



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة زيان عاشور-الجلفة

Université Ziane Achour -Djelfa

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم العلوم الفلاحية والبيطرية

Département des Sciences Agronomiques et Vétérinaires

## Projet de fin d'étude

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Alimentaires

Spécialité : Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire

Thème :

### Recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru : Synthèse bibliographique

Présenté par : GUERNA Mohamed

MAHAMMEDI Assem

Devant le jury composé de :

Président : LAHRECH T.

Promoteur : BOUMEHRES A.

Examineur 1: LAOUN K.

Examineur 2 : MAHI M.

Année Universitaire : 2020/2021

# Remerciements

*Mes vifs remerciements s'adressent : A vous, mes professeurs de toujours : mes chers parents, pour votre amour, pour tous vos sacrifices, et pour tous l'enseignement que nous avons transmis ; que dieu vous gardent. Nous remerciant Ali BOUMEHRES Maitre de conférences à la faculté des sciences de la nature et de la vie Université ZIANE Achour -Djelfa pour accepter l'encadrement de notre travail.*

*Aux personnes qui m'ont accompagné tout au long de ses deux années, je pense plus particulièrement à mes collègues et mes amis, pour les moments qu'on a passé ensemble.*

*Assem & Mohamed*





## Dédicace

*Au terme de ce travail, je tiens à remercier Dieu le tout puissant de m'avoir donné le courage, la volonté et la santé.*

*Je dédie ce travail, à mes très chers parents :*

*Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.*

*Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi*

*J'exprime ma profonde gratitude à mes collègues de master. Un grand merci à mes amis pour le soutien qu'ils m'ont toujours apporté, je n'oublierai jamais leur encouragement.*

*À tous les enseignants qui m'ont encouragé et soutenu pendant mon cursus.*

*Je remercie également tous ceux qui ont contribué de prêt ou de loin à la réalisation de mon mémoire.*

*A tous mes amies et mes collègues de la promotion 2020 /2021.*

*Assem & Mohamed*



# SOMMAIRE

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

**I- Introduction** 1

## **II- Chapitre 1 : Généralités sur le lait**

**II-1- Quelles définitions** 4

**II-2- Le lait en Algérie** 4

**II-3- Filière lait en Algérie** 4

**II-4- Compositions de lait** 5

**II-4-1- Caractères physico-chimiques du lait** 5

○ **II-4-1-1- Point de congélation** 5

○ **II-4-1-2- Point d'ébullition** 5

○ **II-4-1-3- Acidité du lait** 6

○ **II-4-1-4- Densité** 6

○ **II-4-1-5- pH** 6

**II-4-2- Composition Chimique** 6

○ **II-4-2-1- Eau** 7

○ **II-4-2-2- Glucides** 7

○ **II-4-2-3- Matière azotée** 8

○ **II-4-2-4- Lipides** 8

○ **II-4-2-5- Minéraux** 8

○ **II-4-2-6- Vitamines** 8

○ **II-4-2-7- Enzymes** 8

**II-4-3- Composition biologique** 8

○ **II-4-3-1-Flores microbiennes du lait** 8

○ **II-4-3-1-1- Flore originelle ou endogène** 9

○ **II-4-3-1-2- Flore de contamination** 9

○ **II-4-3-1-2-1- La flore d'altération** 9

○ **II-4-3-1-2-2- La flore pathogène** 9

**II-5- Les laits commercialisés** 9

**II-5-1- Le lait pasteurisé** 9

<b>II-5-2- Lait stérilisé</b>	10
<b>II-5-3- Lait concentré sucré</b>	10
<b>II-5-4- Lait aromatisé</b>	11
<b>II-5-5- Lait fermenté</b>	11
<b>II-5-6- Lait en poudre</b>	11

### **III-Chapitre 2 : Généralités sur les antibiotiques et leurs résidus dans le lait**

<b>III-1- Les antibiotiques</b>	13
<b>III-1-1- Définition</b>	3
<b>III-1-2- Classification et modes d'action</b>	13
○ <b>III-1-2-1- Mécanisme d'action des bêtalactamines</b>	14
○ <b>III-1-2-2- Mécanisme d'action des tétracyclines</b>	14
○ <b>III-1-2-3- Mécanisme d'action des aminosides</b>	14
○ <b>III-1-2-4- Mécanisme d'action des macrolides</b>	14
○ <b>III-1-2-5- Mécanisme d'action des quinolones</b>	14
○ <b>III-1-2-6- Mécanisme d'action des sulfamides</b>	14
<b>III-1-3- La pharmacocinétique d'antibiotiques</b>	15
○ <b>III-1-3-1- Absorption</b>	15
○ <b>III-1-3-2- Distribution</b>	15
○ <b>III-1-3-3- Métabolisme</b>	15
○ <b>III-1-3-4- Elimination</b>	16
○ <b>III-1-3-5- Facteurs de variation de l'excrétion des antibiotiques dans le lait</b>	16
<b>III-2- Les résidus d'antibiotiques</b>	16
<b>III-2-1- Définition</b>	16
<b>III-2-2- Origine des résidus d'antibiotiques</b>	17
<b>III-2-3- La limite maximale des résidus (LMR)</b>	17
<b>III-2-4- La dose journalière acceptable (DJA)</b>	17
<b>III-2-5- Le Délai d'attente</b>	17
<b>III-2-6- Les causes de contamination du lait par les résidus d'antibiotiques</b>	18
<b>III-2-7- Méthodes d'éliminations des résidus d'antibiotiques dans le lait</b>	19
○ <b>III-2-7-1- Le traitement thermique</b>	19
○ <b>III-2-7-2- Le traitement enzymatique</b>	19
○ <b>III-2-7-3- L'utilisation de bactéries sélectionnées pour leur antibiorésistance</b>	19

<b>III-2-8- Les problèmes liés à la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait</b>	<b>19</b>
○ <b>III-2-8-1- Les problèmes technologiques</b>	19
○ <b>III-2-8-2- Les problèmes sanitaires</b>	20
○ <b>III-2-8-2-1- Problèmes d'allergie</b>	20
○ <b>III-2-8-2-2- Problèmes toxiques</b>	20
○ <b>III-2-8-2-2-1-Toxicité directe</b>	20
○ <b>III-2-8-2-3- Risques cancérigènes</b>	20
○ <b>III-2-8-2-4- Risques bactériologiques</b>	20
○ <b>III-2-8-2-5- Modifications de la flore digestive du consommateur</b>	20
○ <b>III-2-8-2-6- Risques d'antibiorésistances</b>	21

## **IV-Chapitre 3 : Méthodes de recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait**

<b>IV-1-Introduction</b>	<b>23</b>
<b>IV-2- Méthodes semi quantitatives (méthodes de dépistage)</b>	<b>23</b>
<b>IV-2-1- Méthodes microbiologiques</b>	<b>23</b>
○ <b>IV-2-1-1-Méthode officielle de référence</b>	23
○ <b>IV-2-1-2- Testes d'inhibition</b>	27
○ <b>IV-2-1-2-1 Delvotest P<sup>ND</sup> et Delvotest SP<sup>ND</sup></b>	27
○ <b>IV-2-1-2-2- Copan test P<sup>ND</sup> et S 100<sup>ND</sup></b>	28
○ <b>IV-2-1-2-3- Valio T101<sup>ND</sup></b>	28
<b>IV-2-2- Méthodes enzymatiques-colorimétrique</b>	<b>28</b>
○ <b>IV-2-2-1-Penzym</b>	28
<b>IV-2-3-Méthodes immuno-enzymatiques</b>	<b>29</b>
○ <b>IV-2-3-1-Delvo X Press TM BL<sup>ND</sup></b>	29
○ <b>IV-2-3-2- Beta Star Combo</b>	29
○ <b>IV-2-3-3- MRL Test<sup>ND</sup></b>	30
○ <b>IV-2-3-4- Snap Bétalactamine<sup>ND</sup> et Snap Tétracycline<sup>ND</sup></b>	30
○ <b>IV-2-3-5- Système Charme II<sup>ND</sup></b>	30
○ <b>IV-2-3-6- TwinSensor</b>	31
○ <b>IV-2-3-7-ELISA Test</b>	31
<b>IV-3- Méthodes physico-chimiques</b>	<b>34</b>
<b>IV-3-1-Les méthodes chromatographiques</b>	<b>34</b>
○ <b>IV-3-1-1- La chromatographie liquide haute performance (HPLC)</b>	35
○ <b>IV-3-1-2-Chromatographie en phase gazeuse (CPG)</b>	36
○ <b>IV-3-1-3-Chromatographie sur couche mince (CCM)</b>	37
<b>IV-3-2- Méthode spectrométrique « spectrométrie de masse (SM)»</b>	<b>37</b>

## **V- Chapitre 4 : Revue de la littérature « Recherche des résidus des antibiotiques dans le lait cru »**

<b>V-1- Revue de la littérature</b>	39
<b>V-2- Recherche des résidus des antibiotiques dans le lait cru en Algérie</b>	40
<b>Discussion</b>	44
<b>Conclusion et recommandations</b>	46
<b>Références bibliographiques</b>	47

## Liste des tableaux

<b>Tableau1</b> : Composition moyenne du lait entier	7
--	---

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Modalités d'action des antibiotiques	15
<b>Figure 2</b> : Les différents mécanismes d'antibiorésistances	21
<b>Figure 3</b> : Epreuve d'acidification de référence avec le Delvotest MCS <sup>ND</sup>	25
<b>Figure 4</b> : Epreuve de confirmation	26
<b>Figure 5</b> : Expression des résultats de Delvotest	28
<b>Figure 6</b> : Lecture des bandelettes du Test de beta star Combo	30
<b>Figure 7</b> : ELISA type "compétition"	33
<b>Figure 8</b> : ELISA type "sandwich"	34
<b>Figure 9</b> : Schéma d'un système HPLC	36



## Liste des abréviations

**CCM** : Chromatographie sur Couche Mince.

**CPG** : Chromatographie en Phase Gazeuse.

**°D** : degré Dornic

**DJA** : Dose Journalière Acceptable.

**DLC** : La date limite de consommation.

**ELISA** : Enzyme LinkedImmunoSorbentAssay.

**FAO** : Food and agriculture organisation

**g**: Gramme

**HPLC** : Chromatographie Liquide Haute Performance.

**HTST** : hightemperature short time

**l** : Litre.

**LMR** : Limite Maximale de Résidu.

**min** : Minute.

**ml** : MilliLitre.

**OMS** : Organisation de la Santé Mondiale.

**pH** : Potentiel Hydrogène

## RESUME

Le lait cru est un aliment complet qui garantit un apport non négligeable en protéines, lipides, sels minéraux et en vitamines. Cependant, la présence des résidus d'antibiotiques dans ce produit présente un problème majeur sur la santé publique et l'industrie laitière.

L'objectif de notre travail est réalisé une synthèse bibliographique sur la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru.

A la lumière aux certaines travaux de recherche en Algérie, on peut dire que les antibiotiques sont les molécules les plus utilisées en élevage laitier en traitement curatif, préventif ou en complémentation dans l'alimentation animale. La contamination de lait cru par les résidus de bêtalactamines et de tétracyclines est majoritaire par ce que la majorité des éleveurs utilisent ses molécules pour le traitement des mammites bovines. Les tests les plus utilisés dans les études c'est le Delvotest et le test Beta-Star.

Le non-respect du délai d'attente et le mauvais usage d'antibiotiques étaient les principales erreurs commises par les éleveurs lors d'un traitement des bovins.

Le contrôle et la surveillance d'antibiotiques et de leurs résidus par les collecteurs est particulièrement important pour assurer la sécurité sanitaire de lait et ainsi protéger le consommateur.

**Mots clés :** lait cru, antibiotiques, résidus.

### الملخص

الحليب الخام هو غذاء متكامل يضمن كمية جيدة من البروتينات والدهون والمعادن والفيتامينات ، ومع ذلك ، فإن وجود بقايا المضادات الحيوية في هذا المنتج يمثل مشكلة كبيرة للصحة العامة وصناعة الألبان الهدف من عملنا هو إجراء ملخص بحث مكتبي على الكشف عن بقايا المضادات الحيوية في الحليب الخام.

في ضوء بعض الأعمال البحثية في الجزائر، يمكننا القول أن المضادات الحيوية هي الجزيئات الأكثر استخدامًا في تربية ماشية الألبان كعلاج علاجي أو وقائي أو كمكمل غذائي في علف الحيوانات. يعد تلوث الحليب الخام ببقايا البيتا لاكتام و التتراسيكلين سائدًا لأن غالبية المربين يستخدمون جزيئاته لعلاج التهاب الضرع عند الأبقار. الاختبارات الأكثر استخدامًا

في الدراسات هي اختبار Delvotest واختبار Beta-Star

عدم الالتزام بمهلة الانتظار و كذلك الاستخدام السيئ للمضادات الحيوية من الأخطاء الرئيسية التي يرتكبها المربون عند معالجة الماشية.

إن مراقبة المضادات الحيوية ومخلفاتها من طرف الجامعين أمر مهم بشكل خاص لضمان سلامة الحليب وبالتالي حماية المستهلك.

**الكلمات المفتاحية:** حليب خام ، مضادات حيوية ، مخلفات.

## **ABSTRACT**

Raw milk is a complete food that guarantees a large amount of proteins, fats, minerals and vitamins, however, the presence of antibiotic residues in this product is a big problem for public health and the dairy industry.

The objective of our work is a bibliographic synthesis on the search for antibiotic residues in raw milk.

In light of some research in Algeria, we can say that antibiotics are the molecules most used in dairy farming as a curative, preventive e treatment or as a supplement in animal feed. The contamination of raw milk by beta-lactam and tetracycline residues is predominant because the majority of breeders use its molecules for the treatment of bovine mastitis. The tests most used in studies are the Delvotest and the Beta-Star test.

Failure to meet the with draw al period and the misuse of antibiotics were the main mistakes made by farmers when treating cattle.

The control and monitoring of antibiotics and their residues by collect or sis particularly important to ensure the safety of milk and thus protect the consumer.

**Keywords:** raw milk, antibiotics, residues.

## I-Introduction

Le lait le premier aliment de l'homme .Il est le seul à pouvoir revendiquer en tout temps et tous lieux le statut d'aliment universel, au moins pour la première partie de la vie de l'être humain. Il est un aliment complet qui garantit un apport non négligeable en protéines, lipides, sels minéraux notamment calcium et phosphore et en vitamines (**CHEFTEL, 1996**).

Les besoins algériens en lait et produits laitiers sont considérables. Avec une consommation moyenne de 110 litres de lait par habitant et par an, estimée à 115 litres en 2010, l'Algérie est le plus important consommateur de lait dans le Maghreb. Microbiologiquement, le lait est un substrat instable, car il constitue un milieu de culture favorable à la prolifération d'une flore microbienne variée. Pour assurer une bonne protection pour le consommateur, il convient de maîtriser les conditions de conservation, et également les conditions d'hygiène lors de la traite jusqu'au produit fini (**GUIRAUD, 1998**).

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

La présence de résidus inhibiteurs dans le lait notamment, les antibiotiques, est un critère majeur de mauvaise qualité. Ces derniers restent parmi les molécules les plus utilisées en élevage laitier, dont leur usage, en traitement curatif, préventif ou en complémentation dans l'alimentation animale, conduit inévitablement à la présence de résidus dans le lait (**BOULTIF, 2015**).

L'utilisation raisonnée d'antibiotiques ne remet pas en cause leur utilité dans le cas de maladies infectieuses, mais cette utilisation doit être prudente, en particulier à cause du contexte actuel d'antibiorésistance (**SAVIC, 2018**).

Pour toutes ces raisons, il importe que les denrées d'origines animales notamment le lait soit exempte de toute trace d'antibiotiques lors de leur mise sur le marché.

Dans ce contexte nous avons réalisé une synthèse bibliographique sur la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru. Cette synthèse comprend quatre chapitres :

- Le premier aborde des généralités sur le lait.
- Le deuxième discute des généralités sur les antibiotiques et leurs résidus dans le lait.

- Le troisième décrit les méthodes de recherche des antibiotiques dans le lait.
- Le dernier chapitre est une revue de la littérature sur les travaux de recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru au niveau de différentes régions en Algérie.

# Chapitre 1

## II-Chapitre 1 : Généralités sur le lait

### II-1- Quelles définitions

Le lait est un liquide blanc, deux fois plus visqueux que l'eau, de saveur légèrement sucrée et d'odeur peu accentuée, secrété par les glandes mammaires des femelles de mammifères (**DEBRY et GERARD, 2001**).

Le lait a été défini en 1908 au cours du Congrès International de la Répression des Fraudes à Genève comme étant : le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, produit par les cellules sécrétrices des glandes mammaires, il doit être recueilli proprement et ne pas contenir du colostrum (**POUGHEON et GOURSAUD, 2001**).

Le lait cru doit être porté à l'ébullition avant consommation (car il contient des germes pathogènes). Il doit être conservé au réfrigérateur et consommé dans les 24h (**FREDOT, 2006**).

### II-2- Le lait en Algérie

Le lait est retenu par les pouvoirs publics comme une source principale des protéines animales des populations .Ce pendant des politiques d'état ont été adoptées, des instruments sont mis en place depuis l'indépendance à partir de l'importation contenue des produits laitiers sous l'effet de développement démographique et le taux d'urbanisation a considérablement augmenté (**SRAIRI et al., 2007**).

L'Algérie est le premier consommateur laitier du Maghreb et le second pays au monde importateur de lait et de ses dérivés avec un marché annuel estimé, en 2004, à 1,7 milliard de litres (**BENELKADI, 2007**).

### II-3- Filière lait en Algérie

La filière lait en Algérie se trouve actuellement dans une phase critique, face à une production locale insuffisante, aggravée par un taux de collecte très faible et une augmentation des prix de la matière première sur les marchés internationaux. La production laitière en Algérie, régulièrement croissante depuis les années 80, est très faiblement intégrée à la production industrielle des laits et dérivés (**BENCHARIF, 2001**).

En Algérie, la filière s'articule autour de trois maillons principaux :

- En amont, une grande diversité d'élevages bovins,
- les organismes de collecte et de transformation à la fois étatiques et privés,
- les systèmes de mise en marché et les consommateurs.

L'émergence en amont d'un élevage laitier en mesure d'assurer les approvisionnements nécessaires conséquents en lait, représente la principale condition pour le développement de cette filière (BELHADIA *et al.*, 2009).

## II-4- Compositions de lait

### II-4-1- Caractères physico-chimiques du lait

Les principales propriétés physico-chimiques utilisées dans l'industrie laitière sont la masse volumique et la densité, le point de congélation, le point d'ébullition et l'acidité (AMIOT *et al.*, 2002).

#### II-4-1-1- Point de congélation

Ont pu montrer que le point de congélation du lait est légèrement inférieur à celui de l'eau pure puisque la présence de solides solubilisés abaisse le point de congélation. Cette propriété physique est mesurée pour déterminer s'il y a addition d'eau au lait. Sa valeur moyenne se situe entre  $- 0.54$  et  $- 0.55^{\circ}\text{C}$ , celle-ci est également la température de congélation du sérum sanguin. On constate de légères fluctuations dues aux saisons, à la race de la vache, à la région de production. On a par exemple signalé des variations normales de  $- 0.530$  à  $- 0.575^{\circ}\text{C}$ . Le mouillage élève le point de congélation vers  $0^{\circ}\text{C}$ , puisque le nombre de molécules, autres que celles d'eau, et d'ions par litre diminue (NEVILLE et JENSEN, 1995).

#### II-4-1-2- Point d'ébullition

on définit le point d'ébullition comme la température atteinte lorsque la pression de vapeur de la substance ou de la solution est égale à la pression appliquée. Ainsi comme pour le point de congélation, le point d'ébullition subit l'influence de la présence des solides solubilisés. Il est légèrement supérieur au point d'ébullition de l'eau, soit  $100.5^{\circ}\text{C}$  (AMIOT *et al.*, 2002).



### II-4-1-3- Acidité du lait

Selon **JEAN et DIJON (1993)**, l'acidité du lait résulte de l'acidité naturelle, due à la caséine, aux groupes phosphate, au dioxyde de carbone et aux acides organiques et de l'acidité développée, due à l'acide lactique formé dans la fermentation lactique. L'acidité titrable du lait est déterminée par dosage par une solution d'hydroxyde de sodium en présence de phénolphtaléine. Bien que l'acide lactique ne soit pas le seul acide présent, l'acidité titrable peut être exprimée en grammes d'acide lactique par litre de lait ou en degré Dornic ( $^{\circ}\text{D}$ ).  $1^{\circ}\text{D} = 0.1\text{g}$  d'acide lactique par litre de lait. Un lait cru au ramassage doit avoir une acidité  $\leq 21^{\circ}\text{D}$ . Un lait dont l'acidité est  $\geq 27^{\circ}\text{D}$  coagule au chauffage ; un lait dont l'acidité est  $\geq 70^{\circ}\text{D}$  coagule à froid.

### II-4-1-4- Densité

La densité du lait d'une espèce donnée, n'est pas une valeur constante, elle varie d'une part, proportionnellement avec la concentration des éléments dissous et en suspension et d'autre part, avec la proportion de la matière grasse. La densité du lait de vache est comprise entre 1030 et 1033 à une température de  $20^{\circ}\text{C}$ , à des températures différentes, il faut effectuer une correction. La densité est mesurée par le thermo-lacto-densimètre (**ALAIS, 1984**).

D'après **VIGNOLA (2002)**, la densité du lait augmente avec l'écémage, et diminue avec le mouillage.

### II-4-1-5- pH

Le pH du lait de vache est compris entre 6,5 et 6,7 (**GOURSAUD, 1985**).

### II-4-2- Composition Chimique

Les principaux constituants du lait par ordre croissant selon **POUGHEON et GOURSAUD (2001)** sont :

- L'eau, très majoritaire,
- Les glucides principalement représentés par le lactose,
- Les lipides, essentiellement des triglycérides rassemblés en globules gras,
- Les sels minéraux à l'état ionique et moléculaire,
- Les protéines, caséines rassemblées en micelles, albumines et globulines solubles,

- Les éléments à l'état de trace mais au rôle biologique important, enzymes, vitamines
- et oligoéléments.

**Tableau1** : Composition moyenne du lait entier (FREDOT, 2006).

Composants	Teneurs (g /100g)
Eau	89.5
Dérivés azotés	3.44
Protéines	3.27
Caséines	2.71
Protéines solubles	0.56
Azote non protéique	0.17
Matières grasses	3.5
Lipides neutres	3.4
Lipides complexes	<0.05
Composés liposolubles	<0.05
Glucides	4.8
Lactose	4.7
Gaz dissous	5% du volume du lait
Extrait sec total	12.8g

#### II-4-2-1- Eau

L'eau reste le constituant le plus important pondéralement avec 900 à 910 g/l soit 86 à 88% (PAYNES, 1999).

#### II-4-2-2- Glucides

Le lactose est le glucide (l'hydrate de carbone) le plus important du lait puisqu'il constitue environ 40% des solides totaux. Il joue un rôle important en tant que substrat de fermentation et aussi en tant qu'élément nutritionnel dans les produits laitiers (AMIOT *et al.*, 2002).

#### II-4-2-3- Matière azotée

La matière azotée du lait englobe deux groupes, les protéines et les matières non protéiques qui représentent respectivement 95% et 5% de l'azote minéral du lait (GOURSAUD, 1985).

#### **II-4-2-4- Lipides**

Rapportent que la matière grasse est présente dans le lait sous forme de globules gras de diamètre de 0.1 à 10 $\mu$ m et est essentiellement constitué de triglycérides (98%). La matière grasse du lait de vache représente à elle seule la moitié de l'apport énergétique du lait. Elle est constituée de 65% d'acides gras saturés et de 35% d'acides gras insaturés (**JEANTET *et al.*, 2008**).

#### **II-4-2-5- Minéraux**

Ils prennent la forme de sel, de base et d'acide mais les deux formes principales sont les sels ionisés solubles dans le sérum et les micelles. Les éléments basiques majeurs comme le calcium, le potassium, le magnésium et le sodium forment des sels avec les constituants acides que sont les protéines, les citrates, les phosphates se trouvent sous forme colloïdale dans les micelles de caséines (**AMIOT *et al.*, 2002**).

#### **II-4-2-6- Vitamines**

Le lait entier est une source appréciable en vitamine A, la teneur en vitamine D est variable (plus élevée dans le lait d'été que dans le lait d'hiver). Presque toutes les vitamines du groupe B sont présentes, en particulier la vitamine B12 (**COURTET LEYMARIOS, 2010**).

#### **II-4-2-7- Enzymes**

Environ 60 enzymes principales ont été répertoriées dans le lait dont 20 sont des constituants natifs. Une grande partie se retrouve dans la membrane des globules gras mais le lait contient de nombreuses cellules (leucocytes, bactéries) qui élaborent des enzymes (**POUGHEON, 2001**).

### **II-4-3- Composition biologique**

#### **II-4-3-1-Flores microbiennes du lait**

Les microorganismes du lait sont répartis selon leur importance en deux grandes classes à savoir, la flore endogène ou originelle et la flore contaminant. Cette dernière est subdivisée en deux sous classes : la flore d'altération et la flore pathogène (**VIGNOLA, 2002**).

#### **II-4-3-1-1- Flore originelle ou endogène**

La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, les genres dominants sont essentiellement des mésophiles (VIGNOLA, 2002).

#### **II-4-3-1-2- Flore de contamination**

Cette flore est composée d'une flore d'altération et d'une flore pathogène.

##### **II-4-3-1-2-1- La flore d'altération**

Elle exploite des défauts sensoriels (goût, d'arôme), ou qui réduira la durée de conservation des produits laitier. La flore d'altération comporte trois genres : les coliformes, les levures et les moisissures (ESSALHI, 2002).

##### **II-4-3-1-2-2- La flore pathogène**

Les bactéries les plus importantes de cette flore pathogène sont le plus souvent mésophiles et les principaux microorganismes pathogènes associés aux produits laitiers sont : *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella sonnei* et certaines moisissures (VIGNOLA, 2002).

#### **II-5- Les laits commercialisés**

L'évolution des processus technologiques, des techniques de conservation et de distribution a permis l'élaboration d'une large gamme de lait de consommation qui se distinguent par leur composition, leur qualité nutritionnelle et organoleptique et leur durée de conservation (JEANTET *et al.*, 2008).

##### **II-5-1- Le lait pasteurisé**

D'après JEANTET *et al.* (2008), on distingue trois types de traitements :

- **Pasteurisation basse** (62-65°C/30min) : elle n'est réalisable qu'en batch et est abandonnée en laiterie.
- **Pasteurisation haute** (71-72°C/15-40s) ou HTST (high temperature short time) : elle est réservée aux laits de bonne qualité hygiénique. Au plan

organoleptique et nutritionnel, la pasteurisation haute n'a que peu d'effets. Au niveau biochimique, la phosphatase alcaline est détruite par contre la peroxydase reste active et les taux de dénaturation des protéines sériques et des vitamines sont faibles. La date limite de consommation (DLC) des laits ayant subi une pasteurisation haute est 7 jours après conditionnement (bouteille en verre ou en carton, polyéthylène ou aluminium).

- **Flash pasteurisation** (85-90°C/1-2s) : elle est pratiquée sur les laits crus de qualité moyenne ; la phosphatase et la peroxydase sont détruites.

### II-5-2- Lait stérilisé

**LESEUR et MELIK (1999)**, ont montré que selon le procédé de stérilisation, on distingue le lait stérilisé et le lait stérilisé UHT.

- **Lait stérilisé** : C'est un lait conditionné- stérilisé après conditionnement dans un récipient hermétiquement clos, étanche aux liquides et aux microorganismes par la chaleur, laquelle doit détruire les enzymes les microorganismes pathogènes. La stérilisation est réalisée à une température de 100 -120°C pendant une vingtaine de minutes.
- **Lait stérilisé UHT** : C'est un lait traité par la chaleur, qui doit détruire les enzymes, les microorganismes pathogènes, et conditionné ensuite aseptiquement dans un récipient stérile, hermétiquement clos, étanche aux liquides et aux microorganismes. Le traitement thermique peut être soit direct (injection de vapeur d'eau), soit indirect. Il est réalisé à 135 -150°C pendant 2.5 secondes environ.

### II-5-3- Lait concentré sucré

Lait concentré c'est le produit provenant de la concentration du lait propre à la consommation. La concentration du lait peut se faire avec ou sans addition de sucre (**JORA, 2001**).

Leur teneur en eau est de 24% environ, les constituants ont une concentration proche du triple de celle du lait, la teneur en saccharose atteint plus de 40% (**VIERLING, 2003**).

#### **II-5-4- Lait aromatisé**

Ce sont tous des laits stérilisés auxquels on a ajouté des arômes autorisés (notamment cacao, vanille, frais etc...) (**LESEUR et MELIK, 1999**).

#### **II-5-5- Lait fermenté**

D'après **FREDOT (2006)**, la dénomination lait fermenté est réservée au produit laitier préparé avec des laits écrémés ou non ou des laits concentrés ou en poudre écrémés ou non sous forme liquide, concentré ou en poudre. Ils pourront être enrichis avec des constituants tels que la poudre de lait ou les protéines de lait. Le lait subit alors un traitement thermique au moins équivalent à la pasteurisation et estensemencé avec des microorganismes caractéristiques de chaque produit. La coagulation des laits fermentés ne doit pas être obtenue par d'autres moyens que ceux qui résultent de l'activité des microorganismes qui sont pour la plupart du probiotique c'est -à-dire bénéfique pour la santé.

#### **II-5-6- Lait en poudre**

Selon la loi sur les aliments et drogues du Canada, les poudres de lait sont des produits résultants de l'enlèvement partiel de l'eau du lait. On répartit les poudres en trois groupes : La poudre de lait entier, la poudre de lait partiellement écrémé et la poudre de lait écrémé (**CLAUDE MICHEL et al., 2002**).

Le lait peut être contaminé par plusieurs substances indésirables. Dans ce chapitre nous allons voir des notions et des généralités sur les antibiotiques et leurs résidus, elles sont considérées comme des contaminants chimiques.

# Chapitre2

### III- Chapitre 2 : Généralités sur les antibiotiques et leurs résidus dans le lait

Les antibiotiques utilisent dans l'élevage bovin laitier pour le traitement curatif ou préventif des maladies infectieuses et dans l'alimentation comme des compléments, mais cette utilisation doit être prudente, pour éviter les risques sanitaires et les pertes économiques.

#### III-1- les antibiotiques

##### III-1-1- Définition

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

##### III-1-2- Classification et modes d'action

Selon **BOURIN *et al.* (1994)**, les antibiotiques sont définis par leur :

- Activités antibactérienne (Spectre d'activités)
- Toxicité sélective (mode d'action)
- Activité en milieu organique (pharmacocinétique)
- Bonne absorption et diffusion dans l'organisme

Sont classé dans les familles et parfois des groupes dans lesquels les représentants possèdent des caractères voisins ou identiques : la nature chimique et l'origine, le spectre d'action, le mécanisme d'action, les mécanismes de résistances, les effets secondaires (**LARPENT et SANGLIER, 1989**).

Les principales familles actuellement utilisés en thérapeutique sont :

- Les betalactamines (pénicilline et céphalosporine),
- Les tétracyclines (oxytétracycline, tétracycline),
- Les aminosides (streptomycine, neomycine, gentamycine),
- Les antibiotiques polypeptidiques (colistine, bacitracine),
- Les macrolides (tylosine, érythromycine).



Ainsi que les principaux antibactériens de synthèse qui sont :

- Les sulfamides (sulfaguanidine),
- Les quinolones (flumiquine).

### **III-1-2-1- Mécanisme d'action des bêtalactamines**

Les bêtalactamines agissent au niveau de la paroi bactérienne en inhibant la dernière étape de la synthèse de peptidoglycane entraînant une lyse bactérienne (**BOURIN *et al.*, 1994**).

### **III-1-2-2- Mécanisme d'action des tétracyclines**

Le mécanisme d'action des tétracyclines réside dans l'inhibition des synthèses protéiques de nombreuses épreuves expérimentales notamment en système acellulaire ont été obtenues un mécanisme intense de cette action paraît être l'inhibition de la fixation de complexe aminoacide –ARNT synthétase sur les complexes ribosomes messager (**BERGOGNE et DELLAMONICA, 1995**).

### **III-1-2-3- Mécanisme d'action des aminosides**

Il perturbe la synthèse des protéines au niveau de la fraction 30S du ribosome entraînant la destruction bactérienne .il sont bactéricide (**BRYSKIER, 1999**).

### **III-1-2-4- Mécanisme d'action des macrolides**

Les macrolides agissent en inhibant la synthèse protéique bactérienne, il se fixe sur l'unité 50 S de ribosomes et bloquent ainsi la réunion de dernier de dernier stade de la synthèse ils sont bactériostatique (**BOURIN *et al.*, 1994**).

### **III-1-2-5- Mécanisme d'action des quinolones**

Selon **BRYSKIER (1999)**, Les quinolones inhibent la synthèse de l'ADN de la bactérie en se fixant sur le complexe \* ADN-ADNgyrase \*en empêchant la réplication et transcription de l'ADN bactérien se sont des antibiotiques bactéricides.

### **III-1-2-6- Mécanisme d'action des sulfamides**

Selon **DUVAL et SOUSSY (1985)**, Ils ont une activité bactériostatique, Ils rentrent en compétition avec l'acide paraminebenzoïque (PAB) bloquant ainsi l'action de la synthétase.

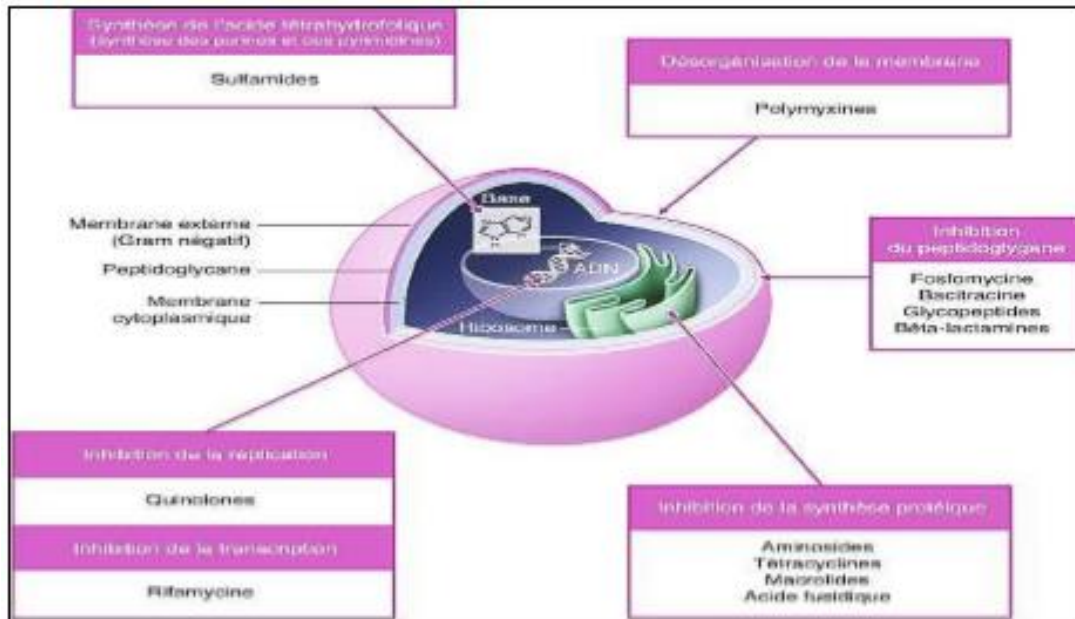


Figure 1 : Modalités d'action des antibiotiques (KAPOOR *et al.*, 2017).

### III-1-3- La pharmacocinétique d'antibiotiques

Les quatre phases de la pharmacocinétique sont généralement regroupées sous le sigle ADME :

#### III-1-3-1- Absorption

Certaines classes d'antibiotiques ont une bonne absorption digestive (macrolides, tétracyclines, sulfamides), pour d'autres classes, l'absorption est nul (aminoside, polypeptides), et la voie injectable est nécessaire pour obtenir un effet systémique. Enfin, dans certaines classes d'antibiotiques (bêtalactamines) certaines molécules sont bien absorbées, ce qui permet l'administration orale alors que d'autres devront être injectées (ANONYME, 2006).

#### III-1-3-2- Distribution

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

### III-1-3-3- Métabolisme

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

### III-1-3-4- Elimination

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

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

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

### III-1-3-5- Facteurs de variation de l'excrétion des antibiotiques dans le lait

Selon **BROUILLET (1994)** :

- 1- Principe actif
- 2- Excipient
- 3- Dosage
- 4- Voie d'administration
- 5- Durée de traitement
- 6- Facteurs liée à l'animal

## III-2- les résidus d'antibiotiques

### III-2-1- Définition

Les résidus sont définis comme toutes substances pharmaco-logiquement actives, qu'il s'agisse de principes actifs, d'excipients ou de métabolites présents dans les liquides et tissus des animaux après administration des médicaments et susceptibles d'être retrouvés dans les

denrées alimentaires produites par ces animaux et susceptibles de nuire à la santé humaine (LAURENTIE et SANDERS, 2002).

### III-2-2- Origine des résidus d'antibiotiques

Selon SCHWARZ et KEHRENBURG (2001), ces antibiotiques peuvent être utilisés de quatre façons différentes, avec des objectifs différents :

- A titre thérapeutique curatif,
- En métaphylaxie,
- A titre préventif,
- En tant qu'additifs alimentaires.

### III-2-3- La limite maximale des résidus (LMR)

La fixation des LMR est obligatoire pour tous les principes actifs qui entrent dans la composition des médicaments administrés aux animaux de production. Elle signifie que le potentiel toxique du médicament est parfaitement connu et que le consommateur n'encourt aucun risque si le délai d'attente est respecté et donc si les LMR ne sont pas dépassées (PUYT, 2003).

### III-2-4- La dose journalière acceptable (DJA)

La dose journalière acceptable représente la quantité totale de substance que l'homme peut ingérer chaque jour pendant toute sa vie sans qu'il en résulte d'inconvénients pour sa santé. En tenant compte d'une répartition théorique des consommations quotidiennes des différentes denrées d'origine animale et sur la base des informations pharmacocinétiques disponibles sur le devenir des substances dans les espèces animales, les experts de l'OMS ont définie des doses journalières acceptables pour différents principes actifs (GYSI, 2006).

### III-2-5- Le Délai d'attente

Selon la directive 81/851/CEE émise par la communauté européenne, le temps d'attente est défini comme le délai entre la dernière administration à l'animale de l'antibiotique et le moment où celui-ci ne présente plus de résidus dans ses tissus ou dans ses productions (le lait, œuf) (FOLLET, 2007).

Le respect de ce temps d'attente permet de commercialiser les denrées qui présentent des concentrations inférieures ou proches de la limite maximale des résidus garantissant la protection de la santé du consommateur (**ABIDI, 2004**).

### **III-2-6- Les causes de contamination du lait par les résidus d'antibiotiques**

Il existe plusieurs causes peuvent ainsi être incriminées :

**1. Les erreurs commises par l'éleveur** Nombreuses sont les fautes commises par les éleveurs pouvant engendrer la contamination du lait par les résidus d'antibiotiques, selon **ABIDI (2004)** :

- Un mélange accidentel du lait d'une vache traitée avec celui des autres vaches,
- Une traite, par erreur, d'une vache tarie, récemment traitée par des antibiotiques,
- Une désinfection défectueuse de la machine à traire,
- Une non-vérification de l'ancien traitement administré aux vaches en lactation récemment achetées,
- Un mélange accidentel de l'aliment médicamenteux avec la ration des vaches.

**2. La mauvaise utilisation du médicament, selon (ABIDI, 2004)** cela s'articule autour du:

- Non-respect de la dose, car l'augmentation de cette dernière est à l'origine de l'allongement de la durée d'élimination du médicament,
- Non-respect de la voie d'administration,
- Utilisation d'une préparation destinée à une vache tarie dans le traitement d'une vache en lactation.

**3. Le non-respect du délai d'attente, selon (GEDILAGHINE, 2005),** le non-respect du délai d'attente peut être dû à un :

- Défaut de communication entre médecin vétérinaire et éleveurs,
- Acte volontaire de la part de l'éleveur par ignorance des risques réels de ce geste.

**4. La contamination par le matériel de traite :** Par défaut de nettoyage après la traite des vaches traitées (**ABIDI, 2004**).

**5. L'absence d'identification des animaux (GEDILAGHINE, 2005).**

6. La mauvaise hygiène lors de la traite : Le lait peut être contaminé par les souillures fécales contenant des antibiotiques excrétés par voie digestive (**LABIE, 1981**).

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

### **III-2-7- Méthodes d'éliminations des résidus d'antibiotiques dans le lait**

#### **III-2-7-1- Le traitement thermique**

Selon **FORM (2003)**, Le chauffage du lait permet d'éliminer une partie des résidus, mais tous les antibiotiques n'ont pas la même thermolabilité et ne sont pas tous détruits par les procédés de diminution de charge microbienne mis en œuvre dans les industries laitières (pasteurisation, stérilisation). Des paramètres plus élevés augmenteraient fortement le prix de revient et modifieraient les propriétés technologiques du lait (dénaturation des protéines).

#### **III-2-7-2- Le traitement enzymatique**

Selon **FORM (2003)**, L'utilisation de pénicillinases a été envisagée, mais elle est très coûteuse et n'est efficace que sur les résidus de pénicillines.

#### **III-2-7-3- L'utilisation de bactéries sélectionnées pour leur antibiorésistance**

Selon **FORM (2003)**, L'augmentation de la résistance d'une bactérie à un antibiotique donné, ou à une autre famille d'antibiotique donnée, s'accompagne inévitablement de la détérioration d'autres de ses qualités, par ailleurs, cette méthode ne supprime pas le risque de santé publique posé par les inhibiteurs.

### **III-2-8- Les problèmes liés à la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait**

Il faut toutefois distinguer la notion d'inhibiteurs qui correspond à un problème technologique et la notion de résidus qui correspond à un problème de santé publique (**FABRE et al., 2002**).

#### **III-2-8-1- Les problèmes technologiques**

Les résidus représentent un réel problème pour les transformateurs laitiers par leurs conséquences néfastes sur les fermentations lactiques (**GEDILAGHINE, 2005**).

Les pertes subies, chaque année, par les industries laitières sont estimée à des centaines de millions de dollars (LABIE, 1981).

### **III-2-8-2- Les problèmes sanitaires**

#### **III-2-8-2-1- Problèmes d'allergie**

Les réactions allergiques ont été observées chez des personnes déjà sensibilisées, Les antibiotiques les plus souvent incriminés sont les pénicillines, suivis des sulfamides et, dans une moindre mesure les tétracyclines ou la spiramycine (GEDILAGHINE, 2005).

#### **III-2-8-2-2- Problèmes toxiques**

##### **III-2-8-2-2-1- Toxicité directe**

La toxicité directe des résidus d'antibiotiques est assez difficile à mettre en évidence car il s'agit en générale de toxicité chronique. Cette dernière ne s'exprime qu'après consommation répétée de denrées alimentaires contenant des résidus du même antibiotique. Certains scientifiques évoquent alors une possible toxicité hépatique (STOLTZ, 2008).

##### **III-2-8-2-3- Risques cancérigènes**

Certains antibiotiques ont des propriétés carcinogènes connues. Les résidus de ces antibiotiques peuvent avoir un effet carcinogène sur le long terme, suite à une consommation régulière d'aliments contenant ces résidus. Ces antibiotiques sont alors interdits d'utilisation chez les animaux de production : C'est le cas des nitrofuranes, des nitroimidazoles (STOLTZ, 2008).

##### **III-2-8-2-4- Risques bactériologiques**

Le risque bactériologique lié à la consommation de denrées alimentaires contenant des résidus d'antibiotiques peut être attribué à deux phénomènes : la modification de la flore digestive pouvant entraîner des troubles et une symptomatologie indésirables, et la sélection chez l'homme de souches de germes pathogènes résistantes à ces antibiotiques (GEDILAGHINE, 2005).

##### **III-2-8-2-5- Modifications de la flore digestive du consommateur**

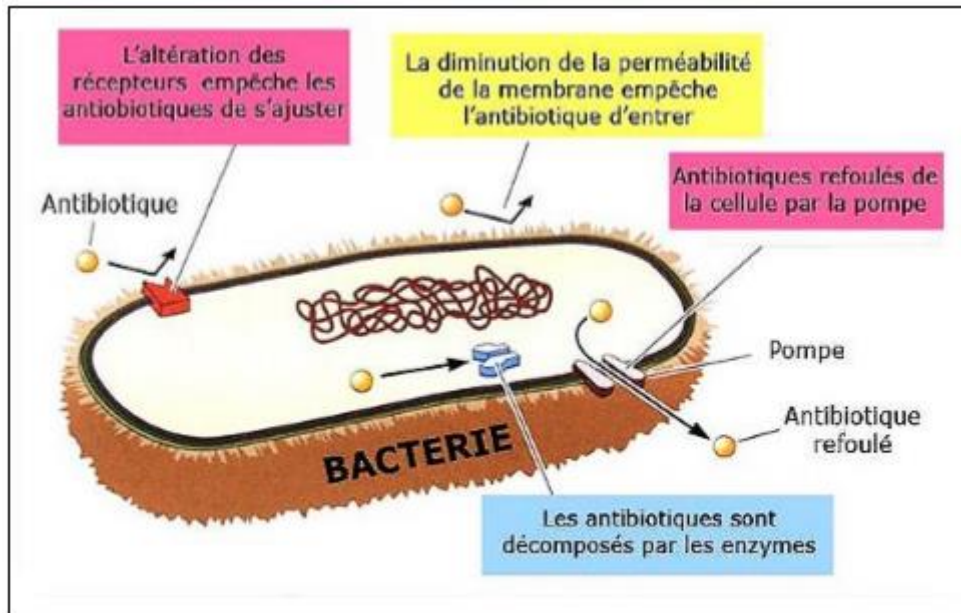
Dans le tube digestif vivent en effet des milliards de bactéries saprophytes et commensales (surtout des bactéries anaérobies : bactéroïdes, fusobactérium) (PERSON,

1984). La consommation de produits contenant des résidus d'antibiotiques (cycline, sulfamides) perturbe cette flore intestinale (GEDILAGHINE, 2005).

### III-2-8-2-6- Risques d'antibiorésistances

Par définition, l'antibiorésistance correspond à la capacité d'une bactérie à résister aux effets des antibiotiques (ZIADI, 2010).

L'apparition de cette résistance peut être liée à des mauvaises pratiques thérapeutiques (posologie inadaptée, fréquence d'administration, non-respect de la prescription...) ou à l'utilisation des antibiotiques comme facteurs de croissance (sous forme d'additifs alimentaires), favorisant ainsi le développement rapide du phénomène de la résistance bactérienne aux antibiotiques (CHATAIGNER et STEVENS, 2005).



**Figure 2:** Les différents mécanismes d'antibiorésistances (ALEMAYEHU et SERAWIT, 2015).



# Chapitre 3

## **IV- Chapitre 3 : Méthodes de recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait**

### **IV-1- Introduction**

Selon FAO/OMS (1996), les méthodes de recherche des résidus sont classées en trois types.

**Type I** : Ce sont des méthodes de confirmation. Elles déterminent la quantité de la substance ou des catégories de substances spécifiques à doser et elles identifient avec certitude la substance considérée (DELEPINE *et al.*, 2002).

**Type II** : Les méthodes de type II déterminent habituellement la concentration de la substance à doser mais sans identifier avec une certitude absolue la structure de la substance, c'est le cas par exemple de la chromatographie phase liquide. Les méthodes de type I et II sont désignées sous l'appellation de méthodes physico-chimiques (AKODA, 2004).

**Type III** : Les méthodes de type III déterminent généralement la présence ou l'absence d'un composé ou d'une classe de composés. Ces méthodes sont couramment désignées sous le nom de méthodes de dépistage ou méthodes semi quantitatives (AKODA, 2004).

### **IV-2- Méthodes semi quantitatives (méthodes de dépistage)**

#### **IV-2-1- Méthodes microbiologiques**

##### **IV-2-1-1- Méthode officielle de référence**

#### **Principe**

Selon FORM (2003), La méthode officielle est une méthode biologique, basée sur l'inhibition de bactéries lactique en présence d'un éventuel agent inhibiteur de nature a priori inconnue. Elle est fiable, peu couteuse, reproductible. C'est la seule méthode autorisant, en cas de résultat positif, une sanction du producteur contrôlé. Elle ne peut être réalisée que par les laboratoires Interprofessionnels de contrôle du lait, indépendants des industries du lait

Elle se déroule en deux temps :

### 1- Epreuve d'acidification

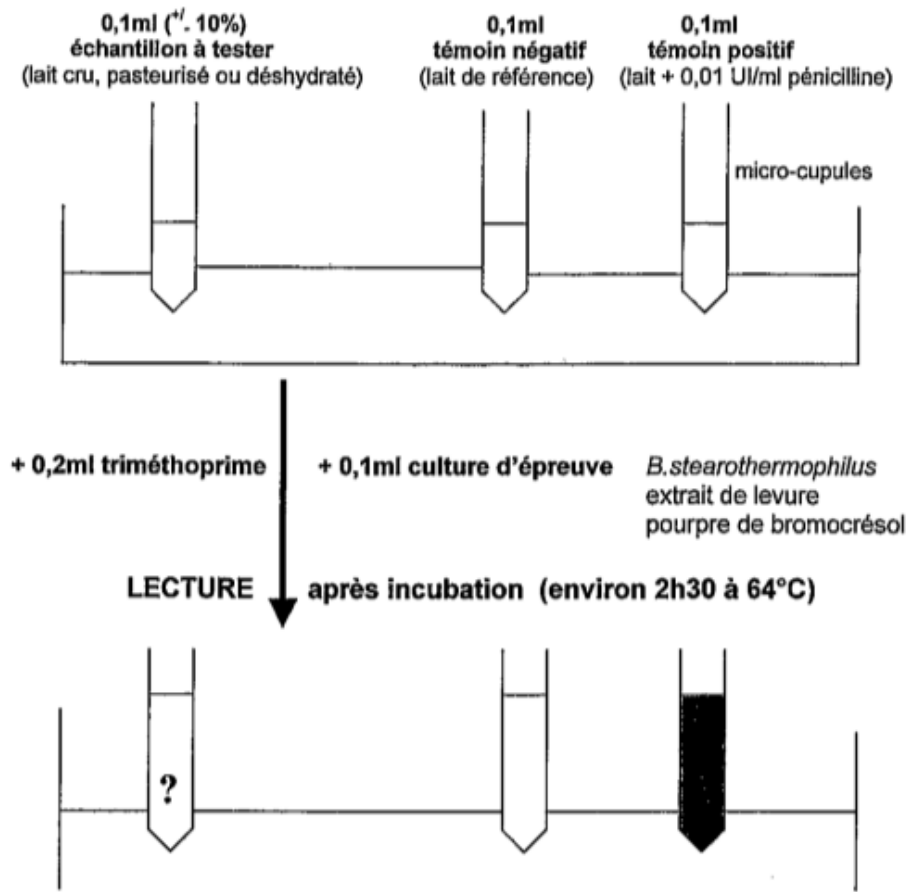
Cette épreuve permet un premier tri parmi tous les échantillons testés. Déposée sous le nom commercial Delvotest MCS<sup>ND</sup>, adoptée par les laboratoires interprofessionnels depuis novembre 2001, elle est depuis le 1<sup>er</sup> janvier 2002 la méthode d'acidification de référence pour le contrôle des laits de vache, conformément à la décision européenne 91/180/CEE.

Elle met en évidence l'éventuelle inhibition d'une souche de *Bacillusstéarothermophilus* var. *calidolactis* C953 par l'échantillon de lait. Le test est déclaré positif quand il n'y a pas acidification de l'échantillon (d'où absence de coagulation et absence de virage de l'indicateur coloré). La réponse se lit après 2h30 d'incubation en étuve à 64°C.

Ce test de dépistage a pour but de détecter un maximum de substances à un seuil proche, voire inférieur, à leurs LMR. Il permet d'analyser d'un grand nombre d'échantillons et de n'en soumettre qu'une fraction à l'épreuve de confirmation, plus longue à mettre en œuvre et plus onéreuse.

La température d'incubation de 64°C permet de dénaturer la plupart des inhibiteurs naturels du lait, soit de limiter les faux-positifs qui pourraient leur être dus.

En revanche ce test est très peu sensible aux agents désinfectants, qui ne peuvent le rendre positif qu'à des doses très importantes.



**Figure 3 :** Epreuve d'acidification de référence avec le Delvotest MCS<sup>ND</sup> (FORM, 2003).

La lecture du résultat se fait au moment du virage du témoin négatif, soit environ après 2h30 d'incubation.

## 2- Epreuve de confirmation

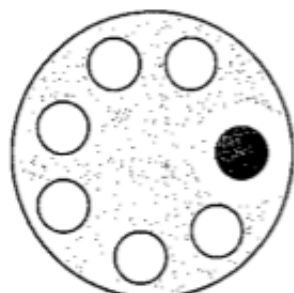
Sont soumis à l'épreuve de confirmation tous les échantillons positifs ou douteux à l'épreuve d'acidification. Elle consiste en 2 tests de diffusion en gélose : sur 2 géloseensemencées, l'une avec *Bacillus stearothermophilus*, l'autre avec *Bacillus subtilis*, on dépose 2 disques de papier filtre imprégnés du lait à tester. La présence d'inhibiteurs inhibe la croissance bactérienne autour du disque ; une zone translucide apparaît alors. Le test est positif si le diamètre d'inhibition est supérieur à 10mm.

Seuls les résultats de cette épreuve de confirmation sont officiellement pris en compte. Elle seule permet de sanctionner officiellement un éleveur pour un « accident inhibiteur », avec les répercussions économiques qu'il implique dans le cadre du paiement du lait à la qualité.

Chauffage préalable du lait cru (80°C – 10 min)

○ Disques de papier filtre imprégnés des laits à tester

**Gélose ensemencée avec  
*Bacillus stearotherophilus***

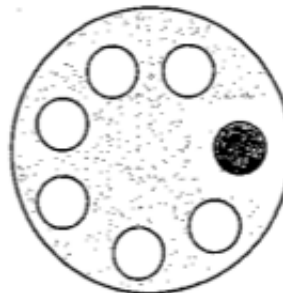


Témoin positif  
lait + pénicilline

pH 7  
55°C  
2h30

**Détection des pénicillines  
et des tétracyclines**

**Gélose ensemencée avec  
*Bacillus subtilis***



Témoin positif  
lait + streptomycine

pH 7,9  
30°C  
16 à 18h

**Détection des aminosides  
et des macrolides**

**Figure 4** : Epreuve de confirmation (FORM, 2003).

En plus de la confirmation de l'épreuve d'acidification (objectif unique dans certains pays où la répétition du Delvotest<sup>ND</sup> constitue l'épreuve de confirmation), ces deux tests supplémentaires permettent une appréciation semi-quantitative et une approche qualitative de l'antibiotique (ou de la famille d'antibiotiques) incriminé.

Les souches utilisées ont été sélectionnées pour trouver au mieux un équilibre entre surpénalisation (trop grande sensibilité, supérieure aux LMR) et souspénalisation (trop faible sensibilité, pression répressive trop faible et risque de citernes finalement inutilisables).

La non-confirmation d'un Delvotest<sup>ND</sup> positif ne signifie pas nécessairement un faux positif : elle correspond au fait que le test de confirmation a un seuil supérieur à la LMR de l'antibiotique impliqué, ou que le Delvotest<sup>ND</sup> a un seuil inférieur à cette LMR.

### Sensibilité

C'est en particulier vrai pour les pénicillines. D'après un essai réalisé par le laboratoire AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments) d'Etude et de Recherche sur les Médicaments Vétérinaires et Désinfectants à Fougères (laboratoire communautaire de

référence), la sensibilité de la nouvelle méthode d'acidification est en particulier bien meilleure pour les deux antibiotiques :

- Cloxacilline : sensibilité proche de la LMR (ancienne méthode : sensibilité à 3-4 fois la LMR)
- Tétracyclines : sensibilité à 50-100% de la LMR (ancienne méthode : sensibilité à 2-4 la LMR).

#### IV-2-1-2- Testes d'inhibition

La méthode officielle ne permet pas de préciser la nature de la substance inhibitrice incriminée. Par ailleurs, elle est longue à mettre en œuvre (16-18h pour les épreuves de confirmations). Les impératifs de fabrication en industrie amènent les laiteries à utiliser d'autres tests, non officiels, plus rapides, de façon à tester les laits de grand mélange et à pouvoir lancer rapidement la chaîne de fabrication (**BROUILLET, 2002**).

Selon **FORM (2003)**, ils reposent sur le même principe que le DelvotestMCS<sup>ND</sup> utilisé dans la méthode officielle.

##### IV-2-1-2-1- Delvotest P<sup>ND</sup> et Delvotest SP<sup>ND</sup>

Ces deux tests sont les déclinaisons du Delvotest MCS<sup>ND</sup>, utilisant également *Bacillus stearothermophilus*. Ils se présentent sous la forme de kits simplifiés utilisables aussi bien par les entreprises laitières qu'à la ferme (Delvotest SP Mini<sup>ND</sup> conçu pour un usage immédiat chez le producteur). Leur présentation sous la forme de kits normalisés rend leur utilisation très simple : des ampoules contiennent en nombre standardisé des spores de la bactérie dans un milieu gélosé. Il suffit d'ajouter à une ampoule un comprimé de milieu nutritif et 0,1ml du lait à tester, puis de la maintenir dans un incubateur à 64°C, pendant 2h30 pour le Delvotest P<sup>ND</sup> (détection des antibiotiques), pendant 3h pour le Delvotest SP<sup>ND</sup> (détection des antibiotiques y compris des sulfamides : du triméthoprime est adjoint au milieu de culture pour en potentialiser les effets inhibiteurs). Ils ont les mêmes propriétés que la méthode d'acidification officielle : large spectre de détection, bonne sensibilité vis-à-vis des pénicillines qui représentent le risque technologique le plus important. Cette sensibilité est similaire à celle de la méthode officielle. Réalisés à la ferme, ces tests possèdent donc une excellente valeur prédictive (le test utilisé en laboratoire est légèrement plus sensible du fait des modalités de lecture : l'utilisation systématique de témoins positifs et négatifs permet de

s'assurer de la sensibilité et de lire le résultat au moment du virage du témoin positif). Néanmoins, pour reproduire les effets de la dilution et éviter les faux-positifs sur laits individuels, le vétérinaire doit prendre soin de prélever l'échantillon à tester dans un mélange du lait de la vache suspecte et de 4 à 5 autres vaches. Le temps (2h30 à 3h) et la température d'incubation (64°C) doivent aussi être respectés. Une lecture du test trop tardive peut aboutir à des faux négatifs (FORM, 2003).

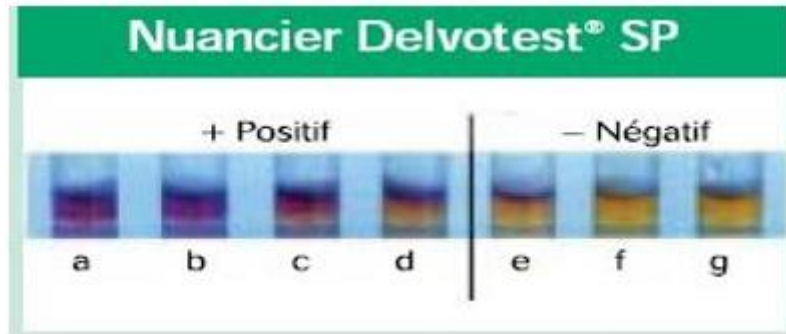


Figure 5 : Expression des résultats de Delvotest (REYBROECK, 2004).

#### IV-2-1-2-2- Copan test P<sup>ND</sup> et S 100<sup>ND</sup>

Tests les plus récents, ils reprennent exactement les mêmes paramètres que les Delvotest<sup>ND</sup>. Ils se présentent sous la forme de tubes unitaires (analyses individuelles) ou de microplaques (analyses collectives) prêts à l'emploi: le milieu gélosé contient, comme pour le Delvotest MCS<sup>ND</sup>, tous les ingrédients nécessaires à la réaction (FORM, 2003).

#### IV-2-1-2-3- Valio T101<sup>ND</sup>

Ce test, se présentant sous la même forme que le Delvotest<sup>ND</sup>, avait l'avantage d'avoir une sensibilité proche de l'ancienne méthode officielle, puisqu'il utilise *streptococcus thermophilus*, avec les mêmes inconvénients (FORM, 2003).

### IV-2-2-Méthodes enzymatiques-colorimétrique

#### IV-2-2-1-Penzym

Le test enzymatique le plus utilisé est le **Penzym**<sup>ND</sup>. Une enzyme, la DD-carboxypeptidase, ajoutée au lait à analyser, est inhibée par la présence en particulier de bêta-lactamines. Cette enzyme n'est alors plus révélée par un substrat spécifique, contenant un réactif coloré, ajouté après 5 minutes d'incubation à 47°C. Il s'agit d'un test très rapide, très

spécifique des bêtalactamines (pénicillines et céphalosporines). Il est très utilisé en « screening » sur des laits de grands mélange ; notamment une procédure « camion » a été mise au point, permettant de réaliser l'analyse pendant le retour du camion de collecte vers la laiterie (FORM, 2003).

#### **IV-2-3- Méthodes immuno-enzymatiques**

##### **IV-2-3-1- Delvo X Press TM BL<sup>ND</sup>**

Ce test consiste à faire réagir une quantité définie du lait à tester avec une quantité précise d'un soluté dit traceur, qui a pour fonction de complexer les résidus antibiotiques, après un temps de contact suffisant, le mélange est versé dans un tube contenant un enduit qui réagit avec l'excédent de traceur libre. Le complexe traceur-antibiotique est éliminé par rinçages successifs et un développeur colorimétrique réagit avec le traceur fixé sur les parois du tube. La lecture s'effectue avec un lecteur de densité optique comparant la couleur du tube à celle d'un tube standard : l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la concentration en résidus du lait. Ce test est spécifique des bêtalactamines. Il est très rapide et facile d'utilisation avec son lecteur digital (FORM, 2003).

##### **IV-2-3-2- Beta Star Combo**

Cette méthode est basée sur des réactions chimiques avec des réactifs liés à des particules d'or. Le réactif permettra de lier toute substance antimicrobienne provenant de bêta-lactamines ou tétracyclines présentes dans le lait, la substance antimicrobienne bloque la migration ultérieure du réactif au milieu immuno-chromatographique et développant ainsi un test de coloration sur lignes. Les échantillons de lait sont amenés à la température du laboratoire et la mesure de pH du lait est réalisée. Les analyses seront poursuivies si le pH de l'échantillon se situe entre 6,6 et 6,9, sinon l'échantillon ne sera plus analysé. Un volume de lait à tester est incubé pendant 3 minutes dans un flacon contenant les récepteurs spécifiques liés aux particules d'or, une bandelette immuno-chromatographique est alors plongée dans le mélange lait-récepteurs (obtenu à l'étape 1) et incubée 2 minutes. Durant les 2 minutes, le lait migre par capillarité sur le support pour atteindre les deux lignes de capture, immédiatement après la fin des deux minutes, nous commençons à interpréter les résultats, en comparant la coloration d'intensité des lignes testant l'antibiotique avec les lignes de contrôle. La ligne du bas indique la présence ou l'absence de substance antimicrobienne appartenant à la famille des tétracyclines. La ligne médiane est la ligne de contrôle. La troisième ligne (supérieure)



indique la présence ou l'absence de bêtalactamines. Il s'agit de comparer la ligne de test de tétracycline à la ligne de contrôle, et après la ligne de test de bêtalactamines à la ligne de contrôle. Dans les deux cas, si l'intensité de la coloration du test en trait est supérieure ou équivalente avec l'intensité de coloration, le test est négatif, confirmant l'absence d'antibiotique. Si l'intensité de la coloration du test en ligne est inférieure à celle du contrôle en ligne, le test est positif, confirmant la présence de l'antibiotique. Le test n'est valide que si la ligne de contrôle est visible (**BROUILLET, 2002**).

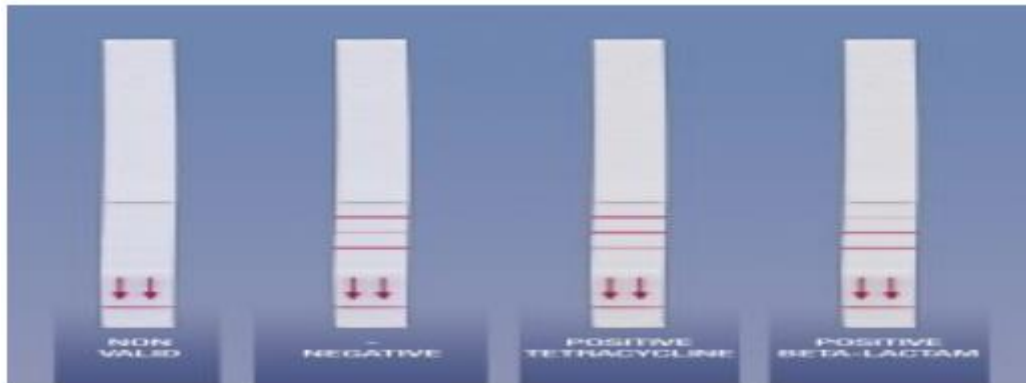


Figure 6 : Lecture des bandelettes du Test de beta star Combo (**AOUES *et al.*, 2019**).

#### IV-2-3-3- MRL Test<sup>ND</sup>

Il utilise le principe de l'immunochromatographie sur des bandelettes contenant des anticorps et un colorant marqué, après une incubation de 8 minutes à 55°C. Il est spécifique des bêtalactamines et des tétracyclines. Il est lui aussi très adapté aux analyses individuelles (**FORM, 2003**).

#### IV-2-3-4- Snap Bêtalactamine<sup>ND</sup> et Snap Tétracycline<sup>ND</sup>

Dans ces tests des récepteurs peuvent se lier soit à l'antibiotique éventuellement contenu dans le lait testé, soit aux antibiotiques (bêtalactamines ou tétracyclines) fixés à la surface du test. Ces deux tests très rapides, très adaptés aux analyses individuelles, peuvent se révéler d'une sensibilité inférieure à la LMR des antibiotiques recherchés, notamment céphalosporines et tétracyclines. Ils sont utilisés en Rhône-Alpes en complément de la méthode officielle, lorsque celle-ci se révèle positive, afin d'orienter les recherches des causes de l'infraction (**FORM, 2003**).

#### IV-2-3-5- Système Charme II<sup>ND</sup>

Il s'agit d'un analyseur détectant de façon très rapide (10 minutes) une réaction d'immuno-compétition entre un éventuel résidu et une molécule marquée au carbone 14 ou au tritium. Cette réaction est mesurée par radioactivité. Cette méthode permet une identification précise de la molécule et un dosage quantitatif précis, qui peut être calé sur des seuils correspondant exactement aux LMR. Presque tous les antibiotiques peuvent être détectés (pénicillines, tétracyclines, macrolides, sulfamides, aminosides). Mais elle nécessite un investissement important (FORM, 2003).

#### IV-2-3-6- TwinSensor

TwinSensor BT est un nouveau test récepteur immuno-chromatographique dans un format de bandelette multi détection d'antibiotiques en une seule opération. Il s'agit d'un dosage des récepteurs permettant la détection simultanée et qualitative de tous les Beta-lactamines et les Tétracyclines dans le lait. Ce nouveau test est facile à utiliser, fiable et ne prend que 6 minutes pour obtenir le résultat. Il détecte la plupart des médicaments au-dessous de la LMR et peut être utilisé *in situ* pour le contrôle quotidien ou dans des laboratoires d'analyse des échantillons de lait (ANONYME, 2007).

#### IV-2-3-7- ELISA Test

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

#### \*Principe de la méthode

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

La méthode est dite directe lorsque, en une étape, on utilise uniquement un anticorps conjugué qui est soumis à incubation avec l'antigène contenu dans l'échantillon. La méthode indirecte en deux étapes utilise un anticorps secondaire conjugué pour la détection. En premier lieu, l'anticorps primaire est incubé avec l'antigène contenu dans l'échantillon. Cette opération est suivie d'une incubation avec l'anticorps secondaire conjugué qui reconnaît l'anticorps primaire (ANONYME, 2012).

### **\*Les variantes de la technique ELISA**

Les tests ELISA peuvent se réaliser selon deux méthodes :

-Elles sont dites de type "sandwich" quand la couleur développée est proportionnelle à la quantité de molécules à détecter présente dans l'échantillon,

-Et sont dite de type "compétition" directe ou indirecte lorsque la couleur développée est inversement proportionnelle à la quantité présente.

#### **1- ELISA compétitive**

Les ELISA de type « compétition » et par opposition aux ELISA de type « sandwich», l'antigène est marqué par un enzyme dont l'activité liée aux anticorps peut être mesurée grâce à une coloration correspondant à la transformation du substrat de l'enzyme en produit (SCIPPO et MAGHUIN-ROGISTER, 2006), Le terme compétitif décrit des essais où la mesure implique la quantification d'une substance selon sa capacité à interférer avec un système établi (ANONYME, 2012).

Le **principe** de la méthode repose sur l'ensemble des étapes suivantes :

**1-** Les plaques à utiliser sont sensibilisées au préalable (adsorption d'une quantité connue de l'antigène voulu sur le fond des puits).

**2-** Bloquer ensuite tous les sites de liaison non spécifiques sur la surface (saturation).

**3-** Appliquer l'échantillon ou les étalons.

**4-** Les anticorps liés à des enzymes qui se lient spécifiquement à l'antigène sur une microplaque. Les antigènes immobilisés à la surface et les antigènes en solution entrent en compétition avec les anticorps. Ainsi, plus il y aura d'antigène dans l'échantillon, moins l'anticorps pourra se lier à l'antigène immobilisé.

**5-** Rincer la plaque de façon à éliminer les anticorps en excès (non liés) et les complexes anticorps-antigènes non liés.

**6-** Ajouter un chromogène qui sera converti par l'enzyme en couleur, fluorescence ou en signal électrochimique,

7- Enfin, mesurer l'absorbance, la fluorescence ou le signal électrochimique (le courant) des puits de la plaque, afin de déterminer la présence et la quantité d'antigène. Avant l'analyse, les préparations d'anticorps doivent être purifiées et conjuguées (ANONYME, 2012).

Pour la méthode indirecte, en plus des étapes précédentes, elle nécessite l'ajout d'un anticorps secondaire, spécifique à l'anticorps primaire, et conjugué avec une enzyme. Avant l'analyse, les deux préparations d'anticorps doivent être purifiées et l'une d'elle doit être conjuguée. Pour ce type de réaction, plus la concentration initiale d'antigène est élevée, plus le signal éventuel est faible (ANONYME, 2012).

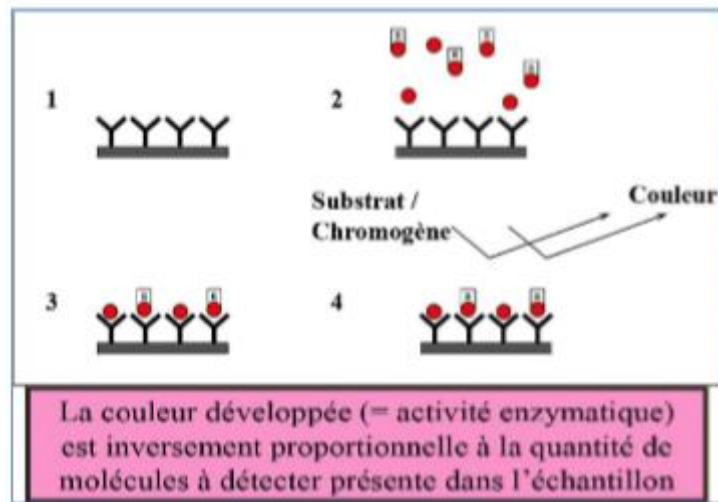


Figure 7 : ELISA type "compétition"(ESPINASSE *et al.*, 2011).

## 2- ELISA type sandwich

Dans les ELISA de type « sandwich », l'analyte recherché est capturé par un premier anticorps et détecté grâce à un deuxième anticorps. Ce dernier est marqué au moyen d'une enzyme ; l'analyte est véritablement pris en sandwich entre les deux anticorps (figure n° 3). La réponse est dans ce cas directement proportionnelle à la concentration en analyte dans l'échantillon (SCIPPO et MAGHUIN-ROGISTER, 2006).

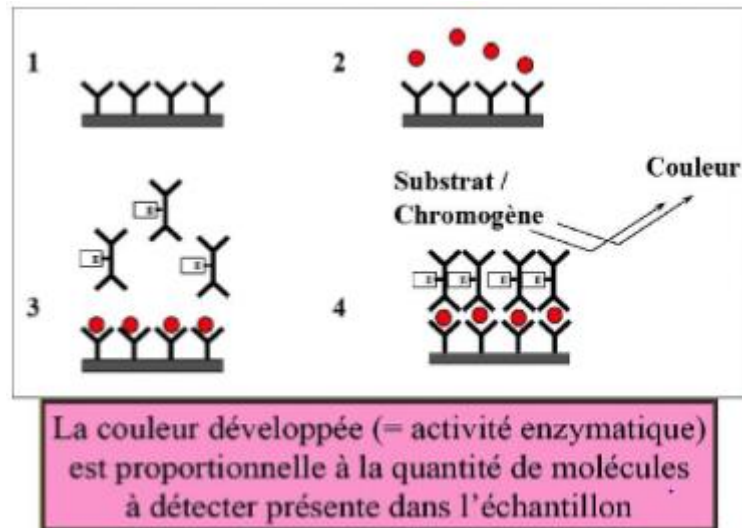


Figure 8 : ELISA type "sandwich"(ESPINASSE *et al.*, 2011).

#### IV-2-3-8- RIA (Radio Immuno Assay) et RRA (Radio Receptor Assay)

Les tests RIA et RRA sont basés sur la compétition qui existe entre l'antibiotique marqué par un isotope et ce même antibiotique non marqué pour un récepteur bactérien. C'est à dire des bactéries porteuses de sites de liaisons spécifiques vis-à-vis de ces antibiotiques. Ces tests permettent de détecter les  $\beta$ -lactames, les tétracyclines, les macrolides, les aminoglycosides et le chloramphénicol dans les échantillons de lait, de viandes, dans les œufs et dans les fluides biologiques (STEAD *et al.*, 2004).

#### IV-3- Méthodes physico-chimiques

Plusieurs méthodes peuvent être utilisée pour détecter les inhibiteurs et plus particulièrement les antibiotiques : la méthode électrophorétique, la chromatographie, la spectrophotométrie et la spectroscopie de masse (BILLON et SENG HUOR, 1979). Tous ces tests sont été conçus pour le contrôle de la conformité des laits à la collecte. Leur sensibilité est donc adaptée à des laits de mélange (au moins 5 à 6 vaches). Les éventuelles modifications physico-chimiques des laits individuelles, surtout liées à l'infection mammaire (présence anormale d'inhibiteurs naturels, modification de pH, de composition chimique), peut entraîner des variations de sensibilité, surtout sur les tests d'inhibition, mais aussi sur les réactions enzymatiques (BROUILLET, 2002).

#### IV-3-1- Les méthodes chromatographiques

Même après les vastes opérations de nettoyage décrites ci-dessus, l'extrait est susceptible de contenir de nombreuses substances en plus de l'analyse cible. Une séparation supplémentaire peut être obtenue par des méthodes chromatographiques. La séparation est obtenue en passant le mélange à travers une colonne contenant deux phases non miscibles, l'une étant **stationnaire** et l'autre **mobile**. Les composants individuels du mélange sont ensuite distribués entre les deux phases en fonction de leurs affinités chimiques différentes. Dans le cas extrême, les substances insolubles dans la phase stationnaire passeront rapidement à travers la colonne alors que les substances solubles ne seraient pas du tout éluées. Entre ces deux extrêmes, la plupart des composés seront répartis entre les deux phases pour à des degrés divers et passera donc des fractions de temps différentes dans les deux phases et, par conséquent, traverser la colonne à des vitesses différentes. Le rapport du temps en un temps passé dans la deuxième phase est appelé coefficient de partage. La phase stationnaire est généralement un solide ou un liquide absorbé sur ou chimiquement combiné avec un solide, alors que la phase mobile peut être liquide (**HPLC**) ou gazeuse (**CPG**). Dans chromatographie sur couche mince (**CCM**) un solide finement divisé (alumine ou silice) est lié sur une feuille ou une plaque de verre. La phase mobile (solvant) remonte la plaque par capillarité et la séparation se produit par partition entre les sites actifs sur les particules et la phase mobile. Les trois modes de chromatographie ont été largement utilisés dans analyse des résidus vétérinaires (**CROSBY, 2008**).

### **IV-3-1-1- La chromatographie liquide haute performance (HPLC)**

L'HPLC est une méthode physico-chimique qui permet la détection et la quantification des résidus d'une gamme assez large des antibiotiques s'étendant à toutes les familles utilisées en médecine humaine et vétérinaire. C'est une méthode nettement plus sélective et plus sensible que les méthodes microbiologiques car elle permet d'identifier les molécules séparément et donc éviter les problèmes d'interférences possibles entre les substances (**BOATTO et al., 1998**).

Comme dans toutes les techniques de séparations chromatographiques, les composés à séparer sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide à l'aide d'un injecteur. Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique (**GUPTA et al., 2012**).

La phase stationnaire ralentit plus ou moins la migration des substances en fonction des propriétés propres aux solutés. La séparation peut être fondée sur l'adsorption, l'échange d'ions, l'exclusion par la taille, les interactions hydrophobes et la polarité. La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

Les avantages de la HPLC sont : une haute résolution, une certaine rapidité, une forte sensibilité et une possibilité d'automatisation. Le système HPLC est couramment utilisé dans la séparation des antibiotiques (BEHL *et al.*, 2005).

Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire. Si la phase stationnaire a été bien choisie, les constituants du mélange sont inégalement retenus lors de la traversée de la colonne (NISHA, 2008).

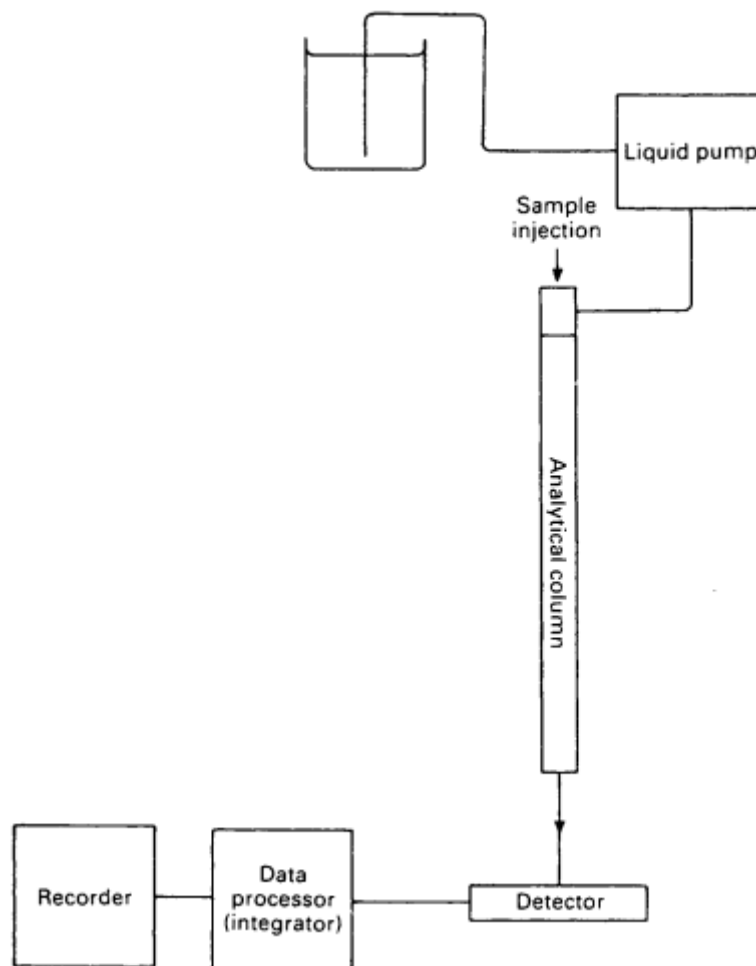


Figure 9 : Schéma d'un système HPLC (CROSBY, 2008).

#### **IV-3-1-2- Chromatographie en phase gazeuse (CPG)**

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) permet de séparer des molécules d'un mélange de nature très diverses. Elle s'applique principalement aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. Son principe consiste à partager l'échantillon à analyser entre deux phases. L'une de ces phases est un liquide stationnaire uniformément réparti sous forme d'une pellicule mince sur un solide inerte de grande surface spécifique, tandis que l'autre phase est un gaz mobile. Un composé qui a plus d'affinité pour la phase mobile, aura peu d'interaction avec la phase stationnaire et sera donc moins ralenti par celle-ci, et donc élué plus rapidement qu'un composé qui a plus d'affinité avec la phase stationnaire (**REIG et TOLDRA, 2008**).

#### **IV-3-1-3- Chromatographie sur couche mince (CCM)**

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption : la phase mobile est un solvant qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou aluminium. Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent, essentiellement par capillarité, à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant. Ce qui fait que chaque composant se déplace à sa propre vitesse (**OLIVEIRA *et al.*, 2006**).

#### **IV-3-2- Méthode spectrométrique « spectrométrie de masse (SM)»**

La spectrométrie de masse est une méthode physico-chimique permettant d'identifier un principe toxique. C'est une méthode de mesure des rapports masse/charge de molécules individuelles et ionisées et de leurs produits de fragmentations (**JEON *et al.*, 2008**).



# Chapitre 4

## V- Chapitre 4 : Revue de la littérature « Recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru »

### V-1- Revue de la littérature

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

Les antibiotiques sont utilisés non seulement en traitement thérapeutique, mais aussi comme agents prophylactiques, promoteurs de croissance et d'efficacité d'absorption de la nourriture en production animale. Leur utilisation prévient plusieurs maladies chez l'animal, lui apporte un certain confort et améliore le rendement à la ferme (**HAKEM *et al.*, 2013**).

En Algérie, les antibiotiques restent parmi les molécules les plus utilisées en élevage bovin. Leur usage, en traitement curatif, préventif ou en complémentarité dans l'alimentation animale, conduit inévitablement à la présence de résidus dans les denrées alimentaires issus de ces animaux.

L'utilisation de médicaments vétérinaires et en particulier d'antibiotiques dans la production animale a augmenté récemment en Algérie, ce qui fait que les antibiotiques sont les médicaments les plus souvent enregistrés (70% de tous les médicaments vétérinaires) utilisés chez les animaux (**KACI et CHERIET, 2013**).

Malgré la nécessité des antibiotiques dans l'arsenal thérapeutique et leur utilité économique, ces antibiotiques sont parfois utilisés de façon abusive, il convient donc de s'interroger sur les risques qu'encourent les consommateurs lorsque les antibiotiques sont utilisés chez des animaux producteurs de denrées alimentaires (**DELEPINE *et al.*, 2002**).

Parallèlement, le lait est un aliment complet dont l'intérêt nutritionnel est incontestable chez le jeune en croissance et chez l'adulte.

En Algérie, cette denrée, largement consommée, occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire avec une consommation de l'ordre de 97 litres/personne/an (**RAMDANE et al., 2017**).

Le lait peut être impliqué dans plusieurs problèmes sanitaires, notamment la contamination chimique, dues aux résidus de médicaments vétérinaires.

## **V-2- Recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru en Algérie**

Plusieurs travaux de recherche des résidus des antibiotiques dans lait cru ont été réalisés au niveau des plusieurs régions d'Algérie dans les dernières années.

Cette revue couvre 12 études en Algérie.

### **\* Dans la région centre de l'Algérie**

**BEN-MAHDI et OUSLIMAN (2009)**, ont signalé que 760 échantillons de lait ont été collectés sur les deux wilayas d'Alger et de Boumerdes. Un premier dépistage des échantillons a été réalisé par le test d'acidification suivi par une épreuve de confirmation de diffusion en gélose. Les résultats obtenus ont montré une contamination de 9,87 % des laits testés. Les résidus de pénicilline et/ou tétracyclines étaient à l'origine de la contamination de 97,33 % des échantillons de laits positifs alors que les résidus de macrolides et/ou d'aminosides n'ont été détectés que dans 2,67 % des prélèvements testés positifs.

Dans la région Freha au niveau de la wilaya de Tizi-Ouzou, **TITOUCHE et al. (2013)**, ont travaillé sur 171 échantillons de lait prélevés dans 14 fermes laitières et examinés. Le premier criblage des échantillons a été réalisé par test d'acidification à l'aide de *Bacillus stearothermophilus* (variété *calidolactis* ATCC 10149), suivi d'un test de confirmation sur gélose avec des spores de *B. stearothermophilus*, *B. subtilis* et *B. megaterium*. Ils ont signalé que les résultats ont montré une forte présence de résidus d'antibiotiques dans le lait cru, avec 80 échantillons positifs (46,78%). La plupart d'entre eux contenaient de la pénicilline et/ou de la tétracycline (88,75 %), suivis du macrolide et/ou de l'aminoglycoside (12,5 %). En revanche, les sulfamides n'étaient présents que dans 5% des cas positifs.

**HAMIROUNE *et al.* (2016)**, ont été évalué les pratiques d'hygiène instaurées dans 53 exploitations bovines laitières réparties dans les régions de Jijel et de Blida en Algérie. Pour cela, un questionnaire d'enquête a été élaboré, portant sur les conditions de la traite et sur le nettoyage du matériel utilisé. En parallèle, des analyses bactériologiques ont été effectuées afin d'estimer le taux, l'origine et l'évolution de la contamination bactérienne du lait cru produit à la ferme. En outre, des recherches ont été effectuées pour déceler la présence de résidus d'inhibiteurs. Ils ont signalé que la présence d'inhibiteurs bactériens a été décelée dans 28,8 % des échantillons de lait.

**AOUES *et al.* (2019)**, ont prélevé Cent cinquante-cinq échantillons de lait cru dans la région de Blida pour l'analyse à l'aide du kit beta star et le test d'inhibition microbienne. Ils ont signalé que les antibiotiques les plus utilisés sont : les pénicillines, les tétracyclines, les sulfamides et les macrolides. Un non-respect des délais d'attente par les éleveurs a été constaté. Le taux des échantillons de lait positifs aux résidus d'antibiotiques varie de 14% à 56%. Le test d'inhibition microbienne a révélé un taux d'échantillon positifs supérieur à celui du dépistage de beta star combo.

**BAAZIZE-AMMI *et al.* (2019)**, ont analysé les résidus des antibiotiques dans 117 échantillons de lait cru de vache et 33 échantillons de lait cru de chèvre dans la région de Blida. Ces échantillons ont été analysés par la méthode d'analyse DelvotestSP, suivi du BetaStar Combo pour la recherche des résidus de Béta-lactamines et de tétracyclines. Ils ont signalé que les résultats du DelvotestSP ont montré que 12,67% d'échantillons sont contaminés par des substances inhibitrices. Les Béta-lactamines et les tétracyclines sont présentes dans respectivement 26,32% et 15,79% des échantillons analysés.

**OUABDESSELAM *et al.* (2020)**, ont travaillé sur 200 échantillons de lait cru dans la région de Blida. Un criblage des échantillons a été réalisé par le test d'acidification suivi d'un test de diffusion sur gélose de confirmation. Ils ont signalé que les résultats ont montré des résidus dans 20,51% du lait testé. L'étude a révélé la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait cru de vache provenant d'exploitations agricoles dans des proportions variables. Les résidus de pénicilline et/ou tétracyclines est l'origine de contamination de 93,62% des échantillons positifs de lait tandis que les résidus de macrolide et /ou d'aminoglycoside n'ont été détectés que dans 6,38% des échantillons testés positifs.

**MIMOUNE *et al.* (2021)**, ont testant 160 échantillons de lait de vache dans la région du Centre Nord de l'Algérie, ont utilisant deux techniques microbiologiques distinctes (test d'acidification et test de diffusion sur gélose) pour deux souches *Bacillus stearothermophilus* et *Bacillus subtilis*. Ils ont signalé que les résultats ont montré une contamination par des résidus d'antibiotiques dans 18,12 % des échantillons. Les résidus de tétracycline et/ou de pénicilline étaient responsables de la contamination de 90 % des échantillons de lait positifs, tandis que les résidus de macrolides et/ou d'aminoglycosides n'ont été détectés que dans 6,66 % des échantillons positifs. La confirmation par le test de diffusion sur gélose des 31 échantillons de lait cru dont 30 positifs et un échantillon suspect, analysés par le test d'acidification, a montré un taux de contamination de 90,32 % pour les bêta-lactamines et/ou tétracyclines (28 échantillons) et un taux de contamination de 3,22 % pour les aminosides et/ou macrolides (2 échantillons).

Les résultats de cette étude ont montré que le contrôle et la surveillance des antibiotiques et de leurs résidus par les collecteurs et dans les aliments d'origine animale sont particulièrement importants pour assurer la sécurité sanitaire des aliments d'origine animale, et ainsi protéger le consommateur.

#### **Dans la région de l'Ouest algérien**

**GAOUAR *et al.* (2021)**, ont réalisé une enquête auprès de 30 vétérinaires praticiens de la wilaya d'Oran pour englober une cinquantaine d'échantillons de lait provenant de deux circuits de vente, et l'analyse des échantillons à l'aide du kit Delvotest® T. Ils ont signalé que les principales pathologies animales traitées par les antibiotiques sont les mammites (35,4%) et les métrites (25,6%). Les résultants ont montré aussi que le non-respect du délai d'attente (28,7%) et la mauvaise pratique du traitement de tarissement (21,3%) étaient les principales erreurs commises par les éleveurs lors d'un traitement des bovins par les antibiotiques. L'analyse de 50 échantillons de lait cru de vache a montré que 30% des échantillons collectés au niveau des fermes et 33,33% de ceux provenant des points de vente contiennent des résidus d'antibiotiques.

#### **Dans l'Est algérien**

**MEDDOURI *et al.* (2013)**, ont prélevé 170 échantillons dans les centres de collecte de lait cru dans la région de Souk Ahras au nord-est Algérie, pour l'objectif de la comparaison de

l'efficacité de deux tests de détection de résidus d'ATB (test rapide Beta Star et test enzymatique Penzym Test) utilisés par deux industriels du lait cru collectés. Ils ont signalé que l'analyse comparative des deux tests a montré une faible efficacité du test rapide par rapport au test enzymatique. Ce sont les LMR (limite maximale de résidus) élevées du test rapide par rapport au test enzymatique qui sont à l'origine de la différence de détection des ATB. De plus, le test kit<sup>2</sup> pratiqué sur la fréquence de détection comparée entre les centres de collecte a montré une différence significative ( $p < 0,05$ ). Deux facteurs sont liés à cette différence : le domaine de collecte du lait cru relatif à l'aire géographique (montagnes, plaines, hauts plateaux) qui conditionne l'intensité de certaines maladies et en effet l'intensité du traitement par l'ATB ; l'effet de dilution exercé par le mélange de lait lors de la collecte (corrélation négative entre la dose de résidus d'ATB et le nombre d'exploitations fréquentées par le centre de collecte).

**LAYADA *et al.* (2016)**, ont utilisant une méthode de présélection largement utilisée basée sur un essai d'inhibition microbienne ; Delvotest SP-NT; a été utilisé pour analyser 131 échantillons de lait prélevés de la région de Guelma. Dans une seconde étape une chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS/MS) a été utilisée. Ce dernier a d'abord été optimisé pour l'extraction de 36 médicaments vétérinaires de pénicillines, quinolones, macrolides, tétracyclines, sulfamides et triméthoprimine du lait collecté. Après simple extraction et dilution, les 194 échantillons, dont ceux préalablement testés par le Delvotest SP-NT, ont été analysés par LC-MS/MS. Ils ont signalé que les résultats LC-MS/MS, 65,46 % des échantillons non conformes contenaient des résidus autorisés à des niveaux supérieurs à la LMR, des résidus sans LMR fixée ou des résidus non autorisés.

**BENMEZIANE-DERRADJI *et al.* (2017)**, ont travaillé sur la recherche des deux familles d'antibiotique (ATB) les plus couramment utilisées par les vétérinaires dans le traitement des mammites et autres pathologies : les  $\beta$ -lactamines et les tétracyclines. La méthode de détection choisie était celle du « rapid test » type «  $\beta$ -Star Combo » au niveau de la laiterie « EDOUGH » Annaba, sur la période s'étalant du 15 mars 2016 (qui est la journée mondiale des droits des consommateurs) au 31 août 2016. Ils ont signalé que le screening a été suivi par une enquête au niveau des exploitations qui approvisionnent la laiterie. Les laits testés étant des laits de mélanges, il était donc indispensable de remonter à la source d'une

éventuelle contamination. Les résultats montrent un taux élevé des laits positifs au test (44.02%) pendant la première période, taux qui diminue au fur et à mesure jusqu'à arriver à un taux insignifiant durant la dernière période du screening.

### **Dans la région de la steppe**

Au niveau de la wilaya de M'sila, **DEBECHE *et al.* (2018)**, ont travaillé sur 10153 échantillons de lait cru issus de tous les tanks de livraison entre janvier et juillet 2017. Les échantillons ont été analysés par le kit de détection rapide de résidus d'antibiotiques des bêta-lactamines et des tétracyclines. Par ailleurs, une enquête sur l'utilisation d'antibiotiques a été réalisée auprès de 36 vétérinaires qui ont déclaré utiliser des oxytétracyclines (23,6 %), des sulfamides (15,5%), des pénicillines (13,8 %) et de l'amoxicilline (8,0%), etc. Ils ont signalé que la quantité de lait contenant des résidus d'antibiotiques recherchés par le test représente 3,25 % de la quantité livrée (120 tanks). Cette proportion varie selon le mois : la plus élevée ( $p < 0,05$ ) était en hiver, en janvier (8,6 %), et la plus basse en juin (0,3 %). La contamination était variable aussi selon la zone : la proportion la plus élevée (4,2 %,  $p < 0,05$ ) concernait celle de Boussaâda, caractérisée par un élevage spécialisé et intensif.

### **Discussion**

En général, des résidus des antibiotiques ont été détectés dans toutes les études présentées, indiquant un degré de contamination globale par ces molécules. Les résidus détectés dans les différentes régions : bêta-lactamines, tétracyclines, sulfamides, macrolides, aminosides, quinolones.

Les tests le plus utilisés dans les études c'est le test microbiologique Delvotest et le test immuno-enzymatique Beta-Star.

La contamination de lait cru par les résidus de bêta-lactamines et de tétracyclines est majoritaire selon les études réalisées (**BEN-MAHDI et OUSLIMAN (2009)** ; **TITOUCHE *et al.* (2013)** ; **AOUES *et al.*, 2019**; **BAAZIZE-AMMI *et al.*, 2019** ; **OUABDESSELAM *et al.* 2020** ; **MIMOUNE *et al.* 2021**).

Selon **HAMIROUNE *et al.* (2016)**, La majorité des éleveurs utilisent la pénicilline et/ou la tétracycline pour le traitement des mammites bovines.

D'après **GAOUAR *et al.* (2021)**, les principales pathologies animales traitées par les antibiotiques sont les mammites (35,4%) et les métrites (25,6%).

Selon **AMEUR *et al.* (2008)**, auteurs d'une enquête sur l'utilisation des antibiotiques intra-mammaires dans la wilaya de Tizi-Ouzou (Fréha, Azazga et Yakouren), l'utilisation des seringues d'antibiotiques à usage intra-mammaire est systématique en cas d'intervention sur des mammites aiguës. Les produits les plus utilisés (ou prescrits) sont à base de tétracycline, de pénicilline, rarement de macrolides. Le choix de ces molécules se fait essentiellement en fonction de leur efficacité et de leur prix.

Selon **GAOUAR *et al.* (2021)**, le non-respect du délai d'attente et la mauvaise pratique du traitement de tarissement étaient les principales erreurs commises par les éleveurs lors d'un traitement des bovins par les antibiotiques.

D'après **MIMOUNE *et al.* (2021)**, le contrôle et la surveillance des antibiotiques et de leurs résidus par les collecteurs et dans les aliments d'origine animale sont particulièrement importants pour assurer la sécurité sanitaire des aliments d'origine animale, et ainsi protéger le consommateur.



## Conclusion et recommandations

Le lait reste la première source des protéines animales et l'une des denrées alimentaires la plus consommée en Algérie, est un excellent produit doué de qualités nutritionnelles importantes et est généralement considéré comme un allié important de la santé.

L'utilisation excessive et inadaptée des antibiotiques chez les animaux contribue à amplifier la menace de la résistance aux antibiotiques. Certains types de bactéries responsables d'infections graves chez l'homme sont déjà devenues résistantes à la plupart des traitements disponibles, et très peu d'options thérapeutiques prometteuses sont en cours de développement pour prendre le relais.

Cette revue systématique couvre 12 études qui ont surveillé les résidus d'antibiotiques dans le lait cru collecté dans différentes régions de l'Algérie.

Les résidus de bêtalactamines et de tétracyclines sont les plus détectés en raison de leur emploi par les éleveurs pour le traitement des mammites.

Peu d'études ont détecté les résidus des sulfamides, macrolides, aminosides et quinolones dans le lait cru.

La simplicité, la rapidité et le coût sont les principaux facteurs du choix des méthodes de la recherche. Les tests rapides (DelvoTest et Béta-Star) restent les plus utilisés dans les études.

En plus de la formation au métier d'éleveurs, il faudrait suivre des formations qui pourraient contribuer à la sensibilisation des éleveurs sur le danger des antibiotiques afin d'être amené à ne plus les utiliser abusivement et d'en laisser la responsabilité de leur utilisation aux vétérinaires.

Les vétérinaires prescripteurs de médicaments, sont autant responsables de cette situation. Il convient de leur recommander une plus grande rigueur à la prescription des médicaments.

## Références bibliographiques

- 1) **-ABIDI K., 2004** –*Résidus d’antibiotiques dans le lait de boisson*. Thèse : Médecine vétérinaire, École nationale de médecine vétérinaire de Sidi Thabet, Tunisie, p 6-23.
- 2) **-AKODA K., 2004**- *Transfert, adaptation et validation de méthodes simples de détection des résidus d’oxytetracycline et de sulfamides dans le lait*. Mémoire de diplôme d’études approfondies de productions animales, Université de Dakar, Sénégal, p.p. 7-25.
- 3) **-ALAIS C., 1984** -*Sciences du lait. Principes de techniques laitières*. 3ème édition, Ed publicité France. PP 431- 432.
- 4) **-ALEMAYEHU T. et SERAWIT D., 2015** - Overview on Mechanisms of Antibacterial Resistance. *International Journal of Research in Pharmacy and Biosciences*, 2 (1): 27-36.
- 5) **-AMEUR A., RAHAL K., GUEDIOURA A., BOUYOUCEF A. et KAIDI R., 2008** -Utilisation des antibiotiques intra-mammaires dans la région de Tizi Ouzou. Premiers résultats. *Communication aux Sixièmes Journées des sciences vétérinaires, École nationale des services vétérinaires (ENSV)*, 19–20 avril 2008.
- 6) **-AMIOT J., FOURNIER S., LEBEUF Y., PAQUIN P. et SIMPSON R., 2002** - *Composition, propriétés physico-chimiques, valeur nutritive, qualité technologique du lait* In VIGNOLA, C.L. Science et technologie du lait – Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, p 600.
- 7) **-ANONYME., 2012**, cité par **BOULTIF., 2015** -Recueil des méthodes internationales d’analyses – OIV Résidus potentiellement al le géniques de protéines de collage dans le vin Méthode OIV- -MAAS315-23 [www.oiv.int/...%204%20Methodes%20d%20analyses/.../OIV-MA-AS31...](http://www.oiv.int/...%204%20Methodes%20d%20analyses/.../OIV-MA-AS31...) date de consultation, 05-10-2013.
- 8) **-ANONYME., 2006** -La chromatographie liquide haute performance, Cours de chimie Organique, minérale et structurale, Académie de Nancy, Mets, <http://www.acnancymetz.fr/enseign/HPLC;htm>.
- 9) **-ANONYME., 2007** – Read sensor instructions chapter : general user’s manual, read sensor instructions, version 1.2: *pending the upgraded version*, 11-38.
- 10) **-AOUES K., MEGATELIS S., TABEL M., REZKI I., TEFAHDI D. et BENRIMA A., 2019** -Détection des résidus d’antibiotiques dans le lait cru de vache collecté dans la région de Blida (Algérie). *Revue Agrobiologia* (2019) 9 :1214-1222.
- 11) **-BAAZIZE-AMMI D., DECHICHA A. S., TASSIST A., GHARBI I., HEZIL N., KEBBAL S., MORSLI W., BELDJOUDIS., SAADAOUI M. R., GUETARNI D., 2019**

- Recherche et quantification des résidus d'antibiotiques dans le muscle du poulet de chair et dans le lait dans la région centre d'algerie, *Rev. Sci, Tech, Off, Int, Epiz*, 2019, 38(3) .

12) **-BEHL A., AHUJA M. et DHAKE A. S., 2005** - Reverse phase high performance liquid chromatography method for quantification of ofloxacin tablets. *Indian Journal Pharm. Sci.*, 7: 479-485.

13) **-BELHADIA M., SAADOUD M., YAKHLEF H. et BOURBOUZE A., 2009** - La production laitière bovine en Algérie : Capacité de production et typologie des exploitations des plaines du Moyen Cheliff. *Revue Nature et Technologie*. n° 01/Juin 2009. p 54-62

14) **-BENCHARIF A., 2001** -Stratégie des acteurs de la filière lait en Algérie : état des lieux et problématiques. *Option Méditerranéenne. Série. B/n032-les filières et marchés du lait et dérivés en Méditerranée*. p 28.

15) **-BENELKADI K., 2007** -Industrie du lait en Algérie, *Journal el Watan*, édition du 7 mai 2007.

16) **-BEN-MAHDI M.H. et OUSLIMANI S., 2009** - Mise en évidence de résidus d'antibiotiques dans le lait de vache produit dans l'Algérois. *Eur. J. Sci. Res*, 36(3) : 357–362.

17) **-BENMEZIANE-DERRADJI F., MOHAMMADI S. et KHEMIS H., 2017** - Détection de résidus d'ATB dans le lait de vache produit dans l'Est algérien, *PhytoChem & BioSub Journal* Vol. 11(3) 2170-1768.

18) **-BERGOGNE B. et DELLAMONICA P., 1995-** *Antibiothérapie en pratique clinique*, Ed Masson, Paris, p 486.

19) **-BOULTIF L., 2015** – *Détection et quantification des résidus de terramycine et de pénicilline dans le lait de vache par chromatographie liquid haute performance (HPLC)*. Thèse de doctorat en sciences vétérinaires. Université des frères Mentouri de Constantine. (113 pages).

20) **-BOURIN M., MICHEL L. et ALLAIN H., 1994** - *Médicaments antibiotiques, Traité de chimie Thérapeutique*, Vol 2 Cours de pharmacologie, 3 ème édition.

21) **-BRYSKIERA., 1999** - *Agents antibactériens et antifongiques*, Paris ; Ellipses ;1216 p 57 : 187-190.

22) **-BROUILLET P., 1994** -Maîtrise de la présence d'inhibiteurs dans le lait. *Recueil de médecine vétérinaire*, n° 170, Juin-Juillet 1994, p. 443-454.

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

- 24) **-BILLON J. et SENG HUOR T., 1979-** Détection des antibiotiques : identification et dosage par la méthode électrophoretique – le lait, INRA Editions, 1979, 59 (587), pp. 361-375. *hal-00928827*.
- 25) **-BOATTO G., CERRI R., PAU A., PALOMBA M., PINTORE G. et GIOVANNA DENTI M., 1998** - Monitoring of benzyl penicillin in ovine milk by HPLC. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, Volume 17*, Août1998, p 733-738.
- 26) **-CHÂTAIGNER B. et STEVENS A., 2005** - Investigation sur la présence de résidus d'antibiotiques dans les viandes commercialisées à Dakar, *Institut Pasteur de Dakar*, p 6-9.
- 27) **-CHEFTEL JC. et CHEFTEL H., 1996** - *Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments*. Ingénieurs praticiens. Ed Tech & Doc Lavoisier. Paris. PP 43.
- 28) **-CLAUDE MICHEL J., POULIOT M., RICHARD J. et VALLERAND C., 2002** - *Lait de consommation* In VIGNOLA C. L., *Science et technologie du lait-transformation du lait*, Ecole polytechnique de Montréal, ISBN:298 (600 pages).
- 29) **-COURTET LEYMARIOS F., 2010** - *Qualité nutritionnelle du lait de vache et de ses acides gras. Voies d'amélioration par l'alimentation*. Thèse pour le doctorat vétérinaire, faculté de médecine de Créteil, p 18-37.
- 30) **-CROSBY N. T., 2008** - *Determination of veterinary residues in food, woodhead publishing limited*, cambridge England, ISBN 978- 85573-341-1 (234 pages).
- 31) **-DEBRY et GERARD., 2001** - *Lait, Nutrition et santé*. . Jean-Pierre Poulin « *Représentation sociales du lait* ». Ed : Tec et Doc. Paris. Lavoisier. PP498-38.ISBN: 2-7430-0431-2.
- 32) **-DELEPINE B., HURTAUD-PESSEL D. et SANDERS P., 2002** - Les méthodes récentes d'analyse physico-chimique des résidus d'antibiotiques dans le lait. *Bull des GTV*, (15): 191-196.
- 33) **-DEBECHE E.H., GHOZLANE F. ET MADANI T., 2018** - Importance de certains résidus d'antibiotiques dans le lait de vache en Algérie : Cas de la wilaya de M'sila. *Live stock Research for Rural Development* 2018, 30 (6).
- 34) **-DILMI-BOURAS A., 2008** - Filière lait : Exemple de l'Algérie. *Séminaire interne : Filière lait : Productions et biotechnologies, Chlef*.
- 35) **-DUVAL J. et SOUSSY C. J., 1985** - *Abrégés d'antibiotiques* Paris : Masson. 180 p.
- 36) **-ESSALHI M., 2002** - *Relations entre les systèmes de production bovines et les Caractéristiques du Lait*. Mémoire D'ingénieur. Université institut Agronomiques et vétérinaire Hassan II. Rabat. P104.

- 37) **-ESPINASSE L., AGRIMER F., FRANCOIS M., LESCOP M., MAHAUT B. et RIGAL G., 2011**, cité par **BOULTIF., 2015** - Guide d'utilisation des kits immunoenzymatiques format microplaques (kits ELISA). *IRTAC (Institut de Recherches Technologiques Agro-Alimentaires des Céréales)*, p 4-23.
- 38) **-FABRE J.M., MORETAIN J.P. et BERTHELOT X., 2002** - Évolution de la méthode interprofessionnelle de recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait. *Bulletin des GVT*, n°15. Avril-Mai-Juin 2002, p 26-28.
- 39) **-FORM G., 2003** - *Les résidus inhibiteurs dans le lait – Evolution des méthodes de détections – Facteurs de risque en région Rhône-Alpes*. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude-Bernard-Lyon I, France, (102 pages).
- 40) **-FOLLET G., 2007** - Utilisation des antibiotiques chez l'animal : Problèmes et Actions, Rencontres Parlementaires "*Santé - Société - Entreprise*", *Assemblée Nationale du 12 novembre 2007 en France*.
- 41) **-FREDOT E., 2006** - *Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique*, Tec et Doc, Lavoisier: 25 (397 pages).
- 42) **-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 pour le doctorat vétérinaire, faculté de médecine de Créteil. p 9-73.
- 43) **-GAOUAR Z. L., LOUKAF K. et MASMI N., 2021** - Les résidus d'antibiotiques dans le lait cru de vache : état des lieux dans la région de l'Ouest Algérien. *J Fac Med Or* 2021 5(1):653-660.
- 44) **-GOURSAUD J., 1985** - *Composition et propriétés physico-chimiques. Dans laits et produits laitiers vaches, brebis, chèvre*. Ed .tec & Doc Lavoisier .Paris. P50-150.
- 45) **-GUIRAUD J.P., 1998** - *Microbiologie alimentaire, microbiologie des principaux produits laitiers*. Edition DUNOD , Paris 65.
- 46) **-GUPTA V., JAIN A.D.K., GILL N.S. et GUPTA K., 2012** - Development and validation of HPLC method. *Int. Res. J. Pharm. App Sci.*, 2 (4) : 17-25.
- 47) **-GYSI M., 2006** - Antibiotiques utilisés en production laitière en 2003 et 2004. *Suisse Agric.* 38 (4) : 215-220.
- 48) **-HAKEM A., TITOUCHE Y., HOUALI K., YABRIR B., MALKI O., CHENOUF N., 2013** - Screening of antibiotics residues in poultry meat by microbiological methods. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine*, 70 (1): 77-82.

- 49) **-HAMIROUNE M., BERBER A.et BOUBEKEURS., 2016** - Évaluation de la qualité bactériologique du lait cru bovin à divers stades de la chaîne de production laitière dans des fermes en Algérie. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 35 (3)
- 50) **-HANZEN C., 2008**, cité par **BOULTIF., 2015** - *La pathologie infectieuse de la gland mammaire. Approche individuelle Année 2007-2008*  
[http://eap.mcgill.ca/AgroBio/ab\\_head.htm](http://eap.mcgill.ca/AgroBio/ab_head.htm) date de consultation:14/07/2013.
- 51) **-JAUSSAUD P., 2002** - *Cours de pharmacologie de première année de deuxième cycle*, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.
- 52) **-JEAN C.et DIJON C., 1993** - *Au fil du lait*, ISBN 2-86621- P172-3.
- 53) **-JEANTET R., CROGUENNEC T., MAHAUT M., SCHUCK P.et BRULE G., 2008** - *Les produits laitiers* ,2ème édition, Tec et Doc, Lavoisier: 1-3-13-14-17 (185 pages).
- 54) **-JEON M., KIM J., PAENG K.J., PARK S. W. et PAENGI R., 2008** - Biotin-avidin mediated competitive enzyme-linked immune sorbent assay to detect residues of tetracyclines in milk. *Micro chemical Journal.*, 88 (1) : 26-31.
- 55) **-JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE., 2001** - Bulletin officiel n° 4862 du 9 chaoual 1421 (4 janvier 2001), Décret n° 2-00-425 du 10 ramadan 1421 (7 décembre 2000) relatif au contrôle de la Production et de la commercialisation du lait et produits laitiers.
- 56) **-KACI A., et CHERIET F., 2013** - Analyse de la compétitivité de la filière de viande de volailles en Algérie : tentatives d'explication d'une déstructuration chronique. *New Medit*, 2 : 11-21
- 57) **-KAPOOR G., SAIGAL S. et ELONGAVAN. A., 2017** - Action and resistance mechanisms of antibiotics : A guide for clinicians. *Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology*, 33 (3): 300-305.
- 58) **-LABIECH., 1981** - Dispositions législatives destinées à éviter la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait. *Recueil de médecine vétérinaire*, n°157, p 161-167.
- 59) **-LARPENT J. P. et SANGLIER J. J., 1989** - *Biotechnologie des antibiotiques*. Paris Technique et documentation, 1037 p.
- 60) **-LAURENTIE M. et SANDERS P., 2002** - Résidus de médicaments vétérinaires et temps d'attente dans le lait. *Bulletin GVT*, n°15. p 51-55.
- 61) **-LAYADA S., BENOURETH D. E., COUCKE W. et ANDJELKOVIC M., 2016** - Assessment of antibiotic residues in commercial and farm milk collected in the region of Guelma (Algeria). *International Journal of Food Contamination*. 3:19.

- 62) -LESEUR R. et MELIK N., 1999 - *Lait de consommation In LUQUEE F.M, Lait et produits laitiers vache brebis chèvre*, Tec et Doc, Lavoisier, Paris : 5 (637 pages).
- 63) -LE CHAT P., 2007 - *Pharmacologie, Service de pharmacologie*, Université Paris-VL, Edition EXT EM. P 307.
- 64) -LOICHOT A. et GRIMLA B., 2006 - *Introduction à la pharmacocinétique – passages trans-membranaires*. Faculté de Médecine de Strasbourg, Module de Pharmacologie Générale DCEM1.
- 65) - MEDDOURI D. E., MAMINE F. ET MADI S., 2013 - Contrôle des résidus d'antibiotiques dans le lait cru dans la région de Souk Ahras : quelques informations pour s'assurer de l'efficacité du dépistage. *hal-02810239*, version 1.
- 66) - MIMOUNE N., SEDDIKI S., BAAZIZI R., SABOUNDJI I. E., 2021 - *Résidus d'antibiotiques dans le lait de vache*. Editions universitaires européennes. 100 p.
- 67) - NEVILLE M.C. et JENSEN R.G., 1995 - *The physical properties of human and bovine milks* In JENSEN R., *Handbook of milk composition-General description of milks*, Academic Press, Inc : 82 (919 pages).
- 68) - NISHA R., 2008 – Antibiotic Residues: A Global Health Hazard. *Veterinary World*, 1 (12): 375-377.
- 69) - OLIVEIRA R., DE PIETRO A. et CASS Q., 2006 - Quantification of cephalexin as residue levels in bovine milk by high-performance liquid chromatography with on-line sample cleanup. *Talanta*, 71: 1233–1238.
- 70) - OUABDESSELAM L., BENMAAMAR Z., BERBAR A., 2020 - Contribution to the Identification of Antibiotics Residues in Raw Bovine Milk in Algeria. *Eur J Basic Med Sci*;10(1):43-46.
- 71) - PAYNES W. J. A., 1999 - *An introduction to animal husbandry in the tropics*. 4<sup>ème</sup> édition. Longman Scientific Technical. New York, p 752-766.
- 72) - PERSON J. M., 1984 - Influence des résidus d'antibiotiques sur la flore digestive du consommateur. *La Semaine vétérinaire*, n° 203, Février 1981, p 8.
- 73) - POUGHEON S., 2001 - *Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière*, Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse, France: 34 (102 pages).
- 74) -POUGHEON S. et GOURSAUD J., 2001 - *Le lait et ses constituants caractéristiques physicochimiques*, In : DEBRY, G. *Lait, nutrition et santé*, Tec & Doc, Paris, 342 p.

- 75) - **PUYT J. D., 2003** - Des résidus de médicament très surveillés. *Revue : Réussir Lait Élevage, Réussir Bovins Viande : Dossier spécial médicaments vétérinaires*, Décembre 2003.
- 76) - **RAMDANE S., BRAHIM M., DJERMOUN A. et HADJ SADOK T., 2017** - Consumption of milk and dairy products according to deciles: survey of Algerian households. *Revue Agrobiologia*, 7(1): 371-381
- 77) - **REYBROECK W., 2004** - Résidus d'antibiotiques dans le lait : Utilisation des kits de dépistage des inhibiteurs. *Le Point Vétérinaire*, n° 242, Janvier-Février 2004, p 52-57.
- 78) - **REIG M. et TOLDRA F., 2008** – Veterinary drug residues in meat : Concerns and rapid methods for detection. *Meat Science*, 78 (1-2) : 60-67.
- 79) - **SAVIC S., 2018** - Antibiotic use in animals. Londres, In Tech.
- 80) - **SCHWARZ S. et KEHRENBERG C., 2001** - Use of antimicrobial agents in veterinary medicine and food animal production. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2001, 17, (6), p 431-437.
- 81) - **SCIPPO M.L., MAGHUIN-ROGISTER G., 2006**, cité par **BOULTIF., 2015** - Résidus et contaminants des denrées alimentaires : 25 ans de progrès dans leur analyse : méthodes biologiques de dépistage. *Annale de médecine vétérinaire*, n°150, p 125-130.
- 82) - **SRAIRI M.T., BENSALÉM M., BOURBOUZE A., ELLOUMI M., FAYE B., MADANI T., YAKHLEF H., 2007** - Analyse comparée de la dynamique de la production laitière dans les pays du Maghreb. *Cahier Agriculture* Vol. 16, N°4,251-257.
- 83) - **STEAD S., SHARMAN M. et TARBIN J. A., 2004** - Meeting maximum residue limits: an improved screening technique for the rapid detection of antimicrobial residues in animal food products. *Food Addit. Contam.*, 21: 216–21
- 84) - **STOLTZ R., 2008** - *Les résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale : évaluation et maîtrise de ce danger*, thèse de doctorat vétérinaire, université Claude-Bernard - Lyon I (médecine - pharmacie), p 11-79.
- 85) - **TITOUCHE Y., HAKEM A., HOUALI K., YABRIR B., MALKI O., CHERGUI A., CHENOUF N., YAHIAOUI S., LABIAD M., GHENIM H., KECHIH-BOUNAR S., CHIRILA F., NADAS G. et FIT N.I., 2013** - La détection des résidus d'antibiotiques dans le lait cru produit dans Freha Area (Tizi-Ouzou), Algérie. *Médecine vétérinaire*, 70(1): 85-86.
- 86) - **VIGNOLA C. L., 2002** - *Science et technologie du lait : Transformation du lait – Montréal* : presse internationale polytechnique 600p.
- 87) - **VIERLING E., 2003** - *Aliment et boisson-Filière et produit*, 2ème édition, doin éditeurs, centre régional de la documentation pédagogique d'Aquitaine:11(270 pages).



**88) - ZIADI H., 2010 - *Essai d'amélioration du taux de rétention de la tétracycline dans un polymère à empreinte moléculaire formé de co-polymères fonctionnalisés de l'acide lactique***, Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de maître en sciences pharmaceutiques, Université de Montréal, p 1-57.