

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

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



Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences vétérinaires

Mémoire de fin d'études

Pour l'obtention du diplôme de Docteur

En

Médecine vétérinaire

THEME

*Contrôle réalisé sur les résidus
d'antibiotiques dans le lait cru au fond
de centre de collecte de laiterie
Ramdy, région de Bejaia*

Présenté par :

Melle Sahil cylie

Melle Oussaiah wissam

Soutenu publiquement, le 07 juillet 2021. Devant le jury :

BAROUDI DJAMEL	MCA (ENSV)	President
BEN MOHAND CHABHA	MAA (ENSV)	Examinatrice
GUESSOUM MYRIAM	MCB (ENSV)	Promotrice
DERGUINI MEDINA	INSPECTRICE VETERINAIRE(ALGER)	Co-promotrice

2020-2021

DECLARATION SUR L'HONNEUR

Je soussigné (e), SAHIL CYLIA, déclare être pleinement consciente que le plagiat de documents publiés sous toute forme de support, y compris l'internet, constitue une violation des auteurs ainsi qu'une fraude caractérisée. En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce mémoire.

Signature

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Sahil Cylia', written over a horizontal line.

DECLARATION SUR L'HONNEUR

Je soussigné (e), OUSSAIAH WISSAM, déclare être pleinement consciente que le plagiat de documents publiés sous toute forme de support, y compris l'internet, constitue une violation des auteurs ainsi qu'une fraude caractérisée. En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce mémoire.

Signature

A handwritten signature in blue ink, consisting of stylized cursive letters that appear to be 'OU' followed by a flourish.

REMERCIEMENTS

Nous remercions tout d'abord le dieu le tout puissant, de nous avoir guidé vers la science et le savoir et de nous avoir donné le courage et la volonté pour élaborer ce modeste travail

*En premier lieu, nous exprimons particulièrement nos reconnaissances à notre chère promotrice madame **Myriam Guessoum**, pour avoir acceptée de guider ce projet.*

Pour l'aide, les conseils et les encouragements quelle nous a offert tout au long de ce parcours.

Nos sincères remerciements s'adressent également à :

***D.Baroudi Djamel** pour nous avoir donné l'honneur de présider notre jury.*

*A **Dr. Ben mohand Chabha** pour avoir accepté d'être examinatrice de ce travail.*

*A **Dr.Derguini medina** d'avoir accepté d'être notre Co-promotrice durant ce projet.*

*Nous témoignons toutes nos reconnaissances à l'entreprise **Ramdy**, Bejaia de nous avoir accueilli au niveau de leurs laboratoires de contrôle de qualité.*





Je dédie ce mémoire aux êtres les plus chers à mon cœur

A mes chères parentes

Cherif et Samia,

Pour leur patience, leur soutien, leur encouragement, leur sacrifice infini, leurs tendresse et l'amour qui ne cessent de l'apporter durant ces années d'études, qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

Aucune dédicace ne pourra faire témoin de mon profond amour, mon immense gratitude et mon plus grand respect à votre égard.

Une pensée très spéciale envers un ami pour son soutien moral, sa patience et son affection durant ce long parcours.

A mon frère et ma sœur,

Lounes et thiziri,

Ceux qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotions et qui m'ont supporté chaleureusement tout au long de mon parcours.

A ma famille, mes proches,

A tous mes amis, mes collègues avec qui j'ai partagé des souvenirs inoubliables, mémorables particulièrement à ma meilleure amie, mon binôme, ma sœur Wissam je souhaite lui dire que le monde peut s'écouler, une fleur peut se faner, mais notre amitié ne peut durer qu'une éternité.

CYLIA





Je dédie ce mémoire aux êtres les plus chers à mon cœur

A mes chères parentes

Houcine et Farida

Pour leur patience, leur soutien, leur encouragement, leur sacrifice infini, leur tendresse et l'amour qui ne cessent de l'accorder durant ces années d'études, qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

Aucun dédicace ne pourra faire témoin de mon profond amour, mon immense gratitude et mon plus grand respect à votre égard

A mes frères Samir et Aimad

A mes sœurs Nassima, Karima et Sarah

A ma belle sœur Zahra

A mes neveux et nièces

Massine, Adam, Aya, Alice et Elena

Qui ont partagés avec moi tous les moments d'émotions, et qui m'ont supporté chaleureusement tout au long de mon parcours.

A toute ma famille, mes proches

A tous mes amis, mes collègues avec qui j'ai partagé des souvenirs inoubliables, mémorables particulièrement à ma meilleure amie, mon binôme, Ma sœur cylia avec qui j'ai connu le sens de la vraie amitié je n'oublierai jamais nos moments partagés ensemble mon amie.

A toutes les personnes que j'aime.



WISSAM

Résumé

Malgré l'importance de l'antibiothérapie dans le monde animal et son importance dans la préservation du cheptel et l'amélioration des conditions sanitaires, il n'en demeure pas moins que l'usage de ces derniers représente de grands risques pour la santé publique.

Les taux élevés de contamination du lait cru, par les inhibiteurs en général et les résidus d'antibiotiques en particulier, sont expliqués, d'une part par l'usage massif et incontrôlé des préparations pharmaceutiques pour le traitement et la prévention des pathologies bovines et le non-respect des délais d'attente après traitement, et d'autre part par un ajout volontaire des inhibiteurs de croissance des germes (antibiotiques, antiseptiques) dans le lait de commerce dans le but de freiner la croissance des bactéries et stabiliser le lait.

Malgré cela, le lait reste dans la mémoire collective un excellent produit doté de qualités nutritionnelles importantes et est, généralement, considéré comme un allié important de la santé. Le lait a également su échapper à la méfiance des consommateurs malgré des informations de contamination du lait de vache par des agents infectieux (comme celui de la brucellose bovine).

Néanmoins, la présence d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale doit constituer une préoccupation majeure, vu les risques encourus pour le consommateur vis-à-vis de ces produits et leurs dérivées, ainsi que les pertes économiques considérables au niveau de la transformation laitière.

Il est devenu impératif de prévenir ces risques, d'instaurer une législation explicite et rigoureuse relative à ce problème.

Mots clés : résidus antibiotiques, inhibiteurs, délai d'attente, le lait, contamination

Liste des figures

Figure n°1 : relation entre l'homme, l'animal et l'environnement.....	8
Figure n°2 : Principe du contrôle des résidus dans les aliments.....	15
Figure n° 3 : Les différents types des méthodes de détection des résidus antibiotiques.....	16
Figure n°4 : Les différents types de méthodes microbiologiques et l'interprétation des Résultat.....	17
Figure n°5 : Présentation des différents résultats des tests et leur interprétation.....	18
Figure n°6 : situation géographique de Sarl Ramdy.MAPS(2020).....	22
Figure n°7 : carte géographique des différentes communes de Bejaia présentes dans l'étude.....	24
Figure n°8: Le kit Beta Star® S Combo.....	25
Figure n° 9 : Lecture des résultats pour les β -lactames et les Tétracyclines.....	27
Figure n°10 : Résultat négatif (absence des β -lactames et des Tétracyclines) pour tous les échantillons analysés.....	28
Figure n°11 : Résultat négatif du test de détection.....	29

Liste des abréviations :

OMS : organisation mondial de la sante

FAO : organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

OIE : Organisation mondiale de la santé

RIA : radioimmunoessais

HPLC : La chromatographie liquide haute performance

FPIA : Méthode immunologique par polarisation de fluorescence

ELISA : Méthode immuno-enzymatique

Liste des figures

Liste des abréviations

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION.....1

CHAPITRE I APPERCU GENERAL SUR LES ANTIBIOIQUES

I.1.Historique.....3

I.2.Définition.....3

I.3.Classification.....3

I.4.Mode d'action d'antibiotiques.....4

I.5.L'usage des antibiotiques l'élevage bovin.....5

CHAPITRE II L'IMPACT DES ANTIBIOTIQUES SUR LA SANTE HUMAINE, ANIMALE ET ENVIRONNEMENTALE

II.1.Le concept One health.....7

II.3.L'antibioresistance et le concept one health.....8

II.4. Les conséquences de l'antibioresistance.....9

II.5. la transmission de l'antibioresistance.....10

II.6. Actions contre l'antibioresistance.....10

CHAPITRE III RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES

III.1.Définition des résidus 12

III.2. Problèmes liés aux résidus de médicaments vétérinaires..... 12

III.2.1.Problèmes pour le consommateur 12

III.2.1.1. Risque allergiques liés à la présence de résidus	12
III.2.1.2. Modification de la flore intestinal	12
III.2.1.2.1. Risques d'antibiorésistance	13

CHAPITRE IV DETECTION DES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES

IV.1. Importance et nécessité.....	15
IV.2. Dépistage des résidus antibiotiques.....	16
IV.2.1. Méthodes microbiologiques	17
IV.2.2. Méthodes immunologiques.....	18
IV.2.2.1. Test récepteurs	18
IV.2.2.2. Radioimmunoessais	19
IV.2.2.3. Méthode immuno-enzymatique (ELISA)	19
IV.2.2.4. Méthode immunologique par polarisation de fluorescence (FPIA)	19
IV.2.3. Méthodes physico-chimique.....	19
IV.2.3.1. Les méthodes chromatographiques « La chromatographie liquide haute performance (HPLC) »	20
IV.3. Mesures destinées à éliminer les résidus d'antibiotiques dans le lait.....	20
IV.3.1. Le traitement thermique	20
IV.3.2. Le traitement enzymatique	20
IV.3.3. L'utilisation de bactéries sélectionnées pour leur antibiorésistance	20

PARTIE EXPERIMENTALE

I. Matériels et méthodes.....	21
-------------------------------	----

I.1.Objectif et méthodologie	21
I.2.1.Présentation de l'organisme d'accueil	21
I.2.2.Situation géographique	22
I.2.3.Infrastructure.....	22
I.2.4.Atelier de lait.....	23
I.3.Échantillonnage.....	23
I.4.Réalisation des tests de détection des résidus d'antibiotiques dans le lait.....	24
II.Résultats et discussions	27

Résumé

Conclusion

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Les antibiotiques, utilisés en clinique depuis les années 1940, constituent une étape importante dans l'histoire de la médecine. Leur usage en médecine humaine et vétérinaire dans un but thérapeutique a constitué, pendant longtemps, un remède efficace contre de nombreux germes pathogènes. Cependant cette utilisation doit obéir à certains critères (les conditions et voies d'administration, posologie, durée du traitement, etc.). Ces critères sont liés directement à la durée de l'élimination du médicament appelée « délai d'attente » qui doit impérativement être respecté. Faute de quoi, elle conduit à l'apparition de résidus d'antibiotiques dans différentes denrées alimentaires d'origine animales (lait, viande, ...). (OMS, 2014) .

En Algérie, les antibiotiques restent parmi les molécules les plus utilisées en élevage bovin. Leur usage, en traitement curatif, préventif ou en complémentation dans l'alimentation animale, conduit inévitablement à la présence de résidus dans les denrées alimentaires issus de ces animaux. Parallèlement, le lait est un aliment complet dont l'intérêt nutritionnel est incontestable chez le jeune en croissance et chez l'adulte. (Zinedine et al., 2007 ; Ben-Madhi et Ouslimani, 2009).

En Algérie, le lait, largement consommée, occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire. Comme le prix subventionné est à la portée du consommateur, elle représente, de ce fait, la principale source de protéine d'origine animale.

Bien qu'étant un aliment nutritif, le lait peut être impliqué dans plusieurs problèmes sanitaires, notamment la contamination chimique, due aux résidus de médicaments vétérinaires, qui peut détériorer sa qualité et avoir de sérieuses conséquences sur le consommateur, ainsi que sur la technologie laitière.

Chez le consommateur, la consommation des résidus d'antibiotiques conduisent à l'émergence d'une multitude de désagréments, aboutissant à titre d'exemple au développement de populations de microbes antibiorésistants, rendant inefficaces certains traitements en médecine humaine et vétérinaire, à l'apparition et au développement de certains problèmes allergiques, au développement de certains cas de cancers et au déséquilibre de la flore intestinale qui peut conduire à un déséquilibre immunitaire. (Cazeau et al., 2010)

Sur les industries laitières, les conséquences peuvent être désastreuses ; les résidus entravent toute maturation de ferments lactiques, au cours de la transformation, engendrant

INTRODUCTION

ainsi des pertes économiques énormes. Parallèlement, on assiste aujourd'hui à une utilisation irrationnelle et de manière totalement abusive et anarchique des antibiotiques en pratique rurale en Algérie. Le contrôle des résidus d'antibiotique n'étant pas réglementé.

A ce jour, notre pays ne possède pas de limite maximale de résidus dans le lait, et autres produits issus des animaux, propres aux antibiotiques utilisés. De ce fait aucun contrôle n'est fait ni au niveau des fermes, ni sur les citernes après la collecte.

C'est dans cette optique que nous avons mené notre étude ce travail de dépistage, mené dans le laboratoire du centre de collecte RAMDY, et qui a concerné la détection des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de vache collecté, par le biais du test de détection Beta Star® Combo.

I. Aperçu général sur les antibiotiques

I.1.Historique

En 1889, PAUL VUEILLEMIN introduit le terme 'antibiose' pour décrire le principe actif d'un organisme vivant qui détruit la vie des autres pour protéger sa propre vie. En 1897, ERNEST DUCHESNE envisagea de faire une activité des moisissures à des fins thérapeutiques, mais son idée ne se mettra en place qu'au XX ème siècle à la suite de la découverte du docteur ALEXANDER FLEMING : en 1929, il remarqua qu'une de ses cultures de staphylocoques est en partie décimée : les bactéries ont été contaminées par les moisissures penicillium notatum, il constata aussi qu'elle ne se développe plus là où la moisissure prolifère. Il formule alors l'hypothèse que cette dernière synthétise une substance « la pénicilline » qui bloque le développement de la bactérie. Il essaye alors d'extraire le principe actif des moisissures, mais toutes ces tentatives se soldent par des échecs. Dix ans plus tard, le biochimiste American RENE DUBOS isole le premier antibiotique (ATB) : Gramicidine, celle-ci produite par des bactéries du sol, tue les pneumocoques. Pourtant, ce premier ATB reste extrêmement difficile à purifier et hautement toxique. Le premier ATB synthétisé a été créé par un biochimiste allemand GERHARD DOMAGK. En 1932, il a découvert qu'un colorant le sulfamidochrysoïdine avait un effet sur les streptocoques. Il a alors tout de suite breveté sous le nom prontosil ; d'ailleurs il a reçu le Prix Nobel pour sa découverte en 1939. En découvrant l'hémisynthèse, il a ouvert la voie à l'antibiothérapie moderne.

I.2.Définition

Un antibiotique est une substance antibactérienne naturelle ou synthétique d'origine microbienne ou synthétisée chimiquement, capable d'inhiber spécifiquement la croissance d'autres micro- organismes par un mécanisme particulierjouant sur les mécanismes vitaux du germe, **(Gogny et al, 2001; Morin et al, 2005)**.

Ils ont une toxicité sélective ; ils sont toxiques pour les bactéries mais pas pour l'organisme cible **(Merad et Merad, 2001)**. Les sources principales des antibiotiques sont les champignons, mais aussi les bactéries.

I.3.Classification

La classification des antibiotiques peut se faire selon :

L'origine : élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique).

Le mode d'action : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques.

Le spectre d'activité : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large).

La nature chimique : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle bêta-lactame) sur laquelle il y a ensuite hémi synthèse.

La classification selon la nature chimique permet de classer les antibiotiques en familles (beta- lactamines, aminosides, tétracyclines...etc.).

I.4.Mode d'action des antibiotiques

A la différence des antiseptiques et des désinfectants, les antibiotiques agissent en général de façon très spécifique sur certaines structures de la cellule bactérienne, cette grande spécificité d'action explique pourquoi les antibiotiques sont actifs à très faible concentration. Cette action s'exerce selon les molécules sur des sites variés. (**Mevius et al., 1999 ; Oxoby, 2002**).

Les antibiotiques peuvent agir sur :

La paroi bactérienne: Bacitracine, Pénicilline et Céphalosporines agissent sur les germes en croissance inhibent la dernière étape de la biosynthèse du peptidoglycane (muréine composant essentiel de la paroi bactérienne, qui confère à la bactérie sa forme et sa rigidité, ce qui lui permet de résister à la forte pression osmotique intra cytoplasmique) au cours de la multiplication cellulaire. La nouvelle bactérie n'est plus protégée entraînant ainsi une lyse **bactérienne (Zeba, 2005)**.

La membrane cellulaire: en désorganisant sa structure et son fonctionnement, ce qui produit des graves troubles d'échanges électrolytiques avec le milieu extérieur

L'ADN: Certaines familles d'antibiotiques empêchent la réplication d'ADN en bloquant la progression de l'ADN polymérase. L'actinomycine bloque la progression de l'ARN polymérase. Les sulfamides provoquent une inhibition de la synthèse des bases nucléiques et la cellule meurt par carence en bases nucléiques (**Flandrois et al ., 1997**), les quinolones et fluoroquinolones inhibent l'ADN gyrase (**Chopra, 1998**).

Le ribosome bactérien : sur les ribosomes: ce qui entraîne l'arrêt de la biosynthèse des protéines ou la formation de protéines anormales. Les aminoglycosides ou aminosides (streptomycine, gentamycine, amikacine), empêchent la traduction de l'ARNm en se fixant sur la petite sous-unité des ribosomes (Hermann, 2005). Les phénicolés (chloramphénicol, thiamphénicol) bloquent la formation de la liaison peptidique sur la grosse sous-unité du ribosome bactérien. Les cyclines (tétracycline, doxycycline) bloquent l'élongation de la chaîne peptidique en se fixant sur la petite sous-unité (**Flandrois et al., 1997**) les macrolides et les kétolides (érythromycine, azithromycine) bloquent l'élongation de la chaîne peptidique (Nilius et Ma, 2002). La puromycine copie l'extrémité d'un ARNt, prend sa place dans le ribosome et bloque l'élongation de la chaîne peptidique.

Autres: en agissant tant qu'antimétabolites bactériens (c'est à dire au niveau des étapes du métabolisme intermédiaire des bactéries).

I.5.L'usage des antibiotiques dans l'élevage bovin :

L'Algérie est le premier consommateur de lait au Maghreb, avec près de 6 milliards de litres par an. Cet aliment occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des Algériens, et apporte la plus grande part des protéines d'origine animale (**Benhedane 2011**).

Les antibiotiques restent parmi les molécules les plus utilisées en élevage bovin en Algérie. Leur usage, en traitement curatif, préventif ou en complémentation dans l'alimentation animale, conduit à la présence de leurs résidus dans les denrées alimentaires issues des animaux. Aujourd'hui, le problème causé par les résidus d'antibiotiques est à craindre car les quantités de laits frais produits localement réservés à la transformation sont encore insuffisantes pour que les laits contenant des antibiotiques n'arrivent pas au consommateur (**Boultif 2014**).

La consommation de résidus d'antibiotiques conduit à l'émergence d'une multitude de désagréments, aboutissant à titre d'exemple au déséquilibre de la flore intestinale, à des effets toxiques ou allergènes et la sélection de bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques (**Mekademi 2008 ; Sander et al 2011**).

Selon les bonnes pratiques, l'antibiothérapie ne doit être qu'une solution au cas par cas de contrôle d'un épisode infectieux, et en aucun cas un palliatif systématique à des défauts techniques. Cela exige une stratégie d'utilisation adaptée aux besoins sanitaires de l'élevage après un passage en revue de l'ensemble des options de contrôle des infections (vaccination,

biosécurité, pratiques zootechniques, etc.) assurant la meilleure prévention (**Sanders et al.2011**).

II.L'impact des antibiotiques sur la santé humaine, animal et environnementale

II.1. Le concept one health: (GARZON. et al., 2018)

L'approche one health nous rappelle que la santé humaine ne peut être envisagée seule et quelle est intimement liée aux santés animale et écosystémique.

La santé, un bien être global partagé par les hommes, les animaux et les écosystèmes.

Les pressions à l'interface entre les hommes, les animaux et leurs environnements augmentent et nuisent à la santé. La pression démographique, l'urbanisation croissante, les migrations et les circulations accrues sont autant d'éléments de la mondialisation qui brisent les barrières et démultiplient les contacts entre les hommes, les animaux et les espaces naturels. À cela s'ajoutent les pollutions et certains modes de production qui participent à l'érosion de la biodiversité. Le changement climatique et les catastrophes naturelles transforment le visage de la planète et modifient les interfaces hommes-nature. Tous ces éléments impactent à différents niveaux les écosystèmes et avec eux le bien-être global. Ils entraînent des risques de (ré)émergence de maladies et de diffusion d'agents pathogènes résistants aux médicaments.

C'est dans ce contexte qu'une sensibilité pour l'approche « One Health » se dessine sur la scène internationale. Elle rappelle que deux tiers des maladies infectieuses humaines sont issues des animaux (les « zoonoses »), une valeur qui atteint même 75 % dans le cas des maladies infectieuses émergentes. Plusieurs épidémies transfrontalières comme la grippe aviaire ou plus récemment Ebola ont illustré ce passage fluide du règne animal vers les populations humaines dans des contextes environnementaux favorables.

Les résistances antimicrobiennes croissantes peuvent aussi se diffuser entre les animaux, l'alimentation, les vecteurs environnementaux et les humains et ont contribué à éveiller une conscience « One Health ». La précarité de la condition animale induite par certains modes d'élevage dans des environnements insalubres mène en effet à une utilisation excessive d'antibiotiques qui peut nuire à la santé et au bien-être humains par le biais de l'alimentation. Néanmoins, cette approche intégratrice va au-delà des zoonoses et de la résistance antimicrobienne en mettant la santé en perspective avec les grands enjeux environnementaux et climatiques.



Figure n°1 : relation entre l’homme, l’animal et l’environnement (Université Paris saclay2020)

II.3. L’antibiorésistance et le concept one health :

Les antibiotiques, médicaments indispensables à la santé humaine, voient aujourd’hui leur efficacité menacée. Leur mauvaise utilisation pour les maladies humaines, ainsi que leur utilisation intensive en agriculture, entraînent l’apparition de bactéries développant des résistances : on parle d’antibiorésistance, phénomène constituant l’une des préoccupations actuelles majeures à l’échelle mondiale.

L’antibiorésistance est la capacité d’un micro-organisme à résister aux effets des antibiotiques. S’il existe une résistance naturelle de certaines bactéries face aux antibiotiques, la résistance acquise au fil du temps du fait d’une mauvaise utilisation est plus préoccupante. Elle désigne l’apparition d’une résistance à un ou plusieurs antibiotiques chez une bactérie qui auparavant y était sensible.

Dès 1950, des bactéries pathogènes devenues résistantes aux antibiotiques usuels ont été mises en évidence, et ce phénomène n’a depuis cessé d’augmenter. L’efficacité des antibiotiques a poussé à l’utilisation excessive et souvent inadaptée de ceux-ci en santé humaine et animale. D’après l’OMS, le mauvais usage des antibiotiques est la cause principale de la résistance. En effet, « l’utilisation excessive dans la plupart des régions du

monde, en particulier contre des infections mineures, la mauvaise utilisation faute d'accès à des traitements appropriés et la sous-utilisation par manque de moyens financiers pour achever les traitements » entraînent une pression sélective sur les molécules.

II.4. Les conséquences de l'antibiorésistance :

Ponctuelles au départ, ces résistances sont devenues plus importantes et donc préoccupantes. L'OMS ajoute que, si aucune action n'est prise aujourd'hui, la quasi-totalité des antibiotiques actuels seront inefficaces d'ici 2050 pour prévenir et traiter les maladies humaines. Elle affirme que la résistance aux antibiotiques atteint désormais des niveaux dangereusement élevés dans toutes les régions du monde et ajoute que, si nous ne prenons pas des mesures d'urgence, nous entrerons bientôt dans une ère post-antibiotique dans laquelle des infections courantes et de petites blessures seront à nouveau mortelles. La situation pose donc des enjeux très importants, d'abord de santé publique, car elle risque d'entraîner le retour de nombreuses maladies mortelles aujourd'hui contrôlées voire presque éradiquées grâce aux antibiotiques, mais elle pose également un très important enjeu économique, car les mesures à prendre afin de lutter contre cette résistance ont déjà, et auront certainement de plus en plus, un coût considérable pour les États. Il s'agit pour eux de remettre en question le fonctionnement de leurs systèmes de santé, et de revenir sur des pratiques courantes depuis des dizaines d'années. Néanmoins, selon Margaret Chan, directrice générale de l'OMS entre 2007 et 2017, la situation n'est pas inexorable. Elle estime que la prescription des antibiotiques de façon appropriée, la restriction de leur utilisation dans la production alimentaire et la lutte contre la contrefaçon pourraient mettre fin à cette menace émergente. **(OMS,2020)**

En effet, la sur utilisation des antibiotiques en santé humaine n'est pas la seule raison du développement de l'antibiorésistance.

Leur usage en agriculture, notamment dans les élevages intensifs pose de plus en plus problème : il provoque l'apparition de résistances chez certaines bactéries, qui ensuite se transmettent d'animaux en animaux, puis aux humains, mais aussi à l'environnement.

Outre cet impact sanitaire, il entraîne aussi d'importantes pertes de production agricole, impliquant des « conséquences économiques et sociales importantes, notamment dans les pays en développement, en plus d'augmenter les risques de malnutrition ».

II.5. La transmission de l'antibiorésistance :

Les eaux sont très largement contaminées par les antibiotiques ainsi que par les bactéries, dont une grande proportion est désormais résistante. Par exemple, on estime qu'un litre d'eau usée contient entre 40 et 100 mg de bactéries, dont 30 à 50% sont résistantes. Ensuite, ces eaux usées vont contaminer les sols, et cette antibiorésistance sera transmise aux végétaux. Les animaux, quant à eux, sont traités avec des antibiotiques et peuvent donc être porteurs de bactéries résistantes qui vont se transmettre à l'homme qui se nourrit de ces animaux, ou par contact avec ceux-ci. En sens inverse, les hommes peuvent eux aussi transmettre ces bactéries aux animaux, particulièrement les animaux de compagnie. Puis, l'antibiorésistance revient au niveau végétal, notamment dans les cultures, par l'utilisation de fumier animal qui serait contaminé par des bactéries résistantes. On se trouve alors dans une situation de transmission multifacettes qui ne fait que prendre de l'ampleur. L'antibiorésistance constitue donc un enjeu très important du concept « One health » : santé humaine, animale et environnementale sont extrêmement liées et il est primordial d'agir d'une manière commune afin d'inverser la tendance. (OIE,2019)

II.6. Actions contre l'antibiorésistance :

Le diagnostic de l'antibiorésistance, grâce à l'intelligence artificielle. L'implication du monde scientifique pourrait alors, grâce aux nouvelles technologies, permettre de trouver des réponses face à l'ampleur du phénomène d'antibiorésistance.

Au niveau international, l'Organisation mondiale de la santé (OMS), l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE) se sont saisies de la question dans le cadre de leur alliance tripartite. Cette collaboration a pour but de mettre en place des « stratégies communes pour la prévention des risques sanitaires à l'interface homme-animal-écosystèmes ». Depuis 2011, ces entités internationales se sont fixé trois domaines d'action prioritaires, dont l'antibiorésistance. Elles ont créé un Plan d'Action Global, qui a permis d'aider les trois organisations à développer leurs stratégies respectives, tout en assurant un alignement de leurs actions aux plans national, régional et global. De plus, un secrétariat conjoint tripartite a été mis en place, afin de « favoriser la mobilisation multisectorielle contre la résistance aux antimicrobiens ».

Le 20 novembre 2020, durant la « Semaine mondiale pour un bon usage des antimicrobiens », les chefs de secrétariat des trois organisations de l'Alliance Tripartite ont créé une nouvelle

instance : le « Groupe de direction mondial sur la résistance aux antimicrobiens », intégrant le principe « Un monde, Une santé ». Le but de ce groupe sera notamment de jouer un rôle politique au plus haut niveau pour assurer une bonne gouvernance.« la résistance aux antimicrobiens est un problème qui concerne la santé animale, la santé humaine et l'environnement : il nous faut agir aujourd'hui pour protéger l'efficacité de ces médicaments ». Qu Dongyu, directeur général de la FAO, ajoute qu'aucun secteur ne peut à lui seul résoudre ce problème. Il faut engager une action collective face à la menace que représente la résistance aux antimicrobiens, par-delà les secteurs économiques et les frontières ».

III.RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES

III.1. Définition des résidus

Les résidus d'antibiotiques présents dans les denrées alimentaires d'origine animale sont les traces de traitements médicamenteux antibiotiques reçus par l'animal de son vivant **(STOLTZ, 2008)**.

Les résidus sont définis comme toutes substances pharmaco-logiquement actives, qu'il s'agisse de principes actifs, d'excipients ou de métabolites présents dans les liquides et tissus des animaux après administration des médicaments et susceptibles d'être retrouvés dans les denrées alimentaires produites par ces animaux et susceptibles de nuire à la santé humaine **(BOULTIF, 2014)**.

III.2. Problèmes liés aux résidus de médicaments vétérinaires

En dehors des cas d'allergie, les problèmes liés aux résidus de médicaments vétérinaires dans les denrées ne sont presque jamais des problèmes de toxicité aigüe. Certains sont décrits pour le consommateur et d'autres pour la technologie et le commerce international. **(STOLTZ, 2008)**.

III.2.1.Problèmes pour le consommateur

III.2.1.1. Risque allergiques liés à la présence de résidus

Les principes actifs des médicaments tout comme les molécules de faible poids moléculaire (haptène) peuvent se lier de façon irréversible à des grosses molécules, très souvent de nature protéique et appelées molécules porteuses. Il se forme alors un complexe qui peut être immunogène et allergène. **(STOLTZ ,2008.)**

III.2.1.2. Modification de la flore intestinale

Certains résidus d'antibiotiques ayant encore une activité contre les bactéries sont potentiellement capables de modifier la microflore intestinale de l'homme. **(STOLTZ, 2008)**.

La présence de résidus d'antibiotiques peut ainsi entraîner un risque d'affaiblissement des barrières microbiologiques et de colonisation de l'intestin des bactéries pathogènes ou opportunistes. **(STOLTZ, 2008)**.

La flore intestinale : effet de barrière et résistance à la colonisation.

L'activité des résidus d'antibiotiques peut provoquer la mort de certaines bactéries ou diminuer leur aptitude à proliférer dans l'intestin : vitesse de croissance diminuée, affinité pour un substrat nutritionnel diminuée ou adhésion diminuée.

L'atteinte de certaines populations bactériennes qui font partie de la flore normale entraîne le développement d'autres populations bactériennes pouvant être pathogènes ou opportunistes. Ce phénomène est appelé « abaissement des barrières microbiologiques ». (STOLTZ, 2008).

□ **Risque microbiologique pour le consommateur (STOLTZ, 2008).**

L'affaiblissement des barrières microbiologiques peut avoir plusieurs conséquences néfastes pour la santé publique.

□ Développement d'une pathologie gastro-intestinale : une bactérie pathogène, en transit ou présente en petit nombre, peut devenir dominante dans l'écosystème digestif causant une maladie pouvant être grave.

□ Déséquilibre ou modification de la flore digestive augmentant le risque d'infections associées : une bactérie opportuniste, potentiellement pathogène pour certains individus sensibles peut augmenter en nombre dans l'intestin augmentant le risque d'infection pour l'individu atteint ainsi que le risque de dispersion dans la population.

□ Apparition de souches résistantes aux antibiotiques : une bactérie résistante aux antibiotiques peut être sélectionnée par un résidu d'antibiotique, soit directement par l'élimination de la bactérie sensible correspondante soit indirectement par l'affaiblissement des barrières. Les bactéries non pathogènes résistantes aux antibiotiques ne sont pas dangereuses. Cependant, la gravité des infections opportunistes est très augmentée par les résistances.

De plus, ces résistances peuvent être transmises à des bactéries pathogènes si leur support génétique est modifiable (plasmide, transposon).

III.2.1.2.1. Risques d'antibiorésistance

D'après ZIADI (2010), par définition, l'antibio-résistance correspond à la capacité d'une bactérie à résister aux effets des antibiotiques. L'utilisation des antibiotiques en thérapeutique humaine ou vétérinaire s'accompagne de l'apparition de résistances à ces mêmes antibiotiques chez les bactéries (CHAUVIN et al. 2002).

CHATAIGNER (2004), rapporte qu'il constitue un problème très préoccupant du fait des répercussions directes sur les possibilités thérapeutiques. Il est bien établi que l'usage des antibiotiques est le facteur le plus important dans la sélection de bactéries résistantes même si l'apparition de résistances spontanées a aussi été démontrée

IV. DETECTION DES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES

IV.1. Importance et nécessité

Selon **BROUILLET (2002)** cité par **BOULTIF (2014)**. L'utilisation des tests de détection des inhibiteurs est très ancienne, les premiers tests ont été utilisés quelques années après l'apparition des antibiotiques.

La détection des résidus d'antibiotiques est d'une importance majeure sur le plan médicale, les résidus d'antibiotiques présentent maints risques pour la santé à savoir les allergies, la toxicité, la résistance bactérienne. Leur détection sera d'un grand apport pour l'homme, une clé de sa sécurité sanitaire. La détection des résidus d'antibiotiques se fait par des méthodes de dépistages et des méthodes de confirmations (**REZGUI, 2009**).

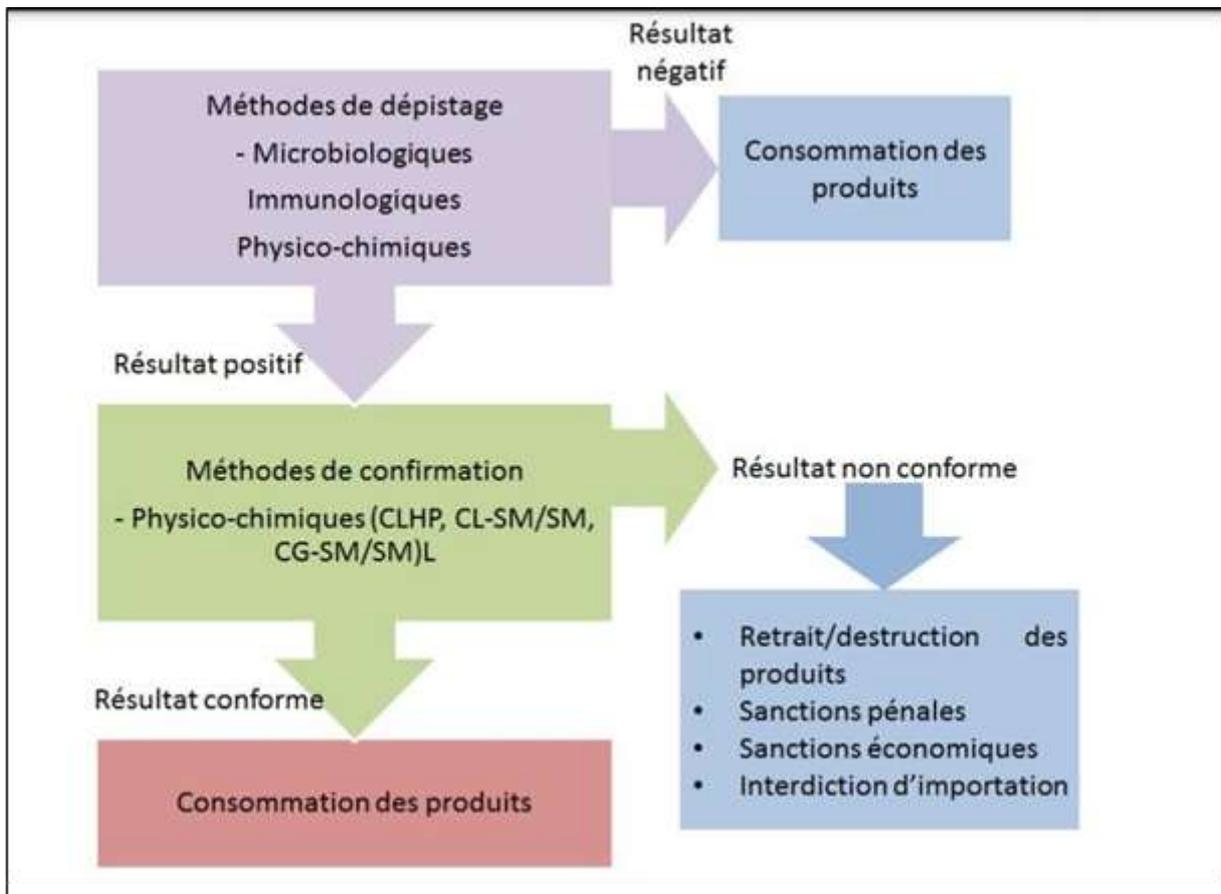


Figure n°2 : Principe du contrôle des résidus dans les aliments (**GAUDIN, 2016**).

IV.2. Dépistage des résidus antibiotiques

L'utilisation des tests de détection des inhibiteurs est très ancienne, les premiers tests ont été utilisés quelques années après l'apparition des antibiotiques (BROUILLET, 2002).

Les premières méthodes biologiques qui ont été développées pour la détection des résidus de médicaments vétérinaires ont été des méthodes microbiologiques. Ces méthodes sont basées sur des tests de diffusion en gélose ou sur l'inhibition de la production d'acide par des bactéries (méthode d'acidification). Le principe est basé sur la sensibilité des bactéries à l'action des antibiotiques. Ces méthodes sont simples et peu coûteuses. (GAUDIN, 2016).

Ensuite, des méthodes immunologiques ont été développées sur la base de la reconnaissance anticorps-antigène. Ces méthodes sont plus spécifiques en raison du principe de l'interaction anticorps-antigène. Ainsi, ces méthodes sont plus ciblées. Dans le même temps, des techniques ont été mises au point utilisant les propriétés physico-chimiques des antibiotiques (chromatographie en couche mince, chromatographie en phase liquide à haute performance) (GAUDIN, 2016). Les trois grands types de méthodes utilisées pour le dépistage des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires sont présentés dans la Figure n°1.

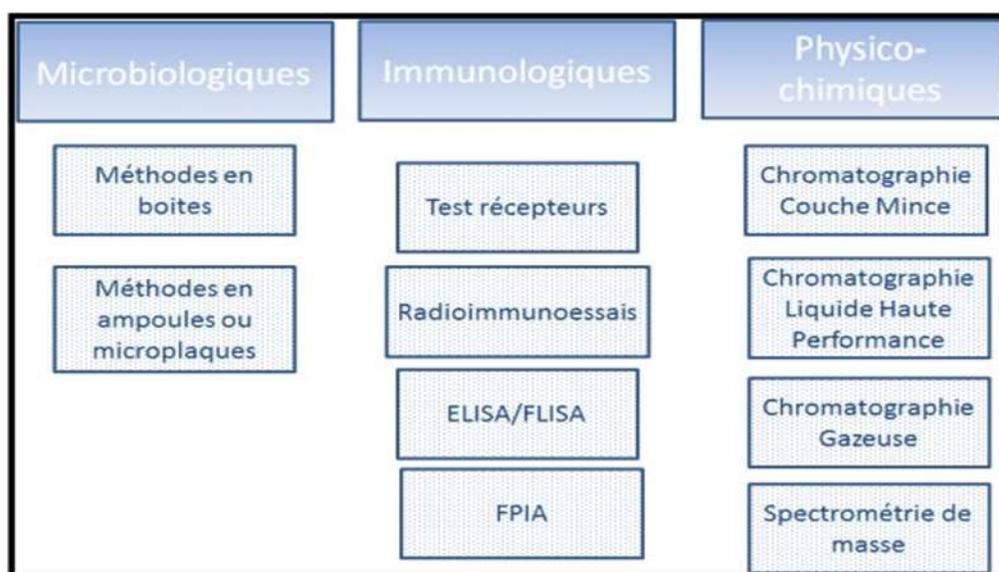


Figure n°3 : Les différents types des méthodes de détection des résidus antibiotiques (GAUDIN, 2016).

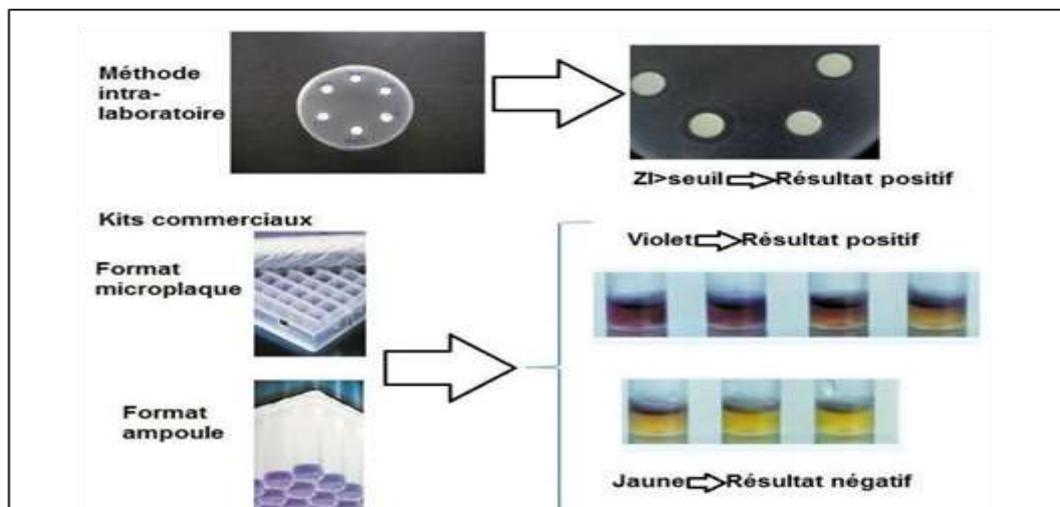
IV.2.1. Méthodes microbiologiques

Les méthodes microbiologiques sont principalement utilisées pour la détection de deux types de contaminants alimentaires ; les organismes pathogènes alimentaires et les résidus d'antibiotiques. Pour la détection des pathogènes alimentaires, les méthodes sont généralement constituées d'une étape d'enrichissement (la mise en culture sur des boîtes de gélose sélectives afin d'isoler l'organisme pathogène), suivie par une analyse phénotypique.

Pour le dépistage des résidus d'antibiotiques, les méthodes microbiologiques sont basées sur la sensibilité de certaines souches bactériennes à l'action des antibiotiques et sur la spécificité d'action des antibiotiques (REZGUI, 2009).

Selon MONTERO et al. (2005), les méthodes microbiologiques peuvent être classées en deux catégories :

- Les méthodes intra-laboratoire sont le plus souvent des méthodes en boîtes, à l'exception d'un test intra-laboratoire en tubes pour le contrôle officiel des antibiotiques dans le lait.
- Les kits commerciaux sont le plus souvent des tests en ampoules et/ou en microplaques, commercialisés prêts à l'emploi.



ZI = zone d'inhibition

Figure n° 4: Les différents types de méthodes microbiologiques et l'interprétation des résultats. (GAUDIN, 2016)

IV.2.2. Méthodes immunologiques

Les méthodes immunologiques sont largement utilisées dans le domaine du dépistage des résidus de médicaments vétérinaires. Le principe commun à tous les tests immunologiques est la détection de l'interaction entre un anticorps et un antigène. Les composés de faible poids moléculaire, appelés haptènes en immunologie, ne sont pas immunogènes.

Les médicaments vétérinaires en général et les antibiotiques en particulier sont de faible poids moléculaires (CANTWELL., 2006). Les méthodes immunologiques peuvent être divisées en 4 groupes principaux, dans le domaine du dépistage des résidus (FRANEK., 2005).

IV.2.2.1. Test récepteurs

Les tests récepteurs utilisent une bandelette réactive sur laquelle un ligand récepteur est fixé sur une bande de membrane. L'échantillon à analyser est appliqué sur la bandelette et laissé en contact pour interagir avec le récepteur. La Figure n°2, présente l'interprétation des résultats de ce type de test (SHANKAR., 2010).

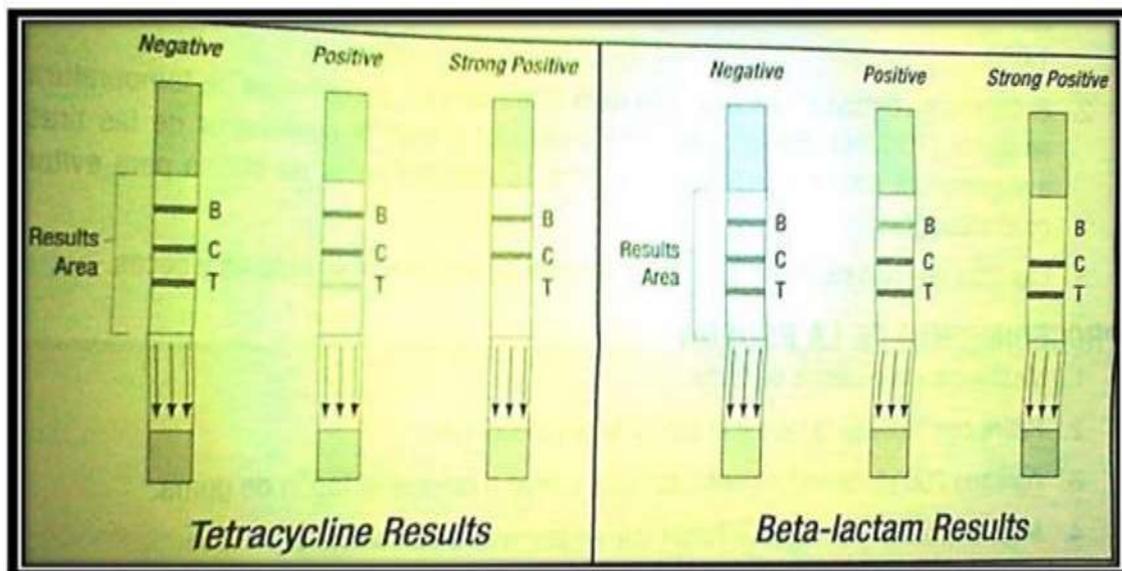


Figure n°5 : Présentation des différents résultats des tests et leur interprétation. (SHANKAR.,2010)

La particularité des tests récepteurs pour la détection des résidus d'antibiotiques est que de nombreux tests sont disponibles dans le commerce, en particulier pour le dépistage des béta-

lactamines dans le lait. Ces tests sont généralement conformes aux LMR de la plupart des antibiotiques cibles dans les matrices concernées. Les résultats sont généralement disponibles entre 2 et 8 minutes après le début de l'analyse (SHANKAR., 2010).

IV.2.2.2.Radioimmunoessais

Les radioimmunoessais (RIA) utilisant des marqueurs radioactifs étaient la méthode d'analyse la plus répandue en termes d'immunoessais pendant des décennies. Les RIA ont été appliquées à de nombreux domaines, y compris la chimie clinique, la pharmacologie, et la surveillance de l'environnement (GAUDIN., 2016).

IV.2.2.3.Méthode immuno-enzymatique (ELISA)

ELISA est une technique rapide (de quelques minutes à 20 minutes) mais onéreuse. Elle est spécifique pour une famille d'antibiotiques et sensible pour cette dernière. Sa limite de détection est souvent inférieure à la limite maximale des résidus (ABIDI, 2004 ; VERHNES, 2002).

L'ELISA est une technique immuno-enzymatique de détection qui permet de visualiser une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps (HANZEN, 2008 cité par GAUDIN, 2016).

IV.2.2.4.Méthode immunologique par polarisation de fluorescence (FPIA)

Le principe de détection de la FPIA est basé sur les différences de polarisation de la fluorescence de l'analyte marqué dans les fractions libres et ou les fractions liées (liaison anticorps/analyte). La première étape est le marquage de l'analyte avec un marqueur fluorescent (fluorescéine). Le résidu et le résidu marqué entrent en compétition dans le mélange réactionnel (GAUDIN, 2016).

IV.2.3.Méthodes physico-chimiques

Les années 80 ont été marquées par le développement de nouvelles méthodes de dépistage comme HPLC, la chromatographie sur couche mince et l'électrophorèse. Bien que ces méthodes, produisent des résultats précis du niveau des résidus d'antibiotiques, elles sont cependant, très coûteuses, très lentes, et demandent des compétences techniques spécialisées (BOULTIF, 2014).

IV.2.3.1. Les méthodes chromatographiques « La chromatographie liquide haute performance (HPLC) »

C'est une technique de séparation analytique en fonction de l'hydrophobicité préparative des molécules d'un composé ou d'un mélange de composés. Pour certains, HP signifie « haute pression ». Cette forme de chromatographie est fréquemment utilisée en biochimie, ainsi qu'en chimie analytique. La combinaison de la rapidité et de la résolution élevées conduit à l'appellation haute performance (BENABDALLAH, 2015).

IV.3. Mesures destinées à éliminer les résidus d'antibiotiques dans le lait

Certes, des alternatives existent ; Différentes méthodes permettent d'assainir le lait et éliminer les résidus d'antibiotiques (FORM, 2003) :

IV.3.1. Le traitement thermique

Le chauffage du lait permet d'éliminer une partie des résidus, mais tous les antibiotiques n'ont pas la même thermolabilité et ne sont pas tous détruits par les procédés de diminution de charge microbienne mis en œuvre dans les industries laitières (pasteurisation, stérilisation). Des paramètres plus élevés augmenteraient fortement le prix de revient et modifieraient les propriétés technologiques du lait (dénaturation des protéines).

IV.3.2. Le traitement enzymatique

L'utilisation de pénicillinases a été envisagée, mais elle est très coûteuse et n'est efficace que sur les résidus de pénicillines.

IV.3.3. L'utilisation de bactéries sélectionnées pour leur antibiorésistance

L'augmentation de la résistance d'une bactérie à un antibiotique donné, ou à une autre famille d'antibiotique donnée, s'accompagne inévitablement de la détérioration d'autres de ses qualités, par ailleurs, cette méthode ne supprime pas le risque de santé publique posé par les inhibiteurs. Au final, ces techniques sont onéreuses, pas toujours très fiables, et de ce fait sont rarement mises en œuvre par les industries laitières (FORM, 2003).

PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIEL ET METHODES

I. Matériels et méthodes

La démarche de ce travail est axée sur des analyses réalisées au laboratoire du centre de collecte de la laiterie RAMDY dans la région de Bejaia.

1.1. Objectif et méthodologie

L'antibiothérapie est un élément essentiel utilisée dans le but de préserver l'activité de l'élevage bovin laitier. Cependant, une mauvaise utilisation de cet outil peut conduire à la contamination du lait par les résidus des antibiotiques. Notre étude a fixé pour objectif de détecter la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait collecté au niveau du centre de collecte de la laiterie RAMDY dans la région de Bejaia.

La démarche méthodologique retenue comporte les étapes suivantes :

- La formulation du sujet et le choix de la région d'étude.
- Recherche bibliographique.
- La réalisation des tests permettant de détecter les résidus d'antibiotiques.
- Le dépouillement et l'analyse des données.
- Discussion des résultats obtenus.
- Conclusion.

1.2.I. Présentation de l'organisme d'accueil :

La SARL RAMDY (laiterie DJURDJRA) est une entreprise agroalimentaire spécialisée dans les produits laitiers et ses dérivées. Elle a été créé le 01 /01/1983. Elle s'est spécialisée dans la production des yaourts, crème desserts fromages frais et fondu.

Le 15 octobre 2001, le groupe français DANONE s'est associé avec la laiterie RAMDY pour l'activité yaourt, pâtes fraîches et desserts. Depuis l'activité de laiterie Djurdjura s'est consacrée à la production des fromages fondus, aux pâtes molles (camemberts) et au lait pasteurisé.

Deux années plus tard, elle s'est implantée dans une nouvelle unité située en plein cœur de la zone industrie TAHARACHT (AKBOU) triplant ainsi sa capacité de production en fromage fondu.

MATERIEL ET METHODES

En 2007 une nouvelle unité dénommés DJURDJURA WORD TRADING voit le jour. Cette entreprise s'est spécialisée dans la fabrication du lait pasteurisé mais toujours sous le nom commercial RAMDY.

En 2011 la laiterie DJURDJURA WT commence à collecter et à intégrer le lait cru dans ses produits.

Actuellement, le centre reçoit des citernes (de mille L à 6 milles L) quotidiennement appartenant à différents collecteurs.

Un des collecteurs collecte de 13 000 L / jour destinée à la production de lait de vache UHT. Le reste du lait cru collecté est destiné à la production des dérivés comme le L'ben et le Yaourt.

I.2.2.Situation géographique

L'unité laitière industrielle « LA SARL RAMDY » est implantée dans la zone industrielle de TAHERCHT D'AKBOU à 200 m de la RN 26, sur le chemin qui relie la commune d'Akbou à celle d'Amadou, qui se trouve à 60km de Bejaia et à 170 km à l'Est de la capitale d'Alger.



Figure N°06 : situation géographique de Sarl Ramdy.MAPS(2020)

I.2.3.Infrastructure :

L'entreprise dispose d'un complexe intégré de deux (02) principaux départements de production « atelier yaourt et crème dessert et atelier fromage », en plus d'un atelier lait pasteurisé. Pour une meilleure surveillance de la qualité du produits et une protection optimale du consommateur, la SARL RAMDY s'est équipé d'un laboratoire d'autocontrôle

MATERIEL ET METHODES

afin d'effectuer toutes les analyse physico-chimique et microbiologique exigées, comme elle dispose d'un grand magasin de stockage de matière première.

I.2.4. Atelier de lait :

Un dispositif de réception de lait cru est composé d'une cuve de réception, d'un compteur et d'un échangeur thermique pour le refroidissement. L'atelier est doté aussi d'une salle de préparation, deux chambres chaudes, une salle de conditionnement, une chambre froide et un quai de livraison.

I.3. Échantillonnage :

Lors de la livraison du lait cru qui provient de différentes régions à savoir la région d'Akbou, de Sidi aich, d'Adekar, D'Amizour et D'El kseur, des échantillons sont prélevés à partir d'une seule citerne, à l'aide d'une louche dans les flacons stériles nommés respectivement :

E1, E2, E3, E4, E5 .Ces échantillons sont acheminés directement au laboratoire physico-chimique de l'unité.

Afin d'éviter une contamination des échantillons de lait lors du prélèvement il faut :

- Remuer le lait avant le prélèvement pour bien homogénéiser le mélange
- Prélever le lait dans des flacons propres (stériles)
- Identifier les flacons.

MATERIEL ET METHODES

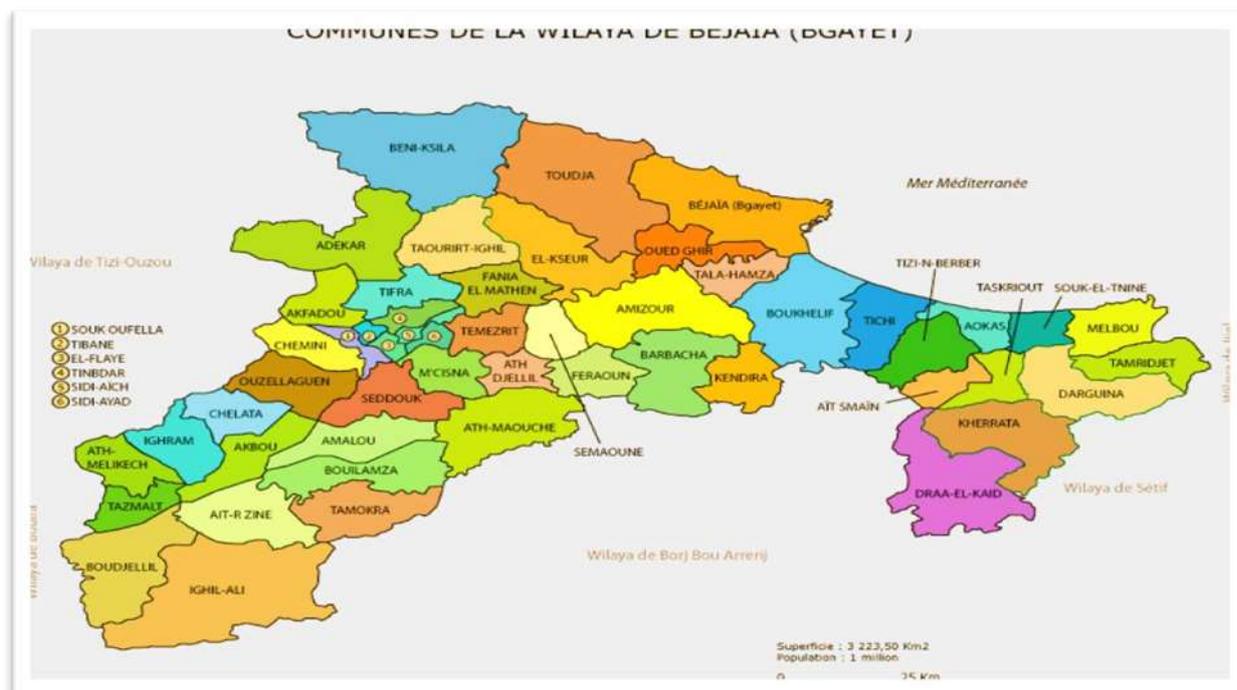


Figure n°7 : carte géographique des différentes communes de Bejaia présentes dans l'étude.

1.4. Réalisation des tests de détection des résidus d'antibiotiques dans le lait

Nos tests ont été réalisés au niveau du laboratoire du centre de collecte de laiterie RAMDY. L'expérimentation s'est déroulée entre Mai et Juin 2021.

➤ Matériel de détection

Notre travail a été basé sur un test rapide, Beta Star® S combo, sensible aux Bêta-lactamines et Tétracyclines.

Comme ces derniers antibiotiques comptent parmi les familles d'antibiotiques les plus utilisées dans le monde pour le traitement du bétail, BetaStar® S Combo est un excellent choix de test de dépistage.

➤ Présentation et principe du test Beta Star®S combo

Il s'agit d'un test rapide en une seule étape de détection des résidus d'antibiotiques Bêta-lactamines et Tétracyclines.

Il est utilisable pour le lait de vache, de chèvre ou de brebis.

MATERIEL ET METHODES

La méthode employée est du type « Receptor Assay » : le test emploie des récepteurs spécifiques liés à des particules d'or et un support immunochromatographique sous forme de bandelette.

Pendant l'incubation, la bandelette absorbe le mélange « Lait +réactifs » présent dans la cupule.

La bandelette est recouverte d'une pellicule protégeant la membrane de test afin d'éviter la contamination par les antibiotiques de l'environnement ou sur les mains de l'utilisateur.

Cette protection augmente la fiabilité du test.



Figure n° 08 : Le kit Beta Star® S Combo.

Le coffret Beta Star® S combo contient :

- 25 flacons.

-Une boîte de 25 bandelettes de test.

-25 pipettes.

La réalisation du test nécessite également du matériel annexe :

-Réactif G (pour vérifier l'acidité de lait)

MATERIEL ET METHODES

-Incubateur régulé à 47.5 # 1 °C.

-Registre de suivi : réception du lait cru.

➤ Mode opératoire

Avant de commencer il faut vérifier la conformité du lait par un test de détermination rapide de l'acidité par le réactif G. 02 gouttes du réactif sont ajoutées à 5 ml de lait homogénéisé. La teinte obtenue permet de classer le lait comme suit :

* bleue : lait frais, conforme.

*verdâtre : lait acide.

Par la suite la densité, le taux de la matière grasse, les protéines, l'eau et en fin le pH sont vérifiés.

Une fois la conformité du lait est vérifiée nous passons au test d'antibiotiques.

- Sortir un flacon du coffret.

-Prélever avec la pipette le lait cru dans le flacon

-Mettre le flacon dans un des puits de l'incubateur stabilisé à la température de 47.5°C.

-Prendre une bandelette, et l'identifier avec le numéro du camion de citerne du lait cru, et la date de l'échantillonnage.

-Introduire la bandelette dans le flacon et laisser en incubation à 47.5°C. Les flèches sur la bandelette doivent être orientées vers le bas.

Cinq minutes après introduction de la bandelette dans le flacon, retirer la bandelette et lire immédiatement.

II. Résultat et Discussion

La détection des antibiotiques dans le lait reste une préoccupation majeure de l'industrie laitière. Lors de la détection d'un résultat positif en substances inhibitrices du lait d'une exploitation, celui-ci ne peut plus être collecté par l'acheteur avant qu'il n'ait été contrôlé et afin de montrer qu'il est désormais exempt de toute trace de substances inhibitrices.

Pour cette raison, la législation algérienne dans sa définition du lait, dans l'article 6 de l'arrêté interministériel du 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation, mentionne le fait qu'un lait propre à la consommation humaine ne doit pas contenir de résidus d'antibiotiques mais ne précise pas explicitement les limites maximales de résidus.

Les résultats de notre travail sont présentés dans une partie dite expérimentale après avoir présenté l'essentiel des informations bibliographiques dans les quatre premiers chapitres.

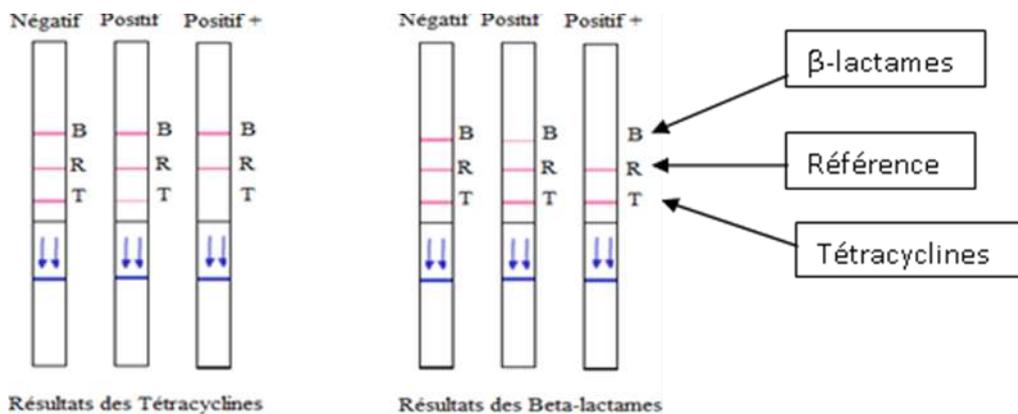


Figure n°9 : Lecture des résultats pour les β-lactames et les Tétracyclines.

Si la 1^{ère} et la 2^{ème} bande ont une intensité:

- Supérieure à celle de la bande de référence : l'échantillon ne contient pas ou peu de résidus de substances inhibitrices de la famille des β-lactames et/ ou Tétracyclines. Le résultat est négatif.
- Égale ou inférieure à celle de la bande référence : l'échantillon contient des substances inhibitrices de la famille des β-lactames et/ ou Tétracyclines. Le résultat est positif.

RESULTATS ET DISCUSION

- Très faible ou est absente : l'échantillon contient des substances inhibitrices de la famille des β -lactames et/ou Tétracyclines. Le résultat est positif.

L'absence des résidus d'antibiotiques est un critère de qualité qui conditionne la réception ou le refus du lait. C'est pour cette raison que la fréquence du contrôle des résidus d'antibiotiques par le centre est très élevée.

Dans le cas de nos échantillons E₁, E₂, E₃, E₄, et E₅ l'intensité des bandes des β -lactames et des Tétracyclines sont supérieures à celle de la bande référence, ce qui signifie l'absence de résidus d'antibiotiques dans tous les échantillons analysés

Figure n°10 (Tableau) : Résultat négatif (absence des β -lactames et des Tétracyclines) pour tous les échantillons analysés.

Echantillons	Résultats sur kit	Interprétation
E1		Résultat négatif : Absence des β -lactames et des Tétracyclines
E2		Résultat négatif : Absence des β -lactames et des Tétracyclines
E3		Résultat négatif : Absence des β -lactames et des Tétracyclines
E4		Résultat négatif : Absence des β -lactames et des Tétracyclines
E5		Résultat négatif : Absence des β -lactames et des Tétracyclines

Les résultats sont donc considérés comme satisfaisants.

RESULTATS ET DISCUSION



Figure n°11 (personnelle) : Résultat négatif du test de détection

Selon BENSALÉM en 2020, le taux du lait ATB a diminué depuis 2015 à 2020 de 2.26% à 1.43%. Cela pourrait être expliqué par la conscience des éleveurs vis-à-vis des risques de la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait, ainsi que l'impact de la réglementation en vigueur qui est appliquée sur les éleveurs qui sont conventionnés avec les laiteries (BENSALÉM, 2020).

La présence d'un taux élevé de lait négatif n'est pas synonyme de sa salubrité. Souvent, nous pouvons être confronté à des laits qui contiennent des résidus d'antibiotiques, mais à des concentrations inférieures au seuil de détection du Beta Star® S Combo, ou à des laits qui contiennent des résidus d'antibiotiques qui ne s'expriment pas au test Beta Star® Combo (antibiotiques autres que les bêta lactamines et les tétracyclines). Par ailleurs, l'effet de dilution du lait peut donner des résultats faussement négatifs.

CONCLUSION

Les antibiotiques sont une méthode particulière efficace pour la lutte contre bon nombre de pathologie mais à l'heure actuel leur bon usage et surtout avec conscience sont des éléments clé pour ne pas avoir l'ensemble des effets néfaste de ce qui est pour le moment une aide majeur.

La mise en place des bonnes pratiques d'utilisation des antibiotiques est plus que primordiale et cela passe par une sensibilisation des éleveurs sur les risques pour leur cheptel mais aussi pour leur famille.

La généralisation de l'utilisation des tests rapides pour la recherche des résidus que se soit au niveau des élevages, des collecteurs et des laiteries.

Le renforcement de la législation en matière d'usage du médicament vétérinaire notamment les antimicrobiens.

Tout cela aura pour effet de mettre à disposition des consommateurs un lait sain et riche en élément nutritifs.

Résumé

Malgré l'importance de l'antibiothérapie dans le monde animal et son importance dans la préservation du cheptel et l'amélioration des conditions sanitaires, il n'en demeure pas moins que l'usage de ces derniers représente de grands risques pour la santé publique.

Les taux élevés de contamination du lait cru, par les inhibiteurs en général et les résidus d'antibiotiques en particulier, sont expliqués, d'une part par l'usage massif et incontrôlé des préparations pharmaceutiques pour le traitement et la prévention des pathologies bovines et le non-respect des délais d'attente après traitement, et d'autre part par un ajout volontaire des inhibiteurs de croissance des germes (antibiotiques, antiseptiques) dans le lait de commerce dans le but de freiner la croissance des bactéries et stabiliser le lait.

Malgré cela, le lait reste dans la mémoire collective un excellent produit doté de qualités nutritionnelles importantes et est, généralement, considéré comme un allié important de la santé. Le lait a également su échapper à la méfiance des consommateurs malgré des informations de contamination du lait de vache par des agents infectieux (comme celui de la brucellose bovine).

Néanmoins, la présence d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale doit constituer une préoccupation majeure, vu les risques encourus pour le consommateur vis-à-vis de ces produits et leurs dérivées, ainsi que les pertes économiques considérables au niveau de la transformation laitière.

Il est devenu impératif de prévenir ces risques, d'instaurer une législation explicite et rigoureuse relative à ce problème.

Mots clés : résidus antibiotiques, inhibiteurs, délai d'attente, le lait, contamination

وعلى الرغم من أهمية العلاج بالمضادات الحيوية في عالم الحيوان وأهميته في الحفاظ على الثروة الحيوانية وتحسين الظروف الصحية، فإن حقيقة الأمر تظل أن استخدام هذه العلاجات يفرض مخاطر كبيرة على الصحة العامة .

إن المستويات العالية من تلوث الحليب الخام، بواسطة مثبتات بشكل عام ومخلفات المضادات الحيوية بشكل خاص، تفسر من ناحية، من خلال الاستخدام المكثف وغير الخاضع للرقابة للتحضيرات الصيدلانية لعلاج والوقاية من أمراض البوفلين وعدم الالتزام بفترات الانتظار بعد العلاج، ومن ناحية أخرى، من خلال الإضافة الطوعية لممثبات نمو الجرثومة (المضادات الحيوية، ومضادات التفسخ) في الحليب التجاري من أجل الحد من نمو البكتيريا وتثبيت الحليب .

وعلى الرغم من ذلك، فإن الحليب يظل في الذاكرة الجماعية منتجاً ممتازاً يتمتع بصفات غذائية مهمة ويعتبر عموماً حليفاً مهماً للصحة. كما تمكن الحليب من الإفلات من انعدام الثقة في المستهلكين على الرغم من المعلومات التي تفيد عن تلوث حليب البقر بواسطة عوامل معدية (مثل داء البروسيلين المبيض)

ومع ذلك، فإن وجود المضادات الحيوية في المواد الغذائية ذات المنشأ الحيواني يجب أن يكون مصدر قلق كبير، نظراً للمخاطر التي يتعرض لها المستهلك من هذه المنتجات ومشتقاتها، والخسائر الاقتصادية الكبيرة في تجهيز منتجات الألبان .

ولقد بات من الضروري أن نمنع مثل هذه المخاطر، وأن نطرح تشريعاً واضحاً ودقيق بشأن هذه المشكلة .

الكلمات الدالة :

بقايا المضادات الحيوية ، مثبتات ، فترة الانسحاب ، الحليب ، التلوث

SUMMARY

Despite the importance of antibiotic therapy in the animal world and its importance in the preservation of livestock and the improvement of health conditions, the fact remains that the use of these poses great risks for public health.

High levels of contamination of raw milk, by inhibitors in general and antibiotic residues in particular, are explained, on the one hand, by the massive and uncontrolled use of pharmaceutical preparations for the treatment and prevention of bovine pathologies and the non-compliance with waiting periods after treatment, and on the other hand by the voluntary addition of germ growth inhibitors (antibiotics, antiseptics) in commercial milk in order to curb the growth of bacteria and stabilize milk.

Despite this, milk remains in the collective memory an excellent product with important nutritional qualities and is generally considered an important ally of health. Milk was also able to escape the distrust of consumers despite information of contamination of cow's milk by infectious agents (such as bovine brucellosis).

Nevertheless, the presence of antibiotics in foodstuffs of animal origin must be a major concern, given the risks to the consumer of these products and their derivatives, and significant economic losses in dairy processing.

It has become imperative to prevent these risks, to introduce explicit and rigorous legislation on this problem.

Key words : antibiotic residues, inhibitors, withdrawal period, milk, contamination

REFERENCES 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. **BROUILLET P.**, 2002 - Résidus de médicaments dans le lait et tests de détection. Bulletin des GVT, n°15. Mai-Juin 2002, p 25
3. **BENABDALLAH H.**, 2015- Polycopié du Cours: Techniques d'extraction, de purification et de conservation. Thèse de doctorat, Univ. Ferhat Abbas, Sétif, 51p
4. **BROUILLET P.**, 2002 - Résidus de médicaments dans le lait et tests de détection. Bulletin des GVT, n°15. Mai-Juin 2002, p 25.
5. **BOULTIF L.**, 2014- Détection et quantification des résidus de terramycine et de pénicilline dans le lait de vache par chromatographie liquide haute performance (hplc)- optimisation des paramètres d'analyse – adaptation des méthodes d'extraction des molécules d'antibiotiques- comparaison de quelques résultats obtenus sur le lait de la région de Constantine et le lait importe (reconstitué). Thèse de Doctorat d'état, Univ. Mentouri, Constantine, 35- 90p.
6. **CHATAIGNER B.**, 2004 - Etude de la qualité sanitaire des viandes bovines et ovines à Dakar, Sénégal : Contamination par des résidus d'antibiotiques. Thèse de Doctorat vétérinaire, Toulouse, 103p
7. **CANTWELL H., OKEEFFE M.**, 2006 - Evaluation of the Premi Test and comparison with the One-Plate Test for the détection of antimicrobials in kidney. Food Additives and Contaminants, n°23: 120p.
8. **Chopra, I., (1998).** Research and developementof antibacterial agents. *Current opinion in Microbiology*, 1, 495-501.
9. **Flandrois, J.C., Courco, L., Lemeland, J.F., Ramuc, M., Sirot, J. et Souny, C.J.** (1997). Bacteriologie médicale. Presses Universitaire de Lyon. ISBN 2 7297 0567 8.
10. **FORM G.**, 2003 - Les résidus inhibiteurs dans le lait. Evolution des méthodes de détection-Facteurs de risques en région Rhône-alpes. Thèse Médecin Vétérinaire, p105.
11. **GOGNY . M, Puyt . J.D, Pellerin . J.L** (2001)- Classification des principes actifs. L'arsenal thérapeutique vétérinaire, *Editions le point vétérinaire*. p 165-168.
12. **GAUDINV.**, 2016 - Caractérisation de la performance et validation des méthodes de dépistage des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires. Thèse de doctorat. Université de Rennes1, 25p
13. **HANZEN C.**, 2008 - La pathologie infectieuse de la glande mammaire. Approche individuelle Année 2007-2008 .
14. **MONTEROA A., ALTHAUSB R-L ., MOLINAC A., BERRUGAC I, MOLINAA M-P.**, 2005 - Detection of antimicrobial agents by a specific microbiological method (Eclipse100®) for ewe milk. *Small Ruminant Research*, n°57 : 229-235.
15. **Mevius, D.J., Rutter, J.M, Hart, C.A., Imberechts, H., Kempf, G., Lafont, J.P., Luthman, J., Moreno, M.A, Pantosti, A., Pohl, P., Willadsen, C.M.**, (1999). Antibiotic resistance in the European Union associated with therapeutic use of veterinary medicines. Report and qualitative risk assessment by the committee for veterinary medicinal products, *Editions Le*

point vétérinaire. p 1-57.

16. **Nilius, A.M., Et Ma, Z.**, (2002). Ketolides: the future of microlides? *Current Opinion in pharmacology*. 2, 1-8.
17. **Oxoby, M.**, (2002) Etudes sur la synthèse totale des antibiotiques naturels de la famille des angucyclinones, Thèse de docteur en chimie organique de l'université Bordeaux I, école doctorale des sciences chimiques. p 3-12.
18. **REZGUI A.**, 2009 - Analyse des résidus d'antibiotiques Analyse des résidus d'antibiotiques dans les denrées dans les denrées alimentaires en Tunisie alimentaires en Tunisie en Tunisie: Les tétracyclines : Les tétracyclines, les quinolones, et les sulfamides. Thèse de licence appliquée en biotechnologie. Université De La Manouba, Sidi Thabet, Tunisie, 16p.
19. **STOLTZ Rémi** Les résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale : Evaluation et maîtrise de ce danger Thèse Vétérinaire : Lyon, 17 décembre 2008 p-(22-35)/152
20. **STOLTZ R.**, 2008- Les Residus D'antibiotiques Dans Les Denrees D'origine Animale : Evaluation et maîtrise de ce danger, Ecole nationale vétérinaire de lyon, 50p.
21. **SHANKAR B-P., MANJUNATHA PRABHU B-H., CHANDAN S., RANJITH D., SHIVAKUMAR V.**, 2010 - Rapid Méthods for detection of Veterinary Drug residues in Meat. *Veterinary World*, n°3 : 214p
22. **VERHNES R., VANDAELE E.**, 2002 - Détection rapide des inhibiteurs dans le lait. *Le point vétérinaire*, n° 227 : 16-17p.
23. **ZIADI H.**, 2010 - Essai d'amélioration du taux de rétention de la tétracycline dans un polymère à empreinte moléculaire formé de co-polymères fonctionnalisés de l'acide lactique. Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de maître en sciences pharmaceutiques, Université de Montréal, 57p.
24. **Zeba, B.**, (2005). Overview of β -lactamase incidence on bacterial drug resistance. *African journal of biotechnology*, 4 (13), 1559-1562.
25. <https://www.inrae.fr/actualites/antibioresistance>
26. <https://www.inrae.fr/actualites/antibioresistance>
27. <https://www.inrae.fr/actualites/antibioresistance>
28. <https://www.inrae.fr/actualites/antibioresistance>
29. <https://www.oie.int/fr/ce-que-nous-faisons/initiatives-mondiales/une-seule-sante/>