interdites à l'importation. Document interne du Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (M.A.D.R), Alger». 2 p.
- 194. M.A.D.R.P. 2012.** «Répartition des établissements laitiers par wilayas. Document interne du Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (M.A.D.R), Alger». 34 p.
- 195. M.A.D.R.P. 2014.** «Évaluation de la mise en œuvre des programmes du renouveau agricole. 21<sup>ème</sup> session d'évaluation trimestrielle- Alger. du Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (M.A.D.R), Alger». 19 p.
- 196. M.A.D.R.P. 2015.** «Évolution du cheptel bovin, de la production laitière et de la collecte en Algérie. Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (M.A.D.R), Alger».
- 197. Maghium-Rogister G., 2002.** «Hormones, substances anabolisantes et résidus de traitement vétérinaires en relation avec la sécurité alimentaire » in Moll, M. et Moll, N., « Sécurité alimentaire du consommateur », 2<sup>ème</sup> édition, Tech et Doc, paris, 65-92.
- 198. Mahaut M., R. Jean, G. Brulé. 2003.** «Initiation à la technologie fromagère». Ed. TEC & DOC, volume 20, 194 p.
- 199. Makhlouf M., E. Montaigne, A. Tessa. 2015.** « La politique laitière algérienne: entre sécurité alimentaire et soutien différentiel de la consommation ». *New Medit*, N°1, 12p.
- 200. Makhlouf M., E. Montaigne. 2017.** « Impact de la nouvelle politique laitière algérienne sur la viabilité des exploitations laitières ». *New Medit*, N°1, 10p.
- 201. Månsson H.L., 2008.** «Fatty acids in bovine milk fat». *Food Nutr. Res.* 52.
- 202. Marazuela M.D., S. Bogialli. 2013.** « Determination of Veterinary Drug Residues in Foods by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry: Basic and Cutting- Edge Applications ». Chapter 17 in book published by Fanali S., P.R. Haddad, C.F. Poole, P. Schoenmakers, D. Lloyd. «Liquide chromatography applications». Elsevier edition. 455-476.

- 203. Marchetti M.C., G. Migliorati et R. Moraca. 1997.** « Possible mechanisms involved in apoptosis of colon tumor cell lines induced by deoxycholic acid, short-chain fatty acids, and their mixtures », *Nutr. Cancer*, 28: 74-80.
- 204. Martin J.C., K. Valeille. 2002.** «Conjugated linoleic acids: all the same or to everyone its own function? ». *Reprod Nutr Dev.* 42: 525-36.
- 205. Martins H.A., A.T. Kussumi, A.Y. Wang, D.T. Lebre. 2007.** «A rapid method to determine antibiotic residues in milk using liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry». *J. Braz. Chem. Soc.*, Vol. 18, N°2, 397-405.
- 206. Mastovska K. 2011.** « Multiresidue analysis of antibiotics in food of animal origin using liquid chromatography-mass spectrometry» Chapter 12: Mass Spectrometry in «Food safety: Methods and protocols», by Jerry Zweigenbaum, Ed., Springer Verlag, New York, 2011.
- 207. Mathieu J., 1998.** « Initiation à la physicochimie du lait », édition Lavoisier, paris 221p.
- 208. Mc Dowell A.K.R. 1972.** « Seasonal variations in the total nitrogen, non protein nitrogen and urea nitrogen content of *Friesian and Jersey milk* ». *J. Dairy Res.*39, 27.
- 209. Mele M., G. Conte, B. Castiglioni, S. Chessa, N.P.P. Macciotta, A. Serra, A. Buccioni, G. Pagnacco & P. Secchiari. 2007.** « Stearoyl-coenzyme A desaturase gene polymorphism and milk fatty acid composition in Italian Holsteins». *J. Dairy Sci.* 90, 4458-4465.
- 210. Mensah S.E.P., O.D. Koudandé, P. Sanders, M. Laurentie, G.A. Mensah and F.A. Abiola. 2014.** « Résidus d'antibiotiques et denrées d'origine animale en Afrique : risques de santé publique ». *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 33 (3), 1-27.
- 211. Mensink R.P. et M.B. Katan. 1993.** « *Trans* monounsaturated fatty acids in nutrition and their impact on serum lipoprotein levels », *Progress in Lipid Research*, 32: 111-122.
- 212. Mietton B, M. Desmazeaud et H. Deroissart. 1994.** «Les bactéries lactiques». Édition Lavoisier, volume 2, p. 55-134.
- 213. Milhaud G. 1981.** «Appréciation de la nuisance des résidus d'antibiotiques : toxicité directe du chloramphénicol». *Semaine vétérinaire*, n° 203, p. 8.
- 214. Miroud A., A. Hadeif, D. Khelef, S. Ismail et R Kaidi, 2014.** «Bilan de reproduction de la vache laitière dans le nord-est de l'Algérie». *Livestock Research for Rural Development* 26 (6) 2014.

215. **Mitchell J.M., M. W. Griffiths, S. A. McEwen, W. B. McNab, and A. J. Yee. 1998.** «Antimicrobial drug residues in milk and meat: causes, concerns, prevalence, regulations, tests, and test performance». *Journal of Food Protection* 61, 742-756.
216. **Mitchell M., 2005.** «Détection des résidus d'antibiotiques dans le lait de chèvre. *Artificial Intelligence*». N° 170(18), 1194-1212.
217. **Mokhtari A., B. Hosseini, P. Panahi 2013.** « $\beta$ -Lactams and Tetracyclines Antibiotic Residue Detection in Bulk Tank Milk in Iran». *Iranian J. Publ. Health*, Vol. 42, No.4, Apr 2013, pp.447-448.
218. **Moore C.E., J.K. Kay, R.J.Collier, M.J. VanBaale, & L.H. Baumgard. 2005.** «Effect of supplemental conjugated linoleic acids on heat-stressed Brown Swiss and Holstein cows». *J. Dairy Sci.* 88, 1732-1740.
219. **Morales M.S., D.L. Palmquist & W.P. Weiss. 2000.** «Milk fat composition of Holstein and Jersey cows with control or depleted copper status and fed whole soyabeans or tallow». *J. Dairy Sci.* 83, 2112-2119.
220. **Morin O. 2005.** «Acides gras *trans* : récents développements ». *OCL*, 12, 414-421.
221. **Morrison W. et L. Smith 1964.** «Identification of ceramide monohexoside and ceramide dihexoside in bovine milk », *Biochim Biophysica Acta*, 84: 759-761.
222. **Moulin G. 1999.** «Code de bon usage des antibiotiques en élevage Conférence : the use of antibiotics in animals ensuring the protection of public health». Mars 1999 OIE, Paris, France.
223. **Murphy J.J., J.F. Conolly, G.P. McNeil. 1995.** «Effects on cow performance and milk fat composition of feeding full fat soybeans and rape seeds of dairy cows at pasture». *Livestock Production Science* 44: 13-25.
224. **Nantapo C.T.W., V. Muchenje & A. Hugo. 2014.** «Atherogenicity index and health-related fatty acids in different stages of lactation from Friesian, Jersey and Friesian X Jersey cross cow milk under a pasture-based dairy system». *Food Chemistry*. 146: 127–133.
225. **Neogen. 2012.** «Betastar<sup>®</sup> Combo Technical product information, validation report». Neogen Corporation, Lansing, MI, USA.
226. **Neville M.C., R.G., Jensen.1995.** «The Physical Properties of Human and Bovine Milks».Ch. 6 in R. G. Jensen, «Handbook of milk composition, Ed. Academic Press».
227. **Noble R.C., W. Steele, J.H. Moore. 1969.** «The effects of dietary palmitic and stearic acids on milk fat composition in the cow». *J. Dairy Research* 36: 375-381.

228. **Nogalski, Z., M. Wroński, M. Sobczuk-Szul, M. Mochol, & P. Pogorzelska. 2012.** «The effect of body energy reserve mobilization on the fatty acid profile of milk in high-yielding cows». *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 25:1712–1720.
229. **NRC (National Research Council). 1999.** «The use of drugs in food animals, benefits and risks». National academy press, Washington, 253p.
230. **Olatoye I.O., O.F. Daniel, S.A. Ishola. 2016.** «Screening of antibiotics and chemical analysis of penicillin residue in fresh milk and traditional dairy products in Oyo state, Nigeria». *Veterinary World*, 9 (9): 948-954.
231. **Önal A. 2011.** «Overview on liquid chromatographic analysis of tetracycline residues in food matrices». *Food Chemistry*, vol.127, 197-203.
232. **Opekar F., P. Coufal, K. Stulvk. 2009.** «Rapid capillary zone electrophoresis along short separation pathways and its use in some hyphenated systems: A critical review». *Chemical Reviews*, Vol. 109, 4487-4499.
233. **Orwa J. D., J. W. Matofari, P. Simiyu Muliro and P. Lamuka. 2017.** «Assessment of sulphonamides and tetracyclines antibiotic residue contaminants in rural and peri urban dairy value chains in Kenya». *Int. J. of Food Contamination* (2017) 4:5. DOI 10.1186/s40550-017-0050-1
234. **Ostensen S., J. Foldager and J. E. Hermansen. 1997.** «Effects of stage of lactation, milk protein genotype and body condition at calving on protein composition and renneting properties of bovine milk». *J. Dairy Res.*, 64: 207-219.
235. **Ouslimani S. 2008.** «Recherche de résidus antibiotiques dans le lait de vache». Thèse de Magistère ENSV, 119 p.
236. **Palmquist D.L., A.D. Beaulieu, D.M. Barbano. 1993.** «Feed and animal factors influencing milk fat composition». *J. Dairy Sci.* 76: 1753-1771.
237. **Palmquist, D.L. 2006.** «Milk fat: Origin of fatty acids and influence of nutritional factors thereon. In : «Advanced Dairy Chemistry Lipids» (Ed. by P.F. Fox & P.L.H. McSweeney), pp. 43-92. Springer, New York.
238. **Parodi, P.W., 1999.** «Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat », *J. Dairy Sci.*, 82:1339-1349.
239. **Parodi P.W. 2004.** «Review article: Milk fat in human nutrition». *Aust. J. Dairy Technol.* 59: 3-59.
240. **Paul A.A., & D.A.T. Southgate. 1978.** «McCance and Widdowson's. The Composition of Foods». H.M. Stationery Office (4<sup>th</sup> ed.), London.

241. **Pavlinov J.A.I. 2000.** «The contribution to craniometric variation and taxonomy of jirds from the group "Shawi–grandis" of the genus *Meriones* (Gerbillidae) ». *Bull. Moscou Soc. natur.*, 79, pp. 201 – 209.
242. **Pawelczak K., M. Makowski, M. Kempny, J. M. Dzik, B. Golos, W. Rode and B. Rzeszotarska. 2002.** «Sulfamide antifolates inhibiting thymidylate synthase: synthesis, enzyme inhibition and cytotoxicity». *Acta Biochimica Polonica*, 49, 407-420.
243. **Pélissier J.-P., B. Ribadeau-Dumas. 1986.** « Synthèse des protéines du lait ». *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 26 (2B), 563-571.
244. **Pepin G., C. Boudene., 1977.** « Traitement des femelles laitières par voie galactophore à l'aide d'une nouvelle pénicilline semi synthétique ». *Rec. Méd. Vét.* N°153. p 565-571.
245. **Person J. M. 1981.** « Influence des résidus d'antibiotiques sur la flore digestive du consommateur Revue ». *Semaine vétérinaire*, n° 203, Février 1981, p. 8.
246. **Planchon P., H. Raux, et V. Magnien. 1991.** « New stable butyrate derivatives alter proliferation and differentiation in human mammary cells », *Int. J. Cancer*, 48: 443-449.
247. **Pougheon, S. et Goursaud, J. 2001.** « Le lait et ses constituants: caractéristiques physico-chimiques, in: Debry, G., Lait, Nutrition et Santé », Edit Lavoisier, Tech &Doc, Paris, 3-42.
248. **Pouillart R.P., 1998.** « Role of butyric acid and its derivatives in the treatment of colorectal cancer and hemoglobinopathies ». *Life Sciences*, 63: 1739-1760.
249. **Poutrel B. 2004.** «Antibiothérapie au tarissement chez la vache laitière. Le tarissement systématique : un concept dépassé ? ». *Le Point Vét.* N°245, 3p.
250. **Precht D. et J. Molkentin. 1996.** « Rapid analysis of the *trans* octadecenoic acid in milk fat », *Int. Dairy J.*, 6: 791-809.
251. **Precht D., J. Molkentin, 2000.** «Frequency distribution of conjugated Linoleic acid and *trans* fatty acids contents in Europeans bovine milk fats». *Milchwissenschaft* 55: 687-691.
252. **Puyt J.D. 2000.** « Antibiothérapie (Antibiotherapy) ». *Encyclopédie Vétérinaire*. Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, 15p.
253. **Rahal K. 2007.** « Production laitière en Algérie, Nécessité d'un suivi zootechnique de proximité. Cas du bassin laitier de la Mitidja », *Mag.Vet.*, 79-83.
254. **Raison-Peyron N., D. Messaad, J. Bousquet, P. Demoly. 2001.** «Anaphylaxis to beef in penicillin-allergic patient». *Allergy*. 56:796-797.

255. **Ramsden C.E., D. Zamora, B. Leelarthae-pin, S.F. Majchrzak-Hong, K. R. Faurot, C.M. Suchindran, A. Ringel, J.M. Davis, J.R. Hibbeln. 2013.** « Use of dietary linoleic acid for secondary prevention of coronary heart disease and death: evaluation of recovered data from the Sydney Diet Heart Study and updated meta-analysis ». *BMJ*, 346:e8707. Doi: 10.1136/bmj.e8707.
256. **Randolph H.E. et R.E. Erwin. 1973.** « Influence of mastitis on properties of milk. X. Fatty acid composition ». *J. Dairy Sci.* 57 (8), 865-868.
257. **Rego O.A., V.P. Portugal, B.M. Sousa, D.J.H. Rosa, M.C. Vouzela, S.E.A. Rui, J.B. Bessa. 2004.** «Effect of diet on the fatty acid pattern of milk from dairy cows». *Animal Research* 53: 213-220.
258. **Reybroeck W. and S. Ooghe. 2012.** «Validation of the  $\beta$ -s.t.a.r. combo for fast screening of raw milk on the presence of  $\beta$ -lactam antibiotics and tetracyclines». Proceedings Euroresidue vii, egmont aan zee, the Netherlands, 14-16 may 2012.
259. **Ribadeau Dumas, G. Brignon, F. Grosclaude et J.-C. Mercier. 1972.** « Structure primaire de la caséine bovine : Séquence complète ». *Eur. J. Biochem.* 25, 505-514.
260. **Robb Ed , 2006.** «Pour un fromage de meilleure qualité. Pour l'amour des vaches». Volume 5, n°1, p. 6.
261. **Robledo R.V. and W.F. Smyth. 2009.** «The application of CE-MS in the trace analysis of environmental pollutants and food contaminants». *Electrophoresis*, vol. 30, 1647-1660.
262. **Rodriguez L. A., G. Mekonnen, C. J. Wilcox, F. G. Martin, W. A. Krienke. 1985.** « Effects of Relative Humidity, Maximum and Minimum Temperature, Pregnancy, and Stage of Lactation on Milk Composition and Yield ». *J. Dairy Sci.* 68: 973-978.
263. **Roediger W.E.W.1982.** « Utilization of nutrients by isolated epithelial cells of the rat colon ». *Gastroenterology*. 83:424-429.
264. **Rouille B., M. Montourcy. 2010.** «Influence de quelques systèmes d'alimentation sur la composition en acides gras du lait de vache en France». Compte rendu n°00103100, Institut d'élevage – CNIEL, pp. 1 – 33.
265. **Sachot E. et J.D. Puyt. 2001.** « Les différents calculs du temps d'attente », *Le Point.Vét.*, n°212, 48-51.
266. **Sakata T. 1987.** « Stimulatory effect of short-chain fatty acids on epithelial cell proliferation in the rat intestine: a possible explanation for trophic effects of fermentable fibre, gut microbes and luminal trophic factors ». *Br. J. Nutr.* 58:95-103.

267. **Samková E., J. Špička, M. Pešek, T. Pelikánová, & O. Hanuš. 2012.** «Animal factors affecting fatty acid composition of cow milk fat: A review». *South African Journal of Animal Science*. 42: 83-100.
268. **Sanders P. 2005.** «L'antibiorésistance en médecine vétérinaire : enjeux de santé publique et de santé animale ». *Bulletin de l'académie vétérinaire de France*, tome 158, n°2, p 139-140.
269. **Sanders P., A. Bousquet-Melou, C. Chauvin, P.-L. Toutain. 2011.** « Utilisation des antibiotiques en élevage et enjeux de santé publique ». *INRA Prod. Anim.*, 24 (2), 199-204.
270. **Schennink A., J.M.L. Heck, H. Bovenhuis, M.H.P.W. Visker, H.J.F. Van Valenberg & J.A.M. Van Arendonk. 2008.** «Milk fatty acid unsaturation: Genetic parameters and effects of stearoyl-CoA desaturase (SCD1) and acyl CoA: diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1) ». *J. Dairy Sci.* 91, 2135-2143.
271. **Schroeder G.F., J.E. Delahoy, I. Vidaurreta, F. Bargo, G.A.Gagliostro, D.Muller. 2003.** «Milk fatty acid composition of cows fed a total mixed ration or pasture plus concentrates replacing corn with fat». *J. Dairy Sci.* 86: 3237-3248.
272. **Schwarz S. & E. Chalus-Dancla. 2001.** «Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance». *Vet. Res.* 32, 201-225.
273. **Serieys F. 2003.** « Présence moins d'antibiotique au tarissement ? ». *Le Point Vét.*, 233 (34), 48-52.
274. **Shata R., M. El-Sherbini, Al. Abdelkhalek and M. Al-Ashmawy. 2015.** «Prevalence and Detection of Beta Lactams and Tetracyclines in Raw Milk». *Global Veterinaria*, 15 (6): 588-595.
275. **Shitandi A. and A. Sternesjo. 2001.** «Detection of antimicrobial drug residues in Kenyan milk. *Journal of Food Safety*, 21, 205–214.
276. **Shitandi A., G. Kihumbu. 2005.** «Evaluation of the Bacillus calidolactis plate for post screening assay of b-lactam antimicrobial residues in Kenyan dairies». *Food Control*. 16 : 227–230.
277. **Soukehal A. 2013.** «La sécurité alimentaire : quels programmes pour réduire la dépendance en céréales et lait ? ». Colloque du 08 avril 2013 relatif. Forum des chefs d'entreprises, 20 p.
278. **Souki H. 2009.** « Les stratégies industrielles et la construction de la filière lait en Algérie : portée et limites ». *Revue Campus*, UMMTO, N°15, 3-15.

279. **Soyeurt H., P. Dardenne, A. Gillon, C. Croquet, S. Vanderick, P. Mayeres, C. Bertozzi & N. Gengler. 2006.** «Variation in fatty acid contents of milk and milk fat within and across breeds». *J. Dairy Sci.* 89, 4858-4865.
280. **Soyeurt H., A. Gillon, S. Vanderick, P. Mayeres, C. Bertozzi, & N. Gengler. 2007.** «Estimation of heritability and genetic correlations for the major fatty acids in bovine milk». *J. Dairy Sci.* 90, 4435-4442.
281. **Soyeurt H., P. Dardenne, F. Dehareng, C. Bastin & N. Gengler. 2008.** «Genetic parameters of saturated and monounsaturated fatty acid content and the ratio of saturated to unsaturated fatty acids in bovine milk». *J. Dairy Sci.* 91: 3611-3626.
282. **Srairi M.T., M. T. Benyoucef and K. Kraiem. 2013.** «The dairy chains in North Africa (Algeria, Morocco and Tunisia): from self sufficiency options to food dependency? ». *SpringerPlus.* 2:162.
283. **Stanton C., F. Lawless, G. Kjellmer, D. Herrington, R. Devery, J.F. Connolly, J. Murphy. 1997.** «Dietary influences on bovine milk *cis*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acid content». *J. Food Science,* 62: 1083-1086.
284. **Stoop W.M., J.A.M. Van Arendonk, J.M.L. Heck, H.J.F. Van Valenberg & H. Bovenhuis. 2008.** «Genetic parameters for major milk fatty acids and milk production traits of Dutch Holstein-Friesians». *J. Dairy Sci.* 91, 385-394.
285. **Stoop W.M., H. Bovenhuis, J.M.L Heck & J.A.M. Van Arendonk. 2009.** «Effect of lactation stage and energy status on milk fat composition of Holstein-Friesian cows». *J. Dairy Sci.* 92 :1469–1478.
286. **Storry J.E., A.J. Hall, V.W. Johnson. 1971.** «The effects of increasing amounts of dietary coconut oil on milk- fat secretion in the cow». *J. Dairy Res.* 38: 73-77.
287. **Stull J.W., W.H. Brown. 1964.** «Fatty acid composition of milk. II. Somme differences in common dairy breeds» *J. Dairy Sci.* 47, 1412.
288. **Summer A., P. Formaggioni, M. Malacarne, S. Sandri and P. Mariani. 2003.** «Composition, Acidity and Rennet-coagulation Properties of Early- and Late-lactation Milks from Italian Friesian Cows ». *Veterinary Research Communications,* 27 Suppl. 1, 269–272
289. **Sutton J.D. 1989.** «Altering milk composition by feeding». *J. Dairy Sci.* 72: 2801-2814.
290. **Swaisgood H.E. 1993.** «Symposium: genetic perspectives on milk proteins: comparative studies and nomenclature review and update of casein chemistry». *J. Dairy Sci.* 76:3054-3061.

- 291. Swaisgood H.E. 1995.** «Protein and Amino Acid Composition of Bovine Milk».Ch. 6 in R. G. Jensen, Handbook of milk composition, Ed. Academic Press”.
- 292. Tammar N. 2007.** «Le marché du lait en Algérie. Missions Economiques d’Alger». Ambassade de France en Algérie.
- 293. Tarzaali D., A. Dechicha, S. Gharbi, M.K. Bouaissa, N. Yamnaine and D. Guetarni, 2008.** «Recherche des résidus des tétracyclines et des bêta-lactamines dans le lait cru par le MRL Test (ROSA TEST) à Blida, Algérie. 6<sup>em</sup> Journées scientifiques vétérinaires sur le médicament vétérinaire : nouvelles approches thérapeutiques et impact sur la santé publique». École nationale vétérinaire, Algérie, p.p. 23–24.
- 294. Tarzaali D., 2009.** «Recherche des inhibiteurs dans le lait cru». Thèse de Magister. DSV Université de Blida, 141p.
- 295. Temme E.H.M, R.P. Mensink, G. Hornstra. 1996.** « Comparison of the effects of diets enriched in lauric, palmitic, or oleic acids on serum lipids and lipoproteins in healthy women and men». *Am. J. Clin. Nutr.* 63: 897-903.
- 296. Tenson T., M. Lovmar and M. Ehrenberg. 2003.** «The mechanism of action of macrolides, lincosamides and Streptogramin B reveals the nascent peptide exit path in the ribosome». *Journal of Molecular Biology*, Vol. 330, 1005-1014.
- 297. Tholstrup, T., P. Marckmann, et J. Jespersen. 1994.** « Fat high in stearic acid favorably affects blood lipids and factor VII coagulant activity in comparison with fats high in palmitic acid or high in myristic and lauric acids », *Am. J. Clin. Nutr.*, 59: 371-377.
- 298. Thordotti I., J. Hill, A. Ramel. 2004.** «Short communication: Seasonal variation in *cis*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acid content in milk fat from Nordic countries». *J. Dairy Sci.* 87: 2800-2802.
- 299. Titouche Y., A. Hakem (EX Akam)1 , K. Houali, B. Yabrir, O. Malki, A. Chergui, N. Chenouf, S. Yahiaoui, M. Labiad, H. Ghenim, S. Kechih-Boumar, F. Chirilă, G. Nadăș and N.I. Fiț. 2013.** «Detection of Antibiotics Residues in Raw milk Produced in Freha Area (Tizi-Ouzou), Algeria». Bulletin UASVM, Veterinary Medicine, 70 (1) :83-87.
- 300. Togashi K. et Lin C. Y. 2003.** « Modifying the Lactation Curve to Improve Lactation Milk and Persistency », *J. Dairy Sci.* 86:1487–1493.
- 301. Townsend S.J., B.D. Siebert, W.S. Ptichford. 1997.** «Variation in milk fat content and fatty acid composition of Jersey and Frisian cattle». Proceedings of the Association for the Advancement of Animal breeding. Dubbo, NSW, Australia.

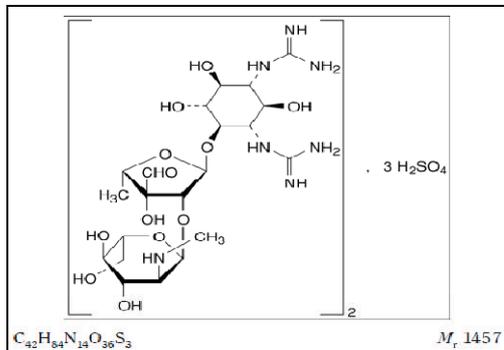
- 302. Tsioulpas A., A. S. Grandison, M. J. Lewis. 2007.** « Changes in physical properties of bovine milk from the colostrum period to early lactation ». *J. Dairy Sci.* 90: 5012-5017.
- 303. Turnipseed S.B. 1998.** «Analysis of animal drug residues», in: Turnipseed S.B. and Long A.R. (Eds), «Analytical procedures for drug residues in food of animal origin», Chapter 1, Science Technology System, West Sacramento, USA, 1-8.
- 304. Turnipseed S.B. and W.C. Andersen. 2008.** «Chapter 10: Veterinary drug residues, comprehensive analytical chemistry». Vol. 51, 307-338.
- 305. Van den Bogaard A. 2001.** « Diseases, it will be our concern! ». *Tijdschrift voor Diergeneeskunde*, 126: 486-470.
- 306. Van der Kreek F.W. 1984.** «Veterinary drug residues in foods». *Tijdschrift voor Diergeneeskunde*, 109: 81-89.
- 307. Veisseyre R., 1975.** « Technologie du lait, constitution, récolte, traitement et transformation du lait », 3<sup>ème</sup> édition, la maison rustique, Paris, 714 p.
- 308. Velazquez O.C., A. Jabbar, et R.P. DeMatteo. 1996.** « Butyrate inhibits seeding and growth of colorectal metastases to the liver in mice ». *Surgery*, 120: 440-447.
- 309. Vera-Candiotti L., A.C Oivieri and H.C. Goicoechea. 2010.** «Development of a novel strategy for preconcentration of antibiotic residues in milk and their quantitation by capillary electrophoresis». *Talanta*, 82: 213-221.
- 310. Vergroesen A.J., J. de Boer. 1971.** «Effecten Van meervoudig onverzadigde en andere vetzuren in de voeding. (effect of polyunsaturated and other dietary fatty acids.) ». *Voeding*. 32: 278-290.
- 311. Verhnes. R, E. Vandaele. 2002.** «Détection rapide des inhibiteurs dans le lait». *Le Point Vet.*, n° 227, Juillet-Août 2002, p. 16-17.
- 312. Videaud D., 1973.** « Les antibiotiques et la résistance des bactéries, les associations d'antibiotiques », *Anim. Cie.*, 31 : 155-170.
- 313. Vignola C., L., 2002.** « Science et technologie du lait : transformation du lait » Edit Presses Internationales Polytechnique, Montréal, 600p.
- 314. Virtanen A.I. 1966.** «Milk production of cows on protein-free feed. Studies of the use of urea and ammonium salts as the sole nitrogen source open new important perspectives». *Science* 153: 1603–1614.
- 315. Wang T., J.J. Oh, J.N. Lim, J.E. Hong, J.H. Kim, J.H. Kim, H.S. Kang, Y.J. Choi, & H.G. Lee. 2013.** «Effects of lactation stage and individual performance on milk *cis*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acids content in dairy cows». *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 26 : 189-194.

- 316. White S.L., J.A. Bertrand, M.R. Wade, S.P. Washburn, J.T. Jr. Green et T. C. Jenkins. 2001.** «Comparison of Fatty Acid Content of Milk from Jersey and Holstein Cows Consuming Pasture or a Total Mixed Ration». *J. Dairy Sci.* 84: 2295-2301.
- 317. Williams C.M. 2000.** «Dietary fatty acids and human health». *Ann. Zootech.* 49: 165-180.
- 318. Wolf R.L., C.C. Bayard, et R.J. Fabien. 1995.** « Evaluation of sequential methods for the determination of butter fat fatty acid composition with emphasis on trans-18:1 acids: Application to the study of seasonal variation in French butters », *JAOCS*, 72: 1471-1483.
- 319. Yala D., A.S. Merad, D. Mohamedi & M.N. Ouar Korich. 2001.** «Résistance bactérienne aux antibiotiques». *Médecine du Maghreb* 91, 13-14.
- 320. Yanagi, S., M. Yamashita & S. Imai. 1993.** « Sodium butyrate inhibits the enhancing effect of high fat diet on mammary tumorigenesis». *Oncology* 50: 201-204.
- 321. Zaida W. 2016.** « Evaluation de la performance de la nouvelle politique de régulation de la production nationale de lait cru ». *Revue Nouvelle Economie* N°15 Vol. 2, pp.51-67.
- 322. Zinedine A., M. Faid, M. Benlemlih. 2007.** «Détection des résidus d'antibiotiques dans le lait et les produits laitiers par méthode microbiologique», *REMISE*, volume 1, n°1, 1-9.
- 323. Zock P.L., J.H.M. De Vries, M.B. Katan. 1994.** « Impact of myristic acid versus palmitic acid on serum lipid and lipoprotein levels in healthy women and men». *Arterioscler. Thromb.*14: 567-575.

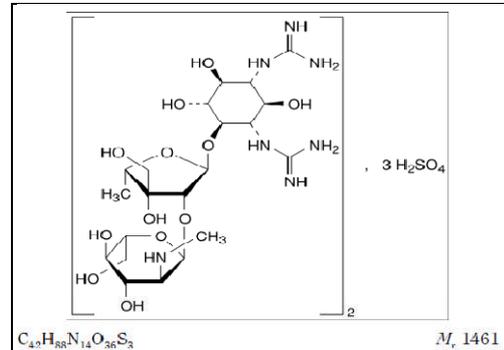
# **ANNEXES**

## Annexe 1 Structure, formules et poids moléculaires des principales familles d'antibiotiques à usage vétérinaire

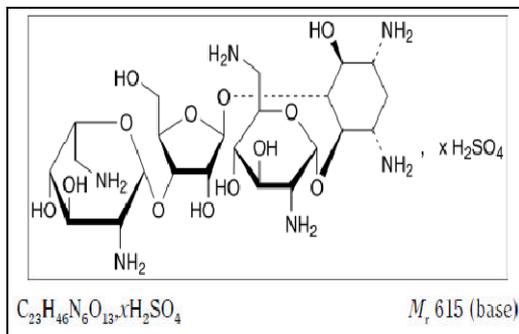
### Les Aminosides



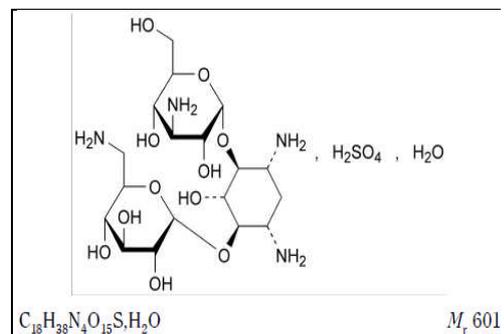
Streptomycine sulfate



Dihydrostreptomycine sulfate

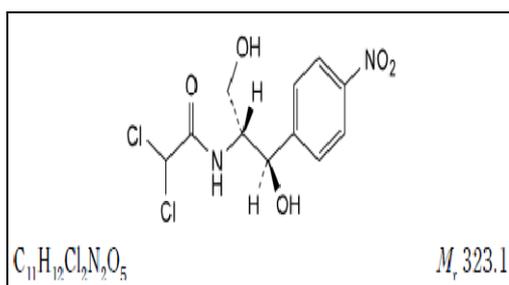


Néomycine sulfate

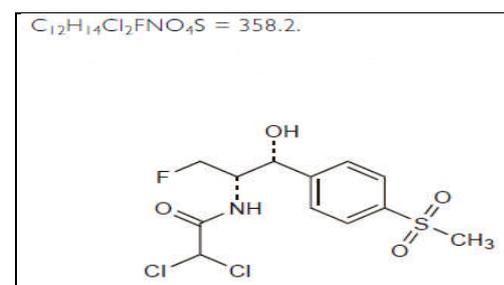


Kanamycine monosulfate

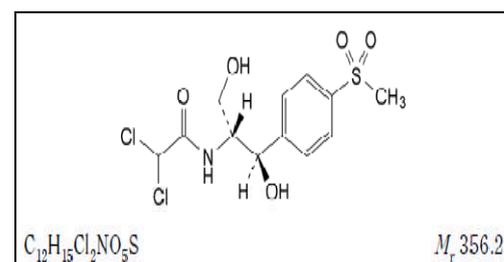
### Les Phénicols



Chloramphénicol

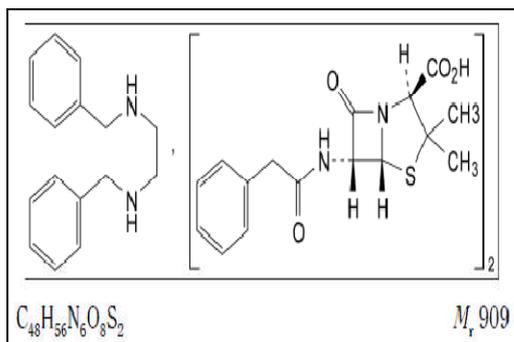


florfénicol

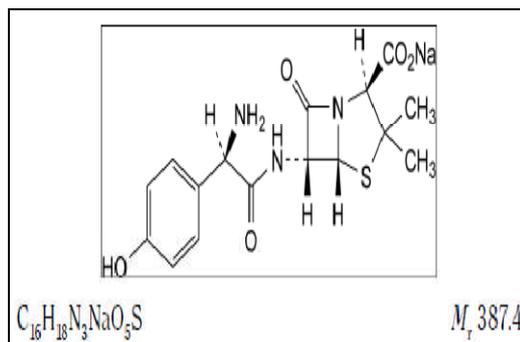


Thiamphénicol

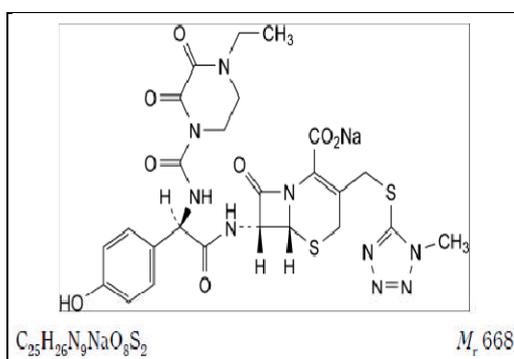
## Les $\beta$ -lactames



Benzylpénicilline

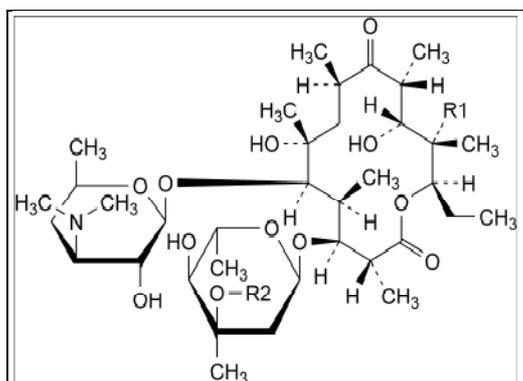


Amoxicilline sodique

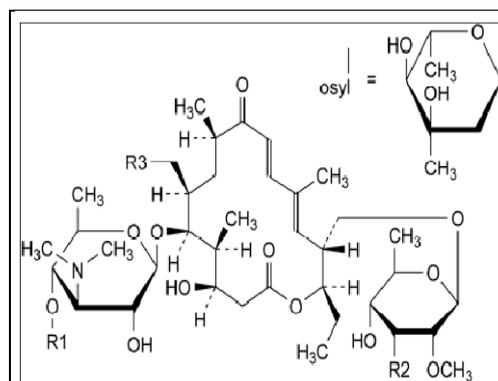


Cefopérazone

## Les Macrolides



Erythromycine

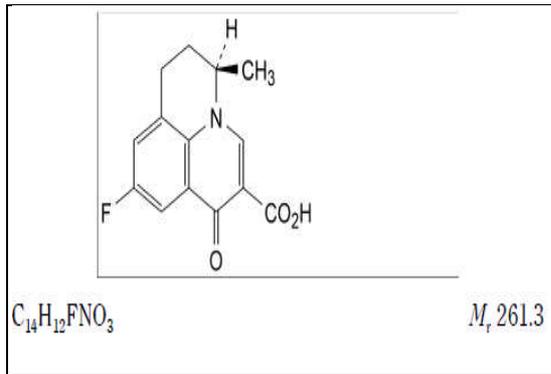


Tylosine

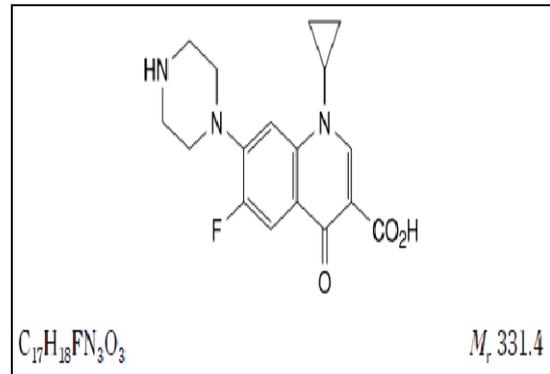
Erythromycine	Formule Mol.	$M_r$	R1	R2
A	$C_{37}H_{67}NO_{13}$	734	OH	CH <sub>3</sub>
B	$C_{37}H_{67}NO_{12}$	718	H	CH <sub>3</sub>
C	$C_{36}H_{65}NO_{13}$	720	OH	H

Tylosine	Formule Mol.	R1	R2	R3
A	$C_{46}H_{77}NO_{17}$	osyl	OCH <sub>3</sub>	CHO
B	$C_{39}H_{65}NO_{14}$	H	OCH <sub>3</sub>	CHO
C	$C_{45}H_{75}NO_{17}$	osyl	OH	CHO
D	$C_{46}H_{79}NO_{17}$	osyl	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> OH

### Les Quinolones

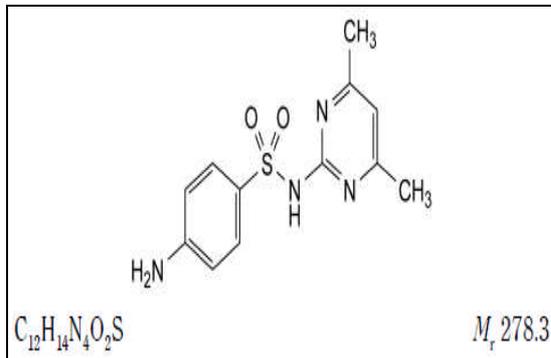


Fluméquine

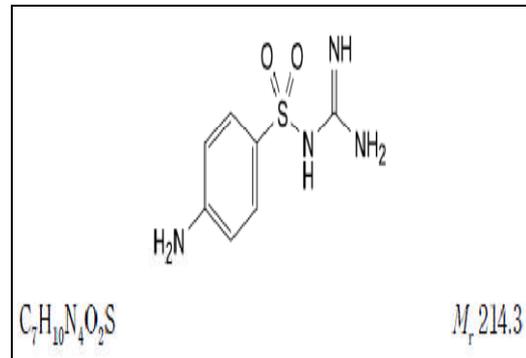


Ciprofloxacin

### Les Sulfamides

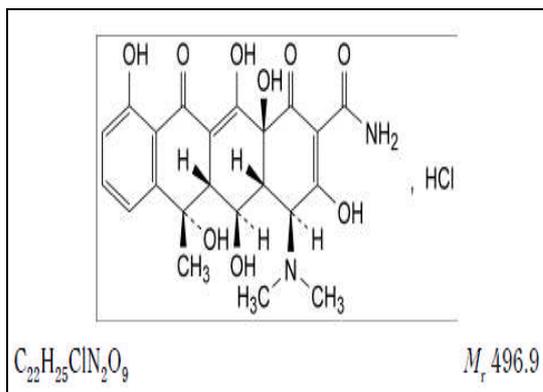


Sulfadimidine

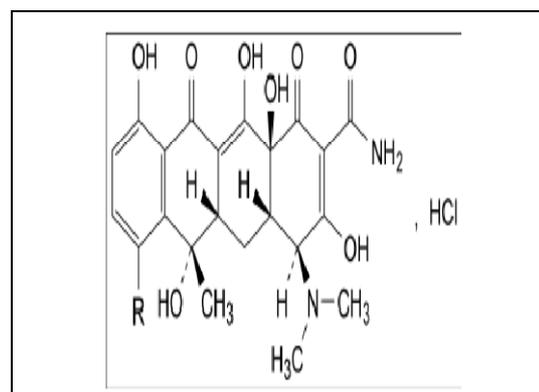


Sulfaguanidine

### Les Tétracyclines



Oxytétracycline hydrochlorides



Chlortétracycline hydrochloride

Composé	R	Formule moléculaire	$M_r$
Chlortétracycline hydrochloride	Cl	$C_{22}H_{24}Cl_2N_2O_8$	515,3

## Annexe 2 principe des méthodes d'analyses

### 1. Mesure du pH

Après étalonnage de l'appareil à l'aide des deux solutions tampons (pH 4 et 7), on introduit l'électrode et le correcteur de la température dans un bécher contenant le lait à analyser, de sorte que la température atteinte soit de 20°C.

### 2. Détermination de l'acidité titrable (NF V 04–206; AFNOR, 1969)

A l'aide d'une pipette graduée, introduire 10 mL de lait dans un bécher, puis ajouter 0,1 mL d'une solution de phénolphthaléine. Le titrage se fait à l'aide d'une solution de soude NaOH à N/9 (0,111 mol/L) jusqu'à apparition d'une teinte rosée.

L'acidité exprimée en degrés Dornic, correspond au nombre V de mL de soude neutralisante versée au moment de l'apparition du virage rosé :

$$\text{Acidité titrable} = V \times 10$$

### 3. Détermination de la densité du lait (NF V 04–204; AFNOR, 2004)

Le principe consiste à verser l'échantillon de lait dans une éprouvette cylindrique en prenant précaution d'éviter la formation de bulles d'air. L'éprouvette placée en position verticale doit être remplie à ras, de sorte que l'introduction de l'aréomètre dans cette dernière provoque nécessairement le débordement du lait afin de débarrasser sa surface de toutes traces de mousse qui pourraient gêner la lecture.

Après un temps de stabilisation allant de 30 à 60 secondes, effectuer la lecture en lisant la partie supérieure du ménisque ainsi que la température.

Dans le cas où la température du lait est autre que 20°C, une correction de la lecture est nécessaire et doit être effectuée de la manière suivante :

$$D = D_0 + 0,2 (T - 20)$$

D : Densité après correction.

D<sub>0</sub>: Densité lue sur l'aréomètre.

T : Température lue sur l'aréomètre.

-Dans le cas d'une température supérieure à 20°C au moment de la lecture, une correction est effectuée en augmentant la densité lue de 0,2 par degré au dessus de 20°C.

Exemple : T lue = 22°C

$$D = D_0 + 0,2 (22 - 20)$$

-Dans le cas d'une température inférieure à 20°C au moment de la lecture, une correction est effectuée en diminuant la densité lue de 0,2 par degré en dessous de 20°C.

#### **4. Détermination de l'Extrait sec total**

Elle se fait à l'aide d'un dessiccateur à infrarouge (Sartorius modèle MA 35, Allemagne).

Introduire 5 g d'échantillon de lait à l'intérieur d'une coupelle en aluminium.

La température de l'appareil est réglée à 100°C.

Le résultat final sera inscrit sur l'écran de l'appareil (pourcentage de l'EST) quelques minutes. après avoir démarré le chauffage.

#### **5. Détermination du taux protéique par dosage de la matière azotée totale (Méthode Kjeldahl, ISO 8968-1, IDF 020-1 : 2014)**

##### 5.1. Principe

Digestion d'une prise d'essai avec un mélange d'acide sulfurique concentré et de sulfate de potassium. Utilisation du sulfate de cuivre (II) en tant que catalyseur afin de convertir l'azote organique présent en sulfate d'ammonium. La fonction du sulfate de potassium consiste à élever le point d'ébullition de l'acide sulfurique et à fournir un mélange oxydant plus fort pour la digestion. Addition de l'excès d'hydroxyde de sodium à la digestion refroidie pour libérer de l'ammoniac. Distillation de l'ammoniac avec entrainement par la vapeur surchauffée dans l'excès de solution d'acide borique et titrage avec une solution volumétrique standard d'acide chlorhydrique. Calcul de la teneur en azote à partir de la quantité d'ammoniac produite.

##### 5.2. Préparation des solutions

La solution d'indicateurs et d'acide borique sont préparées de la manière suivante :

-Solution d'indicateur : dissoudre 0,1g de rouge de méthyle dans 50 mL d'éthanol à 95%. Dissoudre 0,5g de vert de bromocrésol dans 250 mL d'éthanol à 95%. Mélanger une partie de rouge de méthyle avec cinq parties de la solution de vert de bromocrésol.

-Solution d'acide borique : dissoudre 40 g d'acide borique dans 1000 mL d'eau chaude. Laisser refroidir à 20°C, puis ajouter 3 mL de la solution d'indicateur. Mélanger et conserver à l'abri de la lumière.

### 5.3. Minéralisation

Introduire la prise d'essai ( $5 \pm 0,10$  g) dans un matras de Kjeldahl auquel on ajoute 15 g de sulfate de potassium, 1 mL d'une solution de sulfate de cuivre (II) à 5% (w/v), et 25 mL d'acide sulfurique. Agiter doucement puis placer le ballon sur le dispositif de chauffage. Procéder d'abord à un chauffage doux de manière à ce que des fumées blanches apparaissent dans le ballon de Kjeldahl, puis modérément, et pour finir, au maximum de façon à obtenir au final une solution transparente. Le temps total de la minéralisation est compris entre 2 et 3 heures. Laisser refroidir le produit final à la température ambiante.

Ajouter 300 mL d'eau dans le matras de Kjeldahl de 500 mL. Refroidir le mélange à température ambiante avant la distillation.

### 5.4. Distillation

Verser soigneusement 75 mL de la solution d'hydroxyde de sodium à la solution diluée de lait minéralisée; puis pour éviter toutes pertes, introduire rapidement le ballon de Kjeldahl sur le montage de l'appareil de distillation dont la pointe du tube de sortie est immergée dans un ballon conique contenant 50 mL de solution d'acide borique.

### 5.5. Titrage

Titrer le contenu du ballon conique avec la solution volumétrique standard d'acide chlorhydrique en utilisant une burette de 50 mL. Le point final de titrage est atteint à la première trace d'apparition d'une couleur rosée dans le contenu.

### 5.6. Calcul et expression des résultats

-La teneur en azote de l'échantillon ( $W_n$ ) est calculée en utilisant l'équation suivante :

$$W_n = 1,4007 \times (V_s - V_b) \times M_t / m$$

où:

$W_n$  : teneur en azote de l'échantillon, exprimée en pourcentage en masse.

$V_s$  : valeur numérique en mL de la solution volumétrique standard d'acide chlorhydrique utilisée pour la détermination.

$V_b$  : valeur numérique en mL de la solution volumétrique standard d'acide chlorhydrique utilisée dans le test blanc.

$M_t$  : valeur numérique de la molarité exacte de la solution volumétrique standard d'acide chlorhydrique.

$m$  : valeur numérique de la masse de la partie d'essai, en grammes.

-La teneur en protéines brutes est calculée en utilisant l'équation suivante :

$$W_p = W_n \times 6,38$$

où

$W_p$  : teneur en protéines brutes, exprimée en pourcentage de masse.

$W_n$  : teneur en azote de l'échantillon, exprimée en pourcentage de masse.

6,38 : facteur de multiplication pour exprimer la teneur en azote sous forme de protéine brute laitière.

## **6. Détermination du taux butyreux par la méthode acido-butyrométrique de Gerber (NF V 04-210 ; AFNOR, 2000)**

Introduire dans le butyromètre Gerber, 10 mL d'acide sulfurique (densité 1,820) puis à l'aide d'une pipette déposer délicatement sans mélanger 11 mL de lait à analyser et 1 mL d'alcool isoamylique (densité 0,813).

Placer avec soin le bouchon, puis agiter rapidement et énergiquement mais avec précaution jusqu'à ce que le contenu soit entièrement mélangé et donc obtenir une dissolution complète des protéines.

Introduire les butyromètres dans l'appareil (Centrifugeuse Nova Safety, Funke Gerber, Allemagne). Centrifuger pendant 5 minutes à une vitesse de  $350 \times g \pm 50 \times g$ .

Effectuer aussi rapidement que possible la lecture sur le butyromètre maintenu verticalement, l'œil placé au niveau du point de lecture.

Noter le trait repère (A) correspondant à l'extrémité inférieure de la colonne de matière grasse, et de la même manière lire la graduation correspondant au trait repère (B) du haut de la colonne coïncidant avec le point le plus bas du ménisque supérieur.

La teneur en matière grasse du lait exprimée en grammes par litre est :

$$(B - A) \times 10$$

## **7. Extraction de la matière grasse du lait (ISO 1211 : 2010, IDF 1 : 2010)**

### **7.1. Principe**

Extraire la matière grasse à l'aide d'une solution ammoniac-éthanolique, en utilisant l'éther oxyde diéthylique et l'éther de pétrole. Eliminer les solvants à l'aide d'un évaporateur rotatif (Büchi, Flawil, Suisse).

## 7.2. Extraction de la matière grasse

Introduire 10 à 11 mL de lait dans une fiole d'extraction de la matière grasse. Ajouter à la prise d'essai 2 mL d'une solution d'hydroxyde d'ammonium, 10 mL d'éthanol, et 25 mL d'éther oxyde diéthylique en mélangeant alternativement doucement puis vigoureusement entre chaque ajout. Rincer le col de la fiole avec un mélange de solvants constitué à volumes égaux d'éther oxyde diéthylique et d'éther de pétrole. Ajouter d'abord 25 mL d'éther de pétrole en agitant doucement la fiole puis 5 mL d'éthanol. Après avoir laissé reposer pendant 30 minutes; récupérer la couche surnageante contenant la matière grasse puis procéder à l'élimination du solvant à l'aide de l'évaporateur rotatif. Effectuer deux autres extractions successives en répétant les étapes, afin de récupérer le maximum de matière grasse du lait.

## 8. Préparation des esters méthyliques d'acides gras à partir de la matière grasse du lait extraite (ISO 12966-2 : 2011)

### 8.1. Principe

Les esters de méthyle sont formés par transméthylation avec de l'hydroxyde de potassium méthanolique.

### 8.2. Préparation des solutions

-Solution méthanolique d'hydroxyde de potassium (2 mol/L) par dissolution sous un chauffage doux de 13,1 g d'hydroxyde de potassium dans 100 mL de méthanol absolu.

-Solution de chlorure de sodium en dissolvant 40 g de chlorure de sodium dans 100 mL d'eau.

### 8.3. Procédure

Dans un tube à essai peser environ 0,1 g de matière grasse extraite selon la norme ISO 1211 : 2010, IDF 1 : 2010. Ajouter 2 mL d'isooctane, puis agiter.

Ajouter 0,1 mL de solution d'hydroxyde de potassium méthanolique, puis agiter pendant 1 minute. Après avoir laissé reposer pendant environ 2 minutes, un volume de 2 mL de solution de chlorure de sodium est ajouté. Après agitation, la couche d'isooctane est prélevée et transférée dans un tube. Ajouter environ 1 g d'hydrogénosulfate de sodium puis transférer la couche isooctanique dans un tube pour effectuer l'analyse GC-MS.

## 9. Principe de l'utilisation du test rapide BetaStar<sup>®</sup> Combo

### 9.1. Procédure

– D'abord, l'incubateur doit être stabilisé à une température de  $47,5 \pm 1^\circ\text{C}$ .

- Retirer les réactifs (flacons et boîte de tiges) du réfrigérateur 15 minutes avant utilisation.
- Prélever 0,2 mL de lait de l'échantillon à analyser et le déposer dans le flacon.
- Après avoir agité délicatement l'ensemble pour dissoudre tout le lyophilisat, mettre le flacon dans l'incubateur stabilisé à la température de  $47,5 \pm 1^\circ\text{C}$  puis incubé pendant 2 minutes.
- Prendre une tige fournie par le fabricant et la déposer dans le flacon en veillant à respecter son orientation.
- L'incubation est poursuivie à  $47,5 \pm 1^\circ\text{C}$  pendant 3 minutes encore après introduction de la tige dans le flacon.
- Après l'incubation, retirer la tige du flacon et ôter le tampon absorbant afin de stopper la réaction.

## 9.2. Interprétation du résultat

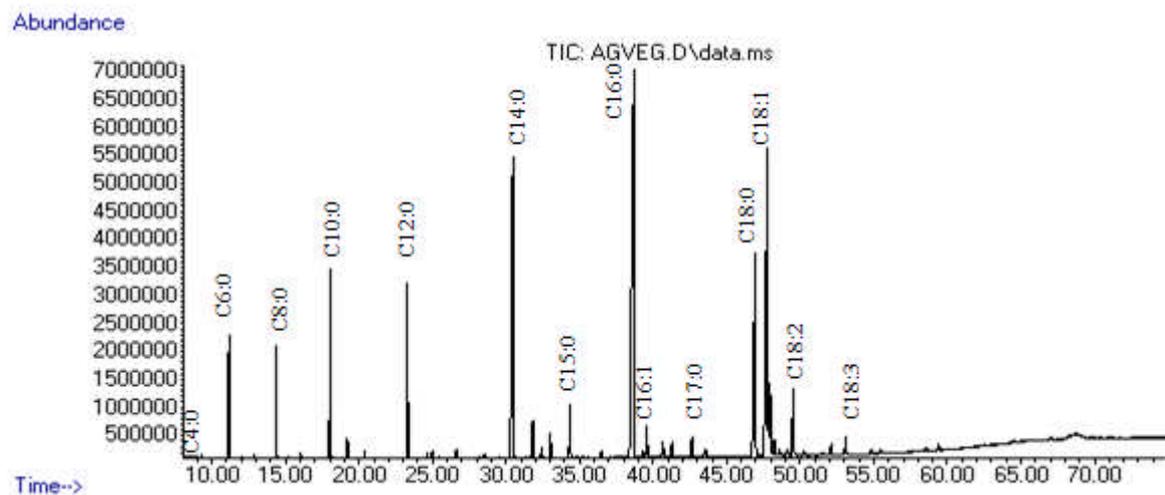
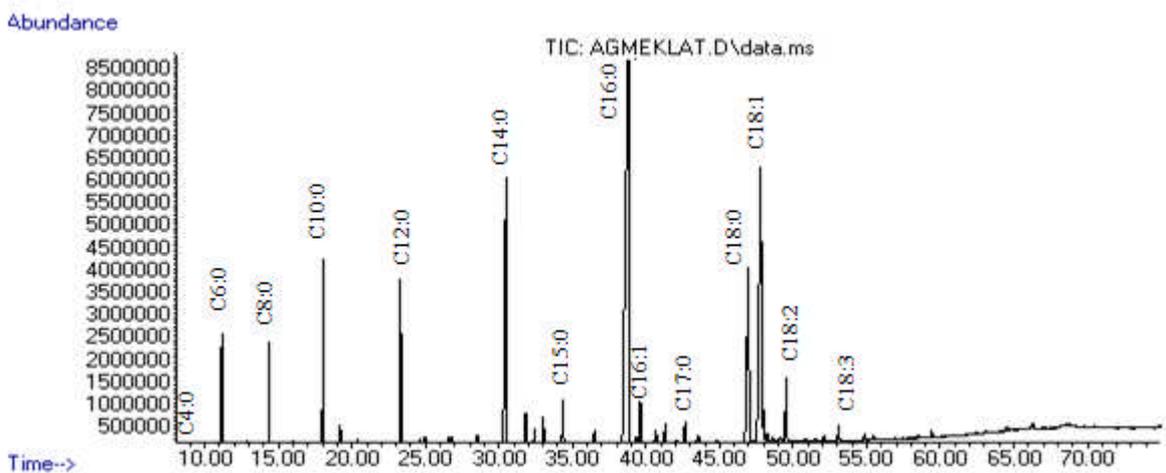
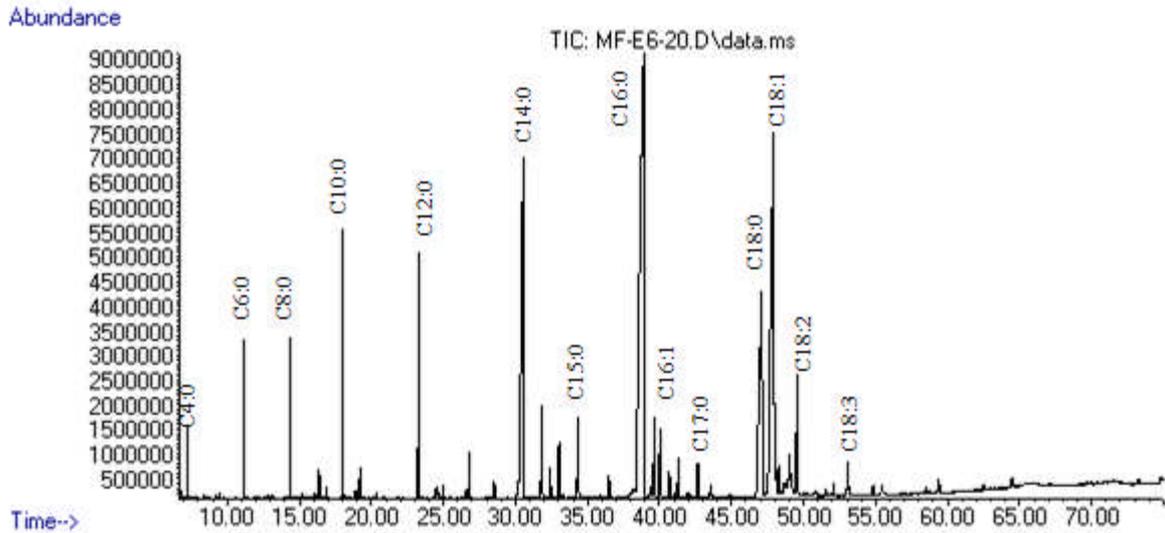
L'interprétation du résultat se fait visuellement et immédiatement après retrait de la tige comme suit :

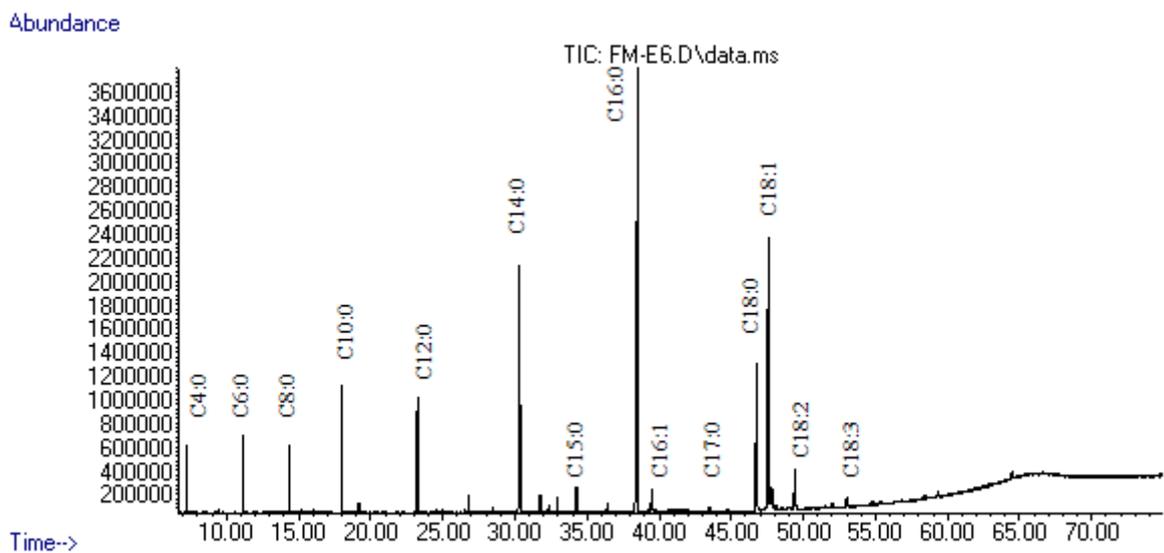
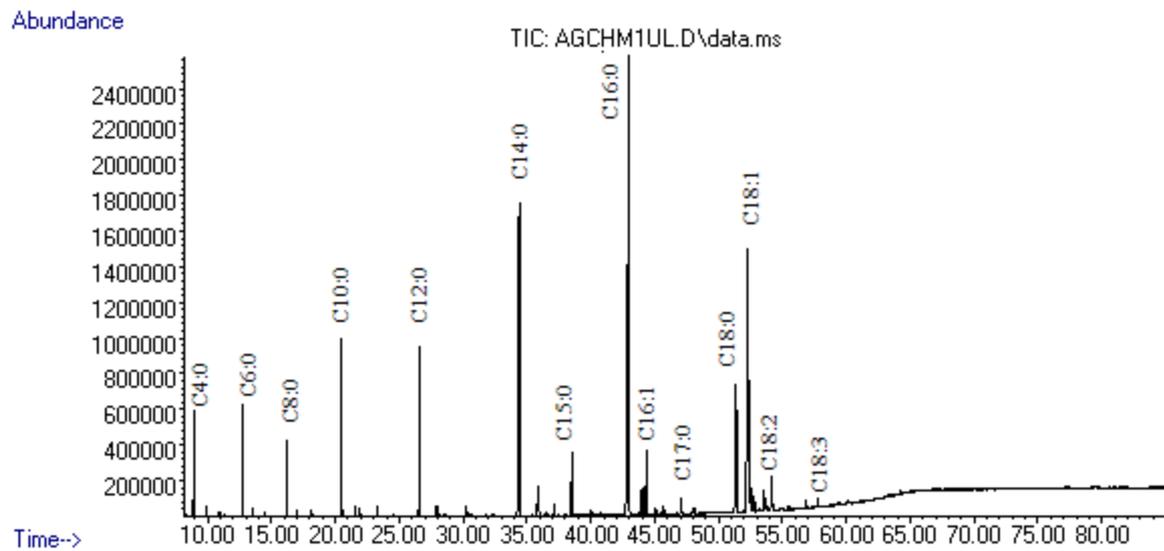
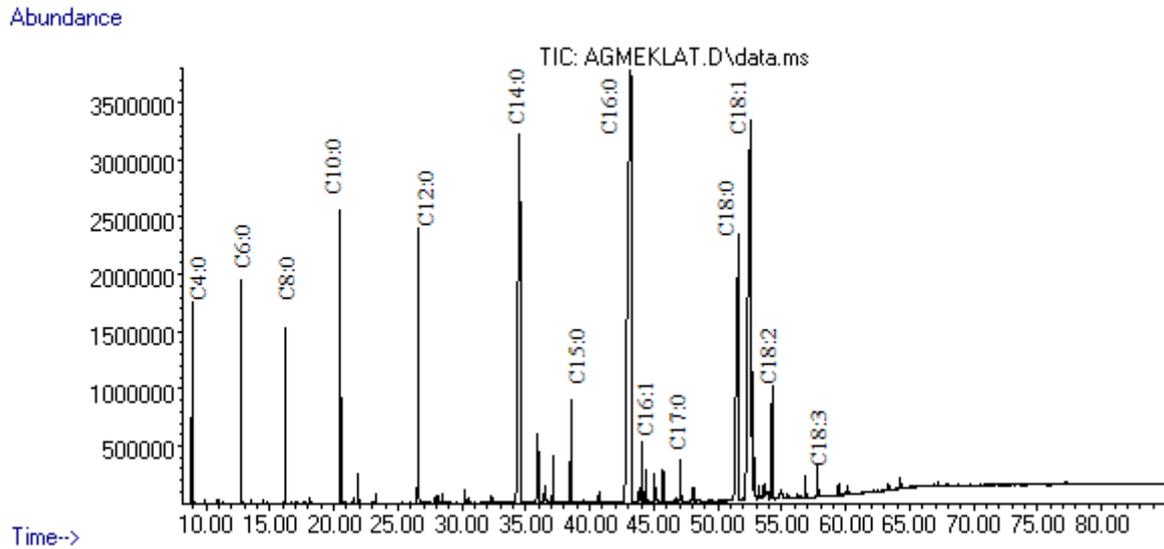
Si aucune bande rouge n'apparaît, le test est considéré comme non valide, il faudra recommencer l'analyse. Cela peut se produire si les réactifs ne sont pas conformes ou si le lait est non conforme. Le test sera recommencé sur un lait « blanc » exempt de substances inhibitrices (par exemple un lait de consommation). Si le résultat est de nouveau non valide sur le blanc, les réactifs sont à mettre en cause.

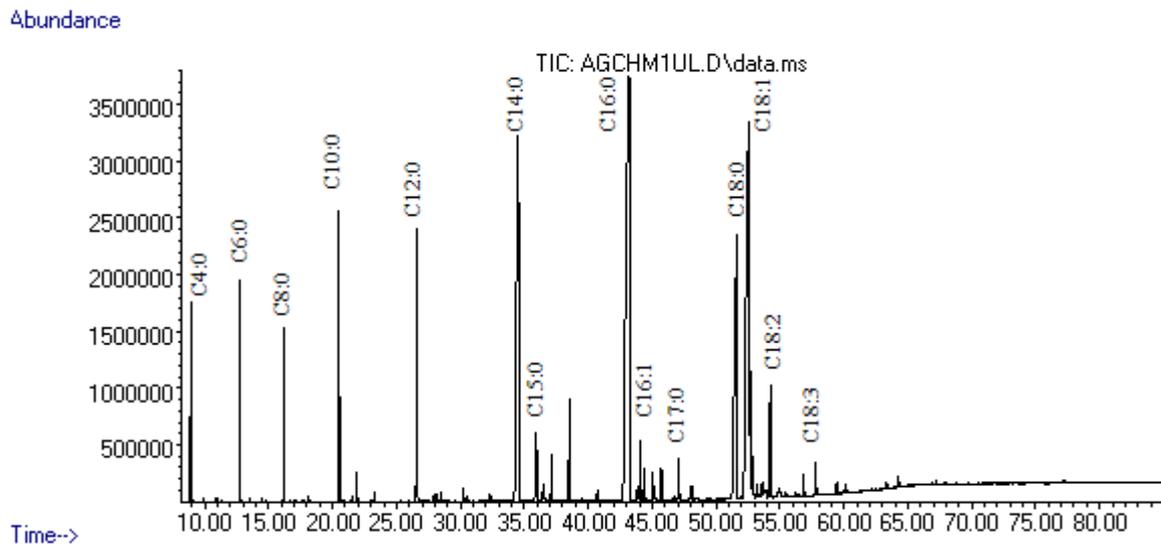
Si la bande (B) et/ou (T) a une intensité :

- supérieure à celle de la bande référence, alors l'échantillon ne contient pas ou contient peu de résidus de substances inhibitrices de la famille des  $\beta$ -lactames et/ou des tétracyclines.
- inférieure à celle de la bande référence, alors l'échantillon contient des substances inhibitrices de la famille des  $\beta$ -lactames (B) et/ou des tétracyclines (T). Le résultat est considéré comme « positif ».
- très faible ou est absente, alors l'échantillon contient des substances inhibitrices de la famille des  $\beta$ -lactames (B) et/ou des tétracyclines (T), le résultat est « positif ».

### Annexe 3 Chromatogrammes des acides gras estérifiés de quelques échantillons de lait de vache







Ce travail a fait l'objet d'une publication :

### **PUBLICATION**

**MEKLATI F.R., MERIBAI A., BEN-MAHDI M.H., 2017.** « Lactation stage effect on nutritional quality of Algiers area cows' milk ». *Int. J. Dairy Sci.*, Vol. 12, N°3, pp. 236-242.



International Journal of  
**Dairy Science**

ISSN 1811-9743



Academic  
Journals Inc.

[www.academicjournals.com](http://www.academicjournals.com)



## Research Article

# Lactation Stage Effect on Nutritional Quality of Algiers Area Cows' Milk

<sup>1,2</sup>Fawzi Rostane Meklati, <sup>3</sup>Amel Meribai and <sup>1,4</sup>Meriem Hind Ben-Mahdi

<sup>1</sup>Laboratoire de Recherche, Santé et Productions Animales, Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire (ENSV), 16004 Alger, Algérie

<sup>2</sup>Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-chimiques (CRAPC) BP 248, 16004 Alger, Algérie

<sup>3</sup>Laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition humaine, Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA), 16200 Alger, Algérie

<sup>4</sup>Ecole Supérieure des Sciences de l'Aliment et des Industries, Agro-alimentaires d'Alger (ESSAIA), 16200 Alger, Algérie

## Abstract

**Background and Objective:** The quality of cow's milk from imported races is a new subject in the field of milk production in Algeria while taking into account the new breeding conditions these animals are subjected to. Consequently, this study aims to study the effect of one of these conditions, the lactation stage, on milk physico-chemical parameters along with its impact on Fatty Acids (FA) content. **Methodology:** A group of 340 dairy cows were spread out over 3 dairy-farms located in the surrounding of Algiers. They were monitored for 10 month's lactation at a rate of one sampling a month in order to cover 3 stages: Early, mid and late lactation. **Results:** The study showed that lactation stage significantly contributes ( $p < 0.05$ ) to variation of some physico-chemical parameters (acidity, density and Fat Levels (FL)) of milk delivered to local transformers. Milk (FA) profile significantly changed too ( $p < 0.05$ ) with a weak proportion of Saturated Fatty Acids (SFA) at early lactation, increasing very significantly ( $p < 0.0002$ ) at late lactation (60.73 vs. 66.16% respectively). The Short and Medium Chain Fatty Acids (SMCFA), except for C4:0 were rather in weak proportion at early lactation stage and increased during the advance of the process. However, Long Chain Fatty Acids (LCFA), particularly C18:0 and C18:1 showed an opposite tendency with a high proportion at early lactation. No lactation stage influence was shown on C18:2 and C18:3 contents ( $p > 0.05$ ). **Conclusion:** By controlling the breeding conditions, the study showed that lactation stage significantly contributes to variation in Algiers milk fat composition and alters the activity of fatty acid pathways. Besides, milk will get interesting nutritional qualities.

**Key words:** Raw milk, imported races, lactation stage, nutritional quality, fatty acids

**Received:** January 12, 2017

**Accepted:** March 06, 2017

**Published:** April 15, 2017

**Citation:** Fawzi Rostane Meklati, Amel Meribai and Meriem Hind Ben-Mahdi, 2017. Lactation stage effect on nutritional quality of algiers area cows' milk. Int. J. Dairy Sci., 12: 236-242.

**Corresponding Author:** Fawzi Rostane Meklati, Laboratoire de Recherche, Santé et Productions Animales, Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire (ENSV), 16004 Alger, Algérie Tel: +213549310280

**Copyright:** © 2017 Fawzi Rostane Meklati *et al.* This is an open access article distributed under the terms of the creative commons attribution License, which permits unrestricted use, distribution and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Competing Interest:** The authors have declared that no competing interest exists.

**Data Availability:** All relevant data are within the paper and its supporting information files.

## INTRODUCTION

Bovine milk is a complex liquid containing approximately 4.6% lactose, 3.9% fat, 3.2% protein and 0.7% minerals<sup>1</sup>. Milk lipids are made up of more than 98% of triglycerides, source of more than 400 Fatty Acids (FA)<sup>2</sup>.

Milk FAs take source from dietary intake, *de novo* synthesis in the mammary gland, they are also formed in the rumen through ruminal biohydrogenation and can be released from body lipids mobilization<sup>3,4</sup>.

However, several factors affect the milk physico-chemical composition and particularly the lipid fraction. It generally, varies in accordance with seasons, lactation number, feeding and health-status<sup>4-6</sup>.

Many studies have been carried out in Algeria in order to study physico-chemical parameters or milk hygienic quality from farms or dairy units but few of them have studied the fatty acid composition<sup>7-11</sup>. This study contributes to investigate among dairy cows introduced in the country, the evolution of some physico-chemical parameters according to the lactation stage of milk intended to transformation. The objective was to assess the ideal cow lactation stage to increase the cheese-yield and to suggest the best possible stage lactation distribution to increase the FA contents, healthy for the consumers' while reducing harmful ones and therefore, provide a qualitative nutritional intake product.

## MATERIALS AND METHODS

**Location of the dairy cows:** This study is carried out over 340 dairy cows from a variety of imported races introduced in Algeria (Holstein and Montbeliard), accompanied as far as their 10th lactation month and spread over 3 dairy farms located in the Mitidja, a grassland from Northern Algeria (Algiers latitude 36°46'34" N, longitude 3°3'36" E, Blida latitude 36°29' N, longitude 2°50' E, Tipaza latitude 36°35'31" N, longitude 2°26'58" E).

**Dairy cow's feeding:** The experiment was held in real dairy-farming conditions with similar total mixed ration over the 3 farms and made up of oathay, straw and concentrate feed defined and prepared *in-situ* within the farm by the breeder (Table 1). Grass rationing is served at will and watering made 3-4 times per day.

**Sampling procedure:** Milk sampling was carried out from the morning on every lactation month. All samples were stored at 4°C until prior to used for analysis.

Table 1: Formulation of total mixed ration distributed (all farms)

Compositions	Percentage
Oat hay	42.31
Straw	19.23
Concentrate feed	38.46
Total	100.00
<b>Concentrate feed</b>	
Maize grains	33.00
Wheat bran	57.00
Barley grains	8.00
Minerals and vitamins	2.00
Total	100.00

Three lactation steps are taken into consideration during this study: Early, mid and late ones. The initial step shows the first three months lactation average value. The second one refers to the 4th until the 6th month and the third one from 7th-10th month.

**Analysis:** The acidity and density measures were determined according to the AFNOR standards (NF V04-206, 1969) and (NF V04-204, 2004)<sup>12</sup>. Total Dry Extract (TDE) was determined using an infrared desiccator. Protein Levels (PL) were obtained after measuring the total amount of nitrogen protein according to the Kjeldhal method (ISO 8968-1, IDF 020-1: 2014)<sup>13</sup>, whereas Fat Levels (FL) were determined by the Gerber's method (NF V04-210, 2000)<sup>12</sup>.

The conversion factor (0.945) enables to infer Total Fatty Acids (TFA) proportions contained in milk fat<sup>14</sup>.

Fatty Acid Methyl Esters (FAMES) were prepared according to ISO Standards<sup>15</sup> after fat extraction<sup>16</sup>. They were analyzed by an Agilent GC 6890A gas chromatograph (Agilent Co. Ltd, USA) coupled to a mass-selective detector (MSD 5973) from the same company, using a fused silica capillary column (HP-Wax, 60 m×0.25 mm, 0.25 µm film thickness, Agilent Co. Ltd, USA). The carried gas was helium at flow rate 0.5 mL/min. The injection volume was 1 µL in 1:20 split mode. The injector temperature was maintained at 250°C. The initial oven temperature was held at 40°C for 4 min, increased to 140°C at a rate of 10°C/min (held for 1 min) and then increased by 2°C/min to a final temperature of 240°C (held for 2 min).

Identification of common FA (Fig. 1) was performed with NIST'02 [US National Institute of Standards and Technology (NIST), Gaithersburg, MD, USA] mass spectral database.

Three replicates were performed for each sample. The average of these three values and Standard Deviation (SD) were determined for each identified component.

**Statistical analysis:** Data from 340 dairy cow's milk (all races combined) were statistically treated by ANOVA one factor criterion by analysis of variance using STATISTICA version 6.1

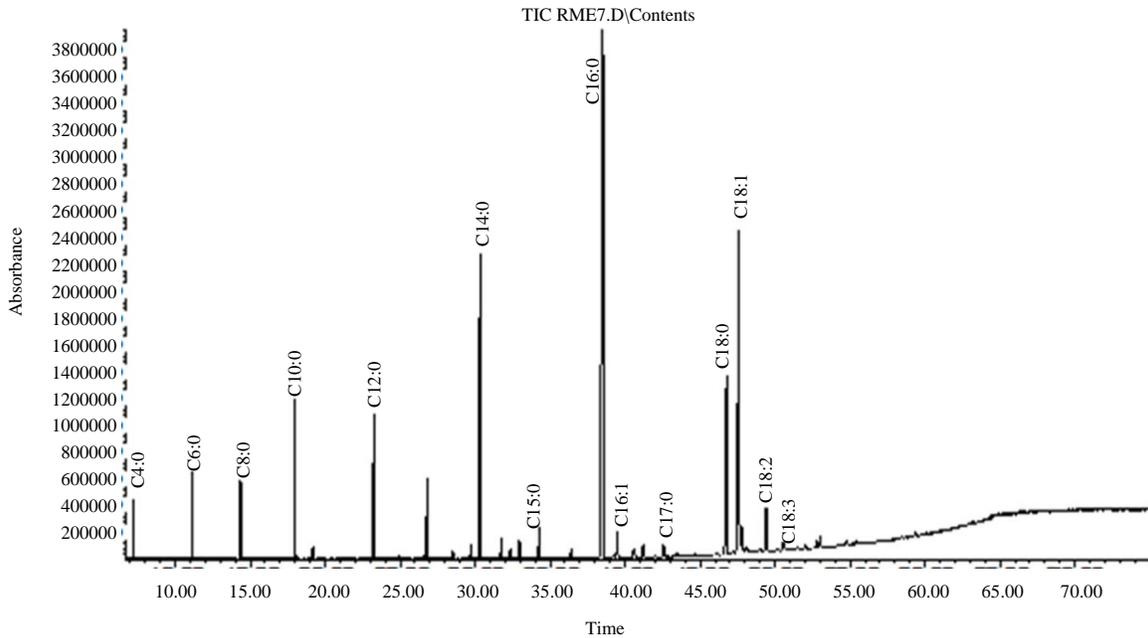


Fig. 1: Chromatogram of some common fatty acids in milk, C4:0: Butyric, C6:0: Caproic, C8:0: Caprylic, C10:0: Capric, C12:0: Lauric, C14:0: Myristic, C15:0: Pentadecanoic, C16:0: Palmitic, C16:1: Palmitoleic, C17:0: Margaric, C18:0: Stearic, C18:1: Oleic, C18:2: Linoleic and C18:3: Linolenic

Table 2: Means and significance effects of lactation stage on milk physico-chemical composition

Physico-chemical parameters	Lactation stage			p-value
	Early	Mid	Late	
pH	6.60±0.06	6.65±0.02	6.67±0.02	NS <sup>1</sup>
Acidity (°D)	17.93±0.95 <sup>a</sup>	17.26±0.16 <sup>ab</sup>	16.69±0.18 <sup>b</sup>	0.04
Density	1030.93±0.23 <sup>ab</sup>	1030.27±0.04 <sup>b</sup>	1031.66±0.75 <sup>a</sup>	0.03
TDE (g L <sup>-1</sup> )	120.73±2.39 <sup>b</sup>	120.37±0.58 <sup>b</sup>	126.37±2.90 <sup>a</sup>	0.02
Fat-free dry matter (g L <sup>-1</sup> )	84.93±0.04	84.20±0.15	85.02±0.93	NS
PL (g L <sup>-1</sup> )	30.43±0.87	31.64±0.34	31.86±0.70	NS
FL (g L <sup>-1</sup> )	35.80±2.80 <sup>b</sup>	36.17±0.66 <sup>b</sup>	41.11±2.72 <sup>a</sup>	0.03
TFA (g L <sup>-1</sup> )	33.83±2.64 <sup>b</sup>	34.18±0.63 <sup>b</sup>	38.85±2.57 <sup>a</sup>	0.03

<sup>1</sup>p>0.05, In each column, values (mean±SD) mentioned with different letters are significantly different (p<0.05) by using Duncan's test. The letter "a" corresponds to the highest adjusted mean. In a same column, values with different letters differ significantly from each other

(Statsoft, France). Analysis is based on a model described by a categorical explanatory variable (one variability factor) which is in our case lactation stage.

When ANOVA results are significant (p<0.05), Duncan's test multiple averaging was applied. It permits to study in detail significant variations recorded in each different lactation stage group: Early, mid and late.

## RESULTS AND DISCUSSION

**Typical milk characteristics:** The variance results (ANOVA using one-way analysis of variance) showed a significant lactation stage effect (p<0.05) on acidity, density, TDE, FL and also TFA, but, it revealed no effect (p>0.05) on PL, fat-free dry matter and pH (Table 2).

Titrate acidity raised at early and mid lactation compared to the late one (p<0.02) with +1.24°D, which confirms Coulon *et al.*<sup>17</sup> results with +1.10°D and Boudalia's *et al.*<sup>9</sup> ones at early lactation. However, TDE, FL and TFA showed an opposite trend: They were higher in late lactation compared with the early and the mid ones. The same tendency was observed for density, which remains in the standards but with a difference of +1.39 (Table 2), a result that was already reported both by Benyounes *et al.*<sup>7</sup> and Legarto *et al.*<sup>18</sup>. However, Boudalia *et al.*<sup>9</sup> recorded lower values at early lactation (1028-1029).

The TDE increases as lactation progresses (p<0.02; Table 2). This tendency is in accordance with the one obtained by Nantapo *et al.*<sup>19</sup> but lower than that obtained by Boudalia *et al.*<sup>9</sup> at early lactation (125-130 g L<sup>-1</sup>).

Besides, FL and TFA are at their lowest levels at early lactation stage (Table 2). These minimal contents correspond to the average amount of the first three month's lactation period characterized by a depression phase during the peak milk yield<sup>18,20,21</sup>. This could explain their weakness observed during this step compared to the two other lactation ones. They increase in mid lactation in order to reach the maximal values in late lactation ( $p < 0.03$ ) in agreement with the Legarto *et al.*<sup>18</sup> results.

Moreover, PL have ofcourse increased during lactation but without any impact of the lactation stage ( $p > 0.05$ ). Off the first lactation week and to a lesser extent in the last month, some studies have proved that the proportion of casein contained in proteins don't vary under lactation-stage effect<sup>17</sup>, whereas others<sup>20</sup> have shown a very significant content-variation in PL during lactation.

Duchacek *et al.*<sup>22</sup> and Bousbia *et al.*<sup>23</sup> have noticed that FL differences are better marked than PL changes during the 17 first weeks of lactation.

**Fatty acids profiles:** Statistical analysis showed a significant effect of lactation stage on milk FA profile with a highly effect on SFA and unsaturated ones (UFA) ( $p < 0.0003$ ), but for this last family, the effect is oriented mainly on mono-unsaturated fatty acids (MUFA), whereas it showed no significant effect ( $p > 0.05$ ) on the poly-unsaturated ones (PUFA).

The amount of SFA significantly increases from 60.73 % at early lactation up to 64.30% in midlactation ( $p < 0.002$ ) to reach a value of 66.16% in late lactation ( $p < 0.03$ , Fig. 2). These

results are in accordance with those obtained by Legarto *et al.*<sup>18</sup>, Craninx *et al.*<sup>21</sup> and Soyeurt *et al.*<sup>24</sup>, which reported a 3 to 6 percent increase in the 4 to 6 lactation early months.

For milk transformers, the high SFA contents do improve conservation and stability of the final products by extending their shelf-life but maybe at the expense of the consumer's health increasing the risks of circulatory diseases<sup>19</sup>.

Among SFA, butyric acid (C4:0) highly decreased from early to late lactation ( $p < 0.0003$ , Table 3). It comes out that the early lactation stage of cows' milk from Algiers area are significantly richer in C4:0 than the mid and late lactation ones. These results are in accordance with some studys<sup>20,25-27</sup>.

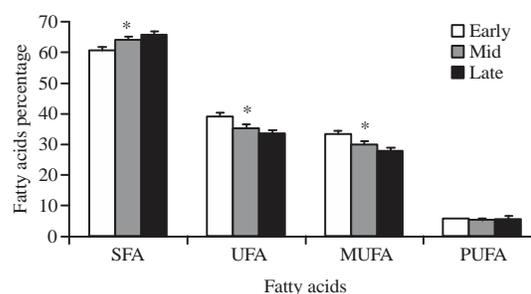


Fig. 2: Milk fatty acids distribution according to lactation stage. \*Significantly different ( $p < 0.05$ ), SFA: Short fatty acids, UFA: Unsaturated fatty acids, MUFA: Monounsaturated fatty acids, PUFA: Polyunsaturated fatty acids

Table 3: Means contents and significance of effects of lactation stage on milk fatty acids composition

Fatty acids (%)	Lactation stages			p-value
	Early	Mid	Late	
<b>SMCFA</b>				
C4:0	3.21 ± 0.36 <sup>a</sup>	2.17 ± 0.27 <sup>b</sup>	1.68 ± 0.13 <sup>c</sup>	0.0003
C6:0	0.63 ± 0.05	0.49 ± 0.21	0.80 ± 0.16	NS <sup>1</sup>
C8:0	0.82 ± 0.21	0.83 ± 0.12	0.86 ± 0.05	NS
C10:0	2.25 ± 0.22 <sup>b</sup>	2.27 ± 0.23 <sup>b</sup>	2.63 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.04
C12:0	2.93 ± 0.33 <sup>b</sup>	3.37 ± 0.11 <sup>a</sup>	3.53 ± 0.13 <sup>a</sup>	0.02
C14:0	8.90 ± 0.46 <sup>b</sup>	11.70 ± 1.07 <sup>a</sup>	12.60 ± 0.13 <sup>a</sup>	0.0003
C15:0	1.26 ± 0.07	1.39 ± 0.15	1.47 ± 0.10	NS
C16:0	27.50 ± 1.17 <sup>b</sup>	30.70 ± 0.97 <sup>a</sup>	31.80 ± 0.30 <sup>a</sup>	0.0007
C17:0	0.90 ± 0.04	0.98 ± 0.12	1.18 ± 0.17	NS
<b>LCFA</b>				
C18:0	11.50 ± 0.04 <sup>a</sup>	9.30 ± 0.69 <sup>b</sup>	8.50 ± 0.11 <sup>c</sup>	0.00005
<b>MUFA</b>				
C16:1	2.40 ± 0.28 <sup>a</sup>	2.26 ± 0.13 <sup>a</sup>	1.91 ± 0.12 <sup>b</sup>	0.02
C18:1	30.40 ± 0.98 <sup>a</sup>	26.90 ± 1.30 <sup>b</sup>	25.50 ± 0.08 <sup>b</sup>	0.0005
<b>PUFA</b>				
C18:2	5.50 ± 0.02	5.51 ± 0.04	5.55 ± 0.05	NS
C18:3	0.24 ± 0.01	0.25 ± 0.01	0.25 ± 0.02	NS
Others	1.66 ± 0.08	1.88 ± 0.15	1.72 ± 0.16	NS

<sup>1</sup> $p > 0.05$ , In each column, values (mean ± SD) mentioned with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) by using Duncan's test. The letter "a" corresponds to the highest adjusted mean. In a same column, values with different letters differ significantly from each other. SMCFA: Short and medium chain fatty acids, LCFA: Long chain fatty acids, MUFA: Monounsaturated fatty acids, PUFA: Polyunsaturated fatty acids

Among SMCFA, lauric (C12:0), myristic (C14:0) and palmitic (C16:0) acids markedly increased in mid lactation ( $p < 0.03$ ,  $p < 0.0009$  and  $p < 0.002$  respectively) up to +0.44, +2.80 and +3.20% respectively, to get steady until late lactation. Stoop *et al.*<sup>26</sup> mentioned an increase of C16:0 between early and mid lactation of +2.1%, which is in accordance with the trend observed in our study. Kay *et al.*<sup>25</sup> and Bilal *et al.*<sup>27</sup> highlighted the same trend for these FA from early to mid lactation.

Lauric (C12:0), myristic (C14:0) and palmitic (C16:0) acids were proved to be the increase of total plasma and LDL cholesterol cause; therefore, their presence with high contents is unwanted<sup>28-30</sup>.

Stearic acid (C18:0) in high content at early lactation, linearly failed and decreased in mid (11.50 vs. 9.30%,  $p < 0.0004$ ) and in late lactation (9.30 vs. 8.50,  $p < 0.03$ ; Table 3). This trend is in accordance with the once obtained by Craninx *et al.*<sup>21</sup>, Stoop *et al.*<sup>26</sup>, Bilal *et al.*<sup>27</sup> and Bainbridge *et al.*<sup>31</sup>. A study showed the C18:0 protective effects from some circulatory diseases<sup>32</sup>.

However, the high content in butyric acid compared to the other short-chain FA can be explained because its synthesis is not inhibited at all resulting from two inhibition-free Acetyl CoA Carboxylase sources: One half, comes directly from a four preformed carbon atoms group called  $\beta$ -hydroxybutyrate; the second half is formed through a free malonyl-CoA way using the condensation of the acetyl units<sup>5,33</sup>. The whole short-chain FA, derived from *denovo* synthesis in the mammary gland, make up an important source of energy to the consumer as they are quickly synthesized in the digestive tract and then metabolized by liver<sup>33</sup>.

Moreover, UFAs and that of MUFAs decrease significantly from 39.27-35.70% from early to mid lactation ( $p < 0.001$ ) to reach 33.84% in late lactation ( $p < 0.05$ ) for the UFA and 33.52-29.94% from early to mid, to reach 28.05% in late lactation ( $p < 0.0003$ ) for MUFA (Fig. 2). Among this latter family, C18:1, known to be favourable to human health<sup>34</sup> showed high contents at early lactation and a significant drop of 3.5% at mid lactation to be steady until late lactation (Table 3).

This result is in accordance with those of Palmquist *et al.*<sup>5</sup>, Duchacek *et al.*<sup>22</sup>, Kay *et al.*<sup>25</sup>, Stoop *et al.*<sup>26</sup>, Nogalski *et al.*<sup>35</sup>, Samkova *et al.*<sup>36</sup> and Stadnik *et al.*<sup>37</sup>, who suggest that high content of C18:1 during early lactation could be explained by the fact that the dairy cow would be in a negative energetic balance situation with on one hand, a LCFA rallying increase from the adipose tissue reserves and

SMCFA *de novo* inhibition synthesis in the mammary gland and on the other hand, a weak ingested dietary amount, hence the poor availability of acetate and  $\beta$ -hydroxybutyrate FA precursors.

These changes may show a counterbalance between SMCFA concentrations and the circulatory lipids FA. Usually, these latter increases while C18:0 and C18:1 FA decrease during lactation development<sup>21,38</sup>. However, some researchers noticed that C18:0 and a C18:1 rising in late lactation<sup>20,26</sup>.

These changes reveal some variations concerning the synthetic FA amounts in the mammary gland<sup>3</sup>. Indeed, studies showed that FAs going from C4:0-C14:0 and about 50% of C16:0 result from *de novo* synthesis within mammary gland whereas LCFA, such as C18:1 come from in circulatory system lipids and result either from nutritional sources or from body lipids<sup>4,33</sup>.

On the other hand, linoleic (C18:2) and  $\alpha$ -linolenic (C18:3) acids showed a little change during lactation (Table 3). These results are in accordance with those obtained by Legarto *et al.*<sup>18</sup> and Bitman and Wood<sup>38</sup>. Nevertheless, Wang *et al.*<sup>39</sup> noticed a 0.32% decrease of C18:2 from early to late lactation but without significant difference concerning C18:3. Garnsworthy *et al.*<sup>20</sup>, Craninx *et al.*<sup>21</sup> and Nantapo *et al.*<sup>19</sup> noticed a significant influence of lactation stage over C18:2 and C18:3 content variation during lactation, especially as these latter are considered to be vital "Fatty Acids" and fundamental to Human Health<sup>30,40</sup>. Consequently, the C18:2 high proportions noticed in this study, inform about the good nutritional quality and the PUFA richness of Algiers-milk.

## SIGNIFICANCE STATEMENT

The aim of this study was to determine the influence of lactation stage on milk fatty acid profile from a variety of imported cow's races introduced in Algeria. The objective was to suggest the best lactation stage in order to increase for consumers the content of healthy fatty acids, with reducing those which are harmful. Results shown that, relatively to mid and late lactation stages, Algerian cow's milk from early lactation stage contain interesting nutritional qualities for consumers and dairy transformers.

## ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to all farmers for their help, access to their dairy farms and assistance in obtaining research data.

## REFERENCES

1. Jensen, R.G., A.M. Ferris and C.J. Lammi-Keefe, 1991. The composition of milk fat. *J. Dairy Sci.*, 74: 3228-3243.
2. Jensen, R.G., 2002. The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *J. Dairy Sci.*, 85: 295-350.
3. Chilliard, Y., A. Ferlay, R.M. Mansbridge and M. Doreau, 2000. Ruminant milk fat plasticity: Nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. *Ann. Zootech.*, 49: 181-205.
4. Mansson, H.L., 2008. Fatty acids in bovine milk fat. *Food Nutr. Res.*, Vol. 52. 10.3402/fnr.v52i0.1821
5. Palmquist, D.L., A.D. Beaulieu and D.M. Barbano, 1993. Feed and animal factors influencing milk fat composition. *J. Dairy Sci.*, 76: 1753-1771.
6. Heck, J.M.L., H.J.F. van Valenberg, J. Dijkstra and A.C.M. van Hooijdonk, 2009. Seasonal variation in the Dutch bovine raw milk composition. *J. Dairy Sci.*, 92: 4745-4755.
7. Benyounes, A., H.E. Bouriache and F. Lamrani, 2013. [Effect of stage of lactation on the physical-chemical quality of milk from Holstein cows in the eastern region of Algeria]. *Livest. Res. Rural Dev.*, Vol. 25.
8. Adjlane-Kaouche, S., R. Benhacine, F. Ghozlane and A. Mati, 2014. Nutritional and hygienic quality of raw milk in the mid-northern region of Algeria: Correlations and risk factors. *Scient. World J.* 10.1155/2014/131593
9. Boudalia, S., D. Benati, R. Boukharouba, B. Chemakh and M. Chemmam, 2016. Physico-chemical properties and hygienic quality of raw and reconstituted milk in the region of Guelma-Algeria. *Int. J. Agric. Res.*, 11: 77-83.
10. Titouche, Y., A. Hakem, D. Salmi, B. Yabrir and N. Chenouf *et al.*, 2016. Assessment of microbiological quality of raw milk produced at Tizi Ouzou area (Algeria). *Asian J. Anim. Vet. Adv.*, 11: 854-860.
11. Yabrir, B., M. Labiad, A. Mostefaoui, A. Hakem, Y. Titouche, F. Gaucheron and A. Mati, 2016. [Free fatty acid profiles and cholesterol and lipid indexes of raw ewe's milk from two Algerian breeds (Ouled-Djellal and Rumbi), collected in the steppe area]. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 20: 17-24.
12. AFNOR., 2010. Lait et Produits Laitiers-Methodes d'Analyse. Association Francaise de Normalisation, France, ISBN: 978-2-12-190461-0..
13. ISO., 2014. Milk and milk products-determination of nitrogen content-Part 1: Kjeldahl principle and crude protein calculation. ISO 8968-1:2014, International Organization of Standardization (ISO), Geneva.
14. Paul, A.A. and D.A.T. Southgate, 1978. McCance and Widdowson's the Composition of Foods. 4th Edn., HMSO and Elsevier, London, Amsterdam, Pages: 417.
15. ISO., 2011. Animal vegetables fats and oils-gas chromatography of fatty acid methyl esters-Part 2: Preparation of methyl esters of fatty acids. ISO 12966-2: 2011, International Organization of Standardization (ISO), Geneva.
16. ISO., 2010. Milk-determination of fat content-gravimetric method (Reference method). ISO 1211: 2010, IDF 1: 2010, International Organization of Standardization (ISO), Geneva.
17. Coulon, J.B., Y. Chilliard and B. Remond, 1991. Effets du stade physiologique et de la saison sur la composition chimique du lait de vache et ses caracteristiques technologiques (aptitude a la coagulation, lipolyse). *INRA Prod. Anim.*, 4 : 219-228.
18. Legarto, J., M. Gele, A. Ferlay, C. Hurtaud and G. Lagriffoul *et al.*, 2014. Effets des conduites d'eleveage sur la production de lait, les taux butyreux et proteique et la composition en acides gras du lait de vache, chèvre et brebis evaluee par spectrometrie dans le moyen infrarouge. *INRA Prod. Anim.*, 27: 269-282.
19. Nantapo, C.T.W., V. Muchenje and A. Hugo, 2014. Atherogenicity index and health-related fatty acids in different stages of lactation from Friesian, Jersey and Friesian × Jersey cross cow milk under a pasture-based dairy system. *Food Chem.*, 146: 127-133.
20. Garnsworthy, P.C., L.L. Masson, A.L. Lock and T.T. Mottram 2006. Variation of milk citrate with stage of lactation and *de novo* fatty acid synthesis in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 89: 1604-1612.
21. Craninx, M., A. Steen, H. van Laar, T. van Nespen, J. Martin-Tereso, B. de Baets and V. Fievez, 2008. Effect of lactation stage on the odd-and branched-chain milk fatty acids of dairy cattle under grazing and indoor conditions. *J. Dairy Sci.*, 91: 2662-2677.
22. Duchacek, J., M. Vacek, L. Stadnik, J. Beran and M. Okrouhla, 2012. Changes in milk fatty acid composition in relation to indicators of energy balance in Holstein cows. *Acta Univ. Agric. Silvicult. Mendel. Brunensis*, 60: 29-37.
23. Bousbia A., F. Ghozlane, M. Benidir and B. Belkheir, 2013. Quantitative and qualitative response of dairy production of cattle herds to husbandry practices. *Afr. J. Agric. Res.*, 8: 5622-5629.
24. Soyeurt, H., P. Dardenne, F. Dehareng, C. Bastin and N. Gengler, 2008. Genetic parameters of saturated and monounsaturated fatty acid content and the ratio of saturated to unsaturated fatty acids in bovine milk. *J. Dairy Sci.*, 91: 3611-3626.
25. Kay, J.K., W.J. Weber, C.E. Moore, D.E. Bauman and L.B. Hansen *et al.*, 2005. Effects of week of lactation and genetic selection for milk yield on milk fatty acid composition in holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 88: 3886-3893.
26. Stoop, W.M., H. Bovenhuis, J.M.L. Heck and J.A.M. van Arendonk, 2009. Effect of lactation stage and energy status on milk fat composition of Holstein-Friesian cows. *J. Dairy Sci.*, 92: 1469-1478.
27. Bilal, G., R.I. Cue, A.F. Mustafa and J.F. Hayes, 2014. Effects of parity, age at calving and stage of lactation on fatty acid composition of milk in Canadian Holsteins. *Can. J. Anim. Sci.*, 94: 401-410.

28. Barber, M.C., R.A. Clegg, M.T. Travers and R.G. Vernon, 1997. Lipid metabolism in the lactating mammary gland. *Biochim. Biophys. Acta Lipids Lipid Metab.*, 1347: 101-126.
29. Williams, C.M., 2000. Dietary fatty acids and human health. *Ann. Zootech.*, 49: 165-180.
30. Parodi, P.W., 2004. Milk fat in human nutrition. *Aust. J. Dairy Technol.*, 59: 3-59.
31. Bainbridge, M.L., L.M. Cersosimo, A.D.G. Wright and J. Kraft, 2016. Content and composition of branched-chain fatty acids in bovine milk are affected by lactation stage and breed of dairy cow. *PLoS ONE*, Vol. 11. 10.1371/journal.pone.0150386
32. Hunter, J.E., J. Zhang and P.M. Kris-Etherton, 2010. Cardiovascular disease risk of dietary stearic acid compared with *trans*, other saturated and unsaturated fatty acids: A systematic review. *Am. J. Clin. Nutr.*, 91: 46-63.
33. Palmquist, D.L., 2006. Milk Fat: Origin of Fatty Acids and Influence of Nutritional Factors Thereon. In: *Advanced Dairy Chemistry Volume 2 Lipids*, Fox, P.F. and P.L.H. McSweeney (Eds.). Springer, USA., pp: 43-92.
34. Lopez-Huertas, E., 2010. Health effects of oleic acid and long chain omega-3 fatty acids (EPA and DHA) enriched milks. A review of intervention studies. *Pharmacol. Res.*, 61: 200-207.
35. Nogalski, Z., M. Wronski, M. Sobczuk-Szul, M. Mochol and P. Pogorzelska, 2012. The effect of body energy reserve mobilization on the fatty acid profile of milk in high-yielding cows. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 25: 1712-1720.
36. Samkova, E., J. Spicka, M. Pesek, T. Pelikanova and O. Hanus, 2012. Animal factors affecting fatty acid composition of cow milk fat: A review. *South Afr. J. Anim. Sci.*, 42: 83-100.
37. Stadnik, L., J. Duchacek, J. Beran, R. Tousova and M. Ptacek, 2015. Relationships between milk fatty acids composition in early lactation and subsequent reproductive performance in Czech Fleckvieh cows. *Anim. Reprod. Sci.*, 155: 75-79.
38. Bitman, J. and D.L. Wood, 1990. Changes in milk fat phospholipids during lactation. *J. Dairy Sci.*, 73: 1208-1216.
39. Wang, T., J.J. Oh, J.N. Lim, J.E. Hong and J.H. Kim *et al.*, 2013. Effects of lactation stage and individual performance on milk *cis-9, trans-11* conjugated linoleic acids content in dairy cows. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 26: 189-194.
40. Connor, W.E., 2000. Importance of n-3 fatty acids in health and disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, 71: 171S-175S.