

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
**MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

المدرسة الوطنية للبيطرة – الجزائر  
**ECOLE NATIONALE VETERINAIRE -ALGER**

**Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister  
en sciences vétérinaires  
Option : Hygiène & Sécurité Alimentaire**

**THEME**

**Contribution à l'étude des résidus  
d'antimicrobiens dans le lait cru produit  
dans l'Algérois**

Présenté par : **Dr OUSLIMANI Sabrine**  
Soutenu le 06 Novembre 2008

**Jury :**

<b>Président :</b>	Pr. KARAM N.	Professeur, USTO
<b>Promoteur :</b>	Dr BEN-MAHDI M.H.	Maître de conférences, ENV
<b>Examinatrice:</b>	Dr BOUKHORS K.T.	Maître de conférences, ENV
<b>Examineur :</b>	Dr BOUZIANE T.M.	Chargé de cours, ENV
<b>Examineur :</b>	Dr HARHOURA K.	Chargé de cours, ENV
<b>Examineur :</b>	Dr MOHAMMEDI D.	Chargé de cours, ENV

***Année universitaire : 2007/2008***

## Remerciements

*Au terme de ce modeste travail, mes plus vifs remerciements s'adressent aux membres du jury pour l'attention qu'ils ont bien voulu porter à mon étude.*

**MERCI à :**

- *Monsieur le Professeur KARAM, Professeur à l'USTO pour m'avoir fait l'honneur de présider mon jury et porter son appréciation sur mon travail.*
- *Monsieur le Docteur BOUZIANE, Chargé de cours à l'ENV d'Alger,*
- *Mademoiselle le Docteur BOUKHORS, Maître de conférences à l'ENV d'Alger,*
- *Monsieur le Docteur HARHOURA, Chargé de cours à l'ENV d'Alger,*
- *Monsieur le Docteur MOHAMMEDI, Chargé de cours à l'ENV d'Alger,*

*Pour avoir accepté d'examiner ce travail  
et pour toute l'attention qu'ils y auront portée.*

- *Mademoiselle le Docteur BEN-MAHDI, Maître de conférences à l'ENV d'Alger, à laquelle j'exprime ma vive gratitude pour son aide précieuse.*
- *Monsieur le Professeur GUEZLANE, Directeur de l'ENV ainsi que l'ensemble des enseignants de l'ENV pour leur aide et leurs précieux conseils, en particulier le Docteur BENTCHICOU TEWFIK*
- **Mme KHENAFI** qui m'a permis, grâce à ses nombreux contacts, d'entamer dans de bonnes conditions, la partie expérimentale de ce mémoire.
- L'ensemble du personnel du laboratoire de Draa Ben Khadda, en particulier **Melle MALKI OUIZA,**
- *Melle BOUHEDOUFF HOURIA et SADEK du laboratoire du Centre Algérien de Contrôle de Qualité et d'Emballage (CACQE), pour m'avoir orientée et aidée dans toutes mes manipulations au sein du laboratoire,*

## *Introduction*

- *L'équipe de GIPLAIT de Boudouaou en particulier Mme CHAHED,*
- *Mme TOUABTI de l'Institut Pasteur,*
- *Mr SMADHI, Directeur de la santé et de la pharmacie au Ministère de la Santé,*
- *Mr TAZAIRI, consultant au Ministère de l'Industrie et de la Promotion de l'investissement,*
- *Mme Benderdouche Jasmina*
- *Docteur ACHOUR*
  
- *Par ailleurs, j'exprime ma vive gratitude à mes parents, ma sœur ainsi qu'à mon fiancé pour leur aide et leur soutien permanent.*

*Le mérite de ce travail revient à toutes les personnes qui, par leur participation et leur soutien, ont contribué à sa réalisation.*

## Liste des abréviations

°C :	Degré Celsius.
°D :	Degré Dornic.
ADN	Acide désoxyribonucléique.
AFSSA	Agence française de sécurité sanitaire des aliments.
AMM :	Autorisation de mise sur le marché.
ARN:	Acide ribonucléique.
ARNm :	ARN messenger.
ARNp :	ARN polymérase.
ARNt :	ARN de transfert.
ATP :	Adénosine triphosphate.
B.corynéformes :	Bactéries corynéformes.
B.lactiques :	Bactéries lactiques.
B.propioniques :	Bactéries propionique.
<i>B.stéarothermophilus</i> :	<i>Bacillus stéarothermophilus</i> .
<i>B.subtilis</i> :	<i>Bacillus subtilis</i> .
CAR/PP:	Centre d'activités régionales pour la production propre
CEE :	Communauté économique européenne.
CL :	Chromatographie liquide.
CMI :	Concentration minimale inhibitrice.
CNERNA :	Centre national d'études et de recommandations sur la nutrition et l'alimentation.
CNIEL :	Centre national interprofessionnel de l'économie laitière
DJA :	Dose journalière admissible.
DSE :	Dose sans effet.
EMEA :	Experts de l'agence européenne du médicament.
FAO :	Food and agriculture organization.
FDA :	Food and drug administration.
GIPLAIT:	Groupe Industriel pour la Production de lait
FNPL :	Fédération nationale des producteurs de lait
HPLC :	High performance liquid chromatography.
LMR :	Limites maximales de résidus.
MADR :	Ministère de l'agriculture et du développement rural.
MLS :	Macrolides, Lincosamides et Streptomycines.
NO2 :	Dioxyde d'azote.
OMS :	Organisation mondiale de la santé.
PAB :	Para-aminobenzoïque
PAS :	Para-aminosalicylique.
PBP :	Penicillin binding proteins.
pH :	Potentiel Hydrogène.
ppb:	Particule par billion
ppm :	Particule par million.
SCLR :	Safe concentration linear regression.
SM :	Spectrométrie de masse.
SCPM:	Safe concentration per milking.
TTSC :	Time to safe concentration.

## TABLE DES ILLUSTRATIONS

### ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

#### Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : Composition chimique moyenne du lait.....	5
<b>Tableau II</b> : Composition chimique moyenne des divers types de laits utilisés en fromagerie dans le bassin méditerranéen (exprimée en pourcentage).....	6
<b>Tableau III</b> : Classification des antibiotiques –antibactériens.....	12
<b>Tableau IV</b> : Anti-infectieux dont l’usage est interdit pour le traitement des animaux dont les productions sont destinées à la consommation humaine.....	23
<b>Tableau V</b> : Importance de l’excrétion diathélique de certains antibiotiques au cours des premières traites.....	28
<b>Tableau VI</b> : Affinité de quelques antibiotiques pour le tissu mammaire.....	28
<b>Tableau VII</b> : Voies d’élimination des principaux antibiotiques.....	29
<b>Tableau VIII</b> : Liste non exhaustive des limites maximales de résidus des principaux antibiotiques dans le lait .....	36
<b>Tableau IX</b> : Propriétés de quelques micro-organismes utilisés en technologie laitière.....	41
<b>Tableau X</b> : Tableau comparatif de la sensibilité des méthodes d’acidification, de Galeslout et du Delvotest ®.....	49
<b>Tableau XI</b> : Tableau comparatif entre les LMR et la sensibilité des différents tests microbiologiques de détection des résidus antibiotiques dans le lait.....	50
<b>Tableau XII</b> : Tableau comparatif entre les LMR et les valeurs seuils de détection des différents tests de recherche des antibiotiques dans le lait.....	55

#### Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Les sites d’action des différents types d’antibiotiques .....	13
<b>Figure 2</b> : Les niveaux d’action des bêta-lactamines et des glycopeptides inhibiteurs la synthèse du peptidoglycane.....	14
<b>Figure 3</b> : Antibiotiques inhibant la synthèse des acides nucléiques.....	19
<b>Figure 4</b> : Analogies structurales entre le PAB, l’acide para-aminosalicylique et les sulfamides.....	19
<b>Figure 5</b> : Spectre d’action de quelques antibiotiques et d’autres agents Antibactériens.....	21
<b>Figure 6</b> : Nuancier Delvotest SP ®.....	48
<b>Figure 7</b> : Présentation et interprétation du Copan test.....	49
<b>Figure 8</b> : Dispositif Snap.....	52
<b>Figure 9</b> : CHARM ROSA MRL -3® Test Kit et Lecteur ROSA®.....	53
<b>Figure 10</b> : Représentation schématique du principe du « Receptor Assay du test» Beta Star® et Lecture et interprétation des bandelettes .....	53
<b>Figure 11</b> : Lecture des bandelettes du test Beta Star®.....	54

## TABLE DES ILLUSTRATIONS

(suite)

### ETUDE EXPERIMENTALE

#### Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : Plan d'échantillonnage.....	<b>58</b>
<b>Tableau II</b> : Familles d'antibiotiques détectées par <i>B.stearothermophilus</i> et <i>B. subtilis</i> lors de l'épreuve de confirmation.....	<b>68</b>
<b>Tableau III</b> : Fiche de renseignement et d'enquête remplie pour chaque vache prélevée.....	<b>70</b>
<b>Tableau IV</b> : Nombre d'échantillons positifs, négatifs et douteux obtenus par wilaya.....	<b>72</b>
<b>Tableau V</b> : Diamètre moyen des inhibitions obtenues par commune et par micro-organisme test.....	<b>73</b>
<b>Tableau VI</b> : Résultats de l'épreuve de confirmation pour la wilaya de Boumerdes par micro-organisme test.....	<b>76</b>
<b>Tableau VII</b> : Résultats positifs en diffusion en gélose par commune à W. Boumerdes .....	<b>78</b>

#### Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Réalisation de l'épreuve d'acidification.....	<b>65</b>
<b>Figure 2</b> : Prélèvement et revivification de la souche dans du bouillon nutritif.....	<b>66</b>
<b>Figure 3</b> : Exemple du plan de boîte adopté lors de l'épreuve de confirmation.....	<b>69</b>
<b>Figure 4</b> : Lecture du test d'acidification.....	<b>72</b>
<b>Figure 5</b> :Zones d'inhibition obtenues lors de l'épreuve de confirmation avec <i>B. stearothermophilus</i> .....	<b>74</b>
<b>Figure 6</b> : Résultats de l'épreuve de confirmation pour les wilayas d'Alger et de Boumerdes.....	<b>75</b>
<b>Figure 7</b> : Résultats de l'épreuve de confirmation pour la wilaya de Boumerdes.....	<b>75</b>
<b>Figure 8</b> : Résultats de l'épreuve de confirmation par diffusion en gélose dans la wilaya de Boumerdes selon les micro-organismes-test utilisés.....	<b>76</b>
<b>Figure 9</b> : Répartition des échantillons positifs par familles d'antibiotique détectées.....	<b>77</b>
<b>Figure 10</b> : Répartition par commune des échantillons positifs pour les pénicillines et/ ou tétracyclines dans la wilaya de Boumerdes.....	<b>79</b>
<b>Figure 11</b> : Répartition par commune des échantillons positifs pour les aminosides et/ ou macrolides dans la wilaya de Boumerdes.....	<b>80</b>
<b>Figure 12</b> : Histogramme représentant le nombre de vaches ayant reçu un traitement antérieur à un mois par commune dans la wilaya de Boumerdes <i>versus</i> nombre d'échantillons positifs pour les résidus d'antibiotiques recherchés. ....	<b>81</b>

# SOMMAIRE

<i>Introduction</i> .....	1
<b><i>Etude bibliographique</i></b>	
<b><i>Chapitre I : Le lait et ses dérivés</i></b> .....	3
1- Définition du lait.....	3
2- Synthèse et sécrétion du lait.....	3
3- Propriétés nutritionnelles.....	4
4- Composition du lait .....	5
4.1- Composition chimique.....	5
4.2- Composition biologique.....	7
4.2.1- Micro-organismes.....	7
a- Bactéries .....	7
b- Levures et moisissures.....	9
<b><i>Chapitre II : Les antibiotiques et leur mode d'utilisation en élevage bovin laitier...</i></b>	11
1- Les antibiotiques.....	11
1.1- Définition .....	11
1.2- Classification.....	11
1.3- Mode d'action.....	12
1.3.1- Inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne.....	13
1.3.2- Action sur la membrane cytoplasmique.....	15
1.3.3- Inhibiteurs de la synthèse protéique.....	15
a- Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome.....	15

## **Introduction**

b- Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 50S du ribosome.....	16
1.3.4- Action sur la synthèse des acides nucléiques.....	17
a- inhibition de la réplication.....	17
b- inhibition de la transcription.....	18
1.3.5- Antibiotiques qui agissent par inhibition compétitive.....	19
1.4- Spectre d'action des antibiotiques.....	21
2- Usage des antibiotiques en élevage bovin laitier.....	22
2.1- Usage prophylactique.....	22
2.2- Usage curatif.....	22
2.3- Usage zootechnique.....	22
3- Pharmacocinétique.....	24
3.1- Absorption.....	25
3.1.1- La voie orale.....	25
3.1.2- La voie parentérale.....	25
3.1.3- La voie galactophore.....	25
3.2- Diffusion et élimination des antibiotiques administrés par voie parentérale et Intra-mammaire.....	26
3.2.1- La voie parentérale.....	26
3.2.2- La voie intra-mammaire.....	27
<b>Chapitre III : Les résidus antibiotiques dans le lait.....</b>	<b>31</b>
1- Inhibiteurs naturels.....	31
1.1- Lactoferine.....	31
1.2- Système lactoperoxydase-thiocyanate-peroxyde d'hydrogène.....	32
1.3- Les immunoglobulines.....	32

## ***Introduction***

2- Les résidus antibiotiques dans le lait.....	32
2.1- Limite maximale résiduelle (LMR).....	33
2.1.1- Définition des limites maximales de résidus (LMR).....	33
2.1.2- Fixation des LMR.....	33
2.2- Le délai d'attente.....	34
2.2.1- Définition du délai d'attente.....	34
2.2.2- Fixation ou détermination du délai d'attente.....	34
2.2.3- Expression du délai d'attente.....	35
2.3- Importance et conséquences de la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait....	37
2.3.1- Importance et conséquences sur la santé publique.....	37
a- Les réactions allergiques.....	38
b- Risques toxiques.....	38
c- Effet sur la microflore intestinale et sélection de souches bactériennes résistantes...	39
2.3.2- Importance des résidus inhibiteurs en industrie laitière.....	41
a- Importance des ferments lactiques dans la fabrication de produits laitiers.....	42
b- Conséquences de l'inhibition des ferments lactiques.....	44
<b><i>Chapitre IV : Contrôle et détection des résidus antibiotiques dans le lait.....</i></b>	<b>45</b>
1- Méthodes qualitatives de détection.....	46
1.1- Méthodes microbiologiques.....	46
1.1.1- Ancienne méthode officielle de référence.....	46
a- Test d'acidification.....	46
b- Epreuve de confirmation ou méthode de Galesloot et Hassing.....	46
1.1.2- Autres test microbiologiques de détection des résidus d'antibiotiques.....	47
a- Le Delvotest.....	48

## ***Introduction***

b-Le Copan test P et S 100.....	49
c- Valio-T.....	49
d- Charm Farm test.....	50
1.2- Méthode enzymatique.....	51
1.3- Méthodes immuno-enzymatiques.....	51
1.3.1- DelvoX Press TM BL.....	52
1.3.2- Snap tests.....	52
1.3.3- Charm Rosa Milk MRL-3 test.....	52
1.3.4- Beta Star kit.....	53
1.3.5- Système Charm II	54
.....	
2- Méthodes quantitatives pour la recherche de résidus antibiotiques dans le lait.....	56

## ***Etude Expérimentale***

<b>I- Objectifs.....</b>	<b>57</b>
<b>II- Matériels et méthodes.....</b>	<b>58</b>
1- Lieux et durée de l'étude expérimentale.....	58
2- Matériels.....	59
2.1- Conditions de prélèvements et de stockage des échantillons de lait.....	59
2.1.1- Conditions de prélèvements du lait.....	59
2.1.2- Transport et stockage des échantillons.....	59
2.1.3- Mode d'enregistrement des prélèvements.....	59
2.2- Micro-organismes test utilisés.....	60

## **Introduction**

2.3- Réactifs, milieux de culture et produits chimiques.....	60
2.3.1- Milieux de culture.....	60
2.3.2- Réactifs et solutions étalons.....	62
2.4- Appareillages, instruments et consommables.....	63
3- Méthodes.....	64
3.1- Test d'acidification.....	64
3.2- Méthode de diffusion en gélose.....	66
3.2.1- Réalisation de l'épreuve de confirmation.....	66
3.3- Technique d'échantillonnage.....	69
<b>III- Résultats .....</b>	<b>72</b>
1- Résultats de l'épreuve d'acidification.....	72
1.1- Lecture et interprétation des résultats .....	72
1.2- Résultats du test d'acidification pour les wilayas d'Alger et Boumerdes.....	72
2- Résultats du test de confirmation.....	73
2.1- Lecture et interprétation des résultats .....	73
2.2- Résultats de l'épreuve de confirmation pour la wilaya d'Alger .....	75
2.3- Résultats de l'épreuve de confirmation pour la wilaya de Boumerdes.....	75
2.4- Résultats de l'épreuve de confirmation par diffusion en gélose dans la wilaya de Boumerdes selon les micro-organismes test utilisés.....	76
2.5- Familles d'antibiotiques détectées.....	77
2.6- Répartition des résultats positifs par commune dans la wilaya de Boumerdes.....	78
2.7- Répartition par commune des échantillons positifs pour les pénicillines et/ou tétracyclines dans la wilaya de Boumerdes.....	79
2.8- Répartition par commune des échantillons positifs pour les aminosides et/ou macrolides dans la wilaya de Boumerdes.....	80

*Introduction*

3- Résultats obtenus au cours de l'enquête menée auprès des éleveurs sur les traitements antibiotiques entrepris.....	81
<b>Discussion.....</b>	<b>82</b>
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>89</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>90</b>
<b>Annexes.....</b>	<b>99</b>

# ***INTRODUCTION***

## ***Introduction***

*« Il n'y a pas de meilleur placement pour un pays  
que de mettre du lait dans ses enfants »*

*Sir Winston Leonard Spencer Churchill*

Cette citation, illustre bien l'importance du lait, ce produit de large consommation dans le monde en général et dans notre pays en particulier. Il représente en effet, la première source de protéines animales pour le consommateur algérien qui consommerait en moyenne 120 L de lait par an ([www.fao.org](http://www.fao.org)).

Produit vivant et fragile, le lait est aussi un milieu de culture privilégié qui doit répondre à des normes draconiennes, afin d'assurer une qualité irréprochable tant sur le plan microbiologique que toxicologique. Un lait destiné à la consommation se doit par conséquent d'être exempt de tout type de contamination. Malheureusement, l'usage croissant et souvent irraisonné de produits antiparasitaires et antibiotiques se solde très souvent par la présence de substances chimiques indésirables nommées résidus dans le lait produit par la vache traitée. Ces résidus peuvent être aussi des polluants de l'industrie chimique (métaux lourds, dioxines...), des toxines diverses (mycotoxines), des substances désinfectantes ou détergentes.

Les résidus médicamenteux vétérinaires correspondent ainsi à toutes les substances pharmacologiquement actives, qu'il s'agisse de principes actifs, d'excipients ou de produits de dégradation, ainsi que de leurs métabolites restant dans des denrées alimentaires obtenues à partir d'animaux auxquels le médicament vétérinaire en question a été administré (***Règlement No 2377/90/CEE***).

La présence de résidus médicamenteux dans le lait peut non seulement représenter un danger d'ordre allergique, toxique ou microbien pour le consommateur (***Corran & Waley, 1975 ; Dewdney et al. ,1991***) mais également être à l'origine de perturbations importantes des processus de fermentation et de maturation des produits laitiers de large consommation

## ***Introduction***

tels que yaourts, fromages et autres laits fermentés (*Mitchell et al., 1998 ;Wright & Harold, 1960*).

Le risque inhibiteur des détergents et antiseptiques étant négligeable, nous avons focalisé cette présente étude sur la recherche de résidus d'antibiotiques dans le lait cru produit dans l'Algérois, au niveau de deux wilayas en particulier : Alger et Boumerdes.

Pour ce faire deux techniques microbiologiques ont été successivement mises en œuvre : un test d'acidification et une épreuve de confirmation par diffusion en gélose ; parallèlement une enquête sur les pratiques thérapeutiques et hygiéniques en élevage bovin laitier a été réalisée afin de discuter de la pertinence de la mise en place d'un contrôle officiel du lait en Algérie.

Notre travail s'articule sur deux parties :

- Une première partie : bibliographique succincte qui permettra nous l'espérons de mieux comprendre le rôle souvent délétère joué par ces résidus dans la filière lait ainsi que les différents moyens existants de contrôle et de dépistages des résidus d'antibiotiques dans le lait

Une seconde partie ; expérimentale qui décrira les matériels et les méthodes utilisés et qui présentera les résultats obtenus et leur discussion.

***ETUDE  
BIBLIOGRAPHIQUE***

# I. LE LAIT ET SES DERIVES

## 1. DEFINITION DU LAIT

Produit de large consommation par excellence, une définition du lait a été retenue il y a un siècle exactement en 1908, lors du premier congrès international pour la répression des fraudes à Genève, elle définit le lait comme : « 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 être exempt de colostrum ».

La législation algérienne quant à elle réserve exclusivement la dénomination "*lait*" au produit de la sécrétion mammaire normale, obtenu par une ou plusieurs traites, sans aucune addition ni soustraction et n'ayant pas été soumis à un traitement thermique.

La dénomination " lait " sans indication de l'espèce animale de provenance, est ainsi réservée au lait de vache. Tout lait provenant d'une femelle laitière, autre que la vache, doit être désigné par la dénomination " lait ", suivie de l'indication de l'espèce animale dont il provient. Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum. (*Articles 2, 3 et 4 de l'arrêté interministériel du 29 Safar 1414 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation*).

## 2. SYNTHÈSE ET SÉCRÉTION DU LAIT

Le lait est synthétisé à partir des éléments puisés dans le sang au niveau de cellules particulières tapissant les acini constitutifs de la glande mammaire. Après avoir accumulé les matériaux précurseurs, les parois des cellules des acini, gonflées, subissent une lyse; leur contenu est alors évacué dans la cavité des acini pour former le lait qui est retenu dans la mamelle au cours de la période qui sépare deux traites. Lorsque, dans la glande, la pression du lait atteint un certain seuil, la sécrétion s'arrête et une résorption des éléments élaborés commence. En particulier le lactose, la caséine, la matière grasse diminuent au profit des chlorures conduisant au lait de rétention.

La sécrétion lactée dépend de mécanismes hormonaux complexes dont l'équilibre est subtil. Le déclenchement de la sécrétion est dû à la disparition de la folliculine qui inhibe la

sécrétion par l'hypophyse de prolactine. Le maintien de la production est lié à l'élaboration continue de prolactine; l'évacuation du lait hors de la mamelle résulte d'un acte réflexe dû à une excitation nerveuse gagnant l'hypophyse qui sécrète alors l'ocytocine.

La production du lait n'est pas régulière; les principales causes de variations sont liées à la race et à l'espèce, mais elles dépendent également de facteurs individuels liés à l'état sanitaire, de l'alimentation et de l'âge de l'animal.

Quantitativement le lait de vache constitue la matière première la plus largement produite et transformée au plan mondial; toutefois, le lait d'autres mammifères - chèvre, brebis, bufflesse, chamelle - revêt une importance non négligeable dans l'économie des contrées semi-arides et en particulier de celles du bassin Méditerranéen (*FAO, 1998*).

### **3. PROPRIETES NUTRITIONNELLES**

Constitué à 85 % d'eau, le lait apporte en quantités à peu près équivalentes des glucides (principalement du lactose), des lipides composés d'acides gras saturés, mono insaturés et poly-insaturés en quantité variable selon le choix du lait (entier, demi écrémé ou écrémé) et des protéines dont les caséines et les protéines du lactosérum.

Le lait de vache est riche en vitamines liposolubles puisqu'il contient toutes les vitamines de ce groupe (A, D, E K) et hydrosolubles (B2, B3, B12), mais aussi en minéraux tels que l'iode, le zinc, le sodium, le potassium, le chlore, le magnésium et notamment le phosphore et le calcium éléments indispensables à la croissance et à la solidité osseuse. (*www.fao.org*).

## 4. COMPOSITION DU LAIT

### 4.1. Composition chimique

La composition du lait est caractérisée par une grande complexité dans la nature et la forme de ses composants; ceux-ci sont particulièrement adaptés aux besoins nutritionnels et aux possibilités digestives du jeune animal qui y trouve tous les éléments nécessaires à sa croissance. Quatre composants sont dominants du point de vue quantitatif: l'eau, les matières grasses, les protéines et le lactose; les composés mineurs sont représentés par les matières minérales, les enzymes, les vitamines, les gaz dissous (*Tableau I*).

**Tableau I** : Composition chimique moyenne du lait.

(FAO, 1998)

Composition chimique	g / l
<b>Eau</b>	<b>900</b>
<b>Matières grasses</b>	<b>35-45</b>
<b>Lactose</b>	<b>47-52</b>
<b>Matières azotées</b>	<b>33-36</b>
<b>Matières minérales</b>	<b>9-9.5</b>
<b>Extrait sec total</b>	<b>125-130</b>
<b>Extrait sec dégraissé</b>	<b>90-95</b>

*Le lactose* est le sucre caractéristique du lait, il est responsable par son goût sucré et par sa concentration élevée de la saveur douce et agréable du lait frais. A l'état de solution, il est éliminé avec l'eau lors de l'égouttage des fromages et forme le constituant principal du lactosérum. Le lactose est fermentescible par de nombreux micro-organismes, il est ainsi à l'origine de plusieurs types de fermentations (lactique, propionique, butyrique et alcoolique) pouvant intervenir dans la fabrication de produits laitiers.

A température élevée, le lactose participe avec les protéines à des réactions de brunissement non enzymatique pouvant altérer la couleur des laits et fromages pasteurisés et stérilisés.

Comparée à d'autres disaccharides, la solubilité du lactose dans l'eau est faible, elle est responsable de l'apparition de cristaux perceptibles à l'analyse sensorielle sous la désignation de « défaut salé », dans les produits laitiers concentrés lorsque la teneur en lactose dépasse les 18 %.

### *Comparaison de la composition chimique du lait de différentes espèces animales*

Ainsi que le montre le tableau II, la composition globale des différents laits transformés en fromages dans le bassin Méditerranéen est assez voisine en ce qui concerne la proportion de lactose et de minéraux, mais la teneur en matière sèche, en matières grasses et protéines est plus élevée pour le lait de chamelle et surtout pour le lait de brebis; la composition des fromages obtenus ne sera donc pas la même. Une autre caractéristique de ces laits dont découle directement leur aptitude à la coagulation est la proportion de caséine par rapport aux matières azotées totales; les laits à haute teneur en caséine - vache, chèvre, brebis, bufflesse - sont dits "caséineux" et possèdent une bonne aptitude à la coagulation par voie enzymatique et par voie acide; au contraire, les laits où la proportion de protéines solubles est élevée et donc plus pauvres en caséine, comme le lait de chamelle, sont dits "albumineux"; ils sont difficilement coagulables par les voies précitées, mais peuvent être coagulés par action de la chaleur.

**Tableau II :** Composition chimique moyenne des divers types de laits utilisés en fromagerie dans le bassin méditerranéen (exprimée en pourcentage).

Pourcentage	Eau	Matière sèche totale	Matières grasses	Matières azotées	Lactose	Minéraux	Caséine % Matières azotées
<b>Vache</b>	87,3	12,7	3,8	3,3	4,7	0,9	78
<b>Chèvre</b>	87,1	12,9	4,1	3,5	4,5	0,8	75
<b>Brebis</b>	81,0	19,0	7,5	6,0	4,6	0,9	77
<b>Chamelle</b>	87,4	12,6	3,6	3,6	4,7	0,7	72
<b>Bufflesse</b>	84,5	15,5	6,7	3,9	4,1	0,8	80

(www.FAO.org)

## **4.2. Composition biologique du lait**

Le lait contient toujours un nombre variable de cellules; celles-ci correspondent à la fois à des constituants normaux comme les globules blancs, mais également à des éléments d'origine exogène que sont la plupart des micro-organismes contaminants.

### **4.2.1. Micro-organismes**

De très nombreuses variétés de micro-organismes peuvent contaminer le lait: bactéries, moisissures, levures. L'importance et la nature des contaminants dépendent de l'état sanitaire de l'animal, mais également des conditions hygiéniques observées lors de la traite, de la collecte et de la température de conservation du lait. Un lait est considéré comme peu contaminé s'il renferme quelques centaines à quelques milliers de germes par millilitre. Un lait fortement pollué peut en contenir plusieurs centaines de milliers à plusieurs millions par millilitre. Dans cette microflore contaminante, les bactéries sont dominantes et conditionnent le plus directement la qualité hygiénique ainsi que l'aptitude à la conservation et à la transformation de la matière première.

#### **a. Bactéries**

Les principales catégories de bactéries retrouvées dans le lait sont les suivantes:

#### ***Bactéries acidifiantes***

L'acidification lactique est caractéristique du lait et des produits laitiers; le processus se développe naturellement dans le lait cru sous l'influence des bactéries lactiques contaminant le lait. Cette acidification lactique est exploitée dans la fabrication des produits laitiers fermiers; elle intervient également par ensemencement dirigé dans les transformations industrielles.

La principale conséquence de l'acidification est un accroissement de la teneur en acide lactique du milieu consécutif à la fermentation du lactose. La quantité d'acide formé peut être mesurée facilement par titrimétrie en le neutralisant par de la soude; la concentration mesurée s'exprime en pourcentage d'acide lactique ou par rapport à des échelles structurées particulières comme l'échelle Dornic. Dans ce système, l'acidité du lait frais est de 16° D,

toute acidification ultérieure accroît cette valeur de un degré Dornic chaque fois que la teneur en acide lactique augmente de un décigramme par litre.

Lorsque le développement de l'acidification est suffisant, le milieu acquiert une protection vis-à-vis d'autres bactéries d'altération du lait dont les bactéries productrices de gaz et les bactéries protéolytiques. De ce fait, le principe de l'acidification est largement exploité dans les procédés de conservation des aliments et en particulier pour les fromages et les laits fermentés.

### ***Bactéries productrices de gaz***

Ces bactéries, qui ne correspondent pas à un groupe taxonomique homogène, ont la propriété de transformer le lactose ou ses dérivés en métabolites variés et notamment en composés gazeux. Les bactéries coliformes et les bactéries butyriques sont les plus représentées dans le lait, elles sont responsables de gonflements accidentels, générateurs de saveurs et de textures indésirables.

### ***Bactéries protéolytiques***

Ces bactéries dégradent les protéines et induisent souvent le développement de saveurs défectueuses (goûts fécaux et amers) lorsque la contamination est massive et la prolifération n'est pas contrôlée.

A concentration faible et/ou lorsque le développement est maîtrisé, les bactéries protéolytiques contribuent de manière non négligeable à la protéolyse des fromages lors de l'affinage.

### ***Bactéries lipolytiques***

Ces bactéries transforment les matières grasses du lait et provoquent directement, ou indirectement, l'apparition de goûts et d'odeurs désagréables: saveurs rances, oxydées, etc. Elles se rencontrent en particulier dans les laits stockés pendant une longue période à basse température.

**b. Levures et moisissures:**

Levures et moisissures sont des contaminants habituels du lait et des produits laitiers; toutefois leur caractère fortement aérobic limite leurs proliférations aux interfaces des substrats avec l'atmosphère. Le développement équilibré de levures et de moisissures, ensemencées de manières naturelles et/ou dirigées sur de nombreux types de fromages, contribue efficacement par leurs activités enzymatiques élevées et variées à la protéolyse et à la lipolyse de la pâte au cours de l'affinage.

Outre l'environnement nutritionnel, quatre autres facteurs essentiels conditionnent la prolifération des micro-organismes et les transformations qu'ils induisent:

***Sensibilité à la température***

La température optimale de croissance pour les germes psychotrophes se situe entre 0 et 15° C. Pour les mésophiles elle est de 15 à 35° C, et pour les thermophiles elle est de 35 à 45° C.

La flore contaminante du lait possède en général un caractère mésophile dominant; le refroidissement permet de ralentir la prolifération et les transformations subséquentes du substrat, mais non de les arrêter totalement. A l'inverse une élévation de la température au-delà de l'optimum de croissance se traduit par une destruction progressive et sélective des germes en fonction de leur thermo-sensibilité particulière; la plupart sont détruits par une thermisation (< 65° C) et une pasteurisation (< 100° C) de 15 à 60 secondes, mais certaines formes sporulées nécessitent une stérilisation (115° C) pendant 10 à 20 minutes.

***Sensibilité à l'oxygène***

Le besoin en oxygène des micro-organismes diffère fortement: les germes aérobies se développent exclusivement en présence d'air, les anaérobies en son absence; mais plusieurs genres et espèces de bactéries peuvent croître dans les deux conditions.

La majorité des germes du lait sont aérobies, en particulier les levures, les moisissures et la plupart des bactéries. Leur développement est donc facilité lorsque la solubilisation d'oxygène dans le lait est accrue, par exemple par agitation et par refroidissement, ou lorsqu'une aération

satisfaisante est maintenue dans les locaux, en particulier dans les salles d'affinage des fromages.

### ***Sensibilité au pH***

L'acidité du milieu conditionne fortement le développement des micro-organismes. Les substrats neutres comme le lait frais sont propices au développement de tous les microorganismes, mais l'optimum de croissance ne coïncide pas toujours avec la neutralité, certains germes ayant un caractère acidophile ou basophile plus ou moins marqué. La croissance des bactéries en général, à l'exception de la flore lactique, est inhibée par une acidification faible ou moyenne, celle des levures et des moisissures n'est ralentie qu'à des acidités très fortes. L'alcalinisation du substrat diminue en général le développement des micro-organismes.

L'ajustement du pH des produits laitiers à la sensibilité particulière des germes désirables ou indésirables permet de maîtriser leur croissance et constitue un des fondements de beaucoup de procédés de préservation utilisés en technologie laitière et en particulier en fromagerie (***Ramet, 1985***).

Au terme de ce chapitre, il devient plus aisé de comprendre l'importance de l'absence de résidus antibiotiques inhibiteurs dans les laits destinés à l'industrie de transformation laitière. En effet la présence de résidus inhibiteurs dans le lait résultant d'une antibiothérapie systémique ou locale peut être à l'origine de perturbations importantes des processus de fermentation et de maturation des produits laitiers de large consommation.

## **II. LES ANTIBIOTIQUES ET LEUR MODE D'UTILISATION**

### **EN ELEVAGE BOVIN LAITIER**

En élevage bovin laitier, les antibiotiques ont tout d'abord une utilisation thérapeutique ou curative ; ensuite une utilisation prophylactique ou préventive et enfin un usage zootechnique dans certains pays.

### **1. LES ANTIBIOTIQUES**

#### **1.1. DEFINITION**

En 1942, Waksman a donné le nom **d'antibiotique** à : « *toutes les substances chimiques produites par des micro-organismes capables d'inhiber le développement et de détruire les bactéries et d'autres micro-organismes* »

Le mot même « antibiotique » fut créé en 1889 par Paul Vuillemin, qui proposa également le terme « antibioté » (tout principe actif d'un organisme vivant qui détruit la vie des autres pour protéger sa propre vie). Aujourd'hui on préfère définir un antibiotique comme un composé chimique élaboré par un organisme ou produit par synthèse et dont l'activité spécifique se manifeste à dose faible sur les micro-organismes (**Bryskier, 1999**).

#### **1.2. CLASSIFICATION**

Historiquement, la classification la plus courante des antibiotiques est basée sur leur structure chimique et leur mécanisme d'action (tableau III).

Accessoirement ils peuvent être également classés selon leur spectre d'activité (large ou étroit) ou selon leur capacité à inhiber la croissance des bactéries ou à les tuer (bactériostase ou bactéricidie).

**Tableau III** : Classification des antibiotiques –antibactériens*(Larpen et Sanglier, 1989)*

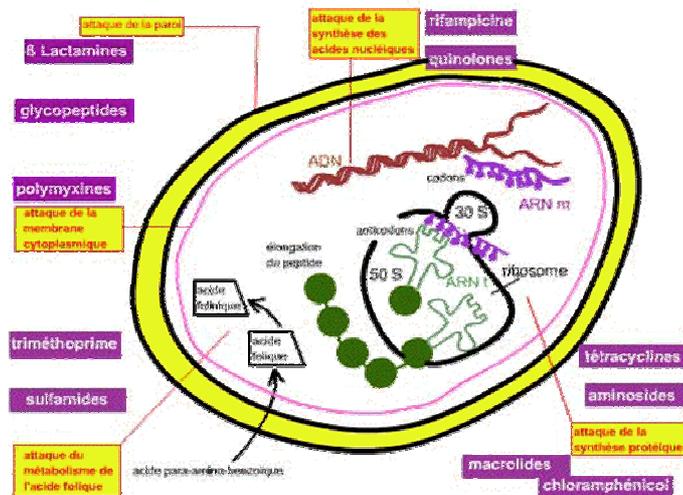
Famille	Site d'action/ mode d'action	Origine
$\beta$ -lactamine Pénicilline	paroi/bactéricide	penicillium semi-synthèse
Céphalosporine	paroi/bactéricide	céphalosporium semi-synthèse
Céphamycine	paroi/bactéricide	streptomyces semi-synthèse
<b>Aminoside</b>	<b>ribosomes (30 S)/bactéricide</b>	<b>Streptomyces micromonospora semi-synthèse</b>
Chloramphénicol	ribosome (50 S)/ bactériostatique	streptomyces synthèse
<b>Tétracycline</b>	<b>ribosome (50 S)/ bactériostatique</b>	<b>streptomyces semi-synthèse</b>
Macrolides, Lincosamines Streptogramines	ribosome (50 S)/ bactériostatique ou bactéricide	streptomyces
<b>Polypeptides</b>	<b>membrane cytoplasmique/bactéricide</b>	<b>bacillus nocardia</b>
Quinolones	ADN gyrase/ bactéricide	synthèse
<b>Sulfamides, Triméthoprimes</b>	<b>métabolismes des folates /bactériostatique</b>	<b>synthèse</b>
Vancomycine, Novobiocine Fosfomycine Acide fusidique	paroi/ bactéricide	streptomyces fusidium
<b>Nitrofuranes</b>	<b>DNA/ bactéricide</b>	<b>synthèse</b>

### 1.3. MODE D'ACTION

Les antibiotiques agissent essentiellement par inhibition de réactions de synthèse variées. Ils se fixent sur des sites moléculaires de la cellule bactérienne entraînant ainsi la perturbation de diverses réactions métaboliques, sans affecter la cellule de l'hôte. D'où l'intérêt d'une connaissance de plus en plus précise des fonctions spécifiques et vitales de la bactérie qui pourraient constituer des cibles potentielles. Ces dernières sont caractéristiques de chaque famille (*Page et al., 1999*).

Le mécanisme d'action des antibiotiques antibactériens n'est pas toujours parfaitement élucidé mais on distingue cinq grands modes d'action (figure 1) :

- action sur la synthèse de la paroi bactérienne,
- action inhibitrice sur la membrane cytoplasmique,
- action sur la synthèse des acides nucléiques,
- action sur la synthèse des protéines,
- action par inhibition compétitive.



**Figure 1:** Les sites d'action des différents types d'antibiotiques  
(Poyart, 2003)

### 1.3.1. Inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne

La paroi bactérienne sert au maintien de la forme de la cellule bactérienne et protège la membrane cytoplasmique des effets de la pression osmotique interne. Sa solidité repose avant tout sur la structure de la muréine (peptidoglycane), qui est un polymère réticulé, composé de chaînes glycanes reliées par des ponts peptidiques. Au cours de la division cellulaire, une acétyl-muramidase induit la lyse partielle de la paroi de la cellule mère, puis une transpeptidation intervient pour synthétiser la paroi des cellules filles.

Les antibiotiques interférant avec la biosynthèse du peptidoglycane n'auront aucune action sur les bactéries naturellement dépourvues de paroi (taxons placés dans l'ordre des *Mycoplasmatales*), sur les protoplastes, les sphéropastes et les formes. Il est évident que les

bactéries en phase de croissance sont les plus touchées. Ce mode d'action explique l'étroitesse du spectre d'action de ces antibiotiques : en effet, la paroi des cocci à Gram- est constituée à 60% de mucopeptides, alors que celle des bacilles à Gram- renferme seulement 10% de mucopeptides (Neal, 2003).

D'une façon très schématique, les bêta-lactamines (ex : pénicillines et céphalosporines) interagissent avec les sites catalytiques de plusieurs protéines enzymatiques, appelées PBP (penicillin binding proteins), impliquées dans le métabolisme des pontages peptidiques du peptidoglycane. Par conséquent, les bêta-lactamines ne sont actives que sur les bactéries dont la paroi est en cours de formation. Ce sont des antibiotiques bactéricides qui agissent sur les bactéries en multiplication ou en croissance (Figure 2)

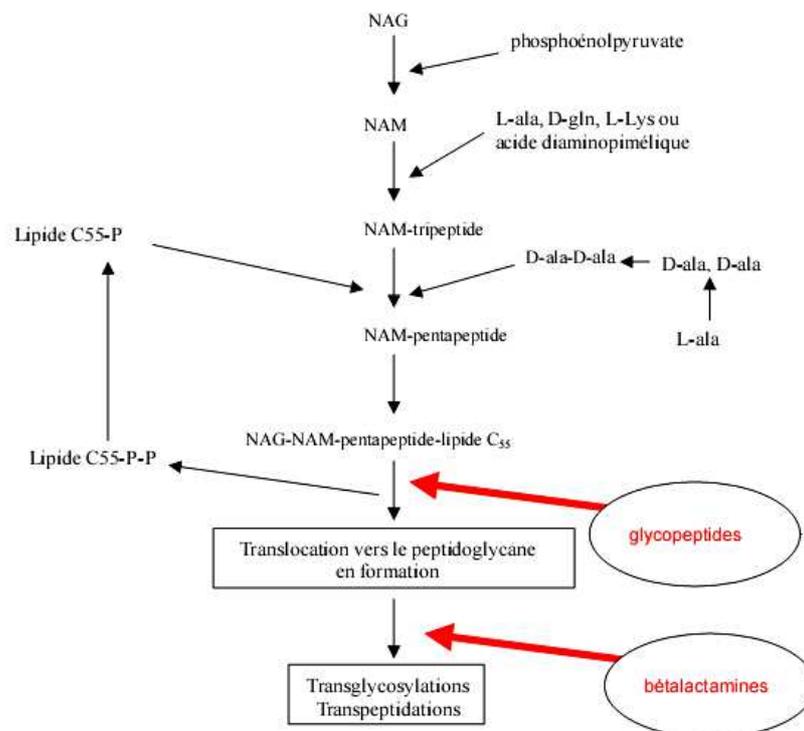


Figure 2 : Les niveaux d'action des bêta-lactamines et des glycopeptides inhibiteurs la synthèse du peptidoglycane (Greenwood, 1995)

### **1.3.2. Action sur la membrane cytoplasmique**

Les antibiotiques polypeptidiques cycliques (ex : colistine et polymyxine B) sont exclusivement actifs sur les bactéries à Gram-. Ils agissent comme des détergents cationiques grâce à leur caractère amphipathique, ils pénètrent dans la cellule bactérienne et s'insèrent parmi les phospholipides de la paroi, perturbant ainsi la perméabilité membranaire. Ceci est à l'origine d'une fuite des composants cytoplasmique vitaux et de la libération des enzymes lytique délétères. Leur action bactériostatique devient à des concentrations 3 à 5 fois plus élevées bactéricide (*Moulin, 2002*).

### **1.3.3. Inhibiteurs de la synthèse protéique**

Différentes classes d'antibiotiques agissent en interférant avec la synthèse protéique bactérienne, et ce, au niveau de l'une des trois étapes principales de la traduction : l'initiation, l'élongation et la terminaison.

Plusieurs familles d'antibiotiques peuvent inhiber, la synthèse protéique par différents mécanismes (*Nauciel, 2000*). Elles exercent une toxicité sélective en inhibant davantage la synthèse protéique dans les bactéries que dans les cellules de l'hôte, par suite d'une fixation spécifique sur la cible bactérienne. La grande majorité de ces antibiotiques est bactériostatique, à l'exception des aminosides qui sont bactéricides (*Page et al, 1999*).

#### ***a. Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome***

##### *Aminosides*

Les aminosides se fixent sur des sites divers des sous-unités 30S des ribosomes bactériens et induisent ainsi des erreurs de lecture du codon et la synthèse de protéines anormales. Ils inhibent la fixation du complexe ARN de transfert- acide aminé au complexe ribosome-ARN messenger. Il existe un effet postantibiotique marqué, ce qui justifie une prescription en administration discontinue, réalisant des pics sanguins successifs, à des concentrations supérieures à la CMI (concentration minimale inhibitrice) du germe, l'action obtenue est concentration-dépendante (*Moulin, 2002*).

*Tétracyclines*

Ce sont des antibiotiques bactériostatiques à large spectre comprenant les bactéries intracellulaires et les mycoplasmes. Chez les bactéries à Gram négatif, la traversée de la membrane externe se fait par les porines ou directement à travers la couche phospholipidique (doxycyclines, minocyclines). Le franchissement de la membrane cytoplasmique se fait par diffusion passive mais aussi grâce à un ou à des systèmes de transport actif permettant l'accumulation dans les bactéries.

Les tétracyclines sont actives sur les bactéries intracellulaires et leur absence de toxicité pour les cellules eucaryotes (dont les ribosomes sont pourtant sensibles) serait liée à une concentration intracytoplasmique faible alors que l'accumulation intra-bactérienne est importante grâce au transport actif à travers la membrane cytoplasmique

Elles inhibent la synthèse protéique en se liant de façon réversible à la sous unité 30S du ribosome. Cette fixation inhibe celle de l'aminocyl-ARNt et bloque l'étape de reconnaissance de la phase d'élongation de la chaîne peptidique (*Bryskier, 1999*).

***b. Antibiotiques se fixant sur la sous unité 50S du ribosome****Chloramphénicol et phénicolés*

Ils perturbent la synthèse protéique en inhibant la peptidyl-transférase dans la sous unité 50S. Ils entraînent ainsi un blocage de l'élongation de la chaîne peptidique et donc du cheminement des ribosomes le long de l'ARNm.

La libération du polypeptide synthétisé en fin de lecture de l'ARNm est également bloquée. Antibiotiques à large spectre, ils exercent une action bactériostatique (*Tortura et al, 2003*).

*NB : L'utilisation du chloramphénicol est normalement interdite chez les animaux de rente.*

*Macrolides, lincosamides, streptomycine*

Les macrolides, les lincosamides et les streptomycines (MLS) n'ont pas de parenté chimique, mais ils possèdent en commun des mécanismes d'action, de résistance et d'activité antimicrobienne. Ils inhibent la synthèse protéique en se fixant réversiblement à la sous-unité ribosomale 50S, bloquant la réaction de translocation du groupement aminoacyle et inhibant ainsi l'élongation de la chaîne peptidique.

*Acide fusidique*

La synthèse protéique serait inhibée par formation d'un complexe stable avec le facteur d'élongation guanosine diphosphate et le ribosome. La phase d'élongation est ainsi bloquée et par voie de conséquence la translocation est arrêtée (*Tankovic et al., 1995 ; Auckenthaler et al., 1986*).

**1.3.4. Action sur la synthèse des acides nucléiques :**

La réplication ou la transcription de l'ADN constituent une cible d'action pour des antibiotiques.

*a. Inhibition de la réplication**Quinolones*

Les quinolones pénètrent dans le cytoplasme bactérien par diffusion passive. Elles inhibent l'activité de l'ADN gyrase bactérienne, enzyme responsable de l'enroulement en super hélice, de la coupure et du scellement de l'ADN bactérien. Les quinolones de seconde génération inhiberaient également l'activité de la topo-isomérase IV. Cette enzyme intervient dans la séparation des copies d'ADN circulaires double brin présentes après la réplication du chromosome ou des plasmides (*Larpent & Sanglier, 1989*).

En empêchant le « supercoiling » du chromosome bactérien, les quinolones altèrent rapidement la réplication de l'ADN, induisant la mort de la cellule. (*Tankovic, 1997 ; Auckenthaler, 1995*). Ce groupe d'antibiotiques est bactéricide, à action dite dose-dépendante.

*Novobiocine*

La novobiocine, antibiotique bactériostatique, actif principalement sur les bactéries à Gram positif, inhibe la réplication de l'ADN en empêchant la fixation d'ATP sur la sous-unité B de l'ADN-gyrase.

*Imidazolés*

Les imidazolés sont des molécules dont l'action nécessite une réduction partielle de leur groupement NO<sub>2</sub> que seules les bactéries anaérobies sont capables de réaliser (il existe cependant deux exceptions à cette règle puisque les imidazolés sont actifs sur *Helicobacter pylori* et *Gardnerella vaginalis* qui sont des bactéries micro-aérophiles). Les dérivés réduits sont les produits biologiquement actifs qui se fixent sur l'ADN, notamment au niveau des régions riches en adénine et thymine et qui provoquent une oxydation suivie d'une coupure des brins et d'un déroulement de l'ADN. Ces lésions de l'ADN sont suivies de la mort de la bactérie. Chez les bactéries micro-aérophiles, le mode d'action serait dû à la production de radicaux libres toxiques pour l'ADN (*Euzeby, 2007*).

*Nitrofuranes*

Comme pour les imidazolés, leur activité nécessite une réduction de leur groupement NO<sub>2</sub> mais cette réduction est réalisée par les nitro-réductases des bactéries aérobies. Les dérivés réduits provoquent des coupures et des mutations dans l'ADN et leur effet est bactériostatique ou bactéricide selon la dose (*Euzeby, 2007*).

***b. Inhibition de la transcription****Rifamycines*

Les rifamycines se fixent sur la sous-unité de l'ARN polymérase et empêchent l'initiation de la synthèse des ARNm. Elles ne se fixent pas sur l'ARNp déjà liée à l'ADN et n'ont donc pas d'action sur la phase d'élongation de la transcription. L'absence d'activité des rifamycines sur les ARNp des cellules eucaryotes explique leur toxicité sélective pour les bactéries.

Les rifamycines sont douées d'une action bactéricide s'exerçant même sur les bactéries au repos. Cet effet serait lié à l'oxydation *in vivo* du site quinone de la molécule ce qui formerait des ions superoxydes et secondairement des radicaux libres toxiques pour l'ADN bactérien (*Tankovic et al., 1995, Auckenthaler et al., 1986*).

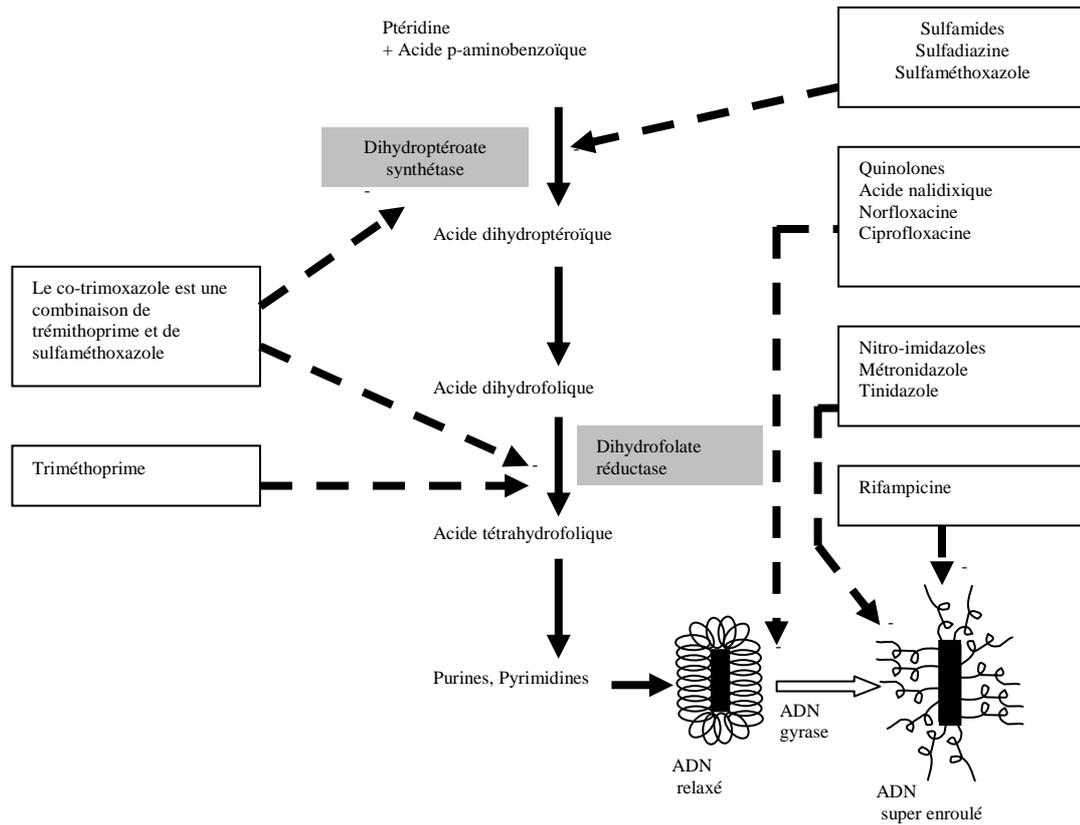


Figure 3 : Antibiotiques inhibant la synthèse des acides nucléiques (Neal, 2003)

1.3.5. Antibiotiques qui agissent par inhibition compétitive

L'acide tétrahydrofolique intervient dans de nombreuses voies métaboliques et notamment dans la synthèse des purines et des pyrimidines. Chez les bactéries, sa synthèse se fait en trois étapes dont la première nécessite de l'acide para-aminobenzoïque ou PAB (figure 4). La synthèse de l'acide tétrahydrofolique est inhibée par les sulfamides, le triméthoprime et l'acide para-aminosalicylique (Prescott et al, 2003).

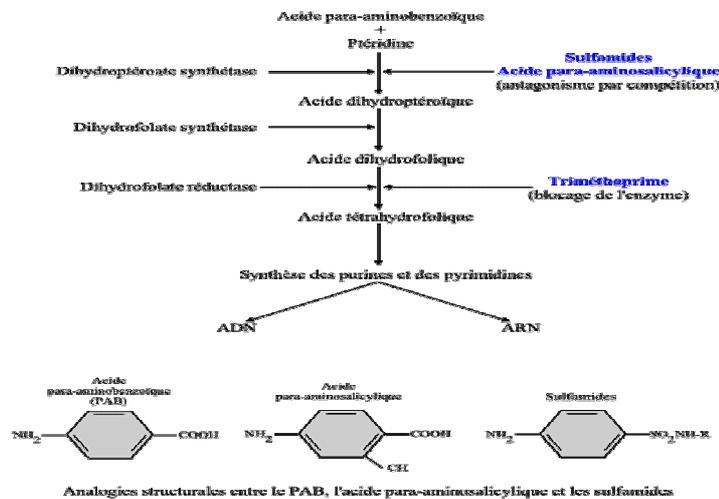


Figure 4 : Analogies structurales entre le PAB, l'acide para-aminosalicylique et les sulfamides (Euzeby, 2007)

*Sulfamides*

Les sulfamides sont bactériostatiques et ont un spectre large (ils sont cependant inactifs sur *Enterococcus faecalis*, les lactobacilles et les mycobactéries et peu actifs sur *Pseudomonas aeruginosa*).

Leur mode d'action est lié à une inhibition de la dihydroptéroate synthétase en raison d'une analogie structurale avec le PAB (**figure 4**). L'action des sulfamides est réversible et s'annule en présence d'un excès de PAB ou de certains métabolites terminaux dont la thymidine.

*Triméthoprime*

Les 2-4-diaminopyrimidines comme le triméthoprime sont des analogues stériques du noyau ptéridine de l'acide dihydrofolique et ils inhibent l'action de la dihydrofolate réductase. Leur activité est généralement bactériostatique mais certaines bactéries telles que *Pseudomonas* ou *Brucella* sont naturellement résistantes. L'association sulfamide et 2-4-diaminopyrimidine est souvent synergique et bactéricide si la souche est sensible aux deux molécules (**Nauciel, 2000**).

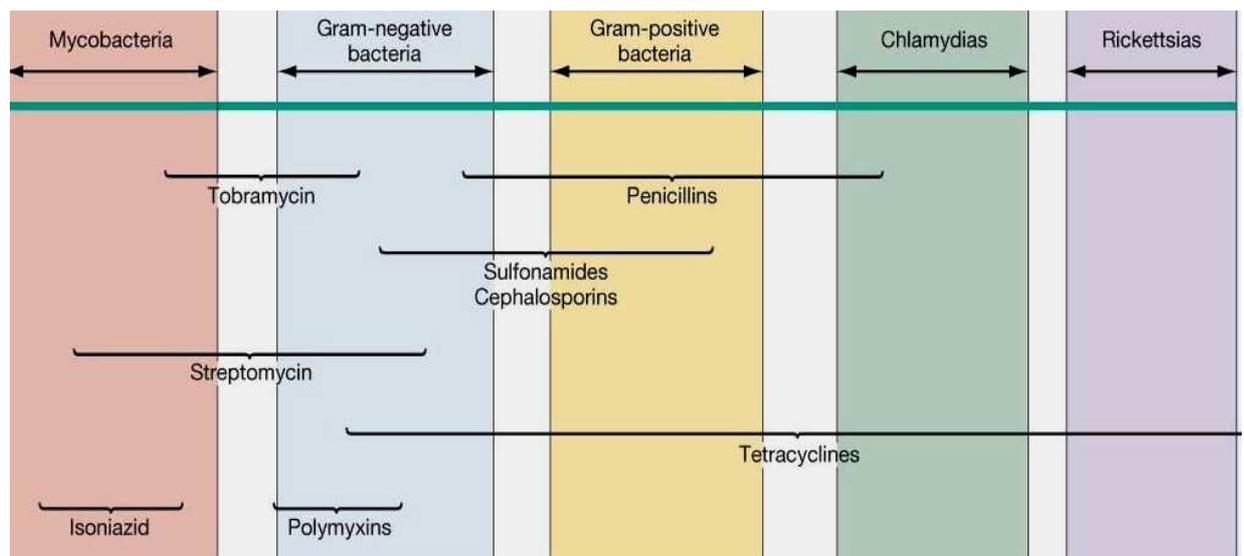
*Acide para-aminosalicylique*

L'acide para-aminosalicylique (PAS) a également une structure analogue au PAB et son mécanisme d'action est comparable à celui des sulfamides. Toutefois, cette molécule est active sur les mycobactéries et inactive chez les autres bactéries. Les enzymes responsables de la synthèse de l'acide folique diffèrent donc chez les mycobactéries.

La sélectivité d'action des sulfamides provient du fait que les bactéries doivent synthétiser leur acide folique par cette voie métabolique, alors que les eucaryotes assimilent directement l'acide folique apporté par l'alimentation (**Nauciel, 2000**).

### 1.4. Spectre d'action des antibiotiques

Chaque antibiotique est caractérisé par un spectre d'activité qui correspond aux différentes espèces bactériennes susceptibles d'être sensibles à son action. Selon les antibiotiques, le spectre peut être étroit ou large. La connaissance du spectre d'activité des antibiotiques et donc de la résistance naturelle des bactéries, est un élément important dans la prise de décision thérapeutique (*figure 5*) (*Euzéby, 2007*).



**Figure 5 : Spectre d'action de quelques antibiotiques et d'autres agents antibactériens**  
(*Tortura et al, 2003*).

## **2. USAGE DES ANTIBIOTIQUES EN ELEVAGE BOVIN LAITIER**

### **2.1. Usage prophylactique**

On parle de traitement prophylactique lorsque l'antibiotique est administré à un groupe d'animaux. Cette antibio-prophylaxie vétérinaire peut être administrée à l'occasion d'un transport, d'une vaccination ou d'une manipulation ou tout autre événement générateur de stress. L'eau de boisson ou l'aliment constitue alors la voie d'administration la plus couramment utilisée dans ces cas là pour protéger le plus grand nombre d'animaux (l'aliment médicamenteux est considéré comme un médicament) (*Chaslus-Dancla, 1999*).

### **2.2. Usage curatif :**

L'usage à titre curatif vise l'éradication d'une affection patente. Il s'agit le plus souvent d'un traitement métaphylactique c'est-à-dire qu'il est administré collectivement à l'ensemble d'un lot d'animaux, dès qu'une partie de ce lot manifeste des troubles. Ce traitement vise à éradiquer le ou les germe(s) à l'origine de la maladie.

Ces préparations médicamenteuses sont élaborées par des laboratoires pharmaceutiques et leur commercialisation et leur utilisation sont soumises à l'obtention d'une autorisation de mise sur le marché (AMM) délivrée par le Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (MADR). Au cours de son élaboration, la sécurité du consommateur est prise en compte par l'établissement de Limites Maximales de Résidus (LMR) et du délai d'attente séparant la dernière administration du médicament de la commercialisation des denrées issues des animaux recevant cette médication.

### **2.3. Usage zootechnique**

L'incorporation de faibles concentrations d'antibiotiques de l'ordre de 50 ppm dans la ration alimentaire permet d'augmenter l'efficacité et la vitesse de prise de poids chez les animaux de rente (amélioration de gain de poids de l'ordre de 2 à 5 %), il permettrait en outre d'améliorer les performances des autres productions. Cet effet zootechnique tend néanmoins à diminuer avec l'amélioration des conditions sanitaires de l'élevage (*Devie et al, 2006*).

Si tous les mécanismes d'action des antibiotiques sur le plan zootechnique ne sont pas encore clairement expliqués, il est admis à l'heure actuelle que leur action s'exerce essentiellement sur la flore digestive, dont ils modulent l'activité symbiotique avec l'animal hôte.

### *Principales familles d'antibiotiques utilisées dans le traitement des bovins laitiers*

Les antibiotiques les plus couramment utilisés chez les animaux de rente peuvent être regroupés en cinq classes : les bêta-lactamines (pénicilline et céphalosporine) les cyclines (oxytétracycline, tétracycline et chlorotétracycline), les aminoglycosides (streptomycine et gentamicine), les macrolides (érythromycine) et les sulfamides (la sulfaméthazine). Une enquête récente, menée auprès de praticiens vétérinaires, a révélé que les antibiotiques représentaient la classe thérapeutique la plus fréquemment prescrite ou utilisée chez les vaches laitières en lactation. Les antibiotiques les plus utilisés étaient les oxytétracyclines et l'ensemble des bêta-lactamines dont l'usage est approuvé chez les vaches laitières en lactation: soit la pénicilline G, la cloxacilline et l'ampicilline (*Mitchell, 2005*).

**Tableau IV** : Anti-infectieux dont l'usage est interdit pour le traitement des animaux dont les productions sont destinées à la consommation humaine (**AFSSA, 2006**)

Principe Actif	Règlement	Date
Chloramphénicol	1430/94	22/06/94
Dapsone	3426/93	14/12/93
Dimétridazole	1798/95	25/07/95
Métronidazole	613/98	18/10/98
Furazolidone seule	14402/95	26/06/95
Autres nitrofuranes	2901/93	18/10/93
Ronidazole	3426/93	14/12/92

### **3. PHARMACOCINETIQUE**

Pour mieux appréhender l'effet des antibiotiques dans l'organisme, la possibilité de les retrouver dans les aliments entre autre dans le lait et secondairement les modalités de définition des LMR, il est nécessaire de connaître les notions de base concernant les effets des antibiotiques dans l'organisme après administration.

Evidement l'effet d'un antibiotique dépend avant tout de sa voie d'administration. Mais quelque soit cette dernière l'effet d'un antibiotique dépend également d'autres facteurs :

#### ***Son métabolisme***

L'antibiotique peut être transformé à l'intérieur de l'organisme par différents processus chimiques actifs ou passifs. Certains métabolites résultant de cette transformation verront leurs effets thérapeutiques et/ou toxiques potentialisés alors que d'autres seront amoindris ou annulés.

#### ***Sa capacité à traverser les membranes biologiques***

Cette habilité est étroitement liée d'une part à la tendance hydrophile ou lipophile de la molécule, et d'autre part à la taille de la molécule.

#### ***Ses différentes voies d'élimination : urine, fèces, sécrétion lactée ....***

Après administration, l'antibiotique sera absorbé pour ensuite se diffuser dans l'organisme et enfin être éliminé.

### **3.1. Absorption**

L'absorption d'une molécule, c'est-à-dire son passage du site d'administration à la circulation sanguine est fonction à la fois des propriétés de la molécule et des modalités de son administration (*AFSSA, 2006*).

#### **3.1.1. La voie orale**

Les antibiotiques administrés par voie orale doivent résister aux sucs digestifs, à l'acidité gastrique et aux bactériocines de la flore intestinale (*Benslimani et al., 2001*).

Cette voie reste mineure en médecine des ruminants, elle n'assure qu'une faible biodisponibilité en raison de la dégradation ruminale des antibiotiques. Elle n'est retenue que pour le traitement des affections digestives par des antibiotiques à la résorption intestinale quasi nulle (ex : colistine, sulfaguanidine) .

#### **3.1.2. La voie parentérale**

Cette voie est largement plus utilisée. L'administration d'un antibiotique par voie parentérale en cas de pathologie mammaire se justifiera dans la mesure où cet antibiotique – ou son métabolite- sera excrété par la glande mammaire (*Duflocq, 1982*).

L'importance de l'excrétion de résidus d'antibiotique est généralement plus faible que dans le cas d'un traitement intra-mammaire mais peut se révéler suffisante pour altérer les qualités technologiques du lait.

#### **3.1.3. La voie galactophore**

Elle est de loin la voie la plus utilisée chez les vaches laitières dans le traitement et la prévention des mammites, pathologie la plus fréquente en élevage bovin laitier. Un tableau en annexe, reprend l'ensemble des spécialités intra-mammaires homologuées en Algérie en 2004.

Elle permet d'atteindre la plus haute concentration d'antibiotiques dans la mamelle (*Tableau V*).

Elle peut être en outre facilement mise par les éleveurs qui apprécient son côté non « agressif » vis-à-vis de l'animal. Mais cette utilisation trop aisée entraîne un abus certain dans sa pratique, parfois même à un usage irraisonné, inapproprié et non contrôlable (*Duflocq, 1982*).

La voie externe et la voie intra-utérine peuvent également entraîner la présence de résidus dans le lait à des seuils détectables.

### **3.2. Diffusion et élimination des antibiotiques administrés par voie parentérale et intra-mammaire**

#### **3.2.1. La voie parentérale**

La diffusion des antibiotiques administrés par voie parentérale dépend essentiellement de :

- la dose administrée,
- l'état d'ionisation de la molécule,
- la liposolubilité et de l'affinité de la molécule pour certains composants cellulaires.

Ces facteurs permettent de distinguer les antibiotiques à bonne diffusion tissulaire (macrolides et fluoroquinolones) et qui diffusent le mieux dans le lait d'une mamelle saine, de ceux à diffusion moyenne (pénicilline et céphalosporine) ou faible (aminosides et polymyxines) (*Aumont, 1987 ; Benslimani et al., 2001*).

Il est également à relever que la diffusabilité de certains antibiotiques peut être modifiée selon l'état de la mamelle et la durée de l'excrétion. Une mammite par exemple peut favoriser le passage des pénicillines et sulfamides (acides faibles), en induisant une baisse du pH du lait de la mamelle atteinte (*Gehring & Smith, 2006*).

Par ailleurs, **la forme** sous laquelle le principe actif est administré (formule) ainsi que la durée du traitement jouent également un rôle prépondérant dans la durée de l'excrétion.

La nature huileuse ou aqueuse de l'excipient peut modifier la durée de l'excrétion des résidus. La durée d'excrétion des chlortétracyclines est ainsi fortement augmentée lorsqu'elles sont associées à un excipient huileux par rapport à un excipient aqueux même à des posologies plus faibles (*Schifferli et al., 1982*).

Bien évidemment la répétition des doses journalières ne fait que décaler d'autant la durée d'élimination des résidus.

La quantité de résidus engendrés par un traitement est directement corrélée à la **quantité** de principe actif administré.

Enfin, il est à noter que la variation individuelle dans les quantités de résidus excrétés est très importante (*Petit, 2005*).

### **3.2.2. Voie intra-mammaire**

Cette voie est quasi-systématiquement utilisée lors de mammites car elle permet une bonne diffusion dans le tissu mammaire. L'intérêt des seringues à usage mammaire réside dans l'adjonction à l'antibiotique d'un ou de plusieurs excipients lactomiscibles qui permettront une bonne diffusion dans le tissu mammaire sans biotransformation de la molécule active. Le véhicule idéal doit permettre le contact le plus étroit entre l'antibiotique et les agents de l'infection tout le temps nécessaire à la destruction de ceux-ci.

La diffusion la plus large est théoriquement souhaitable mais en contrepartie, l'élimination doit se trouver accélérée.

Le tableau V ci-dessous, permet de constater la grande variation d'absorption du tissu mammaire

**Tableau V** : Importance de l'excrétion diathélique de certains antibiotiques au cours des premières traites (*Duflocq, 1982*)

Antibiotique	Fraction de dose retrouvée lors des deux premières traites
Pénicilline G Streptomycine	90% - 95%
Chloramphénicol	25% - 45%
Erythromycine	moins de 15%

La persistance des résidus dans le lait dépend aussi de l'affinité présentée par l'antibiotique pour les tissus mammaires. Cette affinité peut s'apprécier par mesure du pourcentage de liaison des antibiotiques au tissu mammaire. Le tableau VI, ci-dessous rapporte l'affinité particulière de certains antibiotiques pour les tissus mammaires en relation avec la longue persistance de leurs résidus dans le lait (*Duflocq, 1982*).

**Tableau VI** : Affinité de quelques antibiotiques pour le tissu mammaire (*Duflocq, 1982*).

Antibiotique	Liaison
Procaïne pénicilline G	moins de 25 %
Dihydrostreptomycine	70 %
Néomycine	95 %
Spiramycine	90 %

La résorption systémique des antibiotiques même si elle est mineure par rapport à l'élimination lactée conduit à leur diffusion dans tout l'organisme et en particulier dans les quartiers non traités. Cette diffusion peut être directe par voie transeptale. Par conséquent l'ensemble du lait produit par les quatre quartiers est susceptible de contenir des résidus antibiotiques et devrait être éliminé de la chaîne de consommation humaine.

## Elimination

L'élimination des antibiotiques s'effectue essentiellement par l'urine. Cependant, les fèces jouent un rôle non négligeable en particulier pour les tétracyclines (*Tableau VII*).

**Tableau VII : Voies d'élimination des principaux antibiotiques**  
(Duflocq, 1982)

Antibiotique	Urine	Fèces	Mamelle
Pénicilline	+++	+	±
Streptomycine	+++	+	±
Tétracycline	+++	++	±
Chloramphénicol	++	Métabolites	+
Macrolides	+	+	+

L'élimination des antibiotiques par la voie diathélique est également soumise à des variations selon :

**La posologie** : il semblerait que seule l'augmentation des quantités de crème, à excipient identique et quantité d'antibiotique égale, entraîne un allongement important du délai d'attente.

**L'excipient** : son influence sur la durée de la présence de résidu dans le lait est bien supérieure à celle de la dose d'antibiotiques administrée. Les éliminations les plus lentes sont obtenues par les excipients les plus visqueux et faiblement dispersibles dans l'eau. Ces derniers assurant une meilleure stabilité à la plupart des antibiotiques, entrent dans la composition de la majorité des spécialités intra-mammaires (*Form, 2003*).

**Le niveau de production** : les niveaux résiduels sont plus élevés chez les vaches faibles productrices que chez les bonnes laitières en raison du phénomène de dilution et de l'augmentation de la vitesse d'élimination par des quantités de lait plus importantes (*Siddique et al., 1965*). De même, cette élimination sera maximale lors de la période de pic de production (*Form, 2003 ; Knappstein & Suhren, 2003*).

*L'état de la mamelle* : L'élimination des résidus serait souvent diminuée dans un quartier mammitique à la production laitière souvent réduite. En contre partie les vitesses de diffusion, d'absorption et excrétion des antibiotiques sont augmentées par rapport au quartier sain (*Brouillet, 1992 ; Gehring & Smith, 2006, Jacobs et al., 1971* ).

Les variations notables notées dans l'élimination des molécules antibiotiques utilisées dans le traitement des bovins laitiers en production expliquent l'importance de la fixation des limites maximales de résidus tolérables et du respect des délais d'attente.

### **III. LES RESIDUS ANTIBIOTIQUES DANS LE LAIT**

Deux types d'inhibiteurs sont susceptibles d'être retrouvés dans le lait :

*Les inhibiteurs naturels* produits naturellement par la mamelle pour la protéger de la présence de certains agents pathogènes.

*Les inhibiteurs d'origine exogène* retrouvés dans le lait suite à un traitement médicamenteux (antibiotique, antiparasitaire...) ou par sa contamination après la traite (désinfection du matériel de traite ou de stockage du lait).

#### **1. INHIBITEURS NATURELS**

Le lait cru contient des composants naturels qui inhibent la croissance bactérienne et qui peuvent donner des résultats positifs aux tests microbiologiques. Présents en faibles concentrations dans le lait sain, leur stabilité s'altère rapidement après la traite. Ils sont de plus, dénaturés par chauffage du lait à 80 °C pendant 10 min (*Romnée et al., 1999 ; Vermunt et al., 1993*). Ce qui réduit fortement les problèmes posés par ces inhibiteurs par rapport à ceux engendrés par les résidus médicamenteux en technologie laitière.

##### **1.1. Lactoferrine**

Cette protéine est produite de façon naturelle par les cellules d'une glande mammaire en lactation. C'est la principale protéine du petit lait chez l'humain (1-6 g/l) et elle est aussi présente dans le lait de vache, bien qu'à des concentrations très inférieures (0,01-0,2 g/l). elle exerce son pouvoir antibactérien en partie par fixation du fer, un élément essentiel à la croissance microbienne (*Nuijens et al., 1996*). Le fer est donc peu disponible et la croissance bactérienne dans le lait est ralentie. De plus, un fragment de la lactoferrine, qui ne peut à lui

seul s'attacher au fer, s'est avéré être un antimicrobien plus puissant (de 10 à 100 fois) que la lactoferrine elle-même (*Bellamy et al., 1992*). Ce peptide, appelé lactoferricine, est produit naturellement dans le système digestif des mammifères lors de la digestion de la lactoferrine du lait (*Lacasse, 2001*).

Néanmoins, les bactéries lactiques sont peu exigeantes en fer, ce qui limite l'effet inhibiteur de la lactoferrine.

## **1.2. Système lactoperoxydase-thiocyanate-peroxyde d'hydrogène**

La lactoperoxydase présente dans le lait catalyse la production de substances antimicrobiennes à partir de thiocyanate et de peroxyde d'hydrogène présents également naturellement dans le lait.

Ce système est similaire à celui des leucocytes qui participent également à la défense locale de la mamelle.

## **1.3. Les immunoglobulines**

Présentes en faible concentration dans le lait, elles voient celle-ci augmenter fortement dans un lait de mammite ou contenant du colostrum. Leur présence peut alors s'avérer délétère pour la transformation du lait (formation de lainure du caillé).

Lysozome et acides gras libres peuvent également exercer également un léger effet inhibiteur.

## **2. LES RESIDUS ANTIBIOTIQUES DANS LE LAIT**

On entend par **résidus médicamenteux vétérinaires**: toutes les substances pharmacologiquement actives, qu'il s'agisse de principes actifs, d'excipients ou de produits de dégradation, ainsi que de leurs métabolites restant dans des denrées alimentaires obtenues à partir d'animaux auxquels le médicament vétérinaire en question a été administré (*Règlement No 2377/90/CEE*).

Chaque fois qu'un médicament vétérinaire est administré, il existe un risque de présence de résidus dans les denrées d'origine animale (viande, lait, œufs) qui seront livrés à la

consommation. De plus dans certains cas particuliers, principalement lors de récurrence, le vétérinaire peut être amené à allonger la durée de traitement prévue par l'AMM afin d'augmenter les chances de guérison (*Fabre et al., 2000*). Si ces résidus sont considérés comme dangereux, un temps ou **délai d'attente** pour la consommation humaine doit être impérativement respecté.

## **2.1. Limite maximale résiduelle (LMR)**

### **2.1.1. Définition des limites maximales de résidu (LMR)**

Concentration maximale de résidus résultant de l'emploi d'un médicament vétérinaire (exprimé en mg/kg ou en µg/kg sur la base du poids frais) légalement permise ou estimée acceptable dans ou sur un aliment (*règlement N° 2377/90/CEE*). Elle s'exprime en ppm, c'est-à-dire en microgrammes de résidu par kilogramme d'aliment. Elle est indispensable à l'autorisation de mise sur le marché (AMM) de tout médicament vétérinaire destiné aux animaux de production (*Directive 2001/82/CEE Mars 2006*).

### **2.1.2. Fixation des LMR**

Les LMR sont fixées par conséquent d'après les études toxicologiques de chaque substance pharmacologiquement active composant le médicament. Leur détermination est basée sur la détermination de la :

**\*Dose sans effet (DSE) :** c'est la quantité de résidus la plus élevée n'entraînant aucune incidence (pharmacologique ou toxicologique) pour le consommateur même dans l'hypothèse d'ingestion quotidienne pendant des mois, des années, voire toute une vie.

**\*Dose journalière admissible (DJA) :** elle est obtenue en appliquant à la DSE un facteur de sécurité dépendant du profil toxicologique de la molécule (100 au minimum, jusqu'à 1000) (*Puyt & Sachot, 2001*).

En tenant compte de la répartition théorique des consommations quotidiennes des différentes denrées d'origine animale (OMS-FAO) et sur la base des données pharmacocinétiques disponibles sur le devenir de la substance dans les différentes espèces de destination, une LMR est proposée.

La connaissance des LMR permet outre la détermination du délai d'attente après un traitement, l'élaboration de tests de détection de résidus de sensibilité aussi proches que possible des LMR.

## **2.2. Le délai d'attente**

### **2.2.1. Définition du délai d'attente**

Il correspond au délai entre la dernière administration d'un médicament à des animaux, dans des conditions normales d'emploi et la production de denrées alimentaires issues de ces animaux, garantissant que ces denrées ne contiennent pas de résidus du médicament en quantité supérieure à sa **LMR (Directive 81/851/CEE)**.

### **2.2.2. Fixation ou détermination du délai d'attente**

La détermination du temps d'attente résulte de la comparaison des concentrations résiduelles présentes dans l'organisme aux LMR. Des études pharmacocinétiques sont donc nécessaires à son établissement. Elles ont pour but de déterminer l'évolution dans le temps du principe actif et de ses métabolites dans les principaux tissus.

Il est défini par le laboratoire et validé par l'administration pour des indications précises et pour un protocole thérapeutique donné (dose, durée d'administration).

L'allongement du traitement n'est pas, en règle générale, de nature à allonger le temps d'attente. En revanche, l'augmentation des doses allonge le temps d'attente parce que les concentrations de principes actifs sont plus élevées dans l'organisme (*Puyt, 2003*).

Le délai d'attente (pour le lait) correspond au premier temps de traite pour lequel la concentration en résidu est inférieure ou égale à la LMR, pour 95 % de la population avec un niveau de confiance de 95 % (*Puyt & Sachot, 2001*).

Trois méthodes principales pour son calcul statistique peuvent être distinguées :

- L'approche dite « **SCLR** » (**Safe Concentration Linear Regression**) est une adaptation du système américain de la Food and Drug Administration américaine (FDA). Elle permet d'estimer la distribution des logarithmes de concentrations à chaque traite et la variance interindividuelle.
- L'approche dite « **SCPM** » (**Safe Concentration Per Milking**) détermine pour chaque point de traite de manière indépendante, la concentration sous laquelle 95 % des échantillons se trouvent.
- L'approche dite « **TTSC** » (**Time To Safe Concentration**), recommandée par l'EMA (Experts de l'Agence Européenne du Médicament) est généralement utilisée par les industriels, elle consiste à calculer les limites de tolérance du nombre de traites.

### **2.2.3. Expression du délai d'attente**

La terminologie suivante est adoptée :

- Le délai ne s'exprime et n'est valable que dans les espèces de destination du médicament mentionnées dans son AMM. L'absence de toute mention d'un délai pour le lait signifie que le médicament est interdit d'utilisation chez les femelles laitières dont le lait est destiné à la consommation.
- Le délai s'exprime en unité de temps (et non plus en nombre de traites) : en heures ou en jours.
- Un délai d'attente noté zéro indique que le traitement n'implique pas d'éliminer le lait, qui reste commercialisable sous réserve de respect des normes sanitaires (**Règlement 2377/90/CEE**).
- Le délai d'attente s'exprime à compter du vêlage pour le cas particulier de produits intra-mammaires utilisés pendant la période de tarissement.

**Tableau VIII** : Liste non exhaustive des limites maximales de résidus des principaux antibiotiques dans le lait

<i>Antibiotiques</i>	<i>Limites Maximales de Résidus (<math>\mu\text{g}/\text{kg}</math>)</i>
Amoxicilline	<b>4</b>
Ampicilline	<b>4</b>
Benzylpénicilline	<b>4</b>
Cloxacilline	<b>30</b>
Oxacilline	<b>30</b>
Céphalexine	<b>100</b>
Erythromycine	<b>40</b>
Spiramycine	<b>200</b>
Chlorotétracycline	<b>100</b>
Oxytétracycline	<b>100</b>
Tétracycline	<b>100</b>
Gentamycine	<b>100</b>
Kanamycine	<b>150</b>
Néomycine	<b>500</b>
Streptomycine	<b>200</b>
Bacitracine	<b>150</b>
Novobiocine	<b>50</b>
Triméthoprim	<b>50</b>

*(Règlement CEE N° 2377/90 du conseil du 26 juin 1990)*

## **2.3. Importance et conséquences de la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait**

### **2.3.1. Importance et conséquences sur la santé publique**

La présence de résidus d'additifs ou de substances médicamenteuses dans les denrées d'origine animale constitue une préoccupation permanente en hygiène et sécurité des denrées alimentaires en vue de préserver la santé du consommateur.

La toxicité directe aigüe de résidu d'antibiotique est nulle : le risque toxique d'une dose unique et importante est inexistant au regard des quantités que le consommateur est susceptible d'absorber (**Duflocq, 1982**). Seul le chloramphénicol est interdit en productions animales, faisant exception à la règle du fait des propriétés aplasiantes sur la moelle osseuse. (**Keck, 1981**).

Leurs effets sur l'organisme humain dépendent de deux facteurs :

1. de la transformation *in vivo* de la molécule d'origine, conduisant à la formation d'un métabolite ayant perdu ses propriétés antibactériennes mais possédant un pouvoir allergène résiduel. La toxicité de ce résidu peut être augmentée ou diminuée par rapport à celle de la molécule d'origine (**Wal, 1979**).
2. de la « toxico disponibilité » qui correspond à la forme sous laquelle le résidu se trouve dans l'organisme. Il peut être libre ou lié à des molécules (**Wal, 1979**). Il est alors plus ou moins accessible à la réponse immune de l'organisme, plus ou moins prédisposé à s'accumuler au niveau de certains organes ou bien à être éliminé.

Les conséquences liées à l'ingestion répétée ou non, de doses très faibles de résidus antibiotiques seraient d'ordre allergique, toxicologique ou bien à l'origine d'une modification de la flore intestinale et d'une sélection de souches bactériennes résistantes (**Fredericci-Mathieu, 2000**).

### a. Les réactions allergiques

En médecine humaine, l'allergie est un effet secondaire reconnu des antibiotiques et en particuliers des bêta-lactames (*Dewdney et al., 1984*). Quand aux macrolides, ils causent peu d'effets secondaires et seulement très peu d'entre eux peuvent causer des mécanismes allergiques (*Dewdney et al., 1991*). Cependant, compte tenu des très faibles taux de résidus présents dans l'organisme, comparés aux concentrations d'antibiotiques administrés à titre curatif ou prophylactique, il est très improbable qu'ils soient à l'origine d'une sensibilisation primaire de l'individu, ils ne pourraient par conséquent intervenir qu'en tant que facteur déclenchant (*Dewdney et al., 1991*). D'autant plus que lorsque les antibiotiques sont administrés *per os*, ils subissent des modifications qui tendent à diminuer leur pouvoir allergène. Les résidus de pénicilline en particuliers forment des complexes avec certaines protéines (albumines) par liaisons covalentes. Ils sont alors masqués par la structure tertiaire de l'albumine et deviennent inaccessibles aux anticorps. Il est donc peu probable que des dérivés significativement immunogènes puissent être formés (*Corran & Waley, 1975, Dewdney et al., 1991 ; Wal, 1979*).

Cependant des cas d'allergies aux résidus de pénicilline dans les aliments d'origine animale ont été scientifiquement prouvés, mais ceux-ci restent extrêmement rares, (*Dayan, 1993*) même si les résidus de bêta lactames restent souvent incriminés dans les cas d'allergies alimentaires.

### b. Risques toxiques

L'usage de certaines molécules comme le chloramphénicol est théoriquement interdit chez les animaux de rente, en raison du risque potentiel d'apparition d'effets secondaires tels que des formes idiosyncratiques d'anémie aplasique chez l'homme. Cet effet secondaire a été mis en évidence non seulement lors de traitements systémiques mais aussi lors d'application locale et même lors d'exposition professionnelle (*Keck, 1981 ; Schmid, 1983*).

D'autres antibiotiques tels que les nitrofuranes sont soupçonnés de **fœtotoxicité** (*Perry et al., 1967*). Les sulfamides quant à eux se révèlent fœtotoxiques à forte dose. Ces molécules passent dans le lait maternel, et sont toxiques pour les nourrissons de moins d'un mois (*Pawelczak et al., 2002*).

### c. Effet sur la microflore intestinale et sélection de souches bactériennes résistantes

La microflore intestinale humaine est un écosystème complexe ( $10^{14}$  micro-organismes), relativement stable composé de plus 400-500 espèces bactériennes différentes (*Carman et al., 1993*). Chez l'homme cet équilibre est dominé par une flore anaérobie stricte dite dominante, régulatrice du reste de la flore (lactobacilles, entérobactérie...) dite subdominante dont ils limitent le développement par leur propre croissance (*Boisseau, 1993*). A côté de cette flore résidente, il peut exister chez certains individus, ou chez un même individu mais de façon inconstante, une flore dite allochtone ou transitoire, qui sauf circonstances pathologiques, ne s'implante pas dans le tube digestif.

La flore intestinale est un des principaux compartiments où les phénomènes de sélection de bactéries résistantes peuvent se dérouler. Les bactéries de la flore intestinale (essentiellement anaérobie) assurent un rôle de barrière en s'opposant à l'implantation et à la multiplication des micro-organismes d'origine exogène.

L'effet drastique de cette barrière provoque une élimination rapide d'une souche exogène tandis qu'un effet permissif permet à une souche exogène de se maintenir, parfois très longtemps, mais à un niveau de population tel qu'elle ne peut s'y développer.

Les mécanismes de résistance à la colonisation sont encore mal connus mais font probablement intervenir une compétition entre les micro-organismes pour des substrats tels que les constituants alimentaires ou les mucines, des sites d'adhésion sur la muqueuse intestinale ou encore la production de substances inhibitrices comme les bactériocines ou d'autres impliquées dans les phénomènes de « quorum sensing » (*Sperandio et al., 2003*). Cet équilibre peut être perturbé par les antibiotiques, le stress, les opérations chirurgicales ou encore par un défaut du système immunitaire.

Dans le cas d'une prise orale régulière d'antibiotique, la fraction de la dose administrée qui est excrétée sous forme active par voie biliaire ou sécrétée par la muqueuse intestinale, à laquelle s'ajoute en cas d'administration orale la fraction non absorbée, peut suffire à altérer l'équilibre écologique microbien de la flore intestinale (*Danmap, 2001*). Les effets observés chez l'hôte peuvent être alors :

- a) l'élimination des bactéries sensibles aux concentrations actives de l'antibiotique,
- b) la sélection et la prolifération de bactéries résistantes au sein de la flore endogène,

- c) la colonisation du tractus digestif par des micro-organismes exogènes résistants, en particulier ceux apportés par l'alimentation et la translocation bactérienne (passage de bactéries de la lumière intestinale aux ganglions mésentériques et éventuellement à d'autres organes). Ces microorganismes peuvent être responsables d'infections graves (*Corpet, 1993*).

Chez l'homme, les colites pseudomembraneuses, liées au développement de *Clostridium difficile* producteur de toxines, sont l'illustration de l'effet des antibiotiques sur la flore intestinale. Par ailleurs, la prise d'antibiotiques augmente le risque de survenue d'une infection à salmonelles (*Doré et al., 2004*).

Lorsque le traitement antibiotique a permis la sélection ou le développement de bactéries résistantes, le transfert et la dissémination du gène de résistance à l'antibiotique considéré augmente. L'amplification du nombre de copies d'un gène de résistance porté par une bactérie commensale peut être considérable puisque ce gène peut être transféré verticalement (à la descendance) ou horizontalement (aux autres lignées bactériennes) (*Black, 1984*).

Il est à noter que la contribution des résidus dans la sélection de résistances aux antibiotiques chez l'homme apparaîtrait comme faible comparée à l'importance des contaminations bactériennes des aliments d'origine animale (*Corpet, 1993*).

Enfin, plusieurs facteurs interviennent sur l'intensité des modifications de l'écosystème intestinal au cours d'un traitement antibiotique donné, notamment la concentration d'antibiotique qui atteint la lumière intestinale, l'activité intrinsèque de la molécule sur les bactéries qui composent l'écosystème, sa fixation à des composants du bol alimentaire (protéines, cellulose,...) et son inactivation éventuelle dans le contenu intestinal (acétylase, bêta lactamases...) (*Sullivan et al., 2001*).

Par conséquent, la modération du risque théorique de toxicité indirecte des résidus d'antibiotiques s'impose, bien qu'il serait présomptueux de sous estimer la fragilité de l'écosystème de certaines catégories d'individus tels que les convalescents et les enfants.

### 2.3.2. Importance des résidus inhibiteurs en industrie laitière

La microflore microbienne (bactéries, levures, moisissures) joue un rôle primordial dans les différentes étapes technologiques de transformation laitière. Les bactéries lactiques en particulier interviennent dans les différents processus de fermentation. Elles fermentent les glucides en acide lactique, induisant ainsi une diminution du pH favorable à la conservation des aliments. Elles contribuent également à l'affinage des fromages en produisant diverses enzymes protéolytiques. Associées aux bactéries propioniques, elles contribuent au développement de la texture, de la saveur des aliments et à la production de composés aromatiques (*Tableau IX*).

**Tableau IX:** Propriétés de quelques micro-organismes utilisés en technologie laitière  
(d'après le CIDIL, 2008)

	Micro-organisme	Produit	Propriétés
<b>Bactéries</b>	<b><i>B. lactiques</i></b> <i>Bifidobacterium,</i> <i>Enterococcus, Lactobacillus,</i> <i>Lactococcus, Leuconostoc,</i> <i>Pediococcus, Streptococcus,</i> <i>Aerococcus, Alloicoccus</i> et <i>Carnobacterium</i>	Fromage Beurre Yaourt Lait fermenté	Fermentation lactique acidification du lait et du caillé Formation du goût (protéolyse, production d'arômes), Formation de la texture Ouverture des produits laitiers
	<b><i>B. propioniques</i></b>	Emmental Comté Gruyère	Fermentation propionique Formation du goût et de l'ouverture
	<b>Microcoques, Staphylocoques non pathogènes</b> <i>S.equorum, S. xylosus, S.</i> <i>lentus),</i> <b>B. corynéformes</b> <i>Brevibacterium,</i> <i>Arthrobacter...</i>	Fromages à croûte lavée, fleurie, mixte Munster Camembert Pont l'Evêque	Formation du goût des fromages
<b>Levures</b>	<i>Kluyveromyces,</i> <i>Geotrichum candidum,</i> <i>Debaryomyces,</i> <i>Candida, Yarrowia</i>	Pate molle surtout	Désacidification de la pâte en début d'affinage Formation du goût
<b>Moisissures</b>	<i>Penicillium camemberti</i> <i>Penicillium roqueforti</i> <i>Mucor</i>	Camembert Roquefort Tomme de Savoie Saint Nectaire fermier	Formation des caractéristiques sensorielles des fromages.

**a. Importance des ferments lactiques dans la fabrication de produits laitiers*****Le lait fermenté***

La dénomination «lait fermenté» est réservée aux produits qui ont subi une fermentation essentiellement lactique conduisant à la coagulation, c'est-à-dire à la formation d'un gel ou coagulum par modification de la structure des protéines du lait (micelles de caséines) (*INRA, 2005*).

***Le yaourt***

La fabrication du yaourt repose sur l'action de bactéries lactiques thermophiles spécifiques (*Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*) sur les composants du lait qui conduit à l'obtention d'un coagulum de consistance plus ou moins ferme. Les bactéries lactiques thermophiles spécifiques doivent êtreensemencées simultanément et se trouver vivantes dans le produit fini à raison d'au moins 10 millions de bactéries par gramme rapportées à la partie lactée. Lors de la mise à la consommation, la quantité d'acide lactique libre contenue dans le yaourt ne doit pas être inférieure à 0.8g / 100g de produit (*CIDL, 2008*).

Au cours de la fermentation lactique, la production d'acide lactique par les bactéries à partir du sucre du lait, le lactose, modifie la structure des protéines du lait (caséines micellaires) et conduit à la prise en masse de celui-ci. Le coagulum obtenu est ferme, sans exsudation de lactosérum. Il peut être consommé en l'état ou après brassage lui donnant une consistance crémeuse ou liquide (*CIDL, 2008*).

Outre le goût acidulé qu'elles confèrent au produit final, les bactéries lui assurent une saveur caractéristique due à la production de composés aromatiques. Certaines souches bactériennes produisent des exo-polysaccharides qui, en formant des filaments, contribuent à la viscosité du yaourt (*INRA, 2005*).

***La crème***

La crème est la fraction du lait riche en matière grasse extraite par écrémage. Elle est ensuite pasteurisée puisensemencée avec des bactéries lactiques spécifiques. Les *Lactococcus lactis*, *Lactococcus diactylactis* et *Lactococcus cremoris* sont les trois principaux

artisans de la maturation. Ils épaississent la crème et produisent les arômes qui lui donnent sa saveur. Cette acidification lactique induit également la gélification des caséines, protéines du lait. Cette gélification épaissit la crème. Après le traitement thermique, la crème stérilisée UHT n'est pas ré-ensemencée : elle ne contient plus aucune bactérie vivante et reste liquide.

### ***Le fromage***

La fabrication du fromage repose globalement sur l'action de bactéries et de présure sur les composants du lait qui conduit à la transformation du lait liquide en une masse compacte (*INRA, 2005*). Le processus fromager débute avec la préparation du lait, les deux étapes principales de l'élaboration d'un fromage sont ensuite la coagulation et l'égouttage suivis accessoirement de l'affinage après salage.

La coagulation lactique nécessite l'action de bactéries lactiques qui dégradent le lactose en acide lactique et abaissent le pH du lait, entraînant la coagulation spontanée des micelles de caséine (cette action est conjuguée à celle de la présure pour les fromages à coagulation mixte). Elle conduit à l'obtention d'un gel de caséine.

L'affinage est le stade ultime du processus, il consiste en une digestion enzymatique du caillé sous l'action des agents coagulants et des microorganismes et conduit à l'obtention d'un fromage affiné. Il confère au fromage son aspect, sa consistance, sa texture et ses caractéristiques organoleptiques typiques (*INRA, 2005*).

### ***Le beurre***

La dénomination beurre est réservée exclusivement à une émulsion résultant du barattage de la crème ou du lait de vache permettant sa butyrication. La crème obtenue par écrémage du lait est désacidifiée, pasteurisée puis subit une phase de maturation avant le barattage, le lavage et le malaxage.

Le but de la phase de maturation -aujourd'hui dirigée- est de favoriser le meilleur développement de l'arôme du beurre, grâce à la formation de diacétyle sous l'action de ferments lactiques particuliers dits « ferments d'arômes », tels que : *Leuconostoc citrovorum* ou *cremoris* et *Streptococcus diacetylactis*. Ces bactéries doivent se développer en milieu acide, en association avec des bactéries lactiques acidifiantes telles que *Streptococcus cremoris* ou *thermophilus*. Cette maturation de la crème, à la fois biologique (acidification et aromatisation) et physique (cristallisation de la matière grasse) a été quasiment abandonnée.

Elle est remplacée par le procédé continu, dit du "Nizo" qui permet l'utilisation de crèmes douces, non mûrées, le réensemencement intervenant en fin de fabrication (*CIDIL, 2008*).

### **b. Conséquences de l'inhibition des ferments lactiques**

La plupart des micro-organismes utilisés en technologie laitière est plus ou moins sensible à la majorité des antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire, susceptibles d'être à l'origine de résidus et en particulier aux bêta-lactamines. De très faibles concentrations de résidus d'antibiotiques peuvent ainsi inhiber l'activité de ces micro-organismes. A titre d'exemple, la pénicilline à une concentration de 0,0017 UI /ml de lait induit un ralentissement de l'activité de *Lactobacillus thermophilus*. L'inhibition des ferments lactiques est par contre totale à une concentration de 0,50 UI /ml (*Luquet, 1985*). Les conséquences de cette inhibition peuvent se répercuter à la fois sur la qualité du produit fini en fin de chaîne de production et sur le rendement de fabrication.

A titre d'exemple, une réduction du taux d'acidité des yogourts induit une diminution de leur viscosité à l'origine de produits trop liquides non commercialisables. Enfin, en plus des altérations possibles du développement des différents arômes, la prolifération de micro-organismes habituellement inhibés par l'acidification du milieu par les ferments lactiques n'est pas à écarter en présence de résidus antibiotiques. Il s'agit le plus souvent de coliformes ou de bactéries du genre *Clostridium* (*Balby & Hartman, 1985 ; Jurdy & Asmar, 1981*).

L'importance de la recherche d'éventuels résidus antibiotique est dès lors évidente, au regard de la dépréciation tant qualitative et quantitative du lait qu'ils peuvent induire : 200 à 400 ml de lait d'une vache sous traitement à base de pénicilline peuvent rendre plus de 1000 l de lait impropres à la transformation. Ce qui représente en cas de contrôle positif un manque à gagner important pour l'éleveur. Ce préjudice serait encore plus grave pour l'industrie de transformation laitière en cas de passage dans les citernes de mélange de ces laits contaminés.

## **IV. CONTROLE ET DETECTION DES RESIDUS ANTIBIOTIQUES DANS LE LAIT**

La législation algérienne relative à la qualité du lait rend obligatoire la recherche de résidus d'antibiotiques dans les laits crus, les laits déshydratés conditionnés, et les laits déshydratés destinés aux industries alimentaires. Les résultats de cette recherche doivent être **négatifs**, soit « **absence** » d'antibiotiques dans les laits cités précédemment (*Journal Officiel de la République Algérienne N°35 du 1 Safar 1419 correspondant au 25 mai 1998*). En revanche le législateur algérien ne fixe pas à notre connaissance les modalités de cette recherche.

Nous nous sommes appuyés par conséquent sur la législation européenne qui a codifié les différentes méthodes d'analyse et de test du lait et de ses dérivés (*Décision 91 /180/CEE du 14 février 1991*). Plus pragmatique l'union européenne a invalidé le précepte de tolérance zéro pour les résidus d'antibiotique en 1992 par une directive du Conseil Européen N° 92/46/CEE du 16 juin 1992), rendant obligatoire la détermination des LMR par des méthodes précises, statistiques, harmonisées sur le plan européen. La LMR devenant par conséquent un point essentiel pour toute nouvelle demande d'AMM (ou renouvellement) d'un médicament vétérinaire (*Brouillet, 2002 ; Laurentie & Sander, 2002*).

*NB : Les autres textes réglementaires relatifs à la qualité hygiénique du lait et de ses dérivés sont repris en annexe.*

De nombreuses méthodes permettant de rechercher la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait, existent. Elles diffèrent par leur sensibilité, leur coût, les difficultés techniques et matériels inhérentes à leur réalisation. Certaines permettent outre une identification précise de la molécule en cause, une quantification fine de celle-ci.

## 1. METHODES QUALITATIVES DE DETECTION

### 1.1. Méthodes microbiologiques

La plupart des tests développés pour la recherche de résidus d'antibiotiques sont essentiellement basés sur la constatation d'un ralentissement ou d'une inhibition de la croissance d'une souche bactérienne sensible mise en présence de l'échantillon de lait à tester (*Guiraud, 1998*).

#### 1.1.1. Ancienne méthode officielle de référence

Méthode biologique basée sur l'inhibition de bactéries lactiques sensibles en présence de résidus antimicrobiens inhibiteurs.

Cette technique implique la réalisation de deux techniques successives :

##### a. Test d'acidification

Il s'agit d'un test rapide et relativement simple. L'ancien test officiel français d'acidification est un test de dépistage pour l'ensemble des résidus d'antibiotiques capables d'inhiber le développement de *Streptococcus thermophilus* dans le lait. En l'absence de résidus, ce germe transforme le lactose en acide lactique, ce qui se traduit par une baisse du pH mise en évidence par un changement de couleur d'un indicateur ajouté au milieu (*Jacquet & Steeg, 1953 ; J.O.F du 6/10/1983 et Bulletin FIL 258/1991*).

En cas de résultat positif ou douteux avec ce test d'acidification, il est prévu la mise en œuvre de trois tests de confirmation par diffusion en gélose.

##### b. Epreuve de confirmation ou méthode de Galesloot-Hassing

Cette technique correspond concrètement à la réalisation d'une technique de diffusion en gélose : un disque de papier filtre imprégné du lait à tester est placé à la surface d'un milieu gélosé nutritif inoculé avec le microorganisme-test.

Au cours de l'incubation les antibiotiques éventuellement présents dans le lait diffusent dans la gélose et inhibent la croissance de l'organisme test. Il en résulte la formation d'une zone transparente autour du disque. Le diamètre de la zone d'inhibition varie avec la nature et la concentration des antibiotiques présents dans le lait (*CNERNA, 1981*).

En règle générale, le test est considéré positif en présence d'un diamètre d'inhibition supérieur à 10 mm (*Galesloot & Hassing, 1962*).

Cette technique implique l'utilisation de trois espèces bactériennes différentes : *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus subtilis* et *Bacillus megaterium*.

Cette méthode officielle a été remplacée depuis le 1<sup>er</sup> janvier 2002 par une nouvelle méthode dans laquelle *Streptococcus thermophilus* est remplacé par *Bacillus stearothermophilus* dans le test d'acidification. La diffusion sur une gélose ensemencée avec *Bacillus megaterium* est supprimée dans le test de confirmation (*Décision européenne 91/180/CEE ; Règlement CE N°1664/2006*).

Cette nouvelle méthode officielle de référence adoptée par la communauté européenne est beaucoup plus sensible que la précédente. Son principe et sa réalisation seront développés dans la partie expérimentale.

Cette méthode présente l'avantage de permettre à la fois une approche semi-quantitative et une appréciation qualitative de la famille de l'antibiotique incriminé.

#### *Influence des résidus de désinfectants éventuellement présents dans le lait*

Les méthodes utilisant *B. sterothermophilus* comme organisme-test présentent l'avantage d'être très peu sensibles aux agents désinfectants éventuellement présents dans le lait. De plus seules des concentrations élevées de désinfectants de l'ordre 100 - 200 ppm, sont capables de positiver ces tests or il est quasi impossible de rencontrer des laits contenant des teneurs aussi élevées, même en l'absence de rinçage ou d'égouttage du matériel de traite après sa désinfection (*Brouillet, 2002 ; Duflocq, 1982*).

### **1.1.2. Autres tests microbiologiques de détection des résidus d'antibiotiques**

La méthode officielle requérant outre les compétences d'un personnel de laboratoire qualifié, des délais de réalisation relativement longs (entre 16h et 24 h) pour les épreuves de confirmation), différents kits de détection ont été développés. Ces derniers peuvent être utilisés par le vétérinaire ou l'éleveur au niveau de la ferme ou par les techniciens au niveau des laiteries ou des unités de transformation laitière.

**a. Le Delvotest ®**

Le delvotest (MCS®) reste malgré son ancienneté le test officiel retenu par la communauté européenne, il est de ce fait le kit de détection de résidu d'antibiotique le plus largement utilisé. Différentes déclinaisons simplifiées de ce test existent (Delvotest P®, Delvotest SP®...) mais elles reposent toutes sur le même principe d'inhibition de *Bacillus stearthermophilus*. Ces tests se présentent sous la forme de kits normalisés contenant un nombre standardisé de spores de la bactérie dans un milieu gélosé (Sischo, 1996).

L'échantillon de lait à tester est mis à diffuser dans le milieu gélosé contenant des substances nutritives, un indicateur de pH et du triméthoprime. Après une incubation à 64°C de 2h30 pour le Delvotest P® et de 3h pour le Delvotest SP®, la croissance normale du micro-organisme et la production d'acide qui en résulte provoquent le virage de couleur de l'indicateur de pH du pourpre au jaune. En présence de substances inhibitrices, la couleur pourpre du milieu gélosé persiste après la période d'incubation prescrite (figure 6) (Suhren, & Beukers, 1998).



**Figure 6 :** Nuancier Delvotest SP ® (Reybroeck, 2004)

*Cupules a, b, c et d : échantillons positifs, Cupules e, f et g : échantillons négatifs*

Ces tests présentent un spectre de détection et une sensibilité vis-à-vis des pénicillines comparables à ceux de la méthode d'acidification officielle (Tableau X). Néanmoins ils ne permettent la détection de certaines molécules antibiotiques telles que les tétracyclines et les quinolones qui pourraient être présentes dans le lait à des teneurs supérieures aux LMR. Il en est de même pour certaines substances interdites comme le chloramphénicol ou les nitrofuranes. Par conséquent des tests complémentaires peuvent se révéler nécessaires (Mitchell et al., 1998 ; DSM food specialities, 2007).

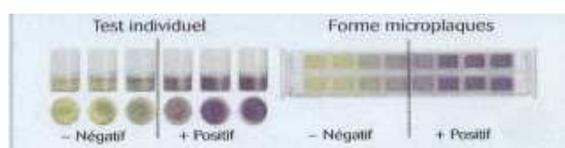
**Tableau X :** Tableau comparatif de la sensibilité des méthodes d'acidification, de Galeslout et du Delvotest ® (*Dufloq, 1982*)

Molécules antibiotiques	Méthode d'acidification	Méthode Galeslout	Delvotest
Chlorotétracycline	0.2 à 0.4	0.6 à 1.25	0.30
Oxytétracycline	0.25	1.2 à 2.5	0.30
Pénicilline G	0.005	0.01	0.004
Streptomycine	5 à 10	5 à 10	8

Les résultats sont rapportés en µg/ml sauf ceux de la pénicilline exprimés en UI/ml.

### b. Le Copan Test P® et S100®

Les Copan Test P® et Copan Test S 100® kits sont des test plus récents reposant sur le même principe que le Delvotest® à la seule différence que la tablette nutritive est préalablement incorporée à la gélose, ce qui réduit la procédure d'une étape par rapport au Delvotest®. Ils associent le principe de diffusion en gélose avec la réduction d'un indicateur coloré. L'absence de substances antibiotiques inhibitrices est indiquée par un virement de l'indicateur. Ils se présentent sous la forme de tubes unitaires ou de microplaques prêts à l'emploi permettant selon la présentation d'effectuer des analyses individuelles ou collectives.



**Figure 7:** Présentation et interprétation du Copan test® (*Reybroeck, 2004*)

Le Copan Test® serait du reste nettement moins sensible que le Delvotest SP®. De plus des résidus de désinfectants, de certains vermifuges en fortes concentrations sont susceptibles de perturber l'analyse. Les résultats de celle-ci peuvent être également faussés par du lait sub-mammiteux au pH alcalin (*Reybroeck, 2004*).

### c. Valio-T ®

C'est un test assez similaire du Delvotest dans sa méthode et son spectre de détection. Mais il est encore plus long dans sa réalisation ce qui en limite l'intérêt. Il présentait dans le

passé, l'avantage d'avoir une sensibilité proche de l'ancienne méthode officielle, puisqu'il utilise *Streptococcus thermophilus* comme organisme test (*Mitchell et al., 1998 ; Verhnes et Vandaele, 2002*).

#### d. CHARM FARM Test®

Le CHARM FARM Test® est un test qui utilise une seule fiole en une seule étape, c'est un test qui permet de détecter cinq familles de produits vétérinaires : les bêta lactamines, les sulfamides, les tétracyclines, les aminosides et les macrolides dans le lait cru de vache.

Les résultats restent stables pendant 8h après le test et peuvent être lus par comparaison de couleur ou par l'utilisation d'un pH mètre. Cependant, l'acquisition d'un matériel spécifique le « Charm Auto Farm » est nécessaire à la réalisation de ce test. Une présentation sous forme de microplaque : « Charm AIM-96 » permet de tester plus de 90 échantillons en moins de 4 heures (*Food Safety, 2002*).

**Tableau XI :** Tableau comparatif entre les LMR et la sensibilité des différents tests microbiologiques de détection des résidus antibiotiques dans le lait (*Food Safety, 2002*)

Famille des antibiotiques	Antibiotiques	LMR (µg/kg)	Delvotest SP (µg/kg)	Copan test (µg/kg)	Charm AIM-96 (µg/kg)	Charm Farm Test (µg/kg)
<b>Béta-lactamines</b>	Pénicilline	4	2	1-2	4	3
	Ampicilline	4	2-3	Inf à 2	6	4
	Amoxicilline	4	2	2-4	4	4
	Cloxacilline	30	15	10-15	50	
	Oxacilline	30	5	5-10	30	
<b>Tétracyclines</b>	Chlorotétracycline	100	150	250-500	150	
	Oxytétracycline	100	100	250-500	150	100-150
	Tétracycline	100	100	250-500	100	
<b>Sulfamides</b>	Sulfamethazine	100	25	100-200	10	50-100
<b>Macrolides</b>	Erythromycine	40	50	Sup. à 200	100	
	Spiramycine	200	200	Sup. à 200	500	
<b>Aminosides</b>	Gentamycine	100	100-300	100-500	30	300-500
	Néomycine	500	100-200	500-2000	100	
	Streptomycine	200	300-500	Inf à 1000	500-600	

## 1.2. METHODE ENZYMATIQUE

### Test Penzym®

Le principe du Penzym test® repose sur l'inhibition par les bêta-lactamines éventuellement présentes dans le lait à tester d'une enzyme : la DD carboxypeptidase. Cette inactivation se traduit par l'apparition d'une coloration jaunâtre au lieu de celle rosée ou orangée habituellement observée en l'absence de résidus de bêta-lactamines.

Rapide (20 mn), ce test est très spécifique des bêtalactamines (pénicillines et céphalosporines). Bien qu'il ne soit pas approuvé comme test officiel, il est très largement utilisé en industrie laitière comme outil de screening des laits de grand mélange. La sensibilité de ce test est de l'ordre de 0,004 à 0,012 U/ml (*Frère et al., 1980 ; Jones et al., 1988*).

## 1.3. METHODES IMMUNO-ENZYMATIQUES

La plus part des méthodes immuno-enzymatiques reposent sur le même principe : le lait est incubé en même temps qu'un récepteur afin que les résidus d'antibiotiques (souvent des bêta-lactamines) éventuellement présentes puissent se lier au récepteur. Après incubation la quantité restante de récepteur libre est contrôlée par comparaison de l'intensité de couleur de la bande test (ou du point test) avec celle d'une bande témoin (ou d'un point témoin). L'intensité de la couleur à hauteur de la zone de capture est inversement proportionnelle à la concentration de l'antibiotique dans l'échantillon de lait (*Sischo, 1996*).

Ces techniques bien que rapides (de quelques minutes à vingt minutes), reste onéreuses. Elles sont souvent spécifiques d'une famille d'antibiotiques (souvent les bêta-lactamines) et se caractérisent par des limites de détection inférieures aux LMR. Vu le développement toujours croissant de l'offre commerciale, nous nous contenterons de détailler les caractéristiques des kits les plus largement utilisés.

### 1.3.1. DelvoX Press TM BL ®

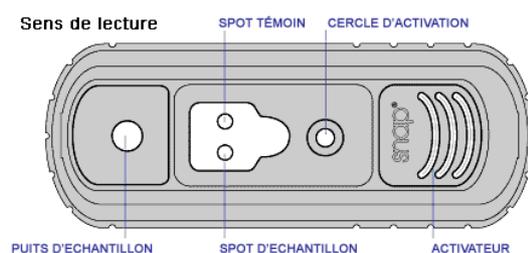
Il consiste à faire réagir une quantité définie de lait à tester avec une quantité précise d'un soluté dit traceur qui a pour fonction de complexer les résidus antibiotiques. Le mélange est ensuite versé dans un tube recouvert d'un enduit spécifique qui est sensé réagir avec l'excédent de traceur libre. Le complexe traceur-antibiotique est éliminé par rinçages successifs et un substrat colorimétrique réagit avec le traceur fixé sur les parois du tube.

La lecture se fait avec un lecteur de densité optique : l'intensité de densité optique est inversement proportionnelle à la concentration en résidus du lait testé.

Le Delvo X Press TM BL permet la détection spécifique des bêta-lactamines.

### 1.3.2. Snap Tests®

Le Snap test se décline différentes versions (bêta lactamine, tétracyclines, gentamycine...). Les récepteurs présents peuvent se lier soit à l'antibiotique présent dans le lait, soit aux antibiotiques fixés à la surface du test. De présentation simple et d'usage ludique, ce test permet de rendre un résultat en 10 minutes (*figure 8*).



**Figure 8 :** Dispositif Snap ([www.idexx.fr](http://www.idexx.fr))

### 1.3.3. CHARM ROSA Milk MRL-3 Test®

Le résidu de l'antibiotique présent dans le lait à tester est révélé par une réaction immuno-chromatographique sur des bandelettes contenant des anticorps et un colorant marqué, après une incubation de 3 minutes. Le CHARM MRL test est le test le plus rapide à l'heure actuelle pour la détection des bêta lactamines et de la cloxacilline. D'autres déclinaisons de ce test permettent la recherche des tétracyclines, des quinolones et des sulfamides en 8 minutes (*figure 9*).

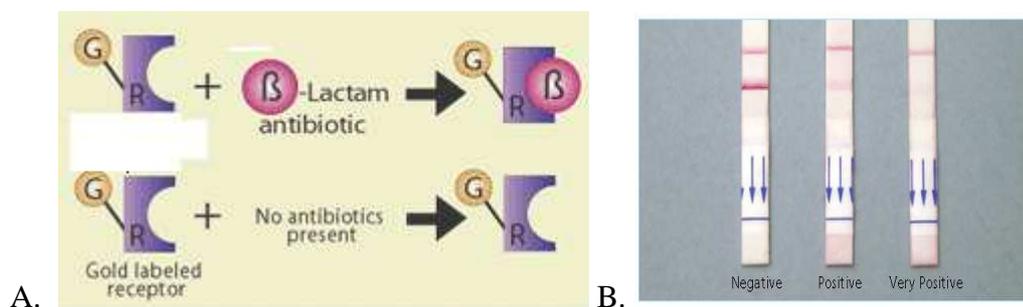


**Figure 9** : CHARM ROSA MRL-3® Test Kit et Lecteur ROSA®

[www.charm.com](http://www.charm.com)

#### 1.3.4. Beta Star kit®

Le test Beta Star est une méthode du type "Receptor Assay" basée sur l'emploi d'un récepteur spécifique lié à des particules d'or (*figure 10*).

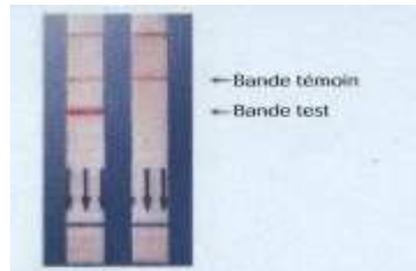


**Figure 10** : A) Représentation schématique du principe du « Receptor Assay » du test Beta Star®

B) Lecture et interprétation des bandelettes

Il permet la détection rapide, dans le lait, des résidus de pénicillines et de céphalosporines. Lors de la première étape d'incubation, les antibiotiques bêta-lactamines, s'ils sont présents, se lient au récepteur. Pendant la seconde étape d'incubation, le lait migre sur un support immunochromatographique (membrane fixée à une bandelette) qui comporte deux bandes de capture. La première bande retient tous les récepteurs qui n'ont pas lié d'antibiotiques pendant la première étape, faisant apparaître une coloration rouge intense qui traduit une absence de résidus (*figure 11*).

En cas de présence de bêta-lactamines en excès, les complexes récepteurs-antibiotiques formés ne peuvent pas se lier et aucune coloration n'apparaît. La deuxième bande, basée sur la fixation d'un anticorps, sert de référence et fait apparaître dans tous les essais une coloration rouge d'égale intensité. Ce test très simple d'emploi est aussi très rapide. (*Scippo et al, 2006*).



**Figure 11:** Lecture des bandelettes du test Beta Star® (*Reybroeck, 2004*)

*A gauche : lait négatif. La bande test se colore en un rouge plus intense que la bande témoin.*

*A droite : lait positif. La bande test est totalement absente ou coloré en un rouge moins ou aussi intense que la bande témoin.*

### 1.3.5. Système CHARM II®

Cette méthode est subordonnée à l'utilisation d'un analyseur permettant de quantifier le produit d'une réaction d'immuno-compétition entre le résidu d'antibiotique éventuellement présent et une molécule marquée au carbone 14 ou au tritium. Cette technique permet de réaliser simultanément l'identification de la molécule et un dosage semi-quantitatif relativement précis. Elle couvre en outre l'ensemble des antibiotiques, y compris le chloramphénicol. Son usage reste néanmoins réservé aux laboratoires de contrôle en raison de l'investissement relativement lourd qui doit être consenti (*Korsrud et al., 1994; Ferrini et al., 1997*).

D'autres tests en immunofluorescence ont été développés tels que l>IDEXX Parallax Test ou le Fluorophos Betascreen Test. Le premier test permet de rechercher et de quantifier un large éventail de molécules antibiotiques. Le second est spécifique des pénicillines. Il s'agit de tests rapides (10 minutes) qui nécessitent en revanche tous deux l'acquisition d'un fluorimètre (*Bell et al., 1995 ; Kumar et al., 1997*).

**Tableau XII :** Tableau comparatif entre les LMR et les valeurs seuils de détection des différents tests de recherche des antibiotiques dans le lait (*Food Safety, 2002*)

Famille des antibiotiques	Antibiotiques	LMR (µg/kg)	Test microbiologique			
			Delvotest SP ® (µg/kg)	Parallux test® (µg/kg)	Snap Test® (µg/kg)	Bêta S.T.A.R® (µg/kg)
<b>Bêta-lactamines</b>	Pénicilline	4	2	3,2	2-4	2-4
	Ampicilline	4	2-3	2,9	4-5	2-5
	Amoxicilline	4	2	3,6	6	2-4
	Cloxacilline	30	15	7,4	30	5-10
	Oxacilline	30	5	10	35-40	5-10
<b>Tétracyclines</b>	Chlorotétracycline	100	150	125	30	-
	Oxytétracycline	100	100	100	30	-
	Tétracycline	100	100	100	30	-
<b>Sulfamides</b>	Sulfamethazine	100	25	-	-	-
<b>Macrolides</b>	Erythromycine	40	50	-	-	-
	Spiramycine	200	200	-	-	-
<b>Aminosides</b>	Gentamycine	100	100-300	-	-	-
	Néomycine	500	100-200	-	-	-
	Streptomycine	200	300-500	-	-	-

## **2. METHODES QUANTITATIVES POUR LA RECHERCHE DE RESIDUS ANTIBIOTIQUES DANS LE LAIT**

Différentes techniques permettant la quantification des résidus d'antibiotiques ont été mises au point depuis les années 1980 telles que l'HPLC (High Performance Liquid Chromatography) qui offre des seuils de détection extrêmement bas . Le couplage une dizaine d'années plus tard de la chromatographie liquide (CL) à la spectrométrie de masse (SM) a permis d'allier le pouvoir séparatif (résolutif) de la première technique à la puissance analytique de la seconde et d'affiner ainsi les résultats des analyses effectuées. Des techniques plus récentes comme le Thermospray ou Particle Beam a permis notamment le dosage de certaines molécules antibiotiques n'absorbant pas les UV telles que l'érythromycine. Ces techniques ont depuis trouvé leur place dans différents laboratoires officiels de contrôle vétérinaires de par le monde. (*Knappstein & Suhren, 2003 ; Schneider, 2005*).

Enfin, nous citerons également la technique plus ancienne de l'électrophorèse qui permet une quantification précise et reproductible, mais qui n'est valable que lorsque la molécule antibiotique recherchée est connue.

***ETUDE  
EXPERIMENTALE***

## **I. OBJECTIFS**

Ce travail avait pour objectif d'une part, la recherche de résidus d'antibiotiques dans le lait cru produit dans deux wilayas du centre nord de l'Algérie : Alger et Boumerdes, et d'autre part, la discussion de la pertinence de la mise en place d'un contrôle systématique du lait fermier.

Pour ce faire deux techniques microbiologiques ont été successivement mises en œuvre : un test d'acidification et une épreuve de confirmation par diffusion en gélose ; parallèlement une enquête sur les pratiques thérapeutiques et hygiéniques en élevage bovin laitier a été réalisée ou plus exactement « tentée ».

En premier lieu, une mise au point des techniques a été nécessaire, dans la mesure où la recherche des résidus d'antibiotiques ne semble pas être réalisée en routine dans les laboratoires de contrôle en Algérie. L'ensemble des échantillons de lait collectés soit 760 prélèvements a ensuite été testé par les deux techniques précédemment citées.

Les analyses des échantillons ont été réalisées au sein du laboratoire du Centre Algérien du Contrôle de la Qualité et de l'Emballage (CACQE), à Alger.

## II. MATERIEL ET METHODES

### 1. LIEUX ET DUREE DE L'ETUDE EXPERIMENTALE

Notre étude a porté sur un total de 760 prélèvements de lait, collectés sur deux wilayas du centre de l'Algérie : Alger et Boumerdes (*Tableau I*):

*Wilaya d'Alger* : 160 échantillons de laits, provenant de 160 vaches différentes, réparties au niveau de 35 exploitations de 19 communes, ont été récoltés dans la wilaya d'Alger.

*Wilaya de Boumerdes* : 600 échantillons de laits, provenant de 600 vaches différentes réparties dans 137 exploitations localisées dans 19 communes, ont été également prélevés.

**Tableau I** : Plan d'échantillonnage

WILAYA	ALGER	BOUMERDES	TOTAL
<b>Nombre d'échantillons</b>	160	600	760
<b>Nombre de vaches prélevées</b>	160	600	760
<b>Nombre de communes</b>	19	19	38
<b>Nombre d'exploitations</b>	35	137	172

L'étude s'est déroulée sur une durée totale de 6 mois : du mois de Décembre 2007 au mois de Mai 2008.

Tous les échantillons de lait prélevés provenaient de vaches déclarées saines par l'éleveur et/ou n'ayant subi aucun traitement antibiotique depuis au moins 1 mois.

Le lait produit par ces vaches était destiné à la consommation humaine soit en l'état soit après transformation.

## **2. MATERIELS**

### **2.1. Conditions de prélèvements et de stockage des échantillons de lait**

#### **2.1.1. Conditions de prélèvements du lait**

Pour chaque prélèvement : un volume de 2 fois 40 ml a été recueilli dans un flacon stérile et étanche de 50 ml.

Après lavage, séchage et désinfection des trayons, le premier jet de lait est éliminé et le prélèvement est réalisé. Le lait recueilli dans chaque flacon correspond au mélange provenant des quatre (4) quartiers de la mamelle.

#### **2.1.2. Transport et stockage des échantillons**

Les échantillons sont transportés dans une glacière munie de pain de glace et congelés à -20°C dans les 3 heures suivants leur prélèvement. Les échantillons ont été analysés dans les 2 mois suivants leur prélèvement. Aucune rupture de la chaîne du froid ne s'est produite au cours de notre expérimentation.

#### **2.1.3. Mode d'enregistrement des prélèvements**

Chaque prélèvement de lait a été daté et numéroté, ce dernier est identique à celui attribué à la fiche de renseignement remplie dans le cadre de l'étude (numéro de la ferme/ numéro de la vache prélevée).

Les mentions suivantes ont également été apposées sur l'étiquette du flacon :

- **M** : pour Malade, si le lait nous a semblé anormal.
- **MM** : pour Mamelle Malade, si la mamelle nous a semblé malade.
- **S** : pour Saine, si le lait est normal.

## 2.2. Micro-organismes test utilisés

Deux micro-organismes test ont été utilisés dans le cadre de la recherche de résidus d'antibiotiques par méthode microbiologique :

- *Bacillus subtilis*, ATCC 6633 suspension de spores (France 2612 AO),
- *Bacillus stearothermophilus* variété *calidolactis* souche C953, (CIP 5281).

## 2.3. Réactifs, milieux de culture et produits chimiques

### 2.3.1. Milieux de culture

#### *Gélose de Muller Hinton - Institut Pasteur d'Algérie*

Infusion de viande de bœuf déshydratée	300 g
Hydrolysate de caséine	17,5 g
Amidon de maïs	1,5 g
Agar agar	13 g
Eau distillée	1000 ml
pH final	7,2 - 7,4

#### *Bouillon nutritif*

Peptone	10 g
Extrait de viande	5 g
Chlorure de sodium	5 g
Agar agar	13 g
Eau distillée	1000 ml
pH final	7.2

**Gélose nutritive**

Peptone	10 g
Extrait de viande	5 g
Chlorure de sodium	5 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml
pH final	7.2

**Préparation :** Les différents composants sont dissous dans l'eau sous l'effet de la chaleur. Cette solution est répartie à raison de 7 ml par tube à essai. Les tubes sont maintenus en position inclinée pendant toute la durée de solidification du milieu.

**Milieu de sporulation**

Extrait de viande	3,0 g
Peptone	5,0 g
Sulfate de manganèse (MnSO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> O)	31,3 g
Agar	15,0 g
Eau distillée	qsp 1000 ml

**Préparation :** Les différents composants sont dissous dans l'eau sous l'effet de la chaleur. Cette solution est répartie dans des boîtes Pétri au moment de son emploi.

**NB :** Tous les milieux sont stérilisés à 121°C pendant 15 minutes. Le pH après stérilisation est ajusté à 7,4 +/- 0,1.

### 2.3.2. Réactifs et solutions étalon

#### *Lait témoin*

Le lait témoin est un lait stérilisé UHT, contrôlé exempt de toute substance inhibitrice.

#### *Solutions étalons de pénicilline*

Solution de pénicilline à 100 UI/ml : celle ci est préparée par dissolution de benzylpénicillinate de sodium dans de l'eau distillée stérile à raison de 60 mg/ml.

Solution diluée de pénicilline à 0,125 UI/ml correspondant à 0,075 mg de pénicilline /ml.

Solution étalon de pénicilline à 0,0067 UI/ml : la solution est obtenue en ajoutant 4 ml de solution diluée de pénicilline à 71 ml de lait exempt de substances inhibitrices. La solution obtenue contient 0,04 mg de pénicilline/ml.

*Les solutions de pénicilline sont préparées extemporanément.*

#### *Solution de triméthoprim*

<b>Triméthoprim</b>	<b>5 mg.</b>
Ethanol 96 %	10 ml
Eau distillée	qsp 1000 ml.

Le triméthoprim est d'abord dissout dans l'éthanol avant d'être dilué dans l'eau distillée. Cette solution se conserve au maximum 1 semaine à l'obscurité et à une température de 0-5 °C.

#### *Solution de pourpre de bromocrésol*

Pourpre de bromocrésol	250 mg
Ethanol 96 %	10 ml.
Eau distillée	qsp 100 ml

Le pourpre de bromocrésol est d'abord dissout dans l'éthanol puis dilué dans 100 ml d'eau. Cette solution se conserve au maximum pendant 6 mois à l'obscurité à une température de 0 à 5 °C.

*Disques antibiotiques*

Antibiotique	Marque	Numéro de lot
Erythromycine, 15 µg	Bio Rad	6k3232
Streptomycine 10 µg	Bio Rad	4f3074
Spiramycine : 100 mcg	Bioanalyse	60810
Tétracyclines : 30 UI	Sanofi Diagnostics Pasteur	0E272R
Pénicilline G : 6 µg	Bio Rad	6K3320

**2.4. Appareillages, instruments et consommables**

Dans le tableau ci-dessous est compilé l'essentiel des appareillages, instruments, consommables et verrerie utilisés.

Appareillage, instruments, consommable	Verrerie
Étuve réglable	Flacons à échantillon avec fermeture adéquate de 15 et 50 ml
Bain à eau	Flacons d'une capacité de 100 et 250 ml.
Portoir pour tubes ou ampoules.	Pipettes en verre ou en matière synthétique stérile d'une capacité nominale de 1 ml et 10 ml
Seringue à usage unique avec embout jetable permettant de prélever et de répartir 0,1 ml	Spatules en verre
Pince	Tubes ou ampoules avec couvercle ou bouchon, d'un diamètre intérieur de 8 mm
Four à air chaud	
Autoclave	
pH-mètre	
Disque papier de 7 mm	
Boîtes de Pétri en matière synthétique stérile d'un diamètre intérieur minimal d'environ 85 mm, à fond parfaitement plat.	

*NB : Toute la verrerie a été stérilisée à chaque utilisation pour éviter tout effet inhibiteur résiduel.*

### 3. METHODES

Nous avons adopté la méthode officielle européenne de détection des résidus d'antibiotiques dans le lait (décision de la commission 91/180/CEE du 14 février 1991) et appliquée dans la communauté européenne depuis le 1 janvier 2002 (*Décision européenne 91/180/CEE ; Règlement CE N°1664/2006*).

Deux techniques sont successivement réalisées :

**Un test d'acidification** : qui met en évidence l'éventuelle inhibition d'une souche de *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* C953 par l'échantillon de lait à tester.

**Une épreuve de confirmation** : correspond à la réalisation de deux tests de diffusion en gélose l'une avec *Bacillus subtilis* et l'autre avec *Bacillus stearothermophilus*

#### 3.1. Test d'acidification

Cette épreuve permet normalement d'effectuer un premier screening dans la totalité des échantillons testés.

**Principe** : Une éventuelle inhibition de *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* C953 est recherchée.

Le test est déclaré positif quand il n'y a pas d'acidification de l'échantillon. L'acidification se traduisant habituellement par une coagulation du lait et un virage de l'indicateur coloré.

**Composition de la culture d'épreuve**

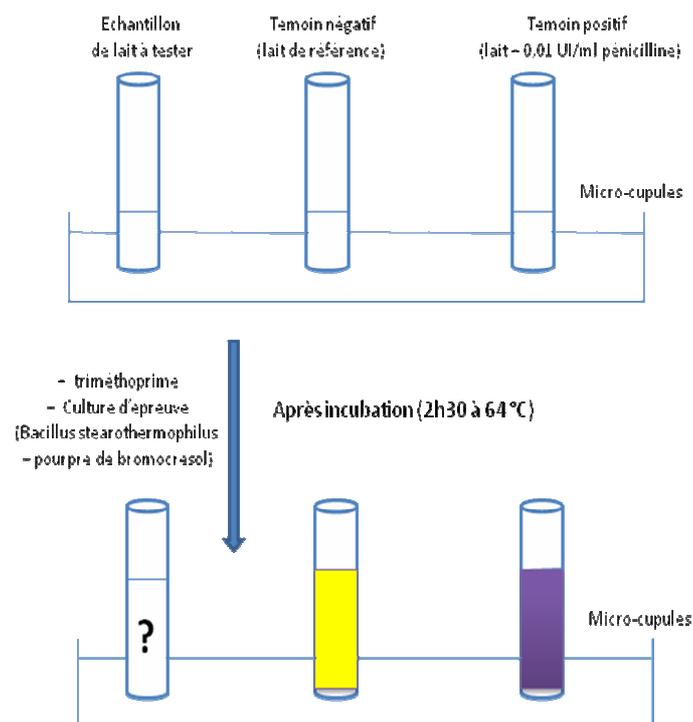
Composants	Volume
Culture bactérienne	10 ml
Solution aqueuse de pourpre de bromocrésol 25 %	10 ml
Solution aqueuse d'extrait de levure stérile 0,1 %	5 ml

Un volume de 0,1 ml de la culture d'épreuve (*B. sterothermophilus*, extrait de levure et pourpre de bromocrésol) est additionné à 0,1 ml de l'échantillon à tester.

**Réalisation :** Un échantillon de lait estensemencé de spores de *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* C 953 dans un milieu gélosé contenant des substances nutritives, un indicateur de pH (pourpre de bromocrésol) et du triméthoprime. La croissance normale et la production d'acide d'un micro-organisme test fait virer après incubation l'indicateur de pH du pourpre au jaune (*figure 1*).

Un témoin négatif (lait de référence) et un témoin positif (lait pénicilline témoin 0,01 UI/ml) sont mis à incuber en présence de 0,1 ml de la culture d'épreuve dans les mêmes conditions et même temps que l'échantillon à tester.

La réponse est lue après 2h30 d'incubation en étuve à 64°C, au moment du virage du témoin négatif.



**Figure 1 :** Réalisation de l'épreuve d'acidification

### 3.2. MÉTHODE DE DIFFUSION EN GÉLOSE

Deux tests de diffusion en gélose sont réalisés, l'un avec *Bacillus subtilis* et l'autre avec *Bacillus stearothermophilus*

*Théoriquement seuls les échantillons douteux ou positifs doivent être soumis à l'épreuve de confirmation, mais dans le cadre de cette étude l'ensemble des échantillons prélevés a été analysé par les deux méthodes.*

#### 3.2.1. Réalisation de l'épreuve de confirmation

##### *Revivification des souches*

La surface de la boîte de pétri contenant les colonies de *Bacillus subtilis* est raclée à l'aide d'une pipette pasteur dont l'extrémité a été flambée. La quantité ainsi obtenue (environ  $10^6$ ) est diluée dans 10 ml de bouillon nutritif. Cette opération est renouvelée autant de fois qu'il est nécessaire.

La même procédure est appliquée pour la revivification de *Bacillus stearothermophilus*.



**Figure 2 :** Prélèvement et revivification de la souche dans du bouillon nutritif

Après agitation, les tubes à essai sont mis à incuber pendant 24 h à 30°C pour les tubes contenant *Bacillus subtilis* et à 55°C pour ceux contenant *Bacillus stearothermophilus*.

Après 24h, une croissance ou prolifération bactérienne est constatée dans la totalité des tubes ensemencés. Les produits ainsi obtenus sont conservés dans une gélose nutritive.

***Etalonnage de la suspension de spore***

Le lot de suspension de spores utilisé a été vérifié afin d'en déterminer la concentration. Le dénombrement est effectué sur milieu gélosé nutritif après incubation des boîtes Pétri à 37°C pendant 24 h .

***Préparation des boîtes Pétri******Bacillus subtilis***

Le jour du test, la suspension de spores de *Bacillus subtilis* est inoculée dans le milieu gélosé préalablement fondu puis refroidi à 55°C, pour obtenir une concentration d'environ  $5 \times 10^3$  de spores / ml de milieu

La formule ci-dessous est appliquée pour le calcul de la quantité de gélose nécessaire à l'ensemencement des micro-organismes test.

$$C1 \times V1 = C2 \times V2$$

***C1 : Concentration initiale***

***V1: Volume initial***

***C2: Concentration finale***

***V2 : Volume final***

Dans nos conditions :  $C1=10^5$  ;  $V1=1$ ;  $C2=5 \times 10^3$

Par conséquent  $V2 = 19\text{ml}$

Ainsi un inoculum de 1 ml de spores de *Bacillus subtilis* à la concentration de  $10^5$  est additionné à 19 ml de gélose de Muller Hinton afin d'obtenir une concentration finale de  $10^4$  spores /ml de milieu.

Sur le plan pratique : 237, 5 ml de gélose seront ensemencés avec 12, 5ml de suspension de *Bacillus subtilis*.

Les boîtes Pétri ainsi préparées sont mises à incuber à 37°C pendant 24 h.

***Bacillus stearothermophilus***

Le milieu gélosé Muller Hinton préalablement fondu à 100°C et refroidi à 55°C est ensuite coulé dans des boîtes pétri. Le milieu est ensuite inoculé au moyen de la culture liquide de *Bacillus stearothermophilus* à raison d'une partie de celle ci pour cinq parties de

milieu. Ils sont intimement mélangés en imprimant à la boîte des mouvements circulaires et transversaux. La boîte est ensuite déposée sur une surface bien plane.

Le lait pénicilline témoin est préparé au moment de chaque essai. Il permet en particulier de vérifier que les conditions de la manipulation (concentration, développement, sensibilité du germe, etc.....) sont correctes.

### **Préparation des échantillons**

Une fois décongelés et homogénéisés, les échantillons de lait sont chauffés à 80°C pendant 5 minutes puis refroidis.

Un disque de papier filtre stérile est imprégné par capillarité du lait à tester. Il est ainsi maintenu en contact avec la surface du lait pendant quelques secondes. Une fois entièrement imprégné mais non sursaturé le disque est déposé à plat à la surface de la gélose.

### **Incubation et lecture des résultats**

Les boîtes sont mises à incuber à 55°C pour *Bacillus stearothermophilus* et à 30°C pour *Bacillus subtilis*. Le tableau II reprend les différentes familles d'antibiotiques détectées par l'inhibition de chacun de ces deux micro-organismes test.

**Tableau II** : Familles d'antibiotiques détectées par *B.stearothermophilus* et *B. subtilis* lors de l'épreuve de confirmation

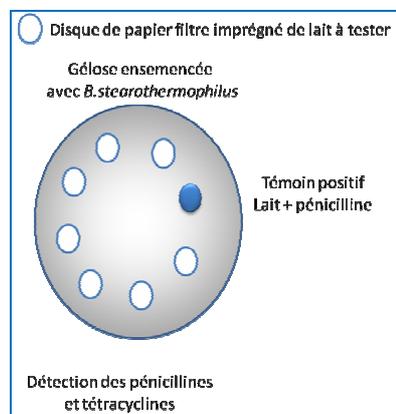
<b>Micro-organisme test</b>	<b>Antibiotique recherché</b>	<b>Famille</b>
<i>Bacillus subtilis</i>	Spiramycine Erythromycine	Macrolides
	Streptomycine	Aminosides
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	Pénicilline G	Pénicilline
	Tétracyclines	Tétracycline

Après 24 h d'incubation, il est procédé à la lecture des résultats en vérifiant la présence ou non de zones d'inhibition autour du disque.

Les échantillons de lait donnant lieu à des zones d'inhibition d'au moins 10 mm de diamètre ont été considérés comme positifs, c'est-à-dire comme contenant des antibiotiques. Le diamètre de cette zone d'inhibition a été mesuré et reporté pour chaque échantillon testé positif.

### ***Plan de disposition des disques antibiotiques***

Sept disques correspondant à sept échantillons de lait à analyser sont déposés par boîte Pétri, en plus du disque antibiotique témoin. Les huit disques sont disposés en cercle à 1cm de la périphérie de la boîte et aucun disque n'est placé au centre de la boîte (*figure 3*).



**Figure 3 :** Exemple du plan de boîte adopté lors de l'épreuve de confirmation

### **3.3. Technique d'échantillonnage**

Chaque vache prélevée a fait l'objet d'un examen complet de son état général, la recherche d'éventuelle pathologie réalisée (processus infectieux généraux, mammites...) et une fiche de renseignement a été dument remplie pour chaque animal prélevé (*Tableau III*).

Tableau III : Fiche de renseignement et d'enquête remplie pour chaque vache prélevée

<b>Exploitation</b>	<b>Réponses</b>
<b>Numéro et nom de la ferme</b>	
<b>Localité</b>	
<b>Ferme privée ou étatique</b>	
<b>Propriétaire de la ferme</b>	
<b>Etat de l'exploitation</b>	
<b>Nature et qualité de la litière</b>	
<b>Type et fréquence de désinfection</b>	
<b>Exploitation à élevage bovin uniquement ou présence d'autres espèces</b>	
<b>Exploitation à production exclusivement laitière ou à production mixte</b>	
<b>Nombre de vache laitières, races</b>	
<b>Nombre de vaches en lactation</b>	
<b>Nombre de personnes chargées de l'entretien et soin des bovins</b>	
<b>Quantité de lait produit par animal/jour et par l'exploitation par jour</b>	
<b>Vache prélevée</b>	
<b>Numéro et âge de la vache prélevée</b>	
<b>Etat général</b>	
<b>Vache gestante ou pas</b>	
<b>Etat d'avancement de la gestation</b>	
<b>Vache primipare ou multipare</b>	
<b>Date de la dernière mise bas</b>	
<b>Alimentation</b>	
<b>Condition de tarissements</b>	
<b>Antécédents</b>	
<b>Vache en traitement ou pas</b>	
<b>Cause du traitement</b>	
<b>Nature de la mammite, symptomatologie</b>	
<b>Médicaments utilisés (posologie, voies d'administration)</b>	
<b>Date du début de traitement</b>	
<b>Date de la dernière administration de médicaments</b>	

<b>Respect du délai d'attente ou pas</b>	
<b>Devenir du lait durant le délai d'attente</b>	
<b>Prélèvements de lait</b>	
<b>Qualité physique et microbiologique du récipient permettant le recueil du lait</b>	
<b>Condition de traite (manuelle, mécanique)</b>	
<b>Désinfection de la mamelle avant et après la traite</b>	
<b>Conditions climatiques</b>	
<b>Jour et heure du prélèvement</b>	
<b>Aspect du lait (couleur, densité....).</b>	

### *Analyse statistique*

Le test exact de Fisher, plus adapté à l'analyse des petits effectifs a été utilisé afin de comparer les résultats obtenus entre les différentes communes d'une même wilaya.

**Valeur P :** probabilité que les variables considérées ne soient pas liées significativement, ou que les moyennes, fréquences ne diffèrent pas significativement.

Lorsque la valeur de P était inférieure à 0,05, les différences ont été considérées comme significatives.

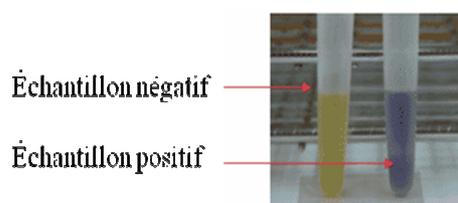
### III. RESULTATS

#### 1. RESULTATS DE L'ÉPREUVE D'ACIDIFICATION

##### 1.1. Lecture et interprétation des résultats

Le test a été déclaré positif lorsqu'il y a persistance au terme de 2 h 30 d'incubation de la couleur bleu pourpre de l'indicateur de pH traduisant l'absence d'acidification correspondant à l'inhibition de la croissance de *Bacillus stearotherophilus var. calidolactis* par des résidus d'antibiotiques présents dans le lait à tester (**Figure 4**).

La lecture est réalisée après 2h30 d'incubation en étuve à 64°C, au moment du virage du témoin négatif. La persistance de la couleur pourpre du témoin positif est vérifiée.



**Figure 4** : Lecture du test d'acidification

##### 1.2. Résultats pour les wilayas d'Alger et Boumerdes

**Tableau IV** : Nombre d'échantillons positifs, négatifs et douteux obtenus par wilaya

Test Wilaya	Positif	Négatif	Douteux
Alger	0	160	0
Boumerdes	73	525	2

Un virage coloré a été observé pour l'ensemble des 160 échantillons de lait prélevés au niveau de la wilaya d'Alger, signant l'absence de résidus d'antibiotiques.

La persistance de la couleur pourpre du bleu de bromocrésol a été constatée pour 73 échantillons traduisant la présence de résidus d'antibiotiques. 525 échantillons ont été déclarés négatifs et il a été impossible de tirer une conclusion pour deux échantillons, qui ont été classés douteux.

## 2. RESULTATS DU TEST DE CONFIRMATION

### 2.1. Lecture et interprétation des résultats

Dans le tableau V ci-dessous sont rapportées les moyennes des résultats positifs de l'épreuve de confirmation de diffusion en gélose avec les deux organismes tests : *B. stearothermophilus* et *B. subtilis*. Les résultats détaillés sont repris dans un tableau en annexe.

**Tableau V : Diamètre moyen des inhibitions obtenues par commune et par micro-organisme test**

Commune	Nombre d'échantillons positifs	Micro-organisme test	Famille d'antibiotique détectée	Moyenne des zones d'inhibition
Boumerdes	02	<i>B. stearothermophilus</i>	Pénicilline et/ ou tétracycline	12,00
Tidjelabine	06			11,67
Isser	04			12,25
Naciria	07			14,00
Ouled Aissa	03			10,00
Baghlia	06			14,67
Taourga	06			14,67
Sidi Daoud	01			12,00
Dellys	02			11,00
Afir	03			13,00
Ouled Moussa	07			12,57
Khemis el Khechna	06			13,17
Hamadi	08			12,71
Cap Djinet	12			11,33
			<b>Moyenne 1</b>	<b>12,50</b>
Zemmouri	01	<i>B. subtilis</i>	Macrolides et/ou aminoside	10,00
Corso	01			11,00
			<b>Moyenne 2</b>	<b>10,5</b>
Total	75		<b>Moyenne générale</b>	<b>12,25</b>

Un résultat considéré positif correspond à l'apparition d'une zone circulaire d'inhibition translucide autour du disque imprégné du lait à tester avec un diamètre supérieure ou égal à 10 mm (**figure 5**).



**Figure 5** : Zones d'inhibition obtenues lors de l'épreuve de confirmation avec *B. stearotherophilus*

Sur les 760 échantillons de lait testés avec les deux souches de *B. stearotherophilus* et *B. subtilis*, 75 échantillons se sont révélés positifs :

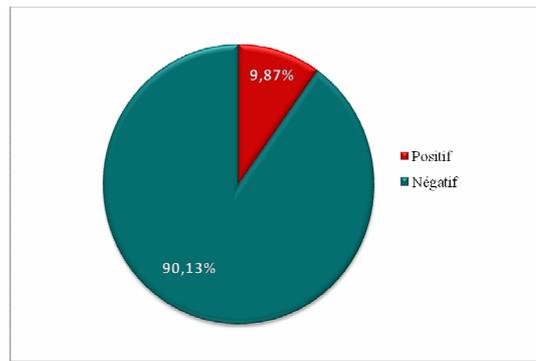
#### ***B. stearotherophilus***

73 échantillons ont présenté des zones d'inhibition avec un diamètre supérieur à 12,50 mm en moyenne  $\pm$  1,34 mm. Ces échantillons sont considérés comme positifs pour les résidus de pénicilline et /ou tétracyclines.

#### ***B. subtilis***

Seuls deux échantillons sur les 760 testés ont présenté des zones d'inhibition avec un diamètre supérieur à 10,50 mm en moyenne  $\pm$  0,71 mm. Ces échantillons sont considérés comme positifs pour les résidus de macrolides et/ou aminosides.

En revanche, les 685 échantillons restants ont rendu un résultat négatif pour l'ensemble des résidus d'antibiotiques recherchés soit un pourcentage de 90,13 %. La répartition des résultats globaux obtenus dans les deux wilayas étudiées est reprise dans la figure 6.

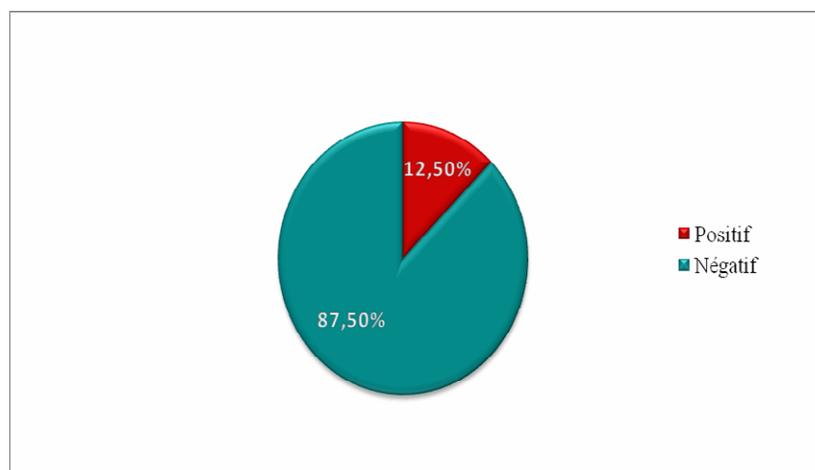


**Figure 6 :** Résultats de l'épreuve de confirmation pour les wilayas d'Alger et Boumerdes

## 2.2. Résultats pour la wilaya d'Alger

Dans la wilaya d'Alger, l'ensemble des échantillons collectés soit 160 prélèvements, a été testé négatif par la technique de diffusion en gélose avec les deux micro-organismes test. Ce qui confirme les résultats obtenus lors du test d'acidification.

## 2.3. Résultats pour la wilaya de Boumerdes



**Figure 7 :** Résultats de l'épreuve de confirmation pour la wilaya de Boumerdes

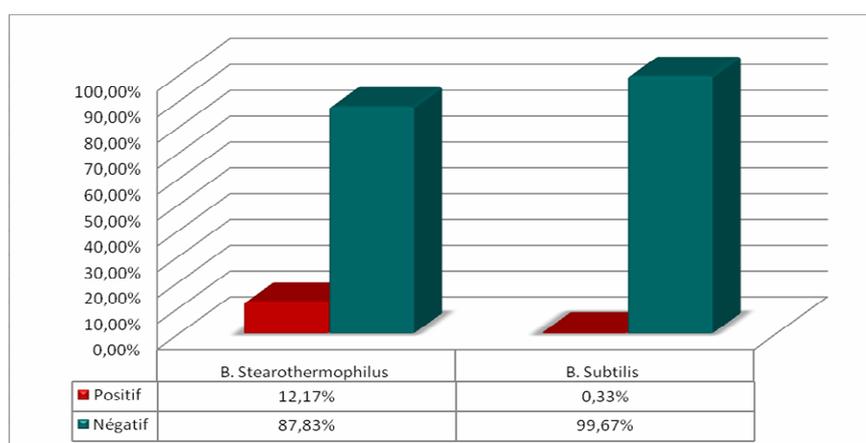
Sur les 600 échantillons de lait testés avec les deux souches de *B. stearothermophilus* et *B. subtilis*, 75 échantillons se sont révélés positifs soit un pourcentage de 12,50 %. Les 525 autres échantillons ont été testés négatifs par cette méthode soit un pourcentage de 87,50 %.

## 2.4. Résultats de l'épreuve de confirmation par diffusion en gélose dans la wilaya de Boumerdes selon les micro-organismes test utilisés

Dans le tableau ci-dessous sont rapportés les résultats obtenus lors de l'épreuve de confirmation par diffusion en gélose effectuée sur les 600 échantillons collectés dans la wilaya de Boumerdes.

**Tableau VI :** Résultats de l'épreuve de confirmation pour la wilaya de Boumerdes par micro-organisme test

Mcro-organisme test	<i>B. Stearothermophilus</i>		<i>B. Subtilis</i>	
	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage
Positif	73	12,17%	2	0,33%
Négatif	527	87,83%	598	99,67%



**Figure 8 :** Résultats de l'épreuve de confirmation par diffusion en gélose dans la wilaya de Boumerdes selon les micro-organismes-test utilisés

### *B. Stearothermophilus*

Sur les 600 échantillons analysés, 73 échantillons ont montré des zones d'inhibition annulaires supérieures à 10 mm en présence de *B. Stearothermophilus*.

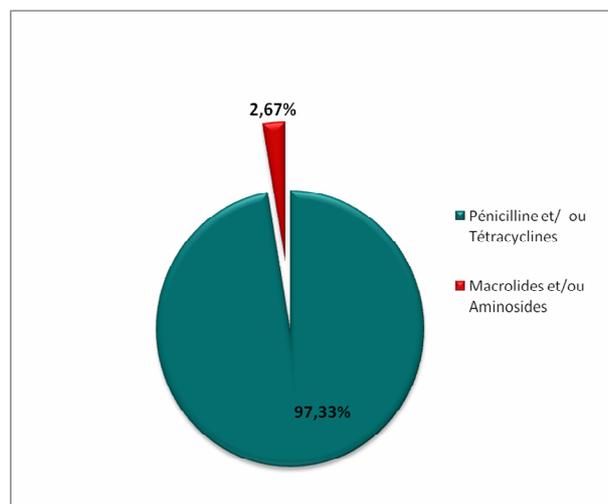
Par conséquent, 12,17 % des échantillons sont considérés comme positifs aux pénicillines ou/ et tétracyclines.

***B. subtilis***

Seuls deux échantillons sur les 600 testés ont présenté des zones d'inhibition annulaire avec un diamètre supérieur à 10 mm en présence de *B. subtilis*. Ce qui correspond à un pourcentage de 0,33 % d'échantillons positifs pour les résidus de macrolides et/ou aminosides.

**2.5. Familles d'antibiotiques détectées**

Sur la figure ci-dessous est représentée la répartition des échantillons positifs par famille d'antibiotiques recherchée.



**Figure 9 :** Répartition des échantillons positifs par familles d'antibiotique détectées

Sur les 75 échantillons trouvés positifs aux résidus d'antibiotiques, un pourcentage de 2,67 % l'était pour les macrolides et/ou les aminosides.

La majorité écrasante des échantillons soit 97,33 % était positive pour les pénicillines et/ou les tétracyclines.

## 2.6. Répartition des résultats positifs par commune dans la wilaya de Boumerdes

Dans le tableau ci-dessous, les résultats positifs de l'épreuve de diffusion en gélose sur sont répartis par commune étudiée de la wilaya de Boumerdes, soit les 19 communes retenues dans le cadre de notre étude.

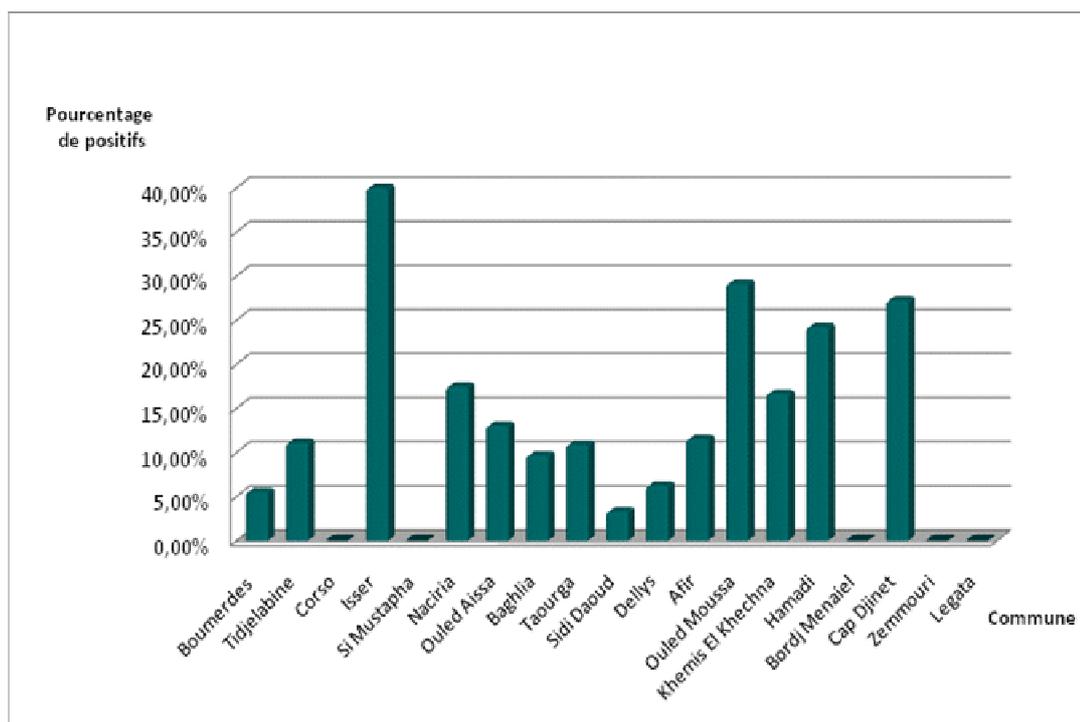
**Tableau VII : Résultats positifs en diffusion en gélose par commune à Boumerdes**

Commune	Nombre d'échantillon	<i>B. Stearothermophilus</i>		<i>B. subtilis</i>	
		Nombre de positif	Pourcentage de positif	Nombre de positif	Pourcentage de positif
Boumerdes	36	<b>2</b>	5,56%	0	0,00%
Tidjelabine	54	<b>6</b>	11,11%	0	0,00%
Corso	46	0	0,00%	<b>1</b>	2,17%
Isser	10	<b>4</b>	40,00%	0	0,00%
Si Mustapha	13	0	0,00%	0	0,00%
Naciria	40	<b>7</b>	17,50%	0	0,00%
Ouled Aissa	23	<b>3</b>	13,04%	0	0,00%
Baghlia	62	<b>6</b>	9,68%	0	0,00%
Taourga	55	<b>6</b>	10,91%	0	0,00%
Sidi Daoud	30	<b>1</b>	3,33%	0	0,00%
Dellys	32	<b>2</b>	6,25%	0	0,00%
Afir	26	<b>3</b>	11,54%	0	0,00%
Ouled Moussa	24	<b>7</b>	29,17%	0	0,00%
Khemis El Khechna	36	<b>6</b>	16,67%	0	0,00%
Hamadi	33	<b>8</b>	24,24%	0	0,00%
Bordj Menaïel	10	0	0,00%	0	0,00%
Cap Djinet	44	<b>12</b>	27,27%	0	0,00%
Zemmouri	17	0	0,00%	<b>1</b>	5,88%
Legata	9	0	0,00%	0	0,00%

Sur les 19 communes étudiées, 3 communes ont présenté des résultats nuls pour l'ensemble des résidus d'antibiotiques recherchés dans nos conditions expérimentales.

Des résidus des pénicillines ou/et tétracyclines et macrolides et/ou aminosides ont été par contre retrouvés dans 16 communes de cette wilaya.

**2.7. Répartition par commune des échantillons positifs pour les pénicillines et/ ou tétracyclines dans la wilaya de Bouverdes**



**Figure 10 :** Répartition par commune des échantillons positifs pour les pénicillines et/ ou tétracyclines dans la wilaya de Bouverdes

Des résidus d'antibiotiques de la famille des pénicillines et/ou des tétracyclines ont été retrouvés dans les échantillons de lait prélevés dans les 14 communes sur les 19 étudiées.

Le plus petit pourcentage d'échantillons positifs est celui de la commune de Sidi Daoud soit 3,33 %.

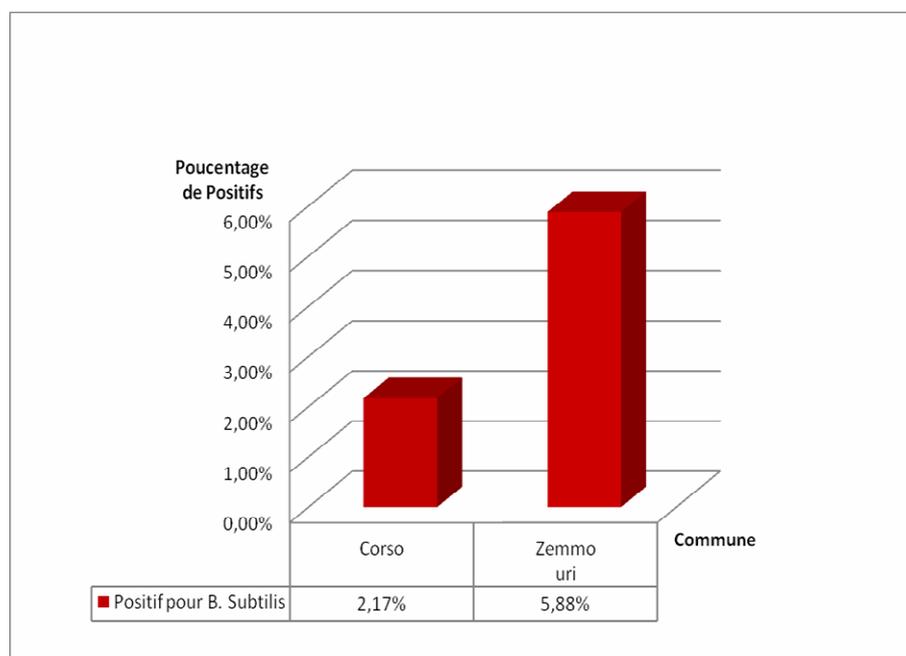
Des taux plus élevés sont retrouvés au niveau des communes de Hamadi, Cap Djinnet et Ouled Moussa avec des valeurs respectives de 24,24 % 27,27% et 29,17%.

Le pourcentage le plus élevé est retrouvé au niveau de la commune des Isser avec 40 %.

**Significativité des résultats**

La valeur P obtenue lors de l'analyse des résultats par le test exact de Fisher est de 0.001802 donc inférieure à 0,05. Les différences observées sont bien significatives.

**2.8. Répartition par commune des échantillons positifs pour les aminosides et/ ou macrolides dans la wilaya de Boumerdes**



**Figure 11 :** Répartition par commune des échantillons positifs pour les aminosides et/ ou macrolides dans la wilaya de Boumerdes

Uniquement deux échantillons ont été retrouvés positifs pour les macrolides et/ou les aminosides dans la wilaya de Boumerdes, l'un au niveau de la commune Corso (un échantillon positif sur 46) et l'autre au niveau de celle de Zemmouri (un échantillon positif sur 17).

### 3. RESULTATS OBTENUS AU COURS DE L'ENQUETE MENEES AUPRES DES ELEVEURS SUR LES TRAITEMENTS ANTIBIOTIQUES ENTREPRIS.

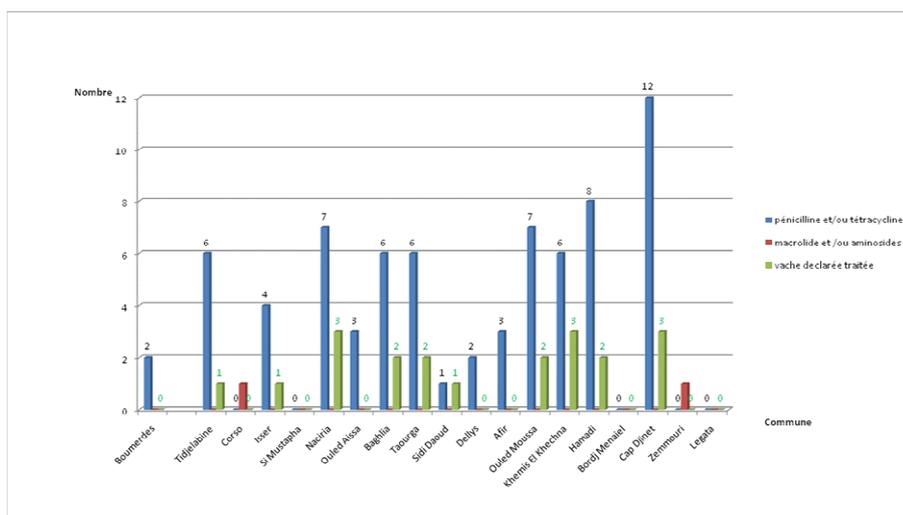
Notre enquête a porté sur les conditions d'élevages des vaches prélevées, leur état général, leur niveau de production ainsi que les mesures hygiéniques (désinfection, nettoyage...) adoptées par les éleveurs. Nous nous sommes particulièrement intéressés à la nature des traitements antibiotiques entrepris.

Une synthèse des réponses obtenues a été compilée dans un tableau en annexe.

La difficulté d'obtention de réponses, nous a conduit à considérer avec beaucoup de prudence et de circonspection les résultats obtenus. Néanmoins il ressort dans la plupart des communes étudiées que les déclarations de traitements antibiotiques antérieurs ne correspondaient pas aux résultats obtenus.

A titre d'exemple dans la commune de Khemis El Khachna seules trois vaches sur six (aux prélèvements positifs) ont été déclarées comme traitées antérieurement et trois vaches sur sept pour la commune de Naciria.

Néanmoins, il faut garder à l'esprit que l'ensemble du lait testé dans le cadre de notre étude était destiné à la consommation humaine, certifié indemne de tout résidu par les éleveurs (vache traitée depuis plus de 1 mois).



**Figure 12 :** Histogramme représentant le nombre de vaches ayant reçu un traitement antérieur à un mois par commune dans la wilaya de Boumerdes *versus* nombre d'échantillons positifs pour les résidus d'antibiotiques recherchés.

# **DISCUSSION**

Le lait et les produits laitiers dérivés occupent une place importante dans la ration alimentaire de chaque citoyen algérien. Ainsi, selon une étude de la FAO, le lait a compté en 1990, pour 65,5 % dans la consommation de protéines d'origine animale, devançant largement la viande (22,4 %) et les œufs (12,1 %) (*FAO, Agrostat, 1992*). Au regard de l'effondrement du pouvoir d'achat du consommateur algérien, il est aisé de déduire que la part occupée par ce produit encore subventionné par l'état dans la ration alimentaire moyenne n'a fait que croître.

L'industrie laitière représente ainsi 20 % du secteur agroalimentaire algérien. Cette industrie était essentiellement contrôlée en 2002, par le groupement GIPLAIT qui assurait la collecte de plus de 660 millions de litres de lait. Environ 93 % de cette production était destinés à l'industrie de transformation laitière (*CAR/PP, 2002*). Or la présence de résidus inhibiteurs dans le lait résultant d'une antibiothérapie systémique ou locale peut être à l'origine de perturbations importantes des processus de fermentation et de maturation des produits laitiers tels que yaourts, fromages...

Notre présente étude a eu donc pour principal objectif de rechercher la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait cru produit dans deux wilayas du centre nord de l'Algérie : Alger et Boumerdes.

Devant l'absence de technique officielle codifiée par le législateur algérien, nous avons adopté la méthode officielle européenne de détection des résidus d'antibiotiques dans le lait qui est appliquée dans la communauté européenne depuis le 1 janvier 2002 (*Décision européenne 91/180/CEE ; Règlement CE N°1664/2006*).

Cette méthode a impliqué la mise au point et la réalisation de deux techniques: **un test d'acidification**: qui met en évidence l'éventuelle inhibition d'une souche de *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* C953 par l'échantillon de lait à tester et une **épreuve de confirmation** qui correspond à la réalisation de deux tests de diffusion en gélose l'une avec *Bacillus subtilis* et l'autre avec *Bacillus stearothermophilus*.

Le test d'acidification a permis dans un premier temps d'effectuer un premier screening (criblage) de l'ensemble des échantillons de lait prélevés, il a ainsi permis de rendre un résultat positif pour 73 échantillons sur un total de 600 échantillons collectés dans la wilaya de Boumerdes soit un pourcentage de 12,17 % d'échantillons positifs.

Ce test n'a en revanche pas permis de conclure définitivement pour deux échantillons qui ont été classés douteux. L'analyse des échantillons prélevés au niveau de la wilaya d'Alger, n'a révélé aucun échantillon positif aux résidus d'antibiotiques.

Afin de confirmer les résultats obtenus par la première technique d'acidification, nous avons délibérément choisi de soumettre l'ensemble des échantillons collectés à l'épreuve de confirmation de diffusion en gélose et non pas seulement ceux constatés positifs ou douteux. La technique de diffusion a permis de confirmer la positivité des 73 échantillons précédents et de lever toute ambiguïté sur les deux autres échantillons douteux, qui se sont révélés positifs par cette technique ce qui a permis de ramener le taux de positivité dans la wilaya de Boumerdes à 12,5 % dans nos conditions expérimentales.

Lors de l'épreuve de confirmation avec *B. stearothermophilus*, 97, 33 % des 75 échantillons positifs, des échantillons testés ont présenté des zones d'inhibition annulaires moyennes supérieures à  $12,50 \text{ mm} \pm 1,34 \text{ mm}$ . Ces échantillons sont considérés comme positifs pour les résidus de pénicilline et /ou tétracyclines. L'épreuve de confirmation avec *B. subtilis* n'a révélé que deux échantillons positifs aux macrolides et / ou aminosides soit un pourcentage de 2,67 %. Ces résultats ont confirmé la place prépondérante occupée par les pénicillines et les tétracyclines dans la thérapeutique en élevage laitier en Algérie. En effet, les résultats de l'enquête menée auprès des éleveurs ont révélé que deux spécialités d'intra-mammaires étaient essentiellement utilisées l'une contenait des tétracyclines et l'autre de la cloxacilline.

La négativité de la totalité des échantillons de lait prélevés dans la wilaya d'Alger ne permet pas pour autant de conclure avec certitude que tout le lait cru produit dans cette wilaya est exempt de tout résidu antibiotique. La taille de notre échantillon, limité à 160 pour des raisons d'accessibilité aux fermes et du fait du caractère souvent artisanal des élevages (moyens thérapeutiques réduits, production limitée et destinée à l'autoconsommation des fermiers), pourrait expliquer le pourcentage paradoxalement nul d'échantillons positifs, comparé aux résultats de la wilaya de Boumerdes pourtant limitrophe. Il est à relever que la plupart des fermes incluses dans notre étude pour cette seconde wilaya, était des exploitations de production incluses dans le programme de collecte du groupement GIPLAIT.

Il est aussi à noter que la méthode microbiologique d'analyse mise en œuvre et utilisant notamment *B. stearothermophilus* comme micro-organisme test se caractérise par un seuil de détection des antibiotiques au plus proche des LMR des antibiotiques les plus fréquemment utilisés dans le traitement des bovins laitiers tout en conservant un spectre d'antibiotique large.

En effet, la sensibilité de la nouvelle technique d'acidification est bien meilleure pour les deux familles d'antibiotiques les plus largement retrouvées dans les spécialités d'intramammaires utilisées en Algérie (beta-lactamines, tétracyclines). *Bacillus stearothermophilus* se caractérise en effet par une sensibilité remarquable aux bêta lactamines, sa croissance est inhibée selon Heeschen et al, par une concentration de 5 ppb d'ampicilline (**Heeschen et al., 1991**). La sensibilité de cette technique est particulièrement élevée pour la cloxacilline et la tétracycline. La technique d'acidification se caractérise ainsi par une sensibilité proche de la LMR pour la cloxacilline et à 50-100% de la LMR pour la tétracycline comparée à l'ancienne méthode utilisant *Streptococcus thermophilus* comme micro-organisme test qui n'offre pour les deux antibiotiques précédemment cités que des sensibilité respectives de 3 à 4 fois la LMR et de 2-4 fois la LMR (**Fabre et al., 2002**). Le risque de faux négatif avec des laits à concentration en résidus d'antibiotiques très faible proche des LMR est ainsi limité. L'épreuve de confirmation quant à elle montre une grande spécificité (**Fabre et al., 2002**).

L'addition de pénicillinase lors de la méthode de diffusion en gélose avec *B. stearothermophilus* aurait pu nous permettre d'identifier exactement la famille d'antibiotique incriminée. Malheureusement, cela s'est avéré impossible en raison de la non disponibilité de cette enzyme lors de notre expérimentation.

Nous nous devons de signaler une autre limite à notre méthode : son incapacité à détecter le chloramphénicol, bien que ce dernier est interdit chez les animaux de rente et que sa recherche ne soit pas incluse dans les protocoles de contrôle de routine en Europe.

L'indisponibilité de souches de référence telle que *B. subtilis* dans les laboratoires de contrôle algérien, outre le fait qu'elle a constitué une difficulté supplémentaire à surmonter lors de cette étude, a surtout révélé l'absence de procédure de recherche de résidus d'antibiotiques dans les laits produits en Algérie.

Et ce, en dépit de la législation algérienne relative à la qualité du lait qui rend obligatoire la recherche de résidus d'antibiotiques dans les laits crus, les laits déshydratés conditionnés, et les laits déshydratés destinés aux industries alimentaires. Les résultats de cette recherche se doivent d'être négatifs, soit « absence » d'antibiotiques dans les laits cités précédemment (*JORA N°35 du 1 Safar 1419 correspondant au 25 mai 1998*).

La fixation des modalités de cette recherche par le législateur algérien dans le cadre d'une méthode officielle de recherche des résidus d'antibiotique constitue également un impératif de plus en plus impérieux.

La présence de résidus d'antibiotiques outre les risques directes ou indirects relativement modérés qu'ils présentent pour le consommateur (*Corran & Waley, 1975 ; Dewdney et al., 1991 ; Wal, 1979 ; Sullivan et al., 2001*) peut constituer un véritable fléau pour l'industrie de transformation du lait en produits laitiers, notamment pour la fabrication de fromages et de beurres. Ces résidus peuvent être à l'origine de l'inhibition totale ou partielle des phénomènes fermentaires d'origine bactérienne (*Labie, 1981*). Ainsi, toutes les étapes de la transformation du lait en fromage peuvent être perturbées : il y a défaut de coagulation du lait et le caillé ressort de mauvaise qualité, une insuffisance de l'égouttage et le rendement de fabrication est diminué ; il y a une mauvaise maturation du fromage (consistance, couleur, odeur, goût modifiés) ainsi qu'une prolifération anarchique des bactéries coliformes insensibles aux antibiotiques et dont la multiplication n'est plus inhibée par les ferments lactiques. Concernant la fabrication du beurre, il y a une mauvaise acidification, une diminution du développement des germes d'arôme d'où pertes de goût et d'arôme, ainsi qu'une diminution du rendement de fabrication. Pour ces productions, les manifestations dues aux inhibiteurs sont diverses mais toutes ciblées sur les phénomènes liés aux bactéries et ferments lactiques. Ces conséquences technologiques dépendent essentiellement de la dose résiduelle d'inhibiteurs dans le lait collecté et la sensibilité des germes lactiques utilisés aux antibiotiques (*Gaudin, 1999 ; Guerin 2003 ; Labie, 1981*).

Il devient dès lors évident que les résidus inhibiteurs devraient constituer une préoccupation constante des industriels de la filière laitière en Algérie, à l'instar des autres pays, de par la dépréciation qualitative et quantitative du lait qu'ils provoquent.

Les résultats de notre étude ont montré qu'environ un échantillon de lait sur dix (1 sur 10) contenait des résidus d'antibiotique à des taux supérieurs ou égaux aux LMR. Or selon Form, 200 à 400 ml de lait d'une vache sous traitement à base de pénicillines peuvent rendre plus de 1000 litres de lait inaptes à la transformation (**Form, 2003**).

La mise en place d'un système de contrôle régulier pour ne pas dire systématique du lait destiné à la transformation devient dès lors nécessaire pour cette filière fortement encouragée par les pouvoirs publics actuellement et appelée à connaître un essor croissant dans les prochaines décennies. Les pertes économiques que ce type de résidu engendre chaque année pour les industries laitières européennes, sont estimées à des centaines de millions de dollars (CNIEL, 2008). A titre d'exemple, en laiterie française, une citerne contaminée par des résidus d'antibiotiques (soit jusqu'à 25 000 litres de lait) entraîne un manque à gagner correspondant à environ 11 450 euros, soit la valeur des produits finis (environ 0,46 euros par litre de lait transformé, compte tenu du paiement du lait, des frais de collecte et de transformation). Le lait impropre est alors dirigé vers les industries qui en font un usage non alimentaire, vendu environ 0,15 euros par litre : la laiterie perd donc 7750 euros par citerne contaminée (**Gedilaghine, 2005**). Selon les résultats de notre étude 12,5 % des laits testés étaient positifs à Boumerdes, ce qui serait suffisant pour rendre inapte à la transformation l'ensemble des laits collectés et mélangés. Nous avons en effet estimé la collecte moyenne du lait de la totalité des 137 exploitations étudiées au niveau de cette wilaya de à 8 658 L/ jour avec une production moyenne par vache et par jour de 14,43 L  $\pm$  3,36 L. N'ayant pas pu déterminer la quantité exacte d'antibiotiques présente dans le lait, la méthode microbiologique ne permettant dans le meilleur des cas qu'une appréciation approximative, nous ne pouvons conclure avec certitude sur ce dernier point.

Malgré son aspect qualitatif, la recherche de résidus d'antibiotique par la technique microbiologique reste une technique simple à mettre en œuvre et peu coûteuse comparée aux techniques immunologiques et chromatographiques dont le coût considérablement plus élevé ne permettrait certainement pas leur généralisation dans le cadre du contrôle laitier (**Kuhne et Ebrecht, 1994**).

Les méthodes microbiologiques manquant pour certaines de spécificité et de nature semi-quantitative le plus souvent, un test positif devrait être théoriquement confirmé par une technique quantitative spécifique comme l'HPLC ou la CL/SM, mais ceci est très souvent impossible pour des raisons techniques et économiques évidentes (**Delepine et al., 2002**).

La mise en œuvre de test comme le système CHARM II® dans les laboratoires de contrôle permettrait d'identifier et de quantifier plus précisément les résidus d'antibiotiques et

constituerait une solution intermédiaire en termes de cout bien que certaines difficultés techniques persisteront (*Brouillet, 2002*).

Différentes méthodes permettent un assainissement du lait en éliminant les résidus d'antibiotiques : le traitement thermique du lait permettrait uniquement l'élimination d'une partie seulement des résidus dans la mesure où tous les antibiotiques ne présentent pas la même thermolabilité (*Hassani et al., 2008 ; Pillet & Toma, 1969*). De plus ce procédé de chauffage du lait implique d'une part, une montée en température supérieure à celle mise en œuvre au cours de la pasteurisation ou de la stérilisation du lait et d'autre part, un prix de revient élevé et une modification des propriétés technologiques du lait. L'utilisation de pénicillinase a été également étudiée, mais elle ne se révèle efficace que sur les résidus de pénicillines et reste extrêmement onéreuse (*Moretan & Roudaud, 1986*).

Par conséquent, seul un respect strict des modalités d'administration des antibiotiques en élevage laitier et ainsi qu'une observance rigoureuse des délais d'attente constitueraient une solution acceptable actuellement.

Le traitement antibiotique des mammites représentant la principale cause de contamination du lait par des résidus d'antibiotiques (*Fabre et al., 1996 ; Faroult ., 1998 ; Serieys et al., 1995*), l'administration d'antibiotiques par voie diathélique semble présenter le plus de risque. L'importance de la voie systémique dans l'origine des problèmes d'inhibiteurs est en général surestimée. La pollution d'une grande quantité de lait nécessite une quantité d'antibiotique importante, d'autant plus grande que la LMR est élevée. La possibilité d'une contamination directe d'origine mammaire est donc à privilégier (*Faroult et al., 2004*).

Cette contamination est souvent due à des pratiques à risque liées au non respect des règles d'identification des animaux à l'origine d'un passage accidentel à la traite d'une vache dont le lait n'aurait pas dû être livré, à l'inobservance des protocoles des produits administrés par voie intra-mammaire de traitement et enfin au non respect des délais d'attente souvent minorés, par ignorance ou volontairement pour écarter le moins de lait possible. En effet, tous les laits collectés dans le cadre de cette étude étaient effectivement destinés à la consommation humaine, certifié exempt de tout résidu et provenant uniquement de vaches déclarées saines par l'éleveur et/ou n'ayant subi aucun traitement antibiotique depuis au moins 1 mois. La mise en place d'un contrôle et/ou dépistage des résidus d'antibiotiques dans le lait devient donc un impératif pressant dans notre pays.

Ainsi, la mise en place d'un contrôle systématique permettrait l'évolution des pratiques vers un usage plus raisonné des antibiotiques et une plus grande rigueur de la prescription un renforcement de l'information et de la formation des éleveurs et idéalement la suppression de l'automédication.

Le vétérinaire algérien par sa maîtrise de la prescription et de la délivrance du médicament se trouvera renforcé dans son rôle essentiel dans la gestion des risques de résidus dans le lait.

**CONCLUSION  
ET  
PERSPECTIVES**

## *Conclusion & Perspectives*

Cette étude constitue une contribution à l'étude des résidus d'antibiotiques dans le lait cru produit dans deux wilayas du centre nord du pays : Alger et Boumerdes par deux techniques microbiologiques. Les résultats obtenus ont ainsi montré une contamination de 9,87 % des échantillons testés pour les deux wilayas.

Pénicillines et/ou tétracyclines ont été retrouvés dans 97,33 % des échantillons positifs sans pouvoir déterminer avec précision la nature exacte de la molécule incriminée. Une analyse du lait par des techniques de chromatographie liquide ou/et de spectrométrie de masse permettrait l'identification précise et la quantification fine des antibiotiques en présence.

Il serait également judicieux d'augmenter la taille des échantillons et d'élargir cette étude à d'autres bassins laitiers en Algérie.

Devant le cout et le manque de fiabilité des techniques d'assainissement du lait, les pertes engendrées pour l'industrie laitière, la mise en place d'un contrôle régulier du lait par cette méthode simple qui permet de détecter la plupart des antibiotiques au seuil de leur LMR dans des conditions de réalisation et de cout compatibles avec la réalité algérienne constitue dès lors une nécessité à la fois hygiénique et économique.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

## ***Références bibliographiques***

**Auckenthaler R., Michéa-Hamzhepour M., Pechère J.C., 1986:** In-vitro activity of newer quinolones against aerobic bacteria. *J Antimicrob Chemother. Suppl B*: 29-39.

**Aumont G., 1987:** Milk iodine residues after a post-milking iodophor teap-dipping. *Ann.Méd.Vét.*, 18,375-378.

**Balby, G.M., Hartman. P.A., 1985:** Highly sensitive paper-disc assays for detectiong penicillin in milk. *J.Food Prot.* 48. Pages 15-16

**Bell C., Rhoades J.R., Neaves P., Scanella D., 1995 :**An evaluation of the IDEXX SNAP test for the detection of -lactam antibiotics in ex-farm raw milks. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 49, 15-25.

**Bellamy W., Kawase K., Takase M., Tomita M., Wakabayashi H., 1992:** Antibacterial spectrum of lactoferin B, a potent bactericidal peptide derived from the N-terminal region of bovine lactoferin. *J.Appl.Bacteriol.*73:472-479.

**Benslimani A., Ammari H., Yala D., 2001 :** Action des antibiotiques in vivo. *Médecine du Maghreb.* N°91, 16.

**Black W.D., 1984:** The use of antimicrobial drugs in agriculture. *Can J Physiol Pharmacol.* Aug; 62(8):1044-8.

**Boisseau J., 1993:** Basis for the evaluation of the microbiological risks due to veterinary drug residues in food. *Vet. Microbiol.* 35, 187-192.

**Brouillet P., 1992 :** Les résidus inhibiteurs dans le lait de vache à la production. *Bull.Group.Tech.Vét.*, (4B-428) ,11-33.

**Brouillet P., 2002 :** Les tests rapides de détection des antibiotiques dans le lait. *Bull.Group.tech.vét.* (15), 183-189.

**Bryskier A., 1999 :** antibiotiques agents antibactériens et antifongiques. Ellipses édition, 1216p.

**Carman, R.J., van Tassell R.L., Wilkins T.D., 1993 :** The normal intestinal microflora: ecology, variability and stability. *Vet. Human Toxicol.* 35, 11-14.

### ***Références bibliographiques***

**Centre d'Activités Régionales pour la Production plus Propre (CAR/PP), 2002** : Prévention de la pollution dans l'industrie laitière. 164 p

**Chaslus-dancla E., 1999** : exemple de diffusion de mécanismes de résistance aux antibiotiques. Proceeding de L'AFMVP .Maison Alfort .153-157.

**CNERNA., 1981** : La qualité bactériologique du lait. Détection des antibiotiques et des sulfamides.92-97.

**Corpet D.E.,1993** : An evaluation of methods to assess the effect of antimicrobial residues on the human gut flora.*Vet Microbiol.* Jun; 35(3-4):199-212.

**Corran P.H., Waley S.G., 1975**: The reaction of penicillin with proteins. *Biochem J.* Aug; 149(2):357-64.

**Danmap, 2001** :Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, food and humans in Denmark. *The Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme*, Danish Veterinary Institute, Copenhagen, Denmark.

**Dayan A.D., 1993**: Allergy to Antimicrobial Residues in Food - Assessment of the Risk to Man. *Veterinary Microbiology*, 35, 213-226.

**Delepine B.,Hurtaud-Pessel D.,Sanders P.,2002** : Les méthodes récentes d'analyses physico-chimiques des résidus d'antibiotiques dans le lait. *Bull.Group.Tech.Vét.*,(15),191-196.

**Dewdney J.M., Edwards R.G, 1984** : Penicillin hypersensitivity - is milk a significant hazard? A review. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 77, 866-877.

**Dewdney J.M., Maes, L., Raynaud, J.P., Blanc F., Scheid, J.P., Jackson T., Lens S., Verschueren C., 1991**: Risk assessment of antibiotic residues of beta-lactams and macrolides in food products with regard to their immuno-allergic potential. *Food Chem. Toxic.* 29, 477-483.

**Direction des Services Vétérinaire (DSV)., 2004** : Dictionnaire des médicaments à usage vétérinaire, ISBN 9947-0-0392-2, 1<sup>o</sup> Édition, 322 pages.

**Doré K., Buxton J., Henry B., Pollari F., Middleton D., Fyfe M., Ahmed R., Michel P., King A., Tinga C., Wilson J.B.,2004**: Multi-Provincial Salmonella Typhimurium Case-Control Study

### **Références bibliographiques**

Steering Committee. Risk factors for Salmonella typhimurium DT104 and non-DT104 infection: a Canadian multi-provincial case-control study. *Epidemiol Infect.* Jun; 132(3):485-93.

**Duflocq F., 1982 :** Les résidus d'antibiotiques dans le lait après un traitement par voie intra mammaire. Thèse pour le doctorat vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort. 92 p.

**Euzeby J.P., 2007 :** Dictionnaire de bactériologie vétérinaire. 2 AVRIL 2001.7MAI 2007.Ecole nationale vétérinaire de Toulouse.

**Fabre J.M., Moretain J.P., Ascher F., Brouillet P., Berthelot X., 1996 :** Les principales causes d'inhibiteurs dans le lait. Résultats d'une enquête dans un millier d'élevages français. *Bull. Group. Tech. Vét.*, -3-B.-522, 27-31.

**Fabre J.M., Gardey L., Lherbette L., De Boisseson M., Berthelot X., 2000 :** Détection des résidus de céfalexine dans le lait en cas d'allongement de la durée du traitement par voie intra mammaire. *Revue Méd. Vét.*, 151, 10, 965-968.

**Fabre J.M., Moretain J.P., Berthelot X., 2002 :** Evolution de la méthode interprofessionnelle de recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait. *Bull.Group.Tech.Vét.* (15) ,172-178.

**Faroult B.,1998 :** Stratégie de traitement des mammites cliniques. *Bull. Group. Tech. Vét.*, 599, 27-33.

**Faroult B., Lepoutre D., Brouillet P., Le Page P., 2004 :** Mammites des bovins (cliniques et subcliniques) : démarches diagnostiques et thérapeutiques. *La Dépêche technique*, supplément technique n°87 à *La Dépêche* du 20 décembre 2003 au 2 janvier 2004, 39 p.

**Ferrini A.M., Mannoni V., Aureli P., 1997:** The combined platesmicrobial assay (CPMA) for the detection of  $\square$ B-lactam, sulfonamide, streptomycin and tetracycline residues in meat. *Arch. Lebensmittelhyg.*48, 133-135

**Form G., 2003 :**Les résidus inhibiteurs dans le lait. Evolution des méthodes de détection : Facteurs de risques en région Rhône-alpes. *Thèse Méd. Vét.* Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.102 p.

**Fredericci-Mathieu C.,2000 :** Résidus dans le lait et sécurité alimentaire : quels risques ? Quels moyens de maîtrise ? *Bull.Group.tech.vét.* (8), 99-102 .

**Frère J.M., Klein D., Ghuysen J.M., 1980 :** Enzymatic method for rapid and sensitive determination of  $\beta$ -lactam antibiotics. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 18, 506-510.

## ***Références bibliographiques***

**Galesloot Tr.E., Hassing F., 1962:** A rapid and sensitive paper disc method for the detection of penicillin in milk. *Neth. Milk Dairy J.*, 16, 89-95.

**Gaudin P., 1999 :** Origines et conséquences des substances dites inhibitrices dans la filière lait – étude au niveau d'un groupe laitier-. *Thèse Méd. Vét., Nantes.*

**Gedilaghine V., 2005 :** la rationalisation du traitement des mammites en exploitation laitière conception et réalisation d'une enquête d'évaluation de la mise en place de l'action gtv partenaire dans le département de la manche. *Thèse Méd. Vét. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort* .106 p.

**Gehring R., Smith G.W., 2006 :** An overview of factors affecting the disposition of intramammary preparations used to treat bovine mastitis. *J Vet Pharmacol Ther.* Aug;29(4):237-41.

**Greenwood D., 1995:** inhibitors of bacterial cell wall synthesis. Ind. Greenwood (Ed), Antimicrobial chemotherapy. Third ed. Oxford University Press, New York.

**Guerin A., 2003 :** Mise en place d'une démarche de rationalisation du traitement des mammites des vaches laitières. Description des pratiques des éleveurs et des vétérinaires à la mise en place de l'action GTV partenaire en région Rhône-alpes. *Thèse Méd. Vét., Nantes.*

**Guiraud J.P., 1998:** microbiologie alimentaire. Edition Dunod. 652p.

**Hassani M., Lázaro R., Pérez C., Condón S., Pagán R.,2008 :**Thermostability of oxytetracycline, tetracycline, and doxycycline at ultrahigh temperatures. *J Agric Food Chem.* Apr 23;56(8):2676-80

**Heeschen W.H., Blüthgen A., 1991:** Veterinary drugs and pharmacologically active compounds. In: Residues and contaminants in milk products (pp. 16–39). *IDF Special Issue* No. 9101. Brussels, Belgium: *International Dairy Federation*

**Jacobs J., Klasens M., Pennings A.,1971:** Excretion of penicillin from normal mastitis quarters after intramammary treatment .*TIJDSCHR, Diergeneesk*,96,721-730.

**Jacquet J., Mme Steeg., 1953 :** Méthode microbiologique de diagnose et de titrage des antibiotiques dans le lait et les produits laitiers. *Ann. Fals. Fraudes*, 46, 5-14

**Jones G.M, Erin H.Seymour, 1988 :** cowside antibiotics residue testing. *journal of dairy science* Vol.71, N°6, 1691-1699.

## ***Références bibliographiques***

**Jurdy D.A., Asmar J.A. 1981** : Use of a simple fermentation to detect antibiotic residues in milk. *J.Food Prot.* 40: 250.

**Keck G.,1981** : Chloramphénicol : antibiotique à risque ? *Rec.Méd. Vét.*, 157 (6), 507-513.

**Knappstein K., Suhren G., Walte H.G, 2003** :Influence of milk frequency on withdrawal period after application of beta-lactam antibiotic based drugs' *Analytica Chimica Acta*, 483, 241-249

**Korsrud G.O., Salisbury C.D., Fesser A.C., MacNeil J.D., 1994:** investigation of Charm Test II receptor assays for the detection of antimicrobial residues in suspect meat samples. *Analyst.* 119(12):2737-41.

**Kumar A., Kharadia S., Piani M., 1997:** Immunoassays in capillaries. *United States Patent Application*, 5,624,850

**Kühne M. and Ebrecht A., 1994:** Microbial tests for residues – unsuitable for future detection strategies? In: Residues of veterinary drugs and mycotoxins in animal products. New methods for risk assessment and quality control. Proceedings of the teleconference held on Internet (*Listserv. Meatqual.*), April 15-August 31, pp. 63-66.

**Labie C.H.,1981** : Dispositions législatives destinées à éviter la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait. *Rec. Méd. Vét.*, **157** (2), 161-167.

**Lacasse P., 2001** : symposium sur les bovins laitiers .*CRAAQ* ; nouvelles approches pour combattre la mammite, 72-73 .76 p

**Larpent J.P., Sanglier J.J., 1989** : Biotechnologie des antibiotiques. Masson édition. 481p.

**Laurentie M., Sanders P.,2002** : Résidus de médicaments vétérinaires et temps d'attente dans le lait. *Bull.group.tech.vét.*, (15), 197-201.

**Luquet F.M., 1985** : Lait et produits laitiers (Tome I).Ed.Lavoisier, Paris

**Mitchell J.M., Griffiths M.W., McEwen S.A., McNab W.B., Yee A.J., 1998:** Antimicrobial drug residues in milk and meat: Causes, concerns, prevalence, regulations, tests, and test performance. *Journal of Food Protection*, 61, 742-756.

### ***Références bibliographiques***

**Moretain J.P., Roudaud B. 1986** : Etude de l'élimination des résidus d'antibiotiques dans le lait. *Publication de la FNLP*. Etude n°1 07/81, étude n°2 07/82, étude n°3 09/85, étude n°4 12/86.

**Moulin M., Coquerel A., 2002** : Pharmacologie Connaissance et Pratique. 2<sup>e</sup> édition. Paris:Masson. 845p.

**Nauciel C., 2000** : Bactériologie médicale .Paris : Edition Masson.275p.

**Neal M., 2003** : Pharmacologie médicale, DE BOECK, Paris, 105 pages

**Nuijens J.H., Van Berkel P.H.C., Schanbacher F.L., 1996** : Structure and biological actions of lactoferin. *Gland Bio neoplasia* 1 :285-295.

**OMS., 1961** : Rapport Technique N°210

**Page C.P., Curtis M.J., Sutter M.J., Walker M.C., Hoffman B.B., 1999** : Traduction de la 1<sup>e</sup> édition anglaise par Cheymol G., Pharmacologie intégrée, Édition de Boeck, Paris, 419-460 606.

**Pawelczak K., Makowski M., Kempny M., Dzik J.M., Gołos B., Rode W., Rzeszotarska B., 2002** : Sulfamide antifolates inhibiting thymidylate synthase: synthesis, enzyme inhibition and cytotoxicity. *Acta Biochim Pol.* 49(2):407-20.

**Perry J.E, Toney J.D, Leblanc A.L., 1967**: Effect of nitrofurantoin on the human fetus.. *Tex Rep Biol Med.* 1967 25(2):270-2.

**Petit S., 2005** : Dictionnaire des médicaments vétérinaires et des produits de santé animale commercialisées en France. Edition du point vétérinaire.

**Pilet C., Toma B., 1969** : Etude sur la thermostabilité de quelques antibiotiques. *J.Dairy Sci.*, 145(2) ,899-909.

**Poyart C., 2003** : Cours de Bactériologie générale P C E M 2, Faculté de Médecine Necker - Enfants Malades, 375-431.

**Prescot L.M., Harley J.P., Klein D.A., 2<sup>e</sup> Édition française, Traduction de la 5<sup>e</sup> Édition américaine par Bacq-Calberg CL, Dusart J., 2003** : Microbiologie, édition de Boeck, 805-825.

**Puyt J.D. , 2003** : Des résidus de médicaments très surveillés. Réussir lait élevage/réussir bovins viandes, dossier spécial médicaments vétérinaires, pages 13,14.

### **Références bibliographiques**

**Puyt J.D., Sachot E., 2001:** Résidus médicamenteux: les différents calculs du temps d'attente. *Le Point Vétérinaire N°212 (32)* 48-51.

**Reybroeck W., 2004 :** Les résidus antibiotiques dans le lait : utilisation des kits de dépistage des inhibiteurs', *Le Point Vétérinaire, 242*, 52-57.

**Romnée J.M, Raskim P, Istasse L, Laloux J, Guyot A., 1999 :** Incidence de facteurs alimentaires sur l'obtention de résultats faux positifs lors de la détection des antibiotiques dans le lait par la méthode Delvotest SP. *le lait*, 79,341-346.

**Schifferli D, Galeazzi RL, Nicolet J, Wanner M.,1982 :** Pharmacokinetics of oxytetracycline and therapeutic implications in veal calves. *J Vet Pharmacol Ther.*

**Schmid A.,1983 :** Chloramphenicol residues in foods of animal origin as a potential cause of aplastic anemia in man. *Fortschr Med.* Nov. 10; 101(42):1913-20.

**Schneider M.J., Vazquez-Moreno L., Bermudez-Almada Mdel C., Guardado R.B., Ortega-Nieblas M.,2005 :** Multiresidue determination of fluoroquinolones in shrimp by liquid chromatography-fluorescence-mass spectrometry *AOAC Int.* Jul-Aug; 88(4):1160-6.

**Scippo M.L, Maghuin-Rogister G.,2006 :** Résidus et contaminants des denrées alimentaires : 25 ans de progrès dans l'analyse, *Ann.Méd.Vét.*,150,125-130.

**Serieys F., Meffe N., Berny F., Lopez C., Baraton Y.,1995 :** Facteurs de risques de pollution du lait par des résidus inhibiteurs associés au traitement des mammites. *Rencontres Rech. Ruminants*, 2, 205-210.

**Siddique I.H., Loken K.I, Hoyt H.H.,1965 :**Concentration of neomycin, dihydrostreptomycin and polymyxin in milk after intramuscular or intramammary administration. *J.A.V.M.A.*, 146,594-599.

**Sischo WM., 1996:** Quality Milk and Tests for Antibiotic Residues. *Journal of Dairy Science*, 79, 1065-1073.

**Sperandio V., Torres A.G., Jarvis B., Nataro J.P., Kaper J.B.,2003 :** Bacteria-host communication: the language of hormones.*Proc Natl Acad Sci U S A.* Jul 22;100(15):8951-6.

**Suhren G., Beukers R., 1998 :**Delvotest SP for detection of cloxacillin and sulfamethoxazole in milk: IDF interlaboratory study. *Journal of AOAC International*, 81, 978-990.

## ***Références bibliographiques***

**Sullivan A., Edlund C. Nord C.E. 2001:** Effect of antimicrobial agents on the ecological balance of human microflora. *Lancet Infect. Dis.* 1, 101-114.

**Tankovic J., Mahjoubi F., Courvalin P., Duval J., Leclerc R., 1996:** Development of fluoroquinolone resistance in *Enterococcus faecalis* and role of mutations in the DNA gyrase *gyrA* gene. *Antimicrob Agents Chemother*; 40(11):2558-61.

**Tortura G.J., Funke B.R., Case C.L., 2003 :** Introduction à la Microbiologie. Adaptation française par Louise Martin, 7<sup>ème</sup> édition. Canada : bibliothèque nationale du Canada.945p.

**Verhnes R., Vandaele E., 2002 :** Détection rapide des inhibiteurs dans le lait. *Point Vét.*, 2002, **33** (227), 16-17

**Vermunt A.E.M., Stadhouders G., Loeffen R., Bakker., 1993:** Improvements of the tube diffusion method for detection of antibiotics and sulfonamides in raw milk. *Milk Dairy J.*47:31–40

**Wal J.M., 1979:** Evolution of the concept of residues in the products of animals raised with the use of antibiotics. *Ann Nutr Aliment.* 33(3):325-41.

**Wright W.W.,Harold L.C.,1960:** Antibiotic residues in milk. *J.am.Vet.med.Assoc*, (137),525-533.

## *Références bibliographiques*

### *Sites Internet*

**\*Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments(AFSSA), 2006 :** usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquence pour la santé humaine.214 p. *Consulté en mars 2008*

**\*Centre Interprofessionnel de Documentation et d'Information Laitière (CIDIL), 2008.** Le site du lait et des produits laitiers: le beurre: fabrication, écrémage, maturation.[www.cidilait.com](http://www.cidilait.com). *Consulté en mai 2008*

**\*Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière (CNIEL),, 2008 :** la maison du lait. [www.maison-du-lait.com](http://www.maison-du-lait.com) *Consulté en mai 2008*

**\*DSM food specialties, 2007 :** Présentation générale du Delvotest. [www.dsm.com](http://www.dsm.com) . *Consulté en juin 2008*

**\*FAO,1998 :** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine Collection FAO: Alimentation et nutrition n° 28 ,1998. [www.FAO.org](http://www.FAO.org). *Consulté en mai 2008*

**\*Food Safety, 2002.** Rapid test kits for the detection of antibiotics and sulphonamides in milk.[www.idexx.fr](http://www.idexx.fr). *Consulté en juillet 2008*

**\*INRA, 2005 :** la science et vous, apprendre, expérimenter : aliments fermentés. [www.inra.fr/les\\_recherches/annuaire\\_des\\_sites\\_web/agriculture/animal/sante\\_animale/centre\\_de\\_tours](http://www.inra.fr/les_recherches/annuaire_des_sites_web/agriculture/animal/sante_animale/centre_de_tours). *Consulté en mars 2008*

**\*Mitchell M., 2005.** Détection des résidus d'antibiotiques dans le lait de chèvre. Gouvernement de l'Ontario, canada. [www.gov.on.ca/](http://www.gov.on.ca/) Dernières modifications : 12 juin 2007

**\*Ramet J.P., 1985.** La fromagerie et les variétés de fromages du bassin méditerranéen.187 p [www.fao.org/DOCREP](http://www.fao.org/DOCREP). *Consulté en avril 2008*

# **ANNEXES**

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

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

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

ARTICLE 3 : Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum.

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

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

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

ARTICLE 6 : Le lait ne doit pas :

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

En outre, le lait ne doit pas subir :

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

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

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

ARTICLE 8 : Le lait doit répondre aux spécifications suivantes :

- germes totaux. : maximum deux (02) millions;
- salmonelle : absence;
- stabilité à l'ébullition : stable;
- acidité en grammes d'acide lactique/litre: maximum 1,8;
- densité : 1030 - 1034;
- matières grasses : 34 grammes par litre au minimum.

ARTICLE 9 : Le lait doit être conservé immédiatement après la traite à une température inférieure ou égale à six (06) degrés Celsius.

ARTICLE 10 : Le lait doit être mis à la disposition des entreprises laitières dans les conditions suivantes :

- le délai entre la traite et la délivrance du lait aux entreprises laitières, est fixé à quarante-huit (48) heures au maximum;
- le délai entre la traite et le premier traitement thermique est fixé à soixante-douze (72) heures au maximum.

ARTICLE 11 : Le lait reconstitué est obtenu par mélange d'eau et de lait en poudre tel que défini à l'article 12 ci-dessous.

ARTICLE 12 : Le lait reconstitué est dit :

- écrémé, en cas d'utilisation de lait en poudre écrémé extra grade c'est à dire titrant moins de 1,25% de matières grasses;
- entier, en cas d'utilisation de lait en poudre titrant au moins 26% de matières grasses.

ARTICLE 13 : Le lait recombinaé est obtenu par mélange d'eau, de matières grasses et de lait en poudre écrémé extra-grade titrant moins de 1,25% de matières grasses.

ARTICLE 14 : Des vitamines et/ou des additifs peuvent être incorporés aux laits reconstitués ou recombinaés, dans les conditions autorisées par la réglementation en vigueur.

ARTICLE 15 : Peuvent être soumis à la pasteurisation, le lait au sens de l'article 2 ci-dessus et les laits reconstitués et/ou recombinaés tels que définis aux articles 11 et 13 ci-dessus.

ARTICLE 16 : Le lait pasteurisé est le lait soumis à un traitement thermique aboutissant à la destruction de la presque totalité de la microflore banale et de la totalité de la microflore pathogène, en s'efforçant de ne pas affecter notamment la structure physique du lait, sa contribution, son équilibre chimique, ses enzymes et ses vitamines.

ARTICLE 17 : Pour que le lait soit pasteurisé, il doit être soumis :

- soit à une température de 63° C pendant une durée de 30 minutes;
- soit à une température de 85° C pendant une durée de 15 à 20 secondes;
- soit encore instantanément à une température de 95° C.

Le lait pasteurisé ainsi traité doit être refroidi dans les soixante (60) minutes qui suivent son traitement thermique, à une température n'excédant pas les six (06) degrés Celsius.

Pendant toute la durée de l'opération de pasteurisation, la température ne doit pas s'abaisser au-dessous du minimum requis par le procédé utilisé, en quelque point que ce soit de la masse de lait à traiter.

ARTICLE 18 : La gamme des laits pasteurisés, est fixée comme suit :

lait entier pasteurisé : sa teneur en matières grasses est de 2,8% minimum (28 grammes par litre de matières grasses minimum); lait partiellement écrémé pasteurisé : sa teneur en matières grasses est de 1,5% à 2% (de 15 à 20 grammes par litre de matières grasses);

lait écrémé pasteurisé : sa teneur en matières grasses est de 0,15% au maximum (1,5 grammes par litre de matières grasses au maximum).

ARTICLE 20 : Le lait pasteurisé doit être conservé à une température inférieure ou égale à six (6) degrés Celsius. La date de péremption du lait pasteurisé conditionné est fixée, au plus, à sept (7) jours à compter de la date de fabrication.

ARTICLE 21 : Peuvent être soumis à la stérilisation ou à la stérilisation ultra-haute température, par abréviation UHT, les laits tels que définis aux articles 2, 11 et 13 ci-dessus.

Les laits destinés à la transformation en laits stérilisés et laits stérilisés UHT ne doivent pas contenir plus de cinq cent mille (500 000) bactéries aérobies mésophiles par millilitre, avant le premier traitement thermique.

ARTICLE 22 : Le lait stérilisé et le lait UHT sont des laits soumis à un traitement thermique aboutissant à la destruction ou à l'inhibition totale des enzymes, des micro-organismes et de leurs toxines, dont la présence ou la prolifération pourrait altérer le lait ou le rendre impropre à la consommation.

ARTICLE 23 : Le lait stérilisé UHT est le lait dont la conservation est assurée par l'emploi successif des deux techniques suivantes :

- traitement par procédé de chauffage direct ou indirect, en flux continu, appliqué en une seule fois de façon ininterrompue pendant un temps très court (1 à 3 secondes) à une température d'environ 140° C;
- conditionnement aseptique dans un contenant stérile, hermétiquement clos, étanche aux liquides et micro-organismes et permettant de soustraire le lait à toute influence défavorable de la lumière.

ARTICLE 24 : Le lait stérilisé est le lait dont la conservation est assurée par l'emploi successif des deux (2) techniques suivantes :

- conditionnement dans un récipient hermétiquement fermé et étanche aux micro-organismes;
- traitement à une température de 120° C pendant 30 minutes.

ARTICLE 25 : Les laits tels que définis aux articles 2, 11 et 13 ci-dessus, destinés à la transformation en lait stérilisé ou lait stérilisé UHT, ne doivent pas contenir plus de cinq cent mille (500 000) germes aérobies mésophiles par millilitre avant le premier traitement thermique.

ARTICLE 26 : La gamme des laits stérilisés et stérilisés UHT, est fixée comme suit :

- lait stérilisé et lait stérilisé UHT entiers : leur teneur en matières grasses est de 2,8% au minimum (28 grammes par litre de matières grasses au minimum);
- lait stérilisé et lait stérilisé UHT partiellement écrémés : leur teneur en matières grasses est de 1,5 à 2% (15 grammes à 20 grammes par litre de matières grasses);
- lait stérilisé et lait stérilisé UHT écrémé : leur teneur en matières grasses est au plus 0,15% de matières grasses (1,5 grammes par litre de matières grasses).

ARTICLE 27 : Les laits stérilisés et stérilisés UHT, doivent rester stables jusqu'à leur date limite de consommation.

En outre, ils ne doivent pas :

- présenter de défauts organoleptiques tels que la protéolyse et les anomalies de goût ou d'odeur;
- coaguler, précipiter ou flocculer à l'ébullition;
- présenter une acidité titrable supérieure à 1,8 grammes par litre d'acide lactique;
- avoir une variation de pH supérieure à 0,2 unité, du fait de l'incubation;
- contenir un nombre de micro-organismes aérobies à 30° C supérieur à 10 par 0,1 millilitre.

ARTICLE 28 : Les dates limites de consommation des laits stérilisés et des laits stérilisés UHT sont fixées respectivement à cent cinquante (150) jours et quatre vingt dix (90) jours à compter de leur date de fabrication.

ARTICLE 29 : Le lait aromatisé est un lait pasteurisé, stérilisé ou stérilisé UHT, constitué exclusivement de lait écrémé ou non, sucré ou non, additionné de substance (s) aromatique (s).

ARTICLE 30 : Le lait aromatisé peut être stabilisé par l'emploi des substances suivantes :

- agar – agar ;
- alginates ;
- caraghénates ;
- pectines.

ARTICLE 31 : Selon le traitement thermique appliqué, les laits aromatisés doivent satisfaire aux spécifications des laits pasteurisés, stérilisés ou stérilisés UHT.

ARTICLE 32 : Le lait aromatisé pasteurisé doit être conservé à une température inférieure ou égale à six (6) degrés Celsius.

ARTICLE 33 : Le lait aromatisé emprésuré est préparé à partir d'un lait entier, partiellement écrémé ou écrémé, pasteurisé, stérilisé ou stérilisé UHT, additionné de sucre sous forme de saccharose ou de dextrose et de substance (s) aromatique (s) et coagulé par la présure.

ARTICLE 34 : Le lait aromatisé emprésuré peut recevoir l'adjonction de :

- lait en poudre écrémé ou non ;
- colorants autorisés ;
- ferments lactiques, sous réserve que le taux d'acidité, ne dépasse pas 0,6% au moment du conditionnement.

ARTICLE 35 : Selon le traitement thermique appliqué, les laits aromatisés emprésurés, doivent satisfaire aux spécifications des laits pasteurisés, stérilisés ou stérilisés UHT.

ARTICLE 36 : Le lait aromatisé emprésuré, doit être conservé à une température inférieure ou égale à six (6) degrés Celsius.

ARTICLE 37 : Le " lait gélifié aromatisé " ou " dessert lacté " ou " crème dessert ", est préparé avec du lait entier, du lait écrémé ou partiellement écrémé, pasteurisé, stérilisé ou stérilisé UHT, du sucre sous forme de saccharose ou de dextrose, de substances aromatiques, additionnés de stabilisateurs et gélifiants autorisés ou de matières amylacées.

En outre, des colorants alimentaires autorisés peuvent être ajoutés.

ARTICLE 38 : Selon le traitement thermique appliqué, les laits gélifiés aromatisés, doivent satisfaire aux spécifications des laits pasteurisés, stérilisés ou stérilisés UHT.

ARTICLE 39 : Le lait gélifié aromatisé, doit être conservé à une température inférieure ou égale à six (6) degrés Celsius.

ARTICLE 40 : Les laits destinés à la consommation des ménages sont conditionnés dans des emballages divisionnaires d'une contenance de 250 millilitres, 500 millilitres et un (1) litre.

Toutefois, les laits aromatisés emprésurés et les laits gélifiés aromatisés peuvent être conditionnés dans les emballages divisionnaires d'une contenance de 120 millilitres au minimum.

ARTICLE 41 : Les emballages employés pour le conditionnement des laits doivent être étanches, propres et inertes.

Les emballages doivent être, en tout état de cause, conformes aux dispositions du décret exécutif n°91-04 du 19 janvier 1991 susvisé.

ARTICLE 42 : Au titre de l'information du consommateur, l'étiquetage des laits de consommation, doit être conforme aux dispositions du décret exécutif n°90-367 du 10 novembre 1990 susvisé.

En application de l'article 6 du décret exécutif cité à l'alinéa précédent, l'emballage employé pour les laits de consommation doit faire ressortir, de manière visible, lisible et indélébile, les mentions suivantes :

1) la dénomination de vente :

- en ce qui concerne le lait pasteurisé et le lait stérilisé, la dénomination de vente doit être précisée par les mentions " entier ", " partiellement écrémé " ou " écrémé " selon la gamme des laits mis à la consommation ;
- s'agissant du lait aromatisé et du lait aromatisé emprésuré, la dénomination de vente doit être précisée par les mentions relatives à la nature de l'arôme ou du fruit utilisé ;
- quant au lait gélifié aromatisé, la dénomination de vente, doit être précisée par la mention de la substance aromatique utilisée ;
- dans tous les cas, le type de traitement thermique doit être précisé : pasteurisé, stérilisé ou stérilisé UHT.

2) la liste des ingrédients employés ;

3) la quantité nette exprimée en volume ;

4) la date limite de consommation ;

5) le nom ou la raison sociale ou la marque déposée et l'adresse de la personne physique ou morale responsable de la fabrication ;

6) les conditions particulières de conservation ;

7) le cas échéant, les conditions particulières d'utilisation.

ARTICLE 43 : Les laits destinés au consommateur final, doivent avoir au préalable subit les traitements thermiques tels que définis aux articles 16, 17,22 et 23 ci-dessus.

Toutefois, il est fait application des dispositions de l'article 2 du décret n°72-59 du 21 mars 1972 susvisé.

ARTICLE 44 : Les différents intervenants dans le processus de mise à la consommation du lait, doivent se conformer aux dispositions du présent arrêté dans un délai de six (6) mois à compter de sa publication au Journal officiel de la République algérienne démocratique et populaire.

ARTICLE 45 : Le présent arrêté sera publié au Journal officiel de la République algérienne démocratique et populaire.

*Extrait de la Décision de la Commission, du 14 février 1991, arrêtant certaines méthodes d'analyse et de test du lait cru et du lait traité thermiquement 91/180/CEE*

## **DÉTECTION DES ANTIBIOTIQUES ET DES SULFAMIDES**

### **OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION**

Le présent chapitre décrit le procédé de référence de détection des antibiotiques et des sulfamides dans le lait cru et le lait traité thermiquement.

Le procédé de référence comporte:

#### ***A. Un procédé qualitatif***

Ce procédé est le procédé initial qui permet de sélectionner les échantillons de lait contenant des antibiotiques et des sulfamides. Le procédé décrit est l'un des procédés basés sur l'emploi d'une souche de *Bacillus stearothermophilus*, variété *calidolactis*, ATCC 10149 comme organisme test. Ce procédé a été choisi comme étant représentatif pour ces épreuves de détection.

#### ***B. Un procédé de confirmation et d'identification de la pénicilline***

Ce procédé doit être utilisé pour confirmer les résultats de la «méthode A», identifier la pénicilline et en déterminer la concentration.

8	JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 35	Aouel Safar 1419 27 mai 1998	
ANNEXE I			
CRITERES MICROBIOLOGIQUES RELATIFS A CERTAINES DENREES ALIMENTAIRES			
TABLEAU I			
CRITERES MICROBIOLOGIQUES DES LAITS ET DES PRODUITS LAITIERS			
PRODUITS	n	c	m
<b>1. Lait cru :</b>			
— germes aérobies à 30° C	1	—	10 <sup>5</sup>
— coliformes fécaux	1	—	10 <sup>3</sup>
— streptocoques fécaux	1	—	abs/0,1ml
— <i>Staphylococcus aureus</i>	1	—	absence
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	1	—	50
— antibiotiques	1	—	absence
<b>2. Lait pasteurisé conditionné :</b>			
— germes aérobies à 30° C	1	—	3.10 <sup>4</sup>
— coliformes :			
* sortie usine	1	—	1
* à la vente	1	—	10
— coliformes fécaux			
* sortie usine	1	—	absence
* à la vente	1	—	absence
— <i>Staphylococcus aureus</i>	1	—	1
— phosphatase	1	—	négatif
<b>3. Lait stérilisé et lait stérilisé UHT (nature et aromatisé) :</b>			
— germes aérobies à 30° C	5	2	< 10/0,1 ml
— test de stabilité	5	0	négatif
— test alcool	5	0	négatif
— test chaleur	5	0	négatif
<b>4. Lait concentré non sucré :</b>			
— test de stabilité	5	0	négatif
— test alcool	5	0	negatif
— test chaleur	5	0	négatif
<b>5. Lait concentré sucré :</b>			
— germes aérobies à 30° C	5	2	10 <sup>4</sup>
— coliformes	5	0	absence
— <i>Staphylococcus aureus</i>	5	0	absence
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	5	0	absence
— levures et moisissures	5	0	absence
— <i>Salmonella</i>	5	0	absence
<b>6. Lait déshydraté conditionné (1) :</b>			
— germes aérobies à 30° C	5	2	5.10 <sup>4</sup>
— coliformes	5	2	5
— <i>Staphylococcus aureus</i>	5	0	absence
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	5	0	absence
— levures et moisissures	5	2	50
— <i>Salmonella</i>	5	0	absence
— antibiotiques	1	0	absence

**Résultats détaillés des diamètres des zones d'inhibition obtenues  
lors de l'épreuve de confirmation**

<i>Région</i>	<i>Nombre d'échantillons positifs</i>	<i>Famille d'antibiotique détectée</i>	<i>Diamètre de la zone d'inhibition(mm)</i>	<i>moyenne</i>
<b>Boumerdes</b>	02	tetracycline et/ou penicilline	12 , 12	12,00
<b>Tidjelabine</b>	06	tetracycline et/ou penicilline	12 , 12 , 12 , 10 , 12 , 12	11,67
<b>Corso</b>	01	macrolides et/ou aminoside	11	11,00
<b>Isser</b>	04	tetracycline et/ou penicilline	12 , 12 , 13 , 12	12,25
<b>Naciria</b>	07	tetracycline et/ou penicilline	15,13,13,12,30,15,30	14,00
<b>Ouled aissa</b>	03	tetracycline et/ou penicilline	10,10,10	10,00
<b>Baghlia</b>	06	tetracycline et/ou penicilline	12,13,25,12,13,13	14,67
<b>Taourga</b>	06	tetracycline et/ou penicilline	12,13,13,10,20,20	14,67
<b>Sidi Daoud</b>	01	tetracycline et/ou penicilline	12	12,00
<b>Dellys</b>	02	tetracycline et/ou penicilline	12,1	6,50
<b>Afir</b>	03	tetracycline et/ou penicilline	13,13,13	13,00
<b>Ouled Moussa</b>	07	tetracycline et/ou penicilline	13,13,13,13,12,12,12	12,57
<b>Khemis el hna</b>	06	tetracycline et/ou penicilline	14,15,14,12,12,12	13,17
<b>Hamadi</b>	08	tetracycline et/ou penicilline	10,11,10,10,15,32,30,10	26,86
<b>Cap Djinet</b>	12	tetracycline et/ou penicilline	14,15,11,12,12,11,10,10,10,10,10,11	11,33
<b>Zemmouri</b>	01	macrolides et/ou aminoside	10	10,00
<b>Total</b>	<b>75</b>			

**Tableau résumant les résultats obtenus au cours de l'enquête menée auprès des éleveurs sur les conditions d'hygiène et de production ainsi que sur les thérapeutiques entreprises.**

wilaya	commune	Nb de ferme	N° de la ferme	Désinfection		alimentation	Etat général des vaches	Nombre de vaches dont le lait a été prélevé	Moyenne de lait produit/vache/j	Nombre de vaches traitées	Cause du traitement	Antibiotique utilisé	
				type	fréquence								
Alger	Staouali	01	A01	javel	1*/7j	Fourrage et pâturage	moyen	15	15 à 20L	00	//////////	//////////	
	Baraki	01	A02	aucune	////////// //	pâturage	mauvais	05	10 L	00	//////////	//////////	
	Bab-ezzouar	01	A03	aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	04	12L à	00	//////////	//////////	
	Ain taya	01	A04	Eau savonneuse	1*/10 j	Fourrage CMV et pâturage	moyen	05	Pas moins de 15L	00	//////////	//////////	
	Bordj el kifan		07	A05	aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	08	13 à 15L	00	//////////	//////////
				A06	Grésil Ou javel	1*/7j	Fourrage Concentré et pâturage	moyen	05	15 L	00	//////////	//////////
				A07	aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	03	15L	00	//////////	//////////
				A08	aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	04	15 à 18L	00	//////////	//////////
				A09	Grésil	1*/15j	Fourrage et parfois concentré	moyen	04	15L	00	//////////	//////////
				A10	Grésil	1*/7 à 15j	Fourrage et pâturage	moyen	04	15 à 20L	00	//////////	//////////
				A11	aucune	////////// //	Fourrage	moyen	04	13L	00	//////////	//////////
	Cherragua	02	A12	Grésil	1*/mois	Fourrage	moyen	07	15L	00	//////////	//////////	
			A13	aucune	////////// //	Fourrage parfois CMV	moyen	07	15 à 20L	00	//////////	//////////	
	Douera	01	A14	aucun	//////////	Fourrage	moyen	08	15L	00	//////////	//////////	

			e	//								
El biar	01	A15	Eau savonneuse	1*/7j	Fourrage	mauvais	01	12L au maximum	00	//////////	//////////	
Zeralda	01	A16	aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	mauvais	04	10à15L	00	//////////	//////////	
Bordj el bahri	01	A17	aucune	////////// //	Fourrage	mauvais	02	12L	00	//////////	//////////	
Reghaia	03	A18	aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	05	15à25L	00	//////////	//////////	
		A19	aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	06	15L au minimum	00	//////////	//////////	
		A20	aucune	////////// //	Fourrage	Mauvais	01	10L au maximum	00	//////////	//////////	
Rouïba	04	A21	Javel ou autre	1*/7j	Fourrage	mauvais	03	10à12L	00	//////////	//////////	
		A22	Eau savonneuse	1*/mois	Fourrage et pâturage et parfois concentré	moyen	04	20L	00	//////////	//////////	
		A23	aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	04	15L	00	//////////	//////////	
		A24	aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	05	15à18L	00	//////////	//////////	
Khraissia	02	A25	aucune	////////// //	Fourrage	moyen	03	15L	00	//////////	//////////	
		A26	aucune	////////// //	Fourrage et parfois concentré ou CMV	moyen	03	20L	00	//////////	//////////	
Birtouta	02	A27	aucune	////////// //	Fourrage	mauvais	03	12à14L	00	//////////	//////////	
		A28	aucune	////////// //	Fourrage	moyen	04	12L	00	//////////	//////////	
Hraoua	03	A29	aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	06	15à18L	00	//////////	//////////	
		A30	javel	1*/7j	Fourrage et pâturage	moyen	04	20L	00	//////////	//////////	
		A31	javel	1*/7j	Fourrage et pâturage parfois CMV	moyen	05	25L	00	//////////	//////////	
Dar el beida	01	A32	Javel ou eau savonneuse	1*/15 à 20j	Fourrage et pâturage	moyen	04	20L	00	//////////	//////////	
Shaoula	01	A33	aucun	//////////	Fourrage	moyen	03	12à13L	00	//////////	//////////	

				e	//							
	Bab h'ssen	01	A34	Grésil	1*/mois	Fourrage	moyen	04	10à14L	00	//////////	//////////
	Draria	01	A35	aucune	////////// //	Fourrage	moyen	03	15L	00	//////////	//////////
Boumerdes	Boumerdes	09	B01	aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	mauvais	03	12L	00	//////////	//////////
			B02	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	mauvais	04	10 à 12L	00	//////////	//////////
			B03	Eau savonneuse	1*/7j	Fourrage et pâturage parfois du concentré	moyen	06+	15à20L	00	//////////	//////////
			B04	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	05	15à18L	00	//////////	//////////
			B05	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	03	12L	00	//////////	//////////
			B06	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	02	10L	00	//////////	//////////
			B07	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	mauvais	02	10L au maximum	00	//////////	//////////
			B08	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	04	15L	00	//////////	//////////
			B09	Grésil ou javel	1*/7à15j	Fourrage et pâturage	moyen	07 +	10à15L	00	//////////	//////////
			Tidjelabine	Tidjelabine	11	B10	Grésil ou javel et eau savonneuse	1*/mois en moyenne	Fourrage et pâturage	moyen	09+	Pas moins de 13L
B11	aucune	////////// //				Fourrage et pâturage	moyen	04	10à14L	00	//////////	//////////
B12	javel	1*/20j				Fourrage et pâturage	mauvais	03	15L	00	//////////	//////////
B13	Aucune	////////// //				Fourrage et pâturage	mauvais	02	10à12L	00	//////////	//////////
B14	grésil	1*/mois				Fourrage et pâturage	moyen	04	12à15L	00	//////////	//////////
B15	Aucune	////////// //				Fourrage et pâturage	moyen	02	15L au maximum	00	//////////	//////////
B16	aucune	////////// //				Fourrage et pâturage	moyen	04	15L	00	//////////	//////////
B17	Eau	1*/20j				Fourrage	moyen	08	20L	00	//////////	//////////

			savon neuse		et pâturage							
		B18	Aucun e	////////// //	Fourrage et pâturage	mauvai s	02	10à13L	00	////////// //	////////// //	
		B19	grésil	1*/mo is	Fourrage et pâturage	moyen	10+	15à20L	00	////////// //	////////// //	
		B20	Eau savon neuse	1*/5j	Fourrage et pâturage	moyen	06	15à18L	00	////////// //	////////// //	
Corso	07	B21	javel	1*/mo is	Fourrage et pâturage	moyen	07	18à20L	00	////////// //	////////// //	
		B22	aucun e	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	06	18à20L	00	////////// //	////////// //	
		B23	Aucun e	////////// //	Fourrage et pâturage	Mauvai s	02	10l	00	////////// //	////////// //	
		B24	aucun e	////////// //	Fourrage et pâturage	Moyen	04	10à13L	00	////////// //	////////// //	
		B25	javel	1*/15à 30j	Fourrage et pâturage	Moyen	13	10à15L	00	////////// //	////////// //	
		B26	Eau savon neuse	1*/mo is	Fourrage et pâturage	moyen	04	10à15L	00	////////// //	////////// //	
		B27	aucun e	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	10+	20L	00	////////// //	////////// //	
Isser	03	B28	Aucun e	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	03	13L	00	////////// //	////////// //	
		B29	aucun e	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	05+	15L	01	mammite	Lactaclox	
		B30	Aucun e	////////// //	Fourrage et pâturage	mauvai s	02	8à10L	00	////////// //	////////// //	
Si Mustapha	03	B31	Aucun e	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	02	10à13L	00	////////// //	////////// //	
		B32	Javel ou eau savon neuse	1*/20j	Fourrage et pâturage	moyen	05	15à18L	00	////////// //	////////// //	
		B33	javel	1*/mo is	Fourrage et pâturage	moyen	06	15L	00	////////// //	////////// //	
Naciria	07	B34	aucun e	////////// //	Fourrage et pâturage	Moyen	08+	20L	00	////////// //	////////// //	
		B35	aucun e	////////// //	Fourrage et pâturage	Moyen	04	15à18L	00	////////// //	////////// //	
		B36	Javel	1*/mo	Fourrage	moyen	06	20L	00	////////// //	////////// //	

			ou eau savonneuse	is	et pâturage							
			B37	aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	Moyen	04	15L	00	//////////	//////////
			B38	javel	1*/7à 10j	Fourrage et pâturage	moyen	05	15à18L	00	//////////	//////////
			B39	aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	10+	15à18L	03	Mammites	ampiclox
			B40	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	03	12à15L	00	//////////	//////////
Ouled Aissa	03		B41	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	Moyen	13+	12à15L	00	//////////	//////////
			B42	Javel ou grésil	1*/mois	Fourrage et pâturage	Moyen	06	15L	00	//////////	//////////
			B43	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	04	Rarement 15L	00	//////////	//////////
Baghlia	15		B44	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	03	12à14L	00	//////////	//////////
			B45	Javel ou eau savonneuse	1*/mois	Fourrage et pâturage	moyen	06	15à18L	00	//////////	//////////
			B46	aucune	////////// //	Fourrage et pâturage parfois CMV	moyen	07+	15L	00	//////////	//////////
			B47	aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	05	15à20L	00	//////////	//////////
			B48	aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	Moyen	06	15à18L	00	//////////	//////////
			B49	aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	07 +	18L	01	Abcès au niveau podale	Aucune information concernant les injections faites par le vétérinaire
			B50	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	04	15L	00	//////////	//////////
			B51	aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	05	10à15L	00	//////////	//////////
			B52	grésil	1*/mois	Fourrage et pâturage parfois	moyen	04	18à20L	00	//////////	//////////

					concentré						
			B53	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	mauvais	02	8à10L	00	////////// //////////
			B54	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	03	12à14L	00	////////// //////////
			B55	aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	05	15L	00	////////// //////////
			B56	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	Mauvais	01+	10L	01	mammite Aucune information concernant le traitement
			B57	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	mauvais	02	10L	00	////////// //////////
			B58	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	mauvais	02	8à10L	00	////////// //////////
Taourga	15		B59	aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	07+	15à20L	01	mammite diclomam
			B60	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	04	15L	00	////////// //////////
			B61	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	Moyen	04	15L	00	////////// //////////
			B62	javel	1*/15à 20j	Fourrage et pâturage	Moyen	02	8à10L	00	////////// //////////
			B63	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage parfois CMV	moyen	04	15L	00	////////// //////////
			B64	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	Moyen	03	15à18L	00	////////// //////////
			B65	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	02	10à12L	00	////////// //////////
			B66	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	02	10à12L	00	////////// //////////
			B67	Javel ou grésil	1*/mois	Fourrage et pâturage	Moyen	07+	15L	01	Fatigue et baisse de la production lactée Aucune information concernant les injections faites par le vétérinaire
			B68	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	03	15L	00	////////// //////////
			B69	Eau savonneuse	1*/15j	Fourrage et pâturage	moyen	04	12à15L	00	////////// //////////
			B70	Aucune	////////// //	Fourrage et	mauvais	02	15L	00	////////// //////////

					pâturage							
			B71	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	Moyen	07	15à20L	00	//////////	//////////
			B72	Javel	1*/mois	Fourrage et pâturage parfois concentré	moyen	03	15à18L	00	//////////	//////////
			B73	javel	1*/15à20j	Fourrage et pâturage	moyen	01	15L	00	//////////	//////////
	Sidi Daoud	09	B74	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	Moyen	03		00	//////////	//////////
			B75	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage et parfois CMV	Moyen	03	15à20L	00	//////////	//////////
			B76	javel	1*/mois	Fourrage et pâturage	Moyen	04	15à18L	00	//////////	//////////
			B77	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	Moyen	04	15L	00	//////////	//////////
			B78	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	02	15L	00	//////////	//////////
			B79	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	mauvais	02	8à10L	00	//////////	//////////
			B80	Javel	1*/mois	Fourrage et pâturage	moyen	06+	15à20L	01	mammite	Aucun nom n'a été donné concernant l'intramammaire utilisé par le vétérinaire
			B81	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	04	25L	00	//////////	//////////
			B82	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	Moyen	02	10à12L	00	//////////	//////////
	Dellys	11	B83	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	Mauvais	01	8L	00	//////////	//////////
			B84	Eau savonneuse	1*/15j	Fourrage et pâturage	Mauvais	03	8à10L	00	//////////	//////////
			B85	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	mauvais	01	8L	00	//////////	//////////
			B86	aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	04	10L	00	//////////	//////////
			B87	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	02	10à12L	00	//////////	//////////

			B88	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	Moyen	05	15à18L	00	////////// //	////////// //
			B89	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	Moyen	02	12L	00	////////// //	////////// //
			B90	javel	1*/mois	Fourrage et pâturage	moyen	05+	15à20L	00	////////// //	////////// //
			B91	javel	1*/mois	Fourrage et pâturage	Moyen	03	12L	00	////////// //	////////// //
			B92	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	02	10à12L	00	////////// //	////////// //
			B93	aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	04	15L	00	////////// //	////////// //
Afir	06		B94	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	Moyen	03	14à15	00	////////// //	////////// //
			B95	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	Moyen	03	15L	00	////////// //	////////// //
			B96	Javel ou grésil	1*/mois	Fourrage et pâturage parfois concentré	Moyen	07	20L	00	////////// //	////////// //
			B97	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	Moyen	06+	15L	00	////////// //	////////// //
			B98	javel	1*/45j	Fourrage et pâturage parfois CMV	moyen	04	15à18L	00	////////// //	////////// //
			B99	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	03	15L	00	////////// //	////////// //
Ouled Moussa	03		B100	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	Moyen	07 +	20à25L	00	////////// //	////////// //
			B101	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage parfois des vitamines	Moyen	09 +	20L	02	mammites	lactaclox
			B102	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	08	15à18L	00	////////// //	////////// //
Khemis El Khechna	05		B103	javel	1*/mois	Fourrage et pâturage	moyen	05+	15à18L	00	////////// //	////////// //
			B104	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	04	15L	00	////////// //	////////// //
			B105	aucune	////////// //	Fourrage et	moyen	10+	15à18L	03	mammites	lactaclox

					pâturage							
			B106	Javel	1*/mois	Fourrage et pâturage	Moyen	08	20L	00	//////////	//////////
			B107	Javel ou eau savonneuse	1*/15à30j	Fourrage et pâturage	moyen	09	20L	00	//////////	//////////
Hamadi	04		B108	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage parfois du CMV	Moyen	05+	15à18L	00	//////////	//////////
			B109	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	Moyen	03	15L	00	//////////	//////////
			B110	Javel et eau savonneuse	1*/mois	Fourrage et pâturage	Moyen	12+	15à18L	02	Infection post partum et mammites	Ampiclox mais aucun renseignement concernant les injections
			B111	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	13	15L	00	//////////	//////////
Bordj Menaïel	06		B112	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	01	13à15L	00	//////////	//////////
			B113	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	02	13à15L	00	//////////	//////////
			B114	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	01	10L	00	//////////	//////////
			B115	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	02	10L	00	//////////	//////////
			B116	grésil	1*/20j	Fourrage et pâturage	moyen	03	15L	00	//////////	//////////
			B117	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	mauvais	01	8à10L	00	//////////	//////////
Cap Djinet	09		B118	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage parfois du CMV	moyen	07+	15L	00	//////////	//////////
			B119	Javel	1*/mois	Fourrage et pâturage	Moyen	04	15à20L	00	//////////	//////////
			B120	Javel ou eau savonneuse	1*/20j	Fourrage et pâturage	Moyen	06 +	15à18L	02	mammites	Aucun renseignement
			B121	aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	Moyen	07+	15L	00	//////////	//////////

			B122	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	01	15L	00	//////////	//////////
			B123	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	Moyen	04	20L	00	//////////	//////////
			B124	Grésil	1*/mois	Fourrage et pâturage	Moyen	04	20L parfois plus	00	//////////	//////////
			B125	Javel ou grésil	1*/15à30j	Fourrage et pâturage	Moyen	07+	15L	01	Infection podale	Oxytetracycline en injection
			B126	aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	Moyen	04	15à18L	00	//////////	//////////
Zemmouri	07		B127	javel	1*/mois	Fourrage et pâturage parfois concentré	moyen	04	15L	00	//////////	//////////
			B128	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	Mauvais	02	10L	00	//////////	//////////
			B129	javel	1*/45j	Fourrage et pâturage parfois des vitamines	Moyen	05	15à16L	00	//////////	//////////
			B130	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	Moyen	02	15L	00	//////////	//////////
			B131	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	Moyen	02	12à14L	00	//////////	//////////
			B132	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	Mauvais	01	8à9L	00	//////////	//////////
			B133	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	mauvais	01	8à10L	00	//////////	//////////
Legata	04		B134	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	03	12à14L	00	//////////	//////////
			B135	Aucune	////////// //	Fourrage et pâturage	moyen	03	10à12L	00	//////////	//////////
			B136	Aucune	////////// //	Pâturage et fourrage	Mauvais	02	10L	00	//////////	//////////
			B137	Aucune	////////// //	Pâturage et rarement du fourrage	mauvais	01	10L	00	//////////	//////////

**Résultats par commune de l'épreuve de confirmation pour les deux wilayas versus déclarations  
de traitement éventuel par l'éleveur (antérieur à un mois)**

wilaya	commune	Nbre de ferme	Nbre d'échantillons analysés	Nbre d'échantillons positifs		Famille d'antibiotiques détectée	Nombre de vaches déclarées traitées
				avec B.stearothermophilus	avec B.subtilis		
Alger	Staouali	01	15	00	00	*****	00
	Baraki	01	05	00	00	*****	00
	Bab- ezzouar	01	04	00	00	*****	00
	Ain taya	01	05	00	00	*****	00
	Bordj el kifan	07	32	00	00	*****	00
	Cherragua	02	14	00	00	*****	00
	Douera	01	08	00	00	*****	00
	El biar	01	01	00	00	*****	00
	Zeralda	01	04	00	00	*****	00
	Bordj el bahri	01	02	00	00	*****	00
	Reghaia	03	12	00	00	*****	00
	Rouïba	04	16	00	00	*****	00
	Khraïssia	02	06	00	00	*****	00
	Birtouta	02	07	00	00	*****	00
	Hraoua	03	15	00	00	*****	00
	Dar el beida	01	04	00	00	*****	00
	Shaoula	01	03	00	00	*****	00
	Bab h'ssen	01	04	00	00	*****	00
	Draria	01	03	00	00	*****	00
<b>Total wilaya</b>	<b>19</b>	<b>35</b>	<b>160</b>	<b>00</b>	<b>00</b>	<b>*****</b>	<b>00</b>
Boumerdes	Boumerdes	09	36	<b>02</b>	00	pénicilline et/ou tétracycline	00
	Tidjelabine	11	54	<b>06</b>	00	pénicilline et/ou tétracycline	<b>01</b>
	Corso	07	46	00	<b>01</b>	Aminoside et/ou macrolide	00
	Isser	03	10	<b>04</b>	00	pénicilline et/ou tétracycline	<b>01</b>
	Si Mustapha	03	13	00	00	*****	00
	Naciria	07	40	<b>07</b>	00	pénicilline et/ou tétracycline	<b>03</b>
	Ouled Aïssa	03	23	<b>03</b>	00	pénicilline et/ou tétracycline	00
	Baghlia	15	62	<b>06</b>	00	pénicilline	<b>02</b>

						et/ou tétracycline	
	Taourga	15	55	<b>06</b>	00	pénicilline et/ou tétracycline	<b>02</b>
	Sidi Daoud	09	30	<b>01</b>	00	pénicilline et/ou tétracycline	<b>01</b>
	Dellys	11	32	<b>02</b>	00	pénicilline et/ou tétracycline	00
	Afir	06	26	<b>03</b>	00	pénicilline et/ou tétracycline	00
	Ouled Moussa	03	24	<b>07</b>	00	pénicilline et/ou tétracycline	<b>02</b>
	Khemis El Khechna	05	36	<b>06</b>	00	pénicilline et/ou tétracycline	<b>03</b>
	Hamadi	04	33	<b>08</b>	00	pénicilline et/ou tétracycline	<b>02</b>
	Bordj Menaiel	06	10	00	00	*****	00
	Cap Djinet	09	44	<b>12</b>	00	pénicilline et/ou tétracycline	<b>03</b>
	Zemmouri	07	17	00	<b>01</b>	Aminoside et/ou macrolide	00
	Legata	04	09	00	00	*****	00
<b>Total wilaya</b>	<b>19</b>	<b>137</b>	<b>600</b>	<b>73</b>	<b>02</b>	*****	<b>20</b>
***** *	*****	*****	*****	***** *	***** *	*****	
<b>Total général</b>	<b>38</b>	<b>172</b>	<b>760</b>	<b>73</b>	<b>02</b>	*****	<b>20</b>

*Liste des spécialités intra-mammaires contenant des antibiotiques homologués en Algérie  
(DSV, 2004)*

<b>Dénomination</b>	<b>Laboratoire</b>	<b>Composition</b>	<b>période de traitement</b>	<b>Présentation du médicament</b>	<b>Délai d'attente</b>
<i>SYNULOX LC</i>	Pfizer	Amoxicilline Prednisolone	En lactation	Seringue de 3g	4 traites

<b>MASTIJET FORT</b>	Intervet	Tétracycline Néomycine Bacitracine Prednisolone	En lactation	Seringue de 8g	8 traites (4 jours)
<b>MASTALONE</b>	Pfizer	Oxytetracycline Oléandomycine Néomycine Prednisolone	En lactation	Seringue de 10ml	*6 traites si une seringue par 24h *8 traites si une seringue par 12h
<b>MAMMITELE</b>	Biove	Cloxacilline Colistine	En lactation	Applicateur de 10ml	8 traites
<b>AMPICLOX</b>	Pfizer	Ampicilline Cloxacilline	En lactation	Seringue de 3g	4 traites
<b>DICLOMAM</b>	Vétoquinol	Ampicilline Dicloxacilline	En lactation	Seringue de 3g	6 traites
<b>DICLOMAM T</b>	Vetoquinol	Cloxacilline	Hors lactation	Seringue de 3g	<b>NUL</b>
<b>CLOXATARYL</b>	Phylaxia Sanofi	Cloxacilline	Hors lactation	Pommade intra mammaire	<b>NUL</b> sinon 15 jours en cas de parturition prématurée
<b>COLICLOX</b>	Schering Plough	Cloxacilline Colistine	En lactation	Injecteur de 10ml	8 traites
<b>CLOXAMAM</b>	Coopha vet	Cloxacilline	Hors lactation	Seringue de 9.1g	<b>NUL</b>
<b>FATROXIMIN pommade intra-mammaire</b>	Fatro spa	Rifaximine	Hors lactation	Seringue de 5ml	<b>NUL</b>
<b>KLOXERATE</b>	Fort Dodge	Cloxacilline	Hors lactation	***	7 jours
<b>ORBENIN H.L</b>	Pfizer	Benzathine cloxacilline	Hors lactation	Seringue de 3g	<b>NUL</b>
<b>ORBENIN L.A</b>	Pfizer	Cloxacilline	En lactation	***	7 traites
<b>RELEXINE TRAITEMENT SPECIORLAC</b>	Virbac	Cephalexine	En lactation	Seringue de 10g	6 traites
<b>TARICLONE HL</b>	Merial	Néomycine spiramycine	Hors lactation	Seringue de 5g	<b>NUL</b> sinon 10 traites en cas de parturition prématurée
<b>TRAITMAN H.L</b>	Virbac	Cloxacilline	Hors lactation	Injecteur de 8g	<b>NUL</b>
<b>VONAPEN H.L</b>	Biove	Cloxacilline	Hors lactation	***	<b>Nul</b> sinon 14 jours en cas de parturition prématurée
<b>VONAPEN H.L</b>	Intervet	Benzylpenicilline procaïne néomycine	hors lactation	***	<b>NUL</b> sinon 14 jours si parturition prématurée

## Contribution to the study of antimicrobials in raw milk produced in the Algérois

### Abstract

Produced living and fragile, milk is a product of large consumption which must meet stringent standards to ensure quality both microbiological that toxicological. A milk for human consumption should therefore be free from any type of contamination. Unfortunately,

the increasing use and often unwise molecules antibiotics leads very often by the presence of undesirable chemicals called "residue" in the milk produced by treated cows.

These residues can not only represent a danger to order allergic or toxic microbial for the consumer but can also cause heavy losses for the dairy processing industry.

Our study revealed by two separate microbiological techniques, contamination with antibiotic residues of 9.87% of samples collected on the two wilayas of Algiers and Boumerdes. Residues of penicillin and / or tetracycline have been the source of contamination of 97.33% of milk samples positive. Only two samples collected on 760 gave a positive result for macrolides and / or aminoglycosides.

Our study also attempted to better understand the reasons for such contamination by carrying out an investigation. The relevance of certain solutions had been discussed but the establishment of a systematic check of milk in our country remains imperative.

**Keywords:** Milk-Antibiotics-Control Method microbiological- Algérois

**المساهمة في دراسة المضادات**  
**للجراثيم الموجودة في الحليب الطازج**  
**المنتوج في مناطق الجزائر الوسطى**

**ملخص :**

يعتبر الحليب عنصر سريع التلف كما أنه كثير الإستهلاك و عليه فهو يخضع لمعالير متعسفة لضمان نوعية جيدة سواء من الناحية الميكروبيولوجية أو السمومية.

الحليب المخصص للإستهلاك البشري يجب أن يكون خالي من أي مكونات ملوثة لكن و لسوء الحظ إن الإستعمال المتزايد و الغير مضبوط للمضادات الحيوية ينتج عنه حليب مليء بمواد كيميائية غير مرغوبة و هي "الرواسب"

هذه الرواسب تؤدي إلى الحساسية، أو وجود الجراثيم و هي التي تشكل خطر على صحة المستهلك كما أنها تؤدي إلى خسائر كبيرة لمصانع إنتاج الحليب

إن دراستنا أظهرت باستخدامنا لتقنيتين ميكروبيولوجيتين محضة على وجود تلوث عبر رواسب المضادات الحيوية بنسبة 9,87% من العينات المجمعّة على مستوى ولايتي الجزائر و بومرداس فرواسب البنيسيلين و / أو التيتراسيكلين هي سبب تلوث 97,33% من ضمن العينات المجمعّة الموجبة أما فيما يخص الماكروليد و / أو التينوزيد فلم نجد سوى عينتين من ضمن 760 التي كانت موجبة و وجدت بها رواسب.

لقد حاولنا من خلال التحقيق أن نفهم أسباب التلوث الناتج عن إستعمال المضادات الحيوية و عليه يجب وضع حلول للتطبيق بطريقة نظامية في مصانع الإنتاج للحليب على مستوى البلاد.

الكلمات المفتاح : حليب - مضادات حيوية - مراقبة - أسلوب ميكروبيولوجي - الجزائر الوسطى

# **Contribution à l'étude des antimicrobiens dans le lait cru produit dans l'Algérois**

## **Résumé**

Produit vivant et fragile, le lait est un produit de large consommation qui doit répondre à des normes draconiennes, afin d'assurer une qualité irréprochable tant sur le plan microbiologique que toxicologique. Un lait destiné à la consommation humaine se doit par conséquent d'être exempt de tout type de contamination. Malheureusement, l'usage croissant et souvent irraisonné de molécules antibiotiques se solde très souvent par la présence de substances chimiques indésirables nommées « résidus » dans le lait produit par la vache traitée.

Ces résidus peuvent non seulement représenter un danger d'ordre allergique, toxique ou microbien pour le consommateur mais peuvent également être à l'origine de lourdes pertes pour l'industrie de transformation laitière.

Notre étude a permis de mettre en évidence, par deux techniques microbiologiques distinctes, une contamination par des résidus d'antibiotiques de 9,87 % des échantillons collectés sur les deux wilayas d'Alger et de Boumerdes. Les résidus de pénicillines et/ou de tétracyclines ont été à l'origine de la contamination de 97,33 % des échantillons de lait positifs. Seuls deux échantillons sur les 760 collectés ont rendu un résultat positif pour les macrolides et/ou aminosides.

Notre étude a également tenté de mieux comprendre les raisons de cette contamination par la réalisation d'une enquête. La pertinence de certaines solutions a été débattue mais la mise en place d'un contrôle systématique du lait dans notre pays reste impérative.

**Mots clés :** Lait- Antibiotiques- Contrôle-Méthode microbiologique-Algérois