



République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريش  
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.  
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers  
قسم العلوم البيولوجية  
Département des Sciences Biologiques



# Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Sciences Biologiques**

**Spécialité : Microbiologie.**

## Thème

**Contribution à l'étude des résidus d'antibiotiques dans le lait  
de vache dans la région Centre de l'Algérie.**

**Présenté par : SEDDIKI SARA.**

**Devant le jury :**

**Président:** M<sup>me</sup> ZERROUG AMINA MAA (Univ : El bachir El Ibrahimi ; BBA)  
**Promoteur:** M<sup>me</sup> MIMOUNE NORA MCA (ENSV, Alger)  
**Co-Promoteur:** M<sup>me</sup> ABED HASNA MAA (Univ : El bachir El Ibrahimi ; BBA)  
**Examineur:** M<sup>me</sup> SOUAGUI YASMINA MCB (Univ : El bachir El Ibrahimi ; BBA)

**Année universitaire : 2017/2018.**

## REMERCIEMENTS

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

En premier lieu, j'exprime ma profonde gratitude et mon grand respect à ma promotrice M<sup>me</sup> MIMOUNE Nora, MCA à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger (ENSV), pour avoir accepté d'encadrer cette thèse, pour la confiance qu'elle a eu en moi en acceptant de m'encadrer, pour tout le temps qu'elle m'a consacré et pour ces précieuses conseils me permettant d'apprendre et d'évoluer sans cesse.

Je tiens à remercier M<sup>me</sup> Abed Hasna, MCB à l'université El Bachir El Ibrahimi de Bordj Bou Areridj, qui a accepté de co-encadrer ce travail, que vous soyez assurée de mon entière reconnaissance.

Je tiens à remercier les membres de jury de thèse :

M<sup>me</sup> ZEROUG Amina, qui nous a fait l'honneur de présider le jury.

M<sup>me</sup> SOUAGUI Yasmina qui nous a fait l'honneur d'examiner ce travail.

J'adresse mes vifs remerciements à M<sup>me</sup> CHAHED, MCA à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire, qui nous ont accueillies à bras ouvert au sein de laboratoire D'HIDAOA de l'ENSV.

Mes vifs remerciements vont aussi aux :

D<sup>f</sup> TARZALI Dalila, Maître assistante à l'université Saad Dahleb, Blida 1 pour son aide morale et ses conseils.

D<sup>f</sup> BOUKHECHEM Said, Dr DIB Amira à l'université de Constantine qui ont fait tout leur possible pour nous fournir le matériel nécessaire pour l'étude expérimentale.

Louisa : Ingénieur au Laboratoire d'HIDAOA à l'ENSV, pour sa disponibilité, son aide et sa gentillesse.

Ami Ahmed : Ingénieur au laboratoire de Parasitologie à l'ENSV

Ami Rachid : Ingénieur au laboratoire de l'Anatomie-pathologique à l'ENSV

Yacine : Bibliothécaire à l'ENSV.

J'adresse également, mes sincères remerciements aux responsables et membres de l'Institut National de la Médecine Vétérinaire.

Ce travail ne serait pas ce qu'il est sans l'aide de vous D<sup>r</sup> BEN SGHIER Hassène, mes chaleureux remerciements.

A Tous les membres de départements de SNV de l'Université El Bachir El Ibrahimi de Bordj Bou Areridj.

J'ai beaucoup appris avec vous. Je vous dis à tous un GRAND MERCI.

## *Dédicaces :*

*A fin d'être reconnaissante envers ceux qui m'ont appuyé et encouragé à effectuer ce travail de recherche, je dédie cette thèse.*

*A mon père et ma mère,*

*Vous qui n'avez cessé de vous sacrifier pour mon bonheur, que dieu vous accorde une longue vie afin que vous puissiez jouir des fruits de vos efforts.*

*A l'âme de ma sœur : Lamia, puisse dieu, le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde.*

*A mes frères et leurs familles :*

*Youcef et Sara et leurs enfants : Mouhamed anes, lamia, alaa, et jana Hachem et Lobna et Leurs enfants : Meriem et Haroun.*

*Chafik et Ismahan.*

*A ma sœur :*

*Khedidja .*

*A ma très chère amie Ikram et sa fille Meriem., que dieu la protège.*

*A mes amis : Zitouni, Ward, Nadia, Selma.*

*A tous les membres de ma famille sans aucune exception.*

*Seddiki Sara.*

## Liste alphabétique des abréviations

**°C** : degree celsius

**BLA** : Bovin laitier amélioré

**BLM** : Bovin laitier Moderne.

**C<sub>a</sub>**: Calcium

**CE**: Comité Européen

**EAI et EAC** : Exploitations agricoles issues de la restructuration des anciennes fermes d'état

**EC** : Electrophorèse capillaire

**ELISA** : Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

**ENSV** : école Nationale Supérieure Vétérinaire

**h** : heure

**Ha** : Hectare

**HIDAOA** : Hygiène et Inspection des Denrées Alimentaires d'Origine Animale

**HPLC** : High Performance Liquid Chromatography

**INMV** : Institut Nationale de la Médecine Vétérinaire

**K cal** : Kilocalorie

**Kj** : Kilo joule

**LMR** : Limites Maximales des Résidus

**P** : phosphore

**pH** : potentiel hydrogène

**UE** : Union Européenne

**UFC** : Unité Formant Colonie

**UFC/ml** : Unité Formant Colonie par millimètre

**UHT** : Ultra High Temperature

**UI** : unité internationale

## Liste des figures

	<b>Page</b>
<b>Figure n° 01:</b> La répartition des réponses selon la fréquence de l'intervention des vétérinaires dans l'élevage bovin laitier.....	24
<b>Figure n° 02:</b> Récurrence des mammites.....	26
<b>Figure n° 03:</b> La fréquence de l'utilisation du traitement en lactation.....	27
<b>Figure n°04:</b> Préparation du lait témoin positif.....	37
<b>Figure n°05 :</b> Préparation de l'échantillon du lait de vache.....	40
<b>Figure n°06 :</b> Tubes à essai identifiés et numérotés.....	40
<b>Figure n° 07:</b> Exemple du plan de boite adopté lors de l'épreuve de confirmation.....	43
<b>Figure n°08 :</b> Zone d'inhibition.....	44
<b>Figure n° 09:</b> Résultat global du test d'acidification.....	46
<b>Figure n°10 :</b> Résultat global de la contamination du lait de vache par les résidus d'antibiotiques.....	50

## Liste des tableaux

	<b>Page</b>
<b>Tableau I :</b> Composition chimique moyenne du lait.....	03
<b>Tableau II :</b> Principaux aspects de la qualité du lait.....	08
<b>Tableau III:</b> Type d'intervention (préventif ou curatif).....	24
<b>Tableau IV:</b> Les antibiotiques les plus préconisés dans les élevages bovins laitiers.....	25
<b>Tableau V :</b> Les antibiotiques les plus utilisés par voie générale en cas de mammites.....	26
<b>Tableau VI :</b> Les antibiotiques les plus utilisés par voie locale en cas de mammites.....	27
<b>Tableau VII:</b> Les antibiotiques les plus utilisés en cas de tarissement.....	28
<b>Tableau VIII:</b> Les motifs du choix de l'antibiotique utilisé.....	28
<b>Tableau IX:</b> L'avis des vétérinaires concernant le traitement des mammites par les éleveurs.....	29
<b>Tableau X:</b> L'avis des vétérinaires sur le traitement d'autres pathologies par les éleveurs.....	29
<b>Tableau XI:</b> Comportement de l'éleveur vis-à-vis du délai d'attente.....	30
<b>Tableau XII:</b> Les problèmes liés aux antibiotiques.....	30
<b>Tableau XIII :</b> Plan d'échantillonnage.....	33
<b>Tableau XIV:</b> Familles d'antibiotiques détectées par <i>B.searothermophilus</i> et <i>B.subtilis</i> lors de l'épreuve de confirmation.....	43
<b>Tableau XV :</b> Distributions des échantillons selon les wilayas.....	44
<b>Tableau XVI :</b> Résultat de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait de vache provenant de la wilaya d'Alger.....	45
<b>Tableau XVII :</b> Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait de vache provenant de la wilaya de Boumerdes.....	45

<b>Tableau XVIII :</b> Résultat global obtenu pour le test d'acidification.....	46
<b>Tableau XIX:</b> Diamètre moyen des inhibitions obtenues par wilaya et par micro-organisme test.....	47
<b>Tableau XX :</b> Résultat de la recherche des résidus des bêta-lactamines et/ou des tétracyclines.....	48
<b>Tableau XXI :</b> Résultat de la recherche des résidus des macrolides et/ou aminosides.....	49
<b>Tableau XXII :</b> Résultat global de la recherche des résidus d'antibiotiques.....	50



# Tables des matières :

Page

Abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

**Introduction .....01**

## Etude bibliographique

### **Chapitre I : Lait et modalités de contaminations par les résidus d'antibiotiques**

I.1. Généralité sur la filière laitière en Algérie.....02

I. 2. Définition et généralité sur le lait.....03

I.2.1. Définition.....03

I. 2.2. Composition du lait de vache.....03

I.2.3. Valeurs nutritives du lait.....05

I.2.4. Qualité du lait.....07

### **Chapitre II : Les résidus Antibiotiques dans le lait de vache.**

II.1 .Inhibiteurs naturels.....09

II.2. Les résidus antibiotiques.....09

II. 2.1. Notion de résidus de médicaments vétérinaires.....09

II.2.2. Limite maximale des résidus.....09

II.2.3. Le délai d'attente.....09

II.3. Classification des principaux anti-infectieux à usage vétérinaires.....10

II.3.1. Définition des antibiotiques.....10

II. 3.2. Les familles des antibiotiques.....10

II.4. Utilisation des antibiotiques en élevage bovin laitier.....12

II.4.1. Sur le plan prophylactique.....12

II.4.2. Sur le plan thérapeutique.....12

II.4.3. Sur le plan zootechnique.....13

II.5. Pharmacocinétique et résidus.....13

II.5.1. Absorption et distribution.....	13
II.5.2. La biotransformation.....	13
II.5.3. Elimination.....	14
II.6. Modalités de contamination par les résidus d’antibiotiques.....	14
II.7. Dangers dus à la présence de résidus d’antibiotiques dans le lait de vache.....	15
II.7.1. Problèmes sanitaires.....	15
II.7.2. Problèmes liés à la technologie.....	16
II.8. Risque de développement de l’antibiorésistanc.....	16
II.8.1. Définition de l’antibiorésistance.....	16
II.8.2. Relation entre résidus d’antibiotiques et résistances bactériennes aux antibiotiques...	17
II.8.3. Les conséquences de l’antibiorésistance.....	17

### **Chapitre III : Méthodes de recherche et de confirmation des résidus d’antibiotiques dans le lait.**

III.1. Historique et évolution des méthodes de détection.....	19
III. 2. Méthodes de détection.....	19
III.2.1. Méthodes microbiologiques.....	19
III.2.2. Méthodes enzymatiques.....	20
III.2.3. Méthodes immuno-enzymatique.....	21
III.3. Méthodes physico-chimiques.....	21

## **Etude expérimentale**

### **Volet I : Enquête par questionnaire**

I.1. Objectif.....	23
I.2. Matériels et Méthodes.....	23
I.2.1. Description du questionnaire.....	23
I.2.2. Exploitation du questionnaire.....	23
I.3. Résultats.....	23
I.3.1. Fréquence d’intervention dans ma filière bovine laitière.....	24
I.3.2. Type d’intervention (curatif ou préventif).....	24
I.3.3. Antibiotiques prescrit.....	25

I.3.4. Fréquence d'apparition des mammites selon la saison.....	25
I.3.5. Antibiotiques les plus utilisés en cas de mammites.....	26
I.3.6. Utilisation des antibiotiques en lactation.....	27
I.3.7. Antibiotiques utilisés en cas de tarissement.....	28
I.3.8. Choix des antibiotiques.....	28
I.3.9. Respect de la dose prescrite.....	28
I.3.10. Utilisation des antibiotiques par l'éleveur.....	29
I.3.11. Respect du délai d'attente par l'éleveur.....	29
I.3.12. Les problèmes liés par la présence des résidus d'antibiotiques.....	30
I.4. Discussion.....	31
<b>Volet II : Recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait de vache</b>	
II.1. Objectif.....	33
II.2. Matériels et Méthodes.....	33
II.2.1. Lieux et durée de l'étude expérimentale.....	33
II.2.2. Matériels.....	33
II.2.3. Méthodes.....	38
II.3. Résultats.....	44
II.3.1. Origine des échantillons prélevés.....	44
II.3.2. Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait de vache par la méthode microbiologique officielle.....	44
II.3.3. Résultat de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait de vache par l'épreuve de confirmation.....	46
II.4. Discussion.....	51
II.4.1. Résultats positifs.....	51
II.4.2. Résultats négatifs.....	53
II.4.3. Résultats Douteux.....	53
<b>III. Conclusion et recommandation.....</b>	<b>55</b>

Annexe

Références bibliographiques

# ***Introduction***

## **Introduction**

Le lait est un produit fragile, qui doit répondre à des normes drastiques, afin d'assurer une qualité irréprochable tant sur le plan microbiologique que toxicologique. Un lait destiné à la consommation humaine se doit par conséquent d'être exempt de tout type de contamination et tout particulièrement médicamenteuse. Malheureusement, l'usage croissant et souvent irraisonné de produits antibiotiques se solde très souvent par la présence de leurs résidus dans le lait. La présence de résidus d'antibiotiques dans le lait peut parfois constituer un danger pour le consommateur en déclenchant dans de rares cas des accidents allergiques (**Dewdney et al., 1991**), toxiques (**Perry., et al., 1967**) ou encore en favorisant l'émergence d'une microflore multi-résistante; mais également et, surtout être à l'origine de perturbations importantes des processus de fermentation et de maturation des produits laitiers de large consommation tels que le yaourt, le fromage et d'autres laits. Le traitement thermique du lait permettrait uniquement l'élimination d'une partie seulement des résidus dans la mesure où tous les antibiotiques ne présentent pas la même thermolabilité (**Pilet ., et Toma., 1969**).

En Algérie, les informations relatives à l'importance de la contamination du lait par les résidus d'antibiotiques restent extrêmement limitées. C'est dans ce cadre que nous avons jugé intéressant de réaliser cette étude, qui vise les objectifs suivants :

- Récolter les informations sur l'utilisation des antibiotiques en élevage bovin grâce à une enquête auprès des praticiens vétérinaires basée sur un questionnaire ;
- Rechercher les résidus d'antibiotiques dans le lait de vache ;
- Connaître les principales familles d'antibiotiques mises en cause.

*Etude*  
*Bibliographique*

# *Chapitre I*

## ***Chapitre I : Lait et modalités de contaminations par les résidus d'antibiotiques***

### **I.1. Généralité sur la filière laitière en Algérie**

Le lait occupe une place importante dans la ration alimentaire de chacun quel que soit son revenu. Ainsi, la consommation interne est estimée à 5,6 millions de litres alors que la production laitière nationale même en étant passée d'un volume de 1,55 milliards de litres en 2000 à 3,465 milliards en 2015, reste toute fois encore très insuffisante pour faire face à de besoins toujours plus grands (Makhlouf., *al.*,2015 ., Makhlouf ., et Mantaigne., 2017).

La production laitière bovine en Algérie est le fait d'un cheptel bovin estimé à 714 719 têtes en 2013 (Cherif ., 2013 ., MADRP., 2015) qui évoluent dans le cadre de deux systèmes de production dominants :

✓ ***Le système de production « intensif » BLM (bovin laitier moderne)***

Ce système est constitué par les exploitations privées ainsi que les EAI et EAC (exploitations agricoles issues de la restructuration des anciennes fermes d'état).

Ces élevages s'inscrivent dans des exploitations de moins de 5 hectares. Le cheptel est constitué par des races importées à haut potentiel de production 120 à 130.000 vaches pour une production estimée entre 420 et 450 millions de litres soit 62% à 56% de la production laitière bovine globale (FERRAH ., 2000).

✓ ***Le système de production « extensif » BLA (bovin laitier amélioré) :***

Il concerne des ateliers de taille relativement réduite (1à 6 vaches) localisés dans les zones de montagnes et forestières. Ce système utilise des peuplements bovins issus de multiples croisements entre les populations locales et les races importées (FERRAH., 2000).

Par ailleurs, l'Algérie est classée comme étant le second pays importateur de poudre de lait à l'échelle mondiale, elle n'a jamais réussi, à ce jour à satisfaire les besoins de sa population sans procéder aux importations (Cherif ., 2013).



## **I.2. Définition et généralités sur le lait**

### **I.2.1. Définition**

L'arrêté interministériel du 29 Safar 1414 correspondant au 18 août 1993 (**JORDAP., 2014**) relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation, définit le lait comme étant « le produit intégral de la traite totale et interrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée, il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum ».

La dénomination « lait » est réservée exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale, obtenue par une ou plusieurs traites, sans aucune addition ni soustraction et n'ayant pas été soumis à un traitement thermique (**Meklati Fawzi Rostane ., 2018**).

### **I.2.2. Composition du lait de vache**

#### *✓ Composition chimique*

Le lait est un fluide aqueux, opaque, blanc, légèrement bleuté, ou jaunâtre du fait de la présence de bêta-carotène de saveur douceâtre (**Pougheon ., et Goursaud ., 2001**).

Le lait est un produit très complexe, ses principaux constituants sont : l'eau, les graisses, les protéines, le lactose et les minéraux. Le lait contient également des traces d'autres substances telles que : les pigments, les enzymes, les vitamines, les phospholipides et les gaz dissous (**voir tableau I**)

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

Composition chimique	g/l
Eau	<b>900</b>
Matières grasses	<b>35-45</b>
Lactose	<b>47-52</b>
Matières azotées	<b>33-36</b>
Matières minérales	<b>9-9,5</b>
Extrait sec total	<b>125-130</b>
Extrait sec dégraissé	<b>90-95</b>

(**FAO., 1998**).

### ✓ *Composition biologique :*

Le lait contient un nombre variable de cellules ; celles-ci correspondent à la fois à des constituants normaux comme les globules blancs, mais également à des éléments d'origine exogène que sont la plupart des micro-organismes contaminants (**Gripon et al., 1975**).

#### **a. Micro-organismes :**

De très nombreuses variétés de micro-organismes peuvent contaminer le lait : bactéries, moisissures, levures. L'importance et la nature des contaminants dépendent de l'état sanitaire de l'animal, mais également des conditions hygiéniques observées lors de la traite, de la collecte, et de la température de conservation du lait.

Ils ne concernent le plus souvent que la flore mésophile aérobie ou certains groupes d'altération. Ainsi, il a été montré qu'un lavage des mamelles avant la traite réduisait le nombre de germes mésophiles aérobies, de bactéries thermorésistantes présents dans le lait, sans avoir d'effet sur le niveau de bactéries coliformes (**Michel., 1998**).

#### **a1. Bactérie :**

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

##### ✓ *Bactéries acidifiantes*

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

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

Ces bactéries, qui ne correspondent pas à un groupe taxonomique homogène, ont la propriété de transformer le lactose ou ses dérivés en métabolites variés et notamment en composés gazeux. Les bactéries coliformes et les bactéries butyriques sont les plus représentées dans le lait. Elles sont responsables de gonflements accidentels, générateurs de saveurs et de textures indésirables (**Lambert ., et Menassa., 1983**).

### ✓ *Bactéries protéolytiques*

Ces bactéries dégradent les protéines et induisent souvent le développement de saveurs défectueuses (goûts fécaux - goûts amers) lorsque la contamination est massive et la prolifération n'est pas contrôlée. A concentration faible et/ou lorsque le développement est maîtrisé, les bactéries protéolytiques contribuent de manière non négligeable à la protéolyse des fromages lors de l'affinage (**Ramet., 1984**).

### ✓ *Bactéries lipolytiques*

Ces bactéries transforment les matières grasses du lait et provoquent directement, ou indirectement, l'apparition de goûts et d'odeurs désagréables : flaveurs rances, oxydées. Elles se rencontrent en particulier dans les laits stockés pendant une longue période à basse température (**Eck., et Gillis ., 1998**).

### **b. Levures et moisissures :**

Les levures et les moisissures sont des contaminants habituels du lait et des produits laitiers. Toutefois, leur caractère fortement aérobic limite leur prolifération aux interfaces des substrats avec l'atmosphère. Le développement équilibré de levures et de moisissures,ensemencées de manière naturelle et/ou dirigée sur de nombreux types de fromages, contribue efficacement par leurs activités enzymatiques élevées et variées à la protéolyse et à la lipolyse de la pâte au cours de l'affinage (**Eck ., et Gillis ., 1998**).

### **I.2.3. Valeurs nutritives du lait**

Le lait est généralement considéré comme un aliment très complet du point de vue nutritionnel car il apporte à la fois des protéines, des glucides, des lipides et des minéraux.

### ✓ *Apports en protéines*

Un litre de lait de vache, qu'il soit entier ou écrémé apporte 30 g de protéines.

Il s'agit principalement de caséine, de lactalbumine et de lactoglobuline. Tous les acides aminés indispensables sont présents, ces protéines sont très bien assimilées par l'organisme (**Courtet ., 2010**).

### ✓ *Apports en lipides*

Les matières grasses sont présentes dans le lait sous forme d'une émulsion de globules gras. La teneur en matière grasse du lait est appelée taux butyreux. La teneur en lipide du lait de consommation courante est standardisée à un taux minimum de 36 g par litre de lait entier (peut varier de 35 à 45g par litre). Cette teneur en lipide confère au lait entier une valeur énergétique importante (700 kcal soit 2930 KJ pour 1 litre). Les laits demis écrémés et écrémés apportent respectivement 15 à 18g et 1 g de lipide par litre (**Pujol-dupuy., 2004**).

### ✓ *Apports en glucides*

Le lactose (glucide essentiel du lait), est le sucre caractéristique du lait. Il est responsable par son goût sucré et par sa concentration élevée de la saveur douce et agréable du lait frais, et favorise l'absorption du calcium contenu dans cet aliment. Un litre de lait, qu'il soit entier ou écrémé, apporte 50g de lactose (**Courtet., 2010**).

### ✓ *Apports en minéraux et oligo-éléments*

Le lait est une source importante de calcium : 1200 mg par litre (les besoins journaliers de l'adulte sont de 900mg). Le calcium du lait est mieux absorbé que celui de toute autre source car il apporte en même temps du phosphore (rapport Ca/P=1,4) et de la vitamine D. le lait apporte en outre du chlorure de sodium, du chlorure de potassium, du zinc et de faible quantité de soufre, de magnésium et de cuivre. Il ne contient pas de Fer (**Courtet ., 2010**).

### ✓ *Apports en 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 ., 2010**).

### ✓ *Autres valeurs nutritives*

Selon **Enjalbert (2002)**, certains composants du lait peuvent jouer un rôle de promoteur de croissance ou de protecteur à l'égard de maladie notamment :

- La casoplatiline et la casoplastine, inhibent l'agrégation plaquettaire ou la fixation des fibrinogènes ;

- Les phosphopeptides, chélateurs de calcium, qui expliquaient en partie la forte digestibilité du calcium chez le jeune consommant du lait ;
- Les casokinine, à rôle immunodulateurs et antihypertenseur ;
- Les casomorphines, à propriétés opioïdes ;
- Les casoxines, Antagonistes des opioïdes ;
- La lactoferrine, glycoprotéine de transport du fer, possède des fonctions antimicrobiennes.

De nombreuses études ont montré que la consommation des produits laitiers pouvait diminuer le risque de certains cancers (**Enjalbert., 2002**).

### **I. 2.4. Qualité du lait**

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

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

**Tableau II** : principaux aspects de la qualité du lait.

Critère de qualité	Contrôle à effectuer
Aspects physiques	Point de congélation, masse volumique, couleur, viscosité, etc.
Aspects chimiques	pH, acidité titrable, résidus d'antibiotique, taux protéique, taux butyreux, lactose, minéraux.
Aspects Microbiologiques	Bactéries, cellules somatiques, virus.
Propriétés de conservation	Flore microbienne, enzymes, oxygène.
Propriétés fonctionnels	Stabilités à la chaleur, coagulation à la présure, émulsifiassions.
Propriétés biofonctionnelles	Valeur nutritive (teneur en vitamines, minéraux, acides linoléiques conjugués, Oméga-3, probiotique.) fermentation et hydrolyses enzymatiques (peptides bioactifs, lactose hydrolysé.)

**(Grenon et al., 2004).**

# *Chapitre II*

## ***Chapitre II : Les résidus Antibiotiques dans le lait de vache***

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

### **II.1 .Inhibiteurs naturels**

Ils sont responsables des propriétés bactéricides et bactériostatiques des lais frais, leur activité complémentaire est de nature enzymatique et non enzymatique. Présents en faibles concentrations dans le lait sain, leur stabilité s'altère rapidement après la traite. Ils sont de plus, dénaturés par la chauffage du lait à 80°C pendant 10min (**Romnée et al., 1999**).

On cite : Lactoferrine, lactoperoxydase, les immunoglobulines et le lysozyme.

### **II.2. Les résidus antibiotiques**

#### **II.2.1. Notion de résidus de médicaments vétérinaires :**

Le règlement (CE) N°470/2009 du Parlement Européen et du Conseil du 06 Mai 2009 (**CE., 2009**) définissant les résidus médicamenteux vétérinaires « comme toute substance pharmacologiquement active, qu'il s'agisse de principes actifs, d'excipients ou de métabolites présents dans les liquides et les tissus des animaux après l'administration de médicaments et susceptibles d'être retrouvés dans les denrées alimentaires produites par ces animaux ».

#### **II.2.2. Limite maximale des résidus (LMR) :**

Elle se définit comme étant la concentration maximale en résidus médicamenteux résultant de l'emploi d'un médicament à usage vétérinaire et recommandée par la commission du codex alimentarius (**CAC/MISC 5 ., 1993**) comme légalement permise ou estimée acceptable dans ou sur un aliment.

Les **LMR** sont fixées par conséquent d'après les études toxicologiques de chaque substance pharmacologiquement active composant le médicament.

#### **II.2.3. Le délai d'attente :**

Le délai d'attente se définit comme étant l'intervalle de temps à respecter entre la dernière administration d'un médicament à usage vétérinaire à l'animal de rente, et la collecte des denrées alimentaires. Il correspond ainsi à la période durant laquelle les productions animales ne peuvent être destinées à la consommation humaine (**CE., 2001**).



Le délai d'attente doit répondre à un schéma thérapeutique bien précis et concerne l'espèce animale, la dose, le rythme et la voie d'administration ainsi que la durée du traitement (Chataigne ., et Stevens ., 2005).

### II.3. Classification des principaux anti-infectieux à usage vétérinaires

Bien qu'il existe plusieurs systèmes de classification des antibiotiques, soit en fonction : de leur mécanisme d'action, de leur structure chimique, et de leur spectre d'activité, le plus utile est basé sur la structure chimique.

Les différentes familles d'antimicrobiens sont : Les Béta-lactames (pénicilline et céphalosporines), les aminosides, les phénicol, les lincosamides, les macrolides, les nutrofuranes, les quinolones, les sulfamides, et les tétracyclines.

#### II.3.1. Définition des antibiotiques :

Les antibiotiques se définissent comme des molécules antibactériennes synthétiques ou naturelles (d'origine biologique) capable d'inhiber la croissance des bactéries ou les détruire (Helali ., 1999). Ils ont une toxicité sélective ; ils sont toxiques pour les bactéries mais pas pour l'organisme ( Merad ., et Merad ., 2001).

Les sources principales des antibiotiques sont les champignons mais aussi les bactéries. Il existe également des antibiotiques entièrement synthétiques (Guillemot., et al ., 2006).

#### II.3.2. Les familles des antibiotiques :

##### ✓ *Les Béta-lactames*

Les antibiotiques Beta-lactamiques (Beta-lactamines) constituent la famille la plus diversifiée et la plus importante parmi les antibiotiques, caractérisés par une activité bactéricide, avec un spectre d'activité d'étendue variable, de très faible toxicité mais à pouvoir allergène assez marqué.

Ils sont divisés en deux sous-catégories : les pénicillines et les céphalosporines. Leur mode d'action est basé sur l'inhibition de la biosynthèse de la paroi cellulaire bactérienne (Meklati Fawzi Rostane ., 2018).

### ✓ *Les aminosides*

Les aminosides sont des antibiotiques à large spectre, qui exercent leurs effets bactériostatique ou bactéricide en bloquant la biosynthèse des protéines bactériennes. Les antibiotiques (Streptomycine, Neomycine, kanamycine) possèdent un spectre plutôt dirigé contre les bactéries à Gram négatif. Ils sont particulièrement indiqués dans le traitement des infections chez les bovins (**Gehring R., et al., 2005**).

### ✓ *Les phénicols*

Les phénicols (chloramphénicol, florfénilcol et thiamphénicol), antibiotiques bactériostatiques à large spectre, sont actifs contre divers agents pathogènes. Ils inhibent la biosynthèse des protéines bactériennes. Cependant en raison des effets secondaires graves rapportés (principalement de l'anémie aplasique) chez l'homme, le chloramphénicol a été interdit dans les années 1990 dans l'UE (Union Européenne), en Amérique et également en Algérie (**Meklati Fawzi Rostane ., 2018**).

### ✓ *Les macrolides et Lincosamides*

La famille des macrolides compte plusieurs antibiotiques intéressants, leur caractéristique pharmacocinétique la plus intéressante et l'importante fixation des tissus et dans certains liquides biologiques. Le spectre d'activité antibactérienne est peu large, portant surtout sur les germes Gram positifs et les mycoplasmes.

L'érythromycine et la tylosine sont parmi les molécules les plus couramment administrés aux animaux destinés à la nutrition humaine (**Puyt ., 2000**).

### ✓ *Les nitrofuranes*

Les nitrofuranes sont des composés organiques de synthèse à spectre Gram négatif et anti-coccidiens. Les nitrofuranes provoquent assez régulièrement des intoxications graves notamment chez les veaux, une des intoxications médicamenteuses les plus importantes en médecine vétérinaire, ce qu'a conduit à une certaine diminution d'emploi, conjointement aux problèmes de résidus et de résistances bactériennes (**Fontaine ., 1993**).

### ✓ *Les quinolones*

Les quinolones forment une famille d'antibactériens de synthèse. Leur activité antibactérienne est marquée à large spectre. Ces substances sont également des médicaments à usage humain, leur utilisation croissante chez les animaux destinés à l'alimentation humaine est très préoccupante en raison du développement d'une résistance bactérienne à ces antibiotiques (**Brighty ., et Gootz ., 2000**).

### ✓ *Les sulfamides*

Les sulfamides sont des composés organiques de synthèse doués de propriétés bactériostatiques à large spectre (**Fontaine ., 1993**).

Ils sont souvent administrés conjointement à des substances synthétiques (comme les triméthoprimine) qui agissent en synergie (**Meklati Fawzi Rostane ., 2018**).

### ✓ *Les tétracyclines*

Les tétracyclines sont des antibiotiques à large spectre, très utilisés en médecine vétérinaire pour les traitements prophylactique et thérapeutique contre les germes à Gram positif et négatif (**Larpent ., Sanglier ., 1989**).

## **II.4. Utilisation des antibiotiques en élevage bovin laitier**

L'élevage bovin laitier appartient au type industriel, il y est fait usage d'antibiotiques selon 3 modalités :

### **II.4.1. Sur le plan prophylactique :**

On parle de traitement prophylactique lorsque l'antibiotique est administré à un groupe d'animaux. Cette antibio-prophylaxie vétérinaire peut être administrée à l'occasion d'un transport, d'une vaccination ou d'une manipulation ou tout autre évènement générateur de stress (**Chaslus-Dancla ., 1999**).

### **II.4.2. Sur le plan thérapeutique :**

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

Les préparations médicamenteuses utilisent les antibiotiques à des taux beaucoup plus élevés : étant normalement administrées par le vétérinaire ou sous son contrôle aux animaux malades pour traiter un processus pathologique précis, avec le souci du respect de leurs règles d'emploi (posologie, durée du traitement, délai d'attente) (**Dominique ., 1982**).

### **II.4.3. Sur le plan zootechnique :**

Il s'agit des rations alimentaires antibiosupplémentées. Ces rations permettent une action directe des antibiotiques sur la flore microbienne du tube digestif et une action indirecte sur sa physiologie. Ce ci se traduit par un phénomène d'épargne portant sur l'énergie, l'azote et les vitamines (**Dominique ., 1982**).

En outre, il permettrait d'améliorer les performances des autres productions. Cet effet zootechnique tend néanmoins à diminuer avec l'amélioration des conditions sanitaires de l'élevage (**Ouslimani ., 2008**).

## **II.5. Pharmacocinétique et résidus**

Après administration d'un médicament à un animal, on distingue classiquement quatre étapes pharmacocinétiques :

### **II.5.1. Absorption et distribution :**

L'absorption correspond à la phase de dissolution du médicament et à l'apparition du ou des principes actifs dans le sang. Puis, le principe actif est transporté dans le sang par la circulation sanguine et diffuse dans les organes et les tissus : c'est la phase de la distribution. En règle générale, on observe deux fractions du principe actif dans le sang, une fraction libre et une fraction liée aux protéines plasmatiques. La fraction qui diffuse dans les organes et les tissus correspond à la fraction libre et on observe alors une fixation tissulaire. Les principes actifs dont la fixation tissulaire est la plus importante laisseront en général le plus de résidus (**Stoltz ., 2008**).

### **II.5.2- La biotransformation :**

Au sein des tissus, a lieu des biotransformations ou métabolisme qui sont un ensemble de réactions chimiques, en général catalysées par des enzymes, ayant pour effet de modifier la structure des principes actifs.

Les biotransformations représentent un phénomène majeur dans le processus de formation des résidus : elles conditionnent en effet en grande partie la persistance des substances médicamenteuses dans l'organisme des animaux traités et dans les denrées issues de ces animaux (Stoltz., 2008).

### II.5.3. Elimination :

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

- Par voie rénale, dans l'urine ;
- Par voie biliaire, dans la matière fécale ;
- Par élimination dans les œufs ;
- Par élimination lactée, dans le lait.

#### ❖ *Modélisation de la phase d'élimination : exemple du passage dans le lait*

Les mécanismes de passage du sang vers le lait correspondent à la traversée de l'épithélium de la glande mammaire qui se comporte comme une membrane lipoprotéique séparant le sang (pH 7,4) du lait (pH 6,6). Après administration parentérale, les substances à caractère base faible diffusent plus facilement dans le lait que les substances acides faibles, qui ont tendance à se localiser dans le plasma. La taille moléculaire intervient également et les composés de poids moléculaire inférieur à 800-1000 Dalton diffusent mieux que les autres (Stoltz., 2008).

Ainsi, les substances qui passent dans le lait en production importante sont celles qui ont une fixation tissulaire prépondérante et un caractère de base faible ; tétracyclines, macrolides. Les substances lipophiles diffusent également bien dans le lait et restent fixées sur les lipides du lait.

## II.6. Modalités de contamination par les résidus d'antibiotiques

Le traitement des mammites représente la principale cause de la contamination du lait par les antibiotiques. Ainsi que :

- Le non respect du délai d'attente ;
- Les erreurs commises par l'éleveur ;
- La mauvaise utilisation du médicament ;
- l'adjonction volontaire d'antibiotiques dans le lait ;

- la mauvaise hygiène de la traite ;
- l'absence d'identifications des animaux ;
- La contamination par le matériel de traite (Abidi ., 2004).

### II.7. Dangers dus à la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait de vache

Les problèmes liés à la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait sont d'ordre sanitaire et technologique.

#### II.7.1. Problèmes sanitaires :

##### ✓ *Risque allergique*

Les principes actifs des médicaments tout comme les molécules de faible poids moléculaire (haptène) peuvent se lier de façon irréversible à des grosses molécules. Il se forme alors un complexe qui peut être immunogène et allergène (Demoly *al.* , 2003).

##### ✓ *Risque cancérigène*

Certains antibiotiques ont des propriétés connues. Les résidus de ces antibiotiques peuvent avoir un effet carcinogène sur le long terme, suite à une consommation régulière d'aliment contenant ces résidus. Ces antibiotiques ou composés utilisés comme antibiotiques sont alors interdits d'utilisation chez les animaux de production. C'est le cas des nitrofuranes, des nitroimidazoles, du vert malachite utilisé chez les poissons (Stoltz ., 2008).

##### ✓ *Risque toxique*

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

### II.7.2. Problèmes liés à la technologie :

La présence de résidus d'antibiotiques dans le lait pose un problème à l'industrie agroalimentaire pour la fabrication de produits fermentés, les résidus d'antibiotiques sont alors appelés « inhibiteurs ».

Les bactéries lactiques présentes dans le lait sont sensibles à de très faibles doses d'antibiotiques (**Brouillet ., 2002**). Ainsi la présence de résidus d'antibiotiques inhibe de manière partielle ou totale la croissance de ces ferments. Ce qui se traduit par de nombreux défauts de fabrication tels que l'insuffisance de l'égouttage et les risques de prolifération incontrôlée de germes gazogènes, insensibles aux antibiotiques (les coliformes, *Bacillus*, *clostrédium*, porteurs, et *Aerobacter*) (**Faber al., 2006**).

#### ✓ *Les antibiotiques et les ferments lactiques*

Les ferments lactiques et la culture de yaourt sont particulièrement affectés par une trace même faible d'antibiotiques. On peut même affirmer que c'est la le problème essentiel des résidus des antibiotiques dans le lait.

Dans l'industrie laitière, *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* sont utilisés ensemble pour l'obtention d'une fermentation convenable. Cet équilibre peut être détruit par un certain nombre de facteurs qui provoquent le ralentissement ou même l'arrêt de l'acidification du lait. Parmi ces facteurs, citons la mauvaise qualité du lait, une température d'incubation non adaptée, la présence de bactériophages et (ou) d'inhibiteurs naturels ou artificiels tels que les antibiotiques (**Frédérique ., 1982**).

## II.8. Risque de développement de l'antibiorésistance

### II.8.1. Définition de l'antibiorésistance :

La définition de l'antibiorésistance indique qu'« une bactérie est résistante à un antibiotique lorsqu'elle supporte des concentrations inhibitrices de cet antibiotique supérieures aux concentrations que l'on peut obtenir dans l'organisme sans atteindre les doses toxiques » (**Tristan ., 2016**).

### **II.8.2. Relation entre résidus d'antibiotiques et résistances bactériennes aux antibiotiques :**

L'utilisation des antibiotiques en thérapeutique humaine ou vétérinaire s'accompagne de l'apparition de résistances à ces mêmes antibiotiques chez les bactéries (**Chauvin ., al ., 2002**). Ce qui constitue un problème très préoccupant du fait des répercussions directes sur les possibilités thérapeutiques. Il est bien établi que l'usage des antibiotiques est le facteur le plus important dans la sélection de bactéries résistantes même si l'apparition de résistances spontanées a aussi été démontrée (**Chataigner ., 2004**).

En général, il y a une relation étroite entre la quantité d'antibiotiques utilisée et le développement des résistances (**Teale., 2002**).

L'acquisition de cette résistance bactérienne peut être due à plusieurs mécanismes :

- L'apparition d'une mutation génétique et la sélection naturelle des bactéries résistantes si celles-ci sont placées de façon répétée dans un milieu contenant des antibiotiques.
- Le transfert de plasmides entre les bactéries résistantes et sensibles. Ce transfert de plasmides peut se faire des bactéries d'espèces différentes ce qui autorise alors les échanges entre les bactéries d'origine alimentaire et les bactéries du tube digestif de l'homme. ( **Chataigner ., 2004**)

En ce qui concerne les résidus d'antibiotiques, éventuellement présents dans les denrées alimentaire d'origine animale, ces doses très faibles d'antibiotique et de métabolite d'antibiotique pourraient encore avoir une action sur les bactéries présentes dans le tube digestif du consommateur. Ceci pourrait représenter un risque pour la santé publique en favorisant le développement et la dissémination de résistances bactériennes chez l'homme (**Tao., etPoumeyrol ., 1985**).

### **II.8.3. Les conséquences de l'antibiorésistance :**

L'apparition de résistance à un antibiotique a pour conséquence d'affaiblir l'efficacité de l'antibiotique dans le traitement des infections dues à la bactérie résistante chez l'animal ou l'homme.

Les mécanismes de résistances peuvent aussi se propager dans l'environnement ou par l'alimentation, à d'autres bactéries qui développeront à leur tour, de nouvelles résistances des antibiotiques de la même famille ou d'autres familles.



A terme, les conséquences sont le manque de moyens efficace pour traiter certaines infections animales et humaines, surtout en l'absence de développement de nouveaux antibiotiques.

# *Chapitre III*

## ***Chapitre III : Méthodes de recherche et de confirmation des résidus d'antibiotiques dans le lait***

### **III.1. Historique et évolution des méthodes de détection**

Dès 1952, le premier test de détection des inhibiteurs dans le lait était mis au point. Qu'il a été utilisé quelques années après l'apparition des antibiotiques.

Selon **Faber ., et al (2002)** deux voies de recherche ont été explorées :

- Les recherches microbiologiques ont été améliorées en sélectionnant des souches et en modifiant les milieux de culture pour augmenter la sensibilité de certains antibiotiques et élargir le spectre ;
- De nouvelles méthodes ont été mises au point pour diminuer le temps d'analyse.

De nombreux tests existent que nous classons en tests de dépistage (de réalisation simple et peu onéreux) et en tests de confirmation (Le plus souvent onéreux, et réservés à des cas précis).

### **III.2. Méthodes de détection**

#### **III.2.1. Méthodes microbiologiques :**

##### **✓ *Le test d'acidification***

Il s'agit d'un test rapide et relativement simple, mais qui ne peut être réalisé qu'en laboratoire par un technicien. L'ancien test d'acidification est un test de dépistage pour l'ensemble des résidus d'antibiotiques capables d'inhiber le développement de *Bacillus stearothermophilus* dans le lait. En l'absence de résidus. Ce germe transforme le lactose en acide lactique, ce qui se traduit par une baisse de pH mise en évidence par un changement de couleur d'un indicateur ajouté au milieu. La durée d'incubation est de 2hr 30 à 65°C. La réaction est dite négative lorsque le milieu change de couleur du bleu au jaune. Elle est positive si le milieu reste bleu ou subit un léger virage au vert (**Frédéric., 1982**).

### ✓ *Méthode Glesloot-Hassing*

Il s'agit d'un test de diffusion en gélose : un disque de papier filtre est imbibé de lait sur une gélose ensemencée par *Bacillus stearothermophilus* ou par *Bacillus subtilis* (**Billon ., Seng Huor Tao., 1979**).

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

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

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

### ✓ *Le Delvotest*

C'est un test biologique simple et très utilisé. L'organisme-test et le milieu de diffusion sont identiques à ceux de la méthode Glesloot et Hassing.

C'est un test de sélection microbiologique à large spectre, permettant de déceler les résidus de substances antibiotiques dans le lait à des niveaux proches des LMR. Il est particulièrement sensible vis-à-vis des pénicillines, des céphalosporines et des sulfamides (**Romnée., 2009**). Le principal inconvénient de ce test est sa durée d'incubation de 2h30 à 3 h (**Brouillet ., 2002**). Le test présente sous la forme d'ampoule contenant un milieu gélosé ensemencé par le germe test (spores de *Bacillus stearothermophilus* var *calidolactis*), avec un indicateur coloré de pH, du triméthoprime et des compléments de milieu nutritif à incorporer dans les ampoules au moment de leur utilisation (**Romnée ., 2009**).

### III.2.2. Méthodes enzymatiques :

#### ✓ *Test Penzym®*

Ce test est très spécifique des bêta-lactamines. Son principe repose sur l'inhibition par les bêta-lactamines éventuellement présentes dans le lait à tester d'une enzyme : la DD carboxypeptidase.

Cette inactivation se traduit par l'apparition d'une coloration jaunâtre au lieu de celle rosé ou orangée habituellement observée en l'absence de résidus de bêta-lactamines (**Ousslimani., 2008**).

### III.2.3. Méthodes immuno-enzymatique :

#### ✓ *Le snap test®*

Se décline différentes versions (bêta-lactamines, tétracycline, gentamycine). Les récepteurs présents peuvent se lier soit à l'antibiotique présent dans le lait, soit aux antibiotiques fixés à la surface du test. De présentation simple et d'usage ludique, ce test permet de rendre un résultat en 10min.

#### ✓ *La technique « ELISA »*

L'ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay): est une technique immuno-enzymatique, rapide (de quelques minutes à 20 minutes) mais onéreuse. Elle 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**).

Elle est spécifique pour une famille d'antibiotiques et sensible pour cette dernière. Sa limite de détection est souvent inférieure à la LMR (**Abidi ., 2004**).

### III.4. Méthodes physico-chimiques :

#### ✓ *Electrophorèse capillaire*

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

Lorsque l'analyte possède des propriétés physico-chimiques particulières ou sont sous forme ionisable et lorsqu'ils ne peuvent être analysés par des techniques chromatographiques (**Castro-Puyana M., & al ., 2010**).

### ✓ *La technique « HPLC » (High Performance Liquid Chromatography)*

L'**HPLC**: une méthode qui assure la séparation des constituants de masse molaire variable et de nature chimique différente à travers une colonne chromatographique à l'aide d'une phase mobile liquide, elle-même percolée grâce à une pression élevée. Il existe une réelle interaction triple entre l'analyte, la phase stationnaire et la phase mobile basée sur l'affinité physico-chimique entre les trois (**Burgot ., et Burgot ., 2006**).

*Etude*  
*Expérimentale*

***Volet I***



## **Volet I : Enquête par questionnaire**

En guise d'approche préliminaire de la question relative au problème des résidus d'antibiotiques dans le lait destiné à la transformation et à la consommation, il a été jugé pertinent de procéder à une enquête par questionnaire sur l'utilisation des antibiotiques en élevage bovin laitier auprès des vétérinaires praticiens de la région de centre de l'Algérie.

### **I.1. Objectif**

Le but de ce travail était de réaliser une enquête relative à l'utilisation des antibiotiques dans les élevages bovins laitiers par les vétérinaires praticiens de la wilaya d'Alger et de Boumerdès.

### **I.2. Matériels et méthodes**

Cette enquête a été réalisée à partir d'un questionnaire type distribué à 40 vétérinaires praticiens répartis sur les deux wilayas: Alger et Boumerdès.

#### **I.2.1. Description du questionnaire :**

Un questionnaire en 03 pages a été préparé selon le plan et les paramètres suivants :

- La médecine vétérinaire pratiquée (préventive ou curative) ;
- Les principaux antibiotiques utilisés dans les élevages bovins laitiers ;
- Les normes d'utilisation des antibiotiques par les vétérinaires praticiens ;
- Les problèmes liés à la présence des résidus d'antibiotiques.

Une copie de ce questionnaire est présentée dans l'**annexe n°05**.

D'une façon générale, ce questionnaire a fait appel au système des choix multiples, le vétérinaire n'ayant (à l'exception de quelques espaces s'il veut ajouter une idée), qu'à cocher la case correspondante à son choix.

Ce système présente l'intérêt de permettre une meilleure exploitation ultérieure des données obtenues.

### **II.2. Exploitation du questionnaire**

Après l'obtention des questionnaires distribués, nous les avons classés selon les réponses obtenues pour chacun des paramètres traités (cités précédemment). Les résultats ont été mis dans des tableaux comportant le nombre et la fréquence des réponses.

### **II.3. Résultats**

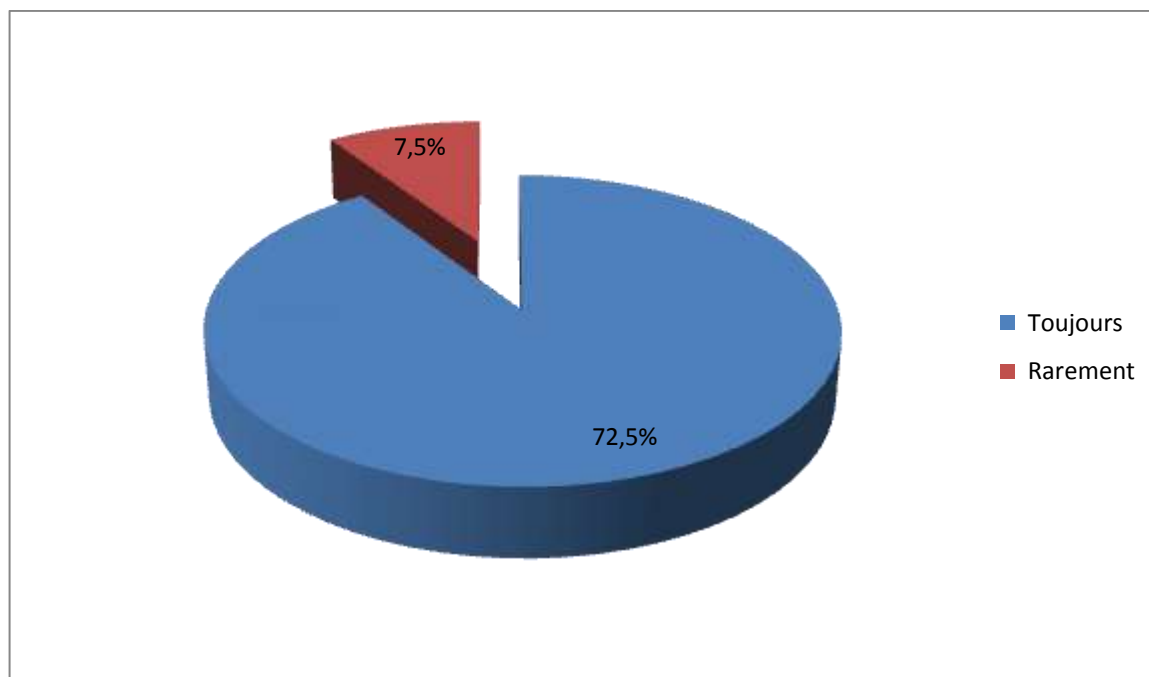
Dans ce travail, 40 questionnaires ont été distribués aux vétérinaires praticiens, et récupérés.

Sur un total de 40 questionnaires récoltés, nous avons compté:

- 16 dans la wilaya d'Alger, soit 40 %.
- 24 dans la région de Boumerdès, soit 60 %.

### I.3.1. Fréquence d'intervention dans la filière bovine laitière :

La figure suivante montre le pourcentage des interventions des vétérinaires dans l'élevage bovin laitier.



**Figure n° 01:** La répartition des réponses selon la fréquence de l'intervention des vétérinaires dans l'élevage bovin laitier.

D'après ces résultats, 29 vétérinaires (72,5%) interviennent toujours en élevage bovin laitier. Cependant, 3 vétérinaires interviennent rarement (7,5 %).

### I.3.2. Types d'intervention (préventif ou curatif) :

Les résultats obtenus sont rapportés dans le **tableau III**.

**Tableau III:** Type d'intervention (préventif ou curatif)

	0-50 %		50-100 %	
	Nombre	Pourcentage %	Nombre	Pourcentage %
préventif	33	<b>82,5</b>	7	17,5
Curatif	5	12,5	35	87,5

D'après ce tableau, il ressort que les vétérinaires optent pour le traitement curatif plutôt que préventif et cela avec un taux de 87,5 % pour le curatif à plus de 50 % et pour le préventif,

82,5% à moins de 50 %.

### I.3.3. Antibiotiques prescrit :

Les antibiotiques les plus utilisés en élevages bovins laitier par les vétérinaires praticiens pour le traitement de diverses pathologies sont représentés dans le **tableau IV**.

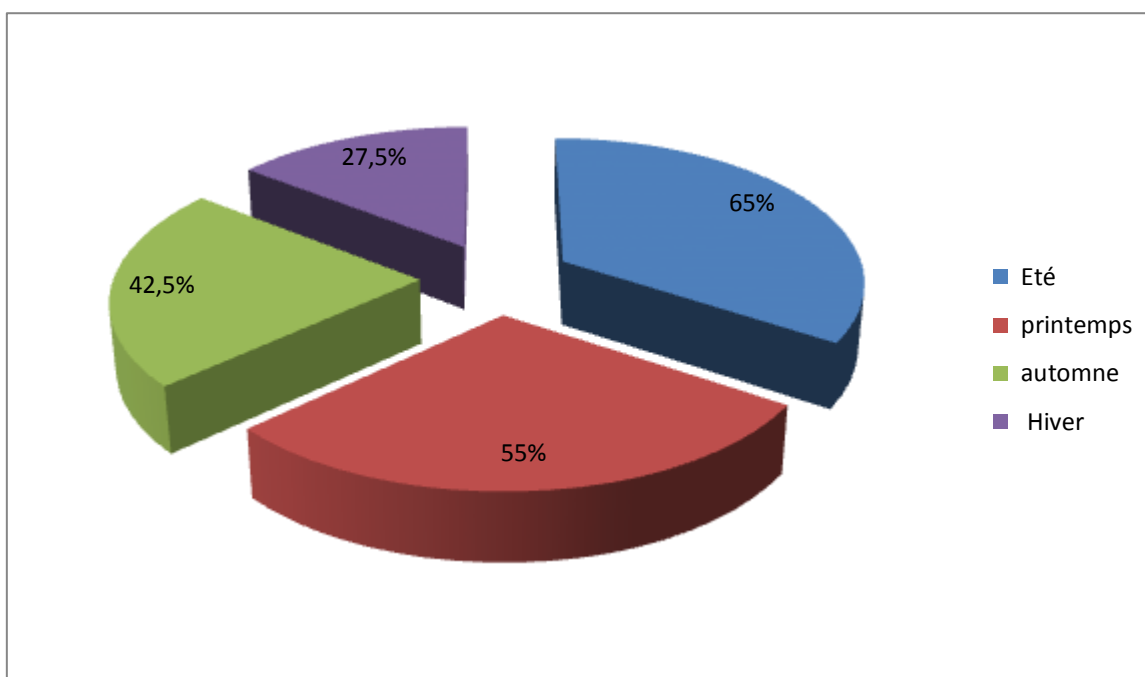
**Tableau IV:** Les antibiotiques les plus préconisés dans les élevages bovins laitiers

Antibiotiques	Nombre de réponses	Pourcentage %
Tétracycline	32	80
Pénicilline	29	72,5
Sulfamide	23	57,5
Péni-streptomycine	20	50
Amoxicilline	16	40
Streptomycine	7	17,5
Erythromycine	15	37,5
Tylosine	10	25
Néomycine	2	5
Eurofloxacine	6	15
Gentamycine	0	0
Spiramycine	1	2,5

D'après ce tableau, les antibiotiques les plus utilisés en élevage bovin laitier sont les tétracyclines avec un pourcentage de 80%, suivi des pénicillines représentés par un pourcentage de 72,5 %, alors que les spiramycines ne sont utilisés que très rarement, leur pourcentage n'est que de 2,5 %. Cependant, les gentamycines ne sont pas utilisés.

### I.3.4. Fréquence d'apparition des mammites selon la saison :

Les réponses à la question relative aux saisons d'apparition des mammites sont représentées dans la **figure n ° 02**:



**Figure n° 02:** Récurrence des mammites.

D'après ces résultats, les mammites ont été surtout observées en été (65 %), suivi par le printemps (55 %) et l'automne (42,5 %).

La plus faible fréquence des mammites est notée durant l'hiver (27,5 %).

### **I.3.5. Antibiotiques les plus utilisés en cas de mammites :**

Les antibiotiques les plus utilisés par voie générale en cas de mammites sont représentés dans le **tableau V**.

**Tableau V :** Les antibiotiques les plus utilisés par voie générale en cas de mammites.

Voie générale	Nombre de réponses	Pourcentage %
Oxytétracycline	24	60
Penicilline	17	42,5
Péni-streptomycine	12	30
Tylosine	9	22,5
Ampicilline	9	22,5
Erythromycine	2	5
Streptomycine	3	7,5
Sulfamide	3	7,5
Céphalosporine	8	20
Amoxicilline	1	2,5

Nous remarquons d'après ces résultats que les antibiotiques les plus utilisés par voie générale en cas de mammites sont les oxytétracyclines (60%), suivi des pénicillines (42,5 %), alors que l'Amoxicillines et les céphalosporines (22,5 % pour chacun), sont que très peu utilisés.

Les antibiotiques les plus utilisés par voie locale en cas de mammites sont représentés dans le **tableau VI**.

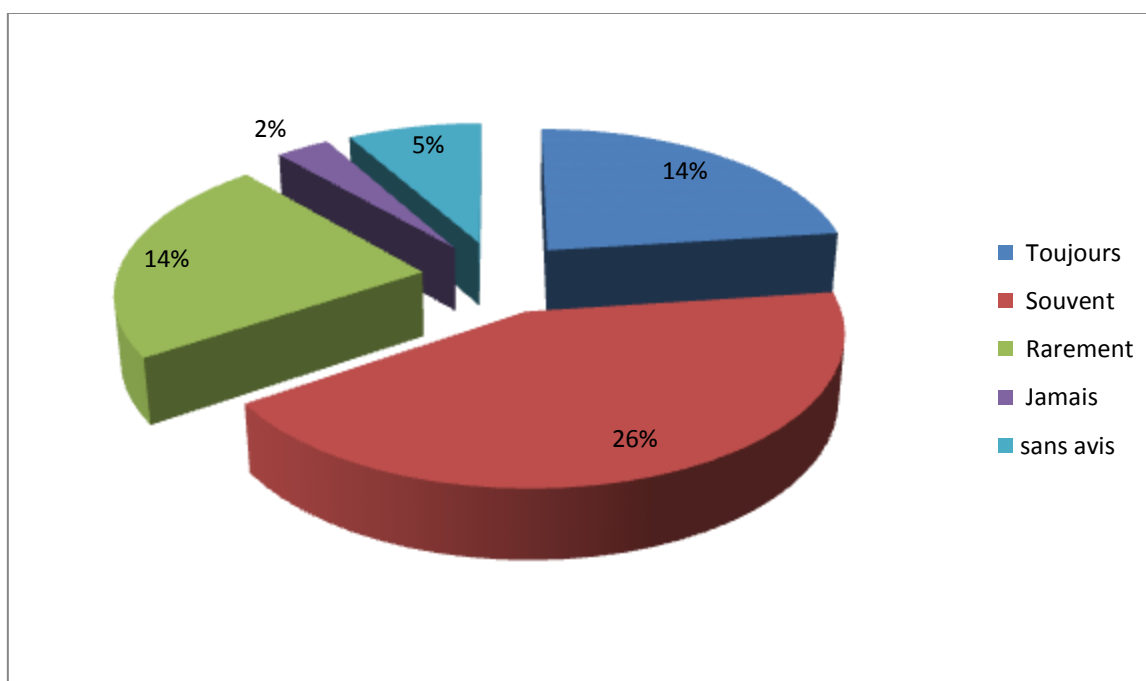
**Tableau VI:** Les antibiotiques les plus utilisés par voie locale en cas de mammites.

Voie local	Nombre de réponses	Pourcentage %
oxytétracycline	16	40
Penicilline	11	27,5
Céphalexine	9	22,5
Ampicilline	4	10
Péni-streptomycine	5	12,5
Streptomycine	2	10

Ces résultats montrent que les antibiotiques les plus utilisés par voie locale sont par ordre décroissant les oxytétracyclines (40 %), les pénicillines (27,5 %), et les streptomycines et les ampécillines (10 % pour chacun).

### I.3.6. utilisation des antibiotiques en lactation :

La **figure n°03** présente la fréquence de l'utilisation des antibiotiques en lactation par les vétérinaires dans l'élevage bovins laitier.



**Figure n° 03:** La fréquence de l'utilisation du traitement en lactation.

Les résultats montrent que 14 % de vétérinaires interrogés utilisent toujours le traitement en lactation, 26 % des vétérinaires l'utilisent souvent, 40% d'entre eux l'utilisent que très rarement, et 02 % ne l'utilise jamais.

Il faut noter que, 05 % des vétérinaires n'ont pas répondu sur cette question.

**I.3.7. Antibiotiques utilisés en cas de tarissement :**

Les traitements hors lactation les plus utilisés par les vétérinaires sont rapportés dans le **tableau VII**.

**Tableau VII:** les antibiotiques les plus utilisés en cas de tarissement.

Antibiotiques	Nombre de vétérinaires	Pourcentage %
Oxytétracycline	23	57,5
Pénicilline	13	32,5
Ampicilline	13	32,5
Pénicilline-streptomycine	7	17,5
Céphalexine	8	20
Streptomycine	3	7,5

Nous remarquons d'après ces résultats que les antibiotiques les plus utilisés lors du tarissement sont les oxytétracyclines (57,5 %), les pénicillines (32,5 %), et les streptomycines (7,5 %).

**I.3.8. Choix des antibiotiques :**

Les réponses des vétérinaires concernant le choix des antibiotiques utilisés sont représentées par le **tableau VIII**.

**Tableau VIII:** Les motifs du choix de l'antibiotique utilisé.

Motif	Nombre	Fréquence %
Efficacité.	40	100
Longue action.	28	70
Délai d'attente plus court.	15	73,5
Coût (moins cher).	12	30
Disponibilité.	11	27,5

D'après ces résultats, il ressort que le choix de l'antibiotique se fait selon :

- L'efficacité en première position (100 %) ;
- Sa longue action (70 %) ;
- Le délai d'attente (73,5 %) ;
- Le coût (30 %) ;
- La disponibilité (25,7 %).

**I.3.9. Respect de la dose prescrite :**

Les réponses montrent que : 77,5% des vétérinaires interrogés respectent la dose prescrite sur la notice de chaque antibiotique, alors que 22,5% ne la respectent pas.

La justification du non respect est différente d'un vétérinaire à l'autre:

- 03 vétérinaires affirment qu'il y a un problème de concentration de l'antibiotique, la dose utilisée n'est pas suffisante ;

- 03 vétérinaires disent que pour la première injection, on débute toujours par une dose d'attaque ;
- 02 vétérinaires préconisent que selon la nature du produit (antibiotiques) si la molécule est générique ou non ;
- 01 vétérinaire atteste qu'on augmente la dose selon l'état de l'animal.

### **I.3.10.L'utilisation des antibiotiques par les éleveurs :**

#### **a. Traitement des mammites :**

Les réponses sont représentées sur le **tableau IX**.

**Tableau IX:** L'avis des vétérinaires concernant le traitement des mammites par les éleveurs.

	0-50 %		50-100 %	
	nombre	Pourcentage %	nombre	Pourcentage %
Oui	10	<b>25</b>	23	<b>57,5</b>
Non	21	<b>52,5</b>	11	<b>27,5</b>

L'avis des vétérinaires à moins de 50 % est de 25 % de oui et de 52,5% de non, tandis que celui de plus de 50 % il est de 57,5 % de oui et de 27,5 % de non.

Il y a 07 vétérinaires qui n'ont donné aucun avis sur le traitement des mammites par les éleveurs, soit 17,5%.

#### **b. Traitement d'autres pathologies:**

Les résultats obtenus sont reportés sur le **tableau X**.

**Tableau X:** L'avis des vétérinaires sur le traitement d'autres pathologies par les éleveurs.

	0-50 %		50-100 %	
	nombre	Pourcentage %	nombre	Pourcentage %
Oui	35	<b>87,5</b>	15	<b>37,5</b>
Non	1	<b>2,5</b>	31	<b>77,5</b>

L'avis des vétérinaires à moins de 50 % est de 87,5 % de oui et de 2,0 % de non, tandis que celui de plus de 50 % il est de 37,5 % de oui et de 77,5% de non.

Il y a 0 vétérinaires qui n'ont donné aucun avis, soit 10%.

### **I.3.11.Respect du délai d'attente par l'éleveur :**

Les réponses obtenues sont représentées dans le **tableau XI**.

**Tableau XI:** comportement de l'éleveur vis-à-vis du délai d'attente.

	0-50 %		50-100 %	
	Nombre	Pourcentage %	Nombre	Pourcentage %
Oui	18	45	10	25
Non	09	22,5	21	52,5

L'avis des vétérinaires à moins de 50 % est de 45 % de oui et de 22,5 % de non, tandis que celui de plus de 50 % il est de 25 % de oui et de 52,5 % de non.

Il y a 9 vétérinaires qui n'ont donné aucun avis, soit 22,5%.

La justification des NON est différente d'un vétérinaire à l'autre:

- 15 vétérinaires affirment que la raison du non respect du délai d'attente est purement économique (pertes économiques) ;
- 10 vétérinaires disent que par inconscience, les éleveurs ne respectent pas le délai d'attente, l'intérêt est plus important chez eux que la santé publique ;
- 05 vétérinaires préconisent que c'est par manque d'informations ;
- 04 vétérinaires disent que, par habitude, les éleveurs ne respectent pas le délai d'attente.

Les vétérinaires n'ayant pas répondu à certaines questions ignoraient si l'éleveur respectait vraiment le délai d'attente ou non.

### I.3.12. Les problèmes causés par la présence des résidus d'antibiotiques :

Les résultats obtenus sont représentés dans le **tableau XII**

**Tableau XII :** Les problèmes liés aux résidus d'antibiotiques.

	Nombre	Pourcentage %
Allergie	21	52,5
Intoxication directe	1	2,5
Modification de la flore digestive	3	7,5
Anbiorésistance	26	65

Les résultats montrent que 65 % des vétérinaires interrogés ont rencontrés des problèmes d'antibiorésistance, 52,5% des problèmes d'allergies, alors que 7,5% des vétérinaires ont notés des modifications de la flore digestive, seulement 2,5% de cas d'intoxication directe ont été enregistrés par ces vétérinaires.



#### **I.4. Discussion :**

Les vétérinaires interrogés sont tous des praticiens. Ils ont été choisis au hasard selon leur disponibilité.

##### *✓ Traitement curatif ou préventif*

L'intervention des vétérinaires dans les milieux d'élevage est beaucoup plus curative que préventive. Cette constatation est faite par les résultats obtenus chez les vétérinaires qui selon eux (87,5%) confirment un traitement curatif à plus de 50% alors que seulement 17,5% des vétérinaires n'interviennent qu'à titre préventif à plus de 50%. Nos résultats sont proches de l'étude qui a été faite par **MOULA** et **REDJDAL (2004)** et **SEDDIKI** et **OUDAI (2006)** et qui ont confirmé que le traitement prodigué en Algérie est plus curatif que préventif.

##### *✓ Déclaration des mammites*

La contamination des laits des élevages par les résidus d'antibiotiques serait probablement due au traitement des mammites. Ces dernières sont classées parmi les pathologies les plus importantes dans nos élevages laitiers atteignant parfois des prévalences alarmantes (**Guetarni et al ., 2000**). Selon l'étude faite par **SEDDIKI** et **OUDAI (2006)**, les mammites sont fréquentes à 85,71% dans l'élevage bovin laitier.

La plupart des vétérinaires interrogés dans notre enquête ont été appelé pour traiter des cas de mammites durant toute l'année. Ils ont noté une grande différence d'apparition de cette affection entre les saisons de l'année. Ils ont noté une augmentation des cas de mammites surtout en été et au printemps avec respectivement un pourcentage de 72 % et de 64 %.

Selon **FAUL** et *al* (**1983**) la fréquence maximum des mammites est observée au printemps et pendant l'été. La littérature affirme que le climat peut avoir une influence directe ou indirecte sur l'apparition de la mammite **SUMMER (1981)** implique les périodes chaudes et humides. Cependant, **DUVAL (1995)** insiste beaucoup sur le fait que l'exposition au froid intense, aux courants d'air, à une humidité excessive ou à une chaleur extrême prédispose à la mammite.

##### *✓ Les antibiotiques utilisés en élevages bovins laitiers*

Notre enquête montre que la plupart des antibiotiques utilisés par les vétérinaires interrogés en élevage bovin laitier sont les oxytétracyclines et les pénicillines.

Nos résultats sont proches de ceux obtenus par **SEDDIKI et OUDAI (2006)** et **MOULA et REDJDAL (2004)**, qui ont constaté que les antibiotiques les plus utilisés dans les élevages sont les oxytétracyclines et les pénicillines.

Dans le traitement des mammites, il ressort que les antibiotiques utilisés sont les oxytétracyclines avec un pourcentage de 60% par voie générale et de 40% par voie locale. Pour les pénicillines un taux de 42,5 % par voie générale et 27,5 % par voie locale.

C'est ce qui a été confirmé par **SEDDIKI et OUDAI (2006)** qui ont trouvé que les antibiotiques les plus utilisés en cas de mammites sont les tétracyclines (32,63 %), et les pénicillines (27,36 %).

Selon l'étude faite par **CHATELLET en 2007**, les mammites peuvent être dues à des bactéries Gram + ou Gram -. C'est pourquoi l'antibiotique à utiliser en première intention doit être à large spectre et liposoluble. L'association d'une antibiothérapie par voie générale et intramammaire doit être privilégiée.

Selon les vétérinaires interrogés, on remarque que les antibiotiques les plus utilisés lors du tarissement sont les oxytétracyclines et les pénicillines 32,5. Ces résultats rejoignent ceux de **GHOURI (2006)**.

D'après notre enquête, l'efficacité du produit reste un critère très important pour le choix des antibiotiques associée à la longue action.

Pour **RAHAL et al (2001)**, l'efficacité reste le critère le plus important pour le choix des antibiotiques. Cependant, **MOULA et REDJDAL (2004)** ont favorisé comme critère, l'efficacité associée avec le coût. Pour **SEDDIKI et OUDAI (2006)**, c'est l'efficacité avec la disponibilité du produit qui reste un critère de choix.

On peut dire en fin de compte que les principaux antibiotiques utilisés dans le traitement des bovins laitiers, qu'ils soient curatifs ou préventifs en pathologies diverses notamment les mammites, appartiennent à la famille des Tétracyclines et à celle des bêtalactamines.

Un fait important est à signaler, d'après les vétérinaires interrogés, 37,5 % confirment que les éleveurs traitent les mammites par eux même à plus de 50 %, alors que pour les autres pathologies, 87,5 % des vétérinaires supposent que moins de 50 % des éleveurs traitent par eux même.

Ainsi nous pouvons affirmer qu'il y a une prise de conscience chez les éleveurs qui donnent une priorité au délai d'attente qui débute à la fin du traitement. Néanmoins plus de

50% des éleveurs ne respectent pas le délai d'attente selon 42 % des vétérinaires, Ce résultat correspond à celui obtenu par **RAHAL et al (2001)**, La justification des NON est différente d'un vétérinaire à l'autre:

Certains vétérinaires justifient le non respect du délai d'attente par les éleveurs, par les pertes économiques, tandis que d'autres disent que c'est par ignorance qu'ils ne le respectent pas, l'intérêt est plus important chez eux que la santé publique. Il est à remarquer aussi qu'une minorité des vétérinaires préconisent que c'est par manque d'informations et aussi, par habitude que les éleveurs ne respectent pas le délai d'attente. Quelques vétérinaires ignoraient si l'éleveur respectait vraiment le délai d'attente et cela d'après les réponses non obtenues dans le questionnaire.

### *✓ Le respect de la dose d'antibiotique utilisée*

La justification du non respect de la dose prescrite sur la notice par certains vétérinaires est différente d'un vétérinaire à l'autre. Les causes inhérentes à ce problème sont la concentration de l'antibiotique (la dose utilisée n'est pas suffisante), la première injection débute toujours par une dose d'attaque, la nature du produit est-ce la molécule mère ou bien le générique. En dernier, ils optent pour l'augmentation de la dose selon l'état de l'animal.

Selon l'étude faite par **CHATELLET (2007)**, un des premiers comportements à risque vis-à-vis des antibiotiques est de ne pas donner la dose suffisante, ou au contraire de Sur doser.

### *✓ Les problèmes causés par la présence de résidus d'antibiotique*

La plupart des vétérinaires questionnés (65%) ont enregistré des cas d'antibiorésistance. L'administration d'un traitement par l'éleveur peut conduire à un mauvais suivi de la prescription du vétérinaire. La dose à administrer dépend souvent du poids de l'animal. Il est évident que les éleveurs ne pèsent pas l'animal à traiter, ce qui peut conduire à des erreurs d'appréciation du poids et donc à des surdosages ou plus fréquemment des sous-dosages. Le sous-dosage est notamment à l'origine de la sélection de germes résistants aux antibiotiques (**AFSSA., 2006**).

La durée de traitement est le second critère fondamental à respecter : de nombreux éleveurs, pour des raisons économiques, se basant sur l'état général de leur animal plutôt que sur les critères microbiologiques, auront donc tendance à réduire le temps de traitement quand l'animal sera cliniquement guéri.

Ainsi que 52,5% des vétérinaires interrogés ont enregistré des cas d'allergie. Les principes actifs des médicaments peuvent se lier de façon irréversible et forment un complexe qui peut être immunogène et allergène. Les réactions allergiques aux bêta-lactamines représentent la cause la plus fréquente d'allergie médicamenteuse. Selon **Demoly et al (2000)**, le nombre de décès par choc anaphylactiques aux pénicillines est proche de 500 par an aux Etats-Unis.

# ***Volet II***

## **Volet II : recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait de vache**

### **II.1. Objectif**

Ce travail avait pour objectif la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait de vache produit dans le Centre de l'Algérie.

Pour se faire, deux techniques microbiologiques ont été successivement mises en œuvre : un test d'acidification et une épreuve de confirmation par diffusion en gélose.

### **II.2. Matériels et Méthodes**

#### **II.2.1. Lieux et durée de l'étude expérimentale**

Notre étude a porté sur un total de 160 prélèvements collectés sur la wilaya de Boumerdès et la wilaya d'Alger.

**Tableau XIII : plan d'échantillonnage.**

Wilaya	Nombre d'échantillons
Alger	<b>48</b>
Boumerdès	<b>112</b>
Total	<b>160</b>

L'étude s'est déroulée sur une durée totale de 3 mois : du mois d'Avril 2018 au mois de Juin 2018.

Tous les échantillons de lait prélevé provenaient de vaches déclarées saines par l'éleveur.

## II.2.2. Matériels

### a. Conditions de prélèvements et de stockage des échantillons de lait

#### ✓ *Conditions de prélèvements du lait*

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

Après lavage, séchage et désinfection des trayons, le premier jet de lait est éliminé et le prélèvement est réalisé.

Le lait recueilli de chaque flacon correspond au mélange provenant des quatre quartiers de la mamelle.

#### ✓ *Transport et stockage des échantillons*

Les échantillons sont transportés dans une glacière munie de pain de glace et congelés à -20°C dans les 3 heures suivant leur prélèvement. Les échantillons ont été analysés dans un mois suivant leur prélèvement, au sein du laboratoire d'HIDAOA (Hygiène et Inspection des Denrées Alimentaires D'origine Animale) de l'ENSV (Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire) d'Alger.

Aucune rupture de la chaîne du froid ne s'est produite au cours de notre expérimentation.

### b. Micro-organismes test utilisés :

Deux micro-organismes test ont été utilisés dans la recherche des résidus des antibiotiques par méthode microbiologique :

- *Bacillus subtilis*, ATCC 6633 suspension de spore .
- *Bacillus sterothermophilus* Var. *calidolactis* souche C953. Nous l'avons eu de l'INMV (Institut National de la Médecine Vétérinaire).

## c. Réactifs ; milieux de culture et produits chimiques :

## ✓ Milieux de culture

*Gélose de Muller Hinton – Institut Pasteur d'Algérie.*

Infusion de viande de bœuf déshydratée	300g
Hydrolysate de caséine	17,5g
Amidon de maïs	1,5g
Agar agar	113g
Eau distillée	1000ml
pH final	7,2- 7,4

*Bouillon nutritif*

Peptone	10g
Extrait de viande	5g
Chlorure de sodium	5g
Agar agar	13g
Eau distillée	1000ml
pH final	7,2

*Gélose nutritive*

Peptone	10g
Extrait de viande	5g
Chlorure de sodium	5g
Agar	15g
Eau distillée	1000ml
pH final	7,2



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

✓ **Réactifs et solutions étalon**

**Solution de triméthoprime :**

Triméthoprime	5 mg
Ethanol 96%	10ml
Eau distillée	qsp1000ml

**Préparation :** Le triméthoprime est d'abord dissout dans l'éthanol avant d'être dilué dans l'eau distillée puis stérilisé à 121°C pendant 15 minutes. Cette solution se conserve au réfrigérateur (de 0 à 5°C) au maximum 1 semaine à l'obscurité et à une température de 0-5°C.

**Solution de pourpre de bromocrésol :**

Pourpre de bromocrésol	250mg
Ethanol 96%	10ml
Eau distillée	qsp 1000ml

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

✓ **Lait témoin négatif (-)**

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

✓ **Lait témoin positif (+) (Figure n°04) :**

C'est le lait exempt de substance inhibitrice au quel nous avons additionné 0,2 ml de la solution de pénicilline d'une concentration de **0,0067 UI/ml** déjà préparée (*voir annex n°01*).



	ou bouchon, d'un diamètre intérieur de 8mm
--	--

**NB :** Toute la verrerie a été stérilisée à 121°C pendant 15 min, à chaque utilisation pour éviter tout effet inhibiteur résiduel.

### II.2.3. Méthodes :

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

Deux techniques sont successivement réalisées :

✓ **Un test d'acidification :**

Qui met en évidence l'éventuelle inhibition d'une souche de *Bacillus stearothermophilus* var. calidolactis **C 953** par l'échantillon de lait à tester.

✓ **Une épreuve de confirmation**

Correspond à la réalisation de deux tests de diffusion en gélose l'une avec *Bacillus subtilis* et l'autre avec *Bacillus stearothermophilus*.

#### a. Test d'acidification :

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

##### a.1. Principe :

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

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

**a.2. Réalisation :**

✓ *Revivification des souches*

Nous avons effectué la revivification des souches. Ce repiquage nous a permis d'obtenir des souches jeunes de *B. subtilus* et de *Bacillus stearotherophilus* .

La préparation de l'échantillon de lait à tester est la suivante (**figure n°05**):

- Les échantillons du lait doivent être décongelés et homogénéisés ;
- Mettre 2 ml de chaque échantillon dans un tube à essai stérile ;
- Numéroter et identifier les tubes ;
- Placer dans un bain marie réglé à 80°C pendant 10min, le niveau de lait étant au moins à 2 cm au-dessous de celui de l'eau pour éliminer les inhibiteurs naturels qui peuvent fausser nos résultats ;
- Refroidir à la température ambiante ;
- Ces échantillons sont prêts à l'emploi ;



**Figure n°05 :** Préparation de l'échantillon du lait de vache.

- Identifier et numéroter les tubes à essai contenant 2ml de chaque échantillon de lait de vache ou 2ml du lait témoin (+) et ou du témoin négatif (-), les placer sur un portoir requis pour l'examen des échantillons de lait de vache et des témoins (**voir figure 06**) ;



**Figure n°06 :** Tubes à essai identifiés et numérotés.

- Sous la flamme d'un bec benzène, enlever le couvercle ou le bouchon ;
- Ajouter un volume de 0,1 ml de la culture d'épreuve (voir annex n°02) constituée de (10 ml de la culture *B. stearothersophilus*, 5 ml d'extrait de levure (10%) et 10 ml du pourpre de bromocresol (0,25%)) ;
- Ajouter 0,2ml de triméthoprime ;
- Placer tous les tubes dans une étuve réglée à 64°C pendant 2h30 ;
- Retirer le portoir contenant les tubes de l'étuve ;
- Observer l'aspect et la couleur de l'échantillon et des témoins.

### **a.3.Lecture des résultats :**

Une coloration jaune signifie un lait exempt de substances inhibitrices notamment les résidus antibiotiques. Une coloration pourpre révèle la présence de résidus d'antibiotiques.

### **b. Méthode de diffusion en gélose**

#### **b.1.Principe :**

Les méthodes de confirmation requièrent l'utilisation de deux espèces suivantes : *Bacillus stearothersophilus* et *Bacillus subtilis*. Seuls les échantillons douteux ou positifs doivent être soumis à l'épreuve de confirmation.

Elle implique la mise en œuvre d'une technique de diffusion en gélose, qui se caractérise par l'inhibition de la croissance de l'organisme test par les résidus d'antibiotiques éventuellement présents dans le lait.

#### **b.2.Réalisation :**

##### ✓ *Dénombrement de la charge bactérienne*

- Préparer 10 tubes de 9 ml d'eau physiologique stérile à 0,9% ;

- Procéder à la dilution de 10 en 10 : à l'aide d'une pipette stérile prélever 1 ml de la solution mère déjà préparée dans l'épreuve d'acidification (réactivation des souches) vers le premier tube de la solution d'eau physiologique. Agiter, puis transférer 1 ml du 1<sup>er</sup> tube vers le 2<sup>ème</sup> tube, puis vers le 3<sup>ème</sup> tube et ainsi de suite jusqu'à la dernière dilution  $10^{-10}$  ;
  - Introduire dans chaque boîte de pétri 0,1 ml de chaque dilution (de la  $10^{-1}$  jusqu'à la  $10^{-10}$ ), utiliser 2 boîtes de Pétri pour chaque dilution ;
  - Introduire 15 à 20 ml du gélose nutritive ;
  - Mélanger l'inoculum et le milieu de culture, en faisant des mouvements en huit,
  - Incuber à une température de 30°C pour *B. subtilis* et de 55°C pour *B. stearothermophilus* pendant 24h ;
  - Comptage des colonies : après incubation, sélectionner les boîtes présentant un nombre de colonies compris entre 30 et 300 UFC ;
  - Prendre la moyenne arithmétique des dénombrements entre les 2 essais pratiqués avec la même dilution ;
  - Calculer le nombre d'unité formant la colonie par ml de la dilution (UFC/ml) ;
  - Multiplier par l'inverse de cette dilution pour avoir le nombre de bactéries par 1 ml de la suspension mère ;
  - La charge final de la solution mère en UFC/ ml et estimée en faisant la moyenne des concentrations obtenues pour les différentes dilutions.
- ✓ **Détermination de la suspension qui servira d'inoculum**

Pour les deux souches, une fois la charge de la suspension mère est déterminée, il suffit de calculer la dilution à réaliser afin d'obtenir une suspension fille dont la charge est située entre  $10^4$  et  $10^5$  UFC par ml.

✓ **Préparation des boîtes de pétri**

*Bacillus subtilis*

- Le milieu gélosé Muller Hinton préalablement fondu à 100°C et refroidi à 55°C ;
- Devant bec benzen, Couler le milieu Mueller Hinton dans les boîtes de Pétrie et laisser se solidifier ;
- A l'aide d'écouvillons,ensemencer la surface des boîtes de pétri de par une suspension ( $10^4$  à  $10^5$  UFC/ml) de souche de *Bacillus subtilis*.

*Bacillus stearothermophilus*

- Le milieu gélosé Muller Hinton préalablement fondu à 100°C et refroidi à 55°C ;

- Devant bec benzen, Le milieu est inoculé au moyen de la culture liquide de *Bacillus sterothermophilus* à raison d'une partie de celle-ci pour cinq parties de milieu ;
- Ils sont intimement mélangés ;
- Couler le milieu Mueller Hinton dans les boites de Pétrie et laisser se solidifier.

✓ **Plan de disposition des disques antibiotiques**

Sept disques correspondant à 7 échantillons de lait à analyser sont déposés par boîte pétri, en plus du disque antibiotique témoin. Les huit disques sont disposés en cercle à 1cm de la périphérie de la boîte et aucun disque n'est placé au centre de la boîte (**Figure n° 07**).



**Figure n° 07** : Exemple du plan de boîte adopté lors de l'épreuve de confirmation.

Le **tableau XIX**: reprend les différentes familles d'antibiotiques détectées par l'inhibition de chacun de ces deux micro-organismes test :

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

Micro-organisme test	Antibiotique recherché	Famille
Bacillus subtilis	Spiramycine	Macrolides
	Erythromycine	
	Streptomycine	Aminoside
Bacillus sterothermophilus	Pénicilline G	Pénicilline
	Tétracycline	Tétracycline

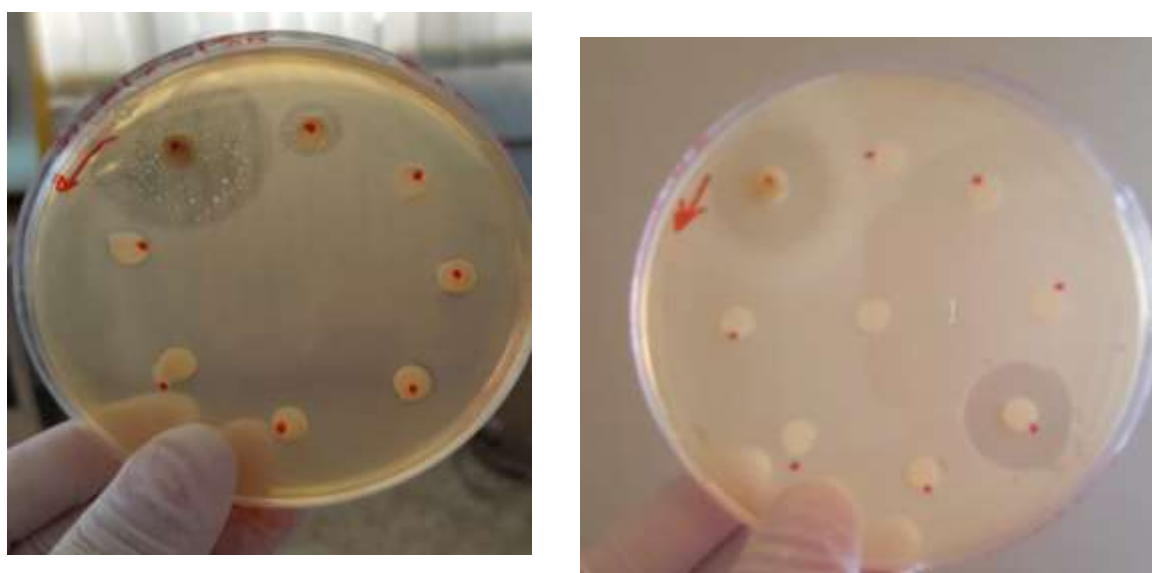
✓ *Incubation et lecture de résultat*

Les boîtes sont mises à incuber à 55°C pour *Bacillus sterothermophilus* et à 30°C pour *Bacillus subtilis*.

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

Les échantillons de lait donnant lieu à des zones d'inhibition d'au moins 10mm de diamètre ont été considérés comme positifs, c'est-à-dire comme contenant des antibiotiques.

Le diamètre de cette zone d'inhibition a été mesuré et reporté pour chaque échantillon testé positif (figure n°04).



**Figure n°08** : Zone d'inhibition.

## II.3.Résultats

### II.3.1.Origine des échantillons prélevés :

La distribution des 160 échantillons de lait de vache prélevés dans les deux wilayas du Centre Nord de l'Algérie : Alger et Boumerdès est représentée dans le **tableau XV** :

**Tableau XV** : Distributions des échantillons selon les wilayas.

Wilaya	Nombre d'échantillons
Alger	48
Boumerdès	112
Total	160



### II.3.2. Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait de vache par la méthode microbiologique officielle :

#### a. Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait de vache par l'épreuve d'acidification:

Les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait de vache sont présentés selon les wilayas d'origines.

##### ✓ Wilaya d'Alger

Les résultats obtenus sur le lait de vache de la wilaya d'Alger sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau XVI:** Résultat de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait de vache provenant de la wilaya d'Alger.

Wilaya	Nombre des échantillons	Résultats				Douteux %
		Positif	%	Négatif	%	
Alger	48	10	20,83	37	77,08	1

D'après le tableau et sur les 48 échantillons de lait testés, provenant de la wilaya d'Alger, nous avons constaté que 10 échantillons sont positifs, soit un taux de 20,83 %, alors que 37 échantillons sont négatifs, soit un taux de 77,08 % et 1 échantillon douteux (2,08%)

##### ✓ Wilaya de Boumerdès :

Les résultats obtenus de la wilaya de Boumerdès sont rapportés dans le **Tableau XVII**

**Tableau XVII :** Résultat de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait de vache provenant de la wilaya de Boumerdès

Wilaya	Nombre des échantillons	Résultats				Doutuex	%
		Positif	%	Négatif	%		
Boumerdes	112	19	16,96	93	83,03	0	0

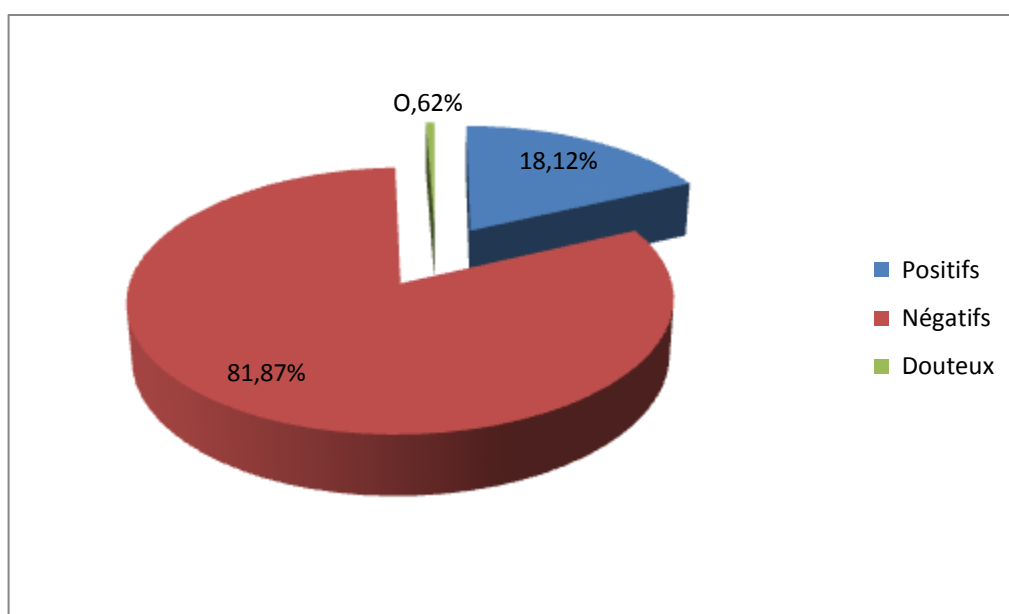
Sur les 112 échantillons de lait testés, provenant de la wilaya de Boumerdès, nous avons constaté que 19 échantillons sont positifs (**16,96%**) alors que 93 échantillons sont négatifs (83,03 %)

✓ *Résultats global pour le test d'acidification*

Le résultat global de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait de vache par l'épreuve d'acidification est représenté dans le **tableau XVIII** et la **figure n°09** ci-dessous :

**Tableau XVIII** : Résultat global obtenus pour le test d'acidification

Wilaya	Nombre des échantillons	Résultats				Doutueux	%
		Positif	%	Négatif	%		
<b>Alger</b>	48	10	20,80	37	77,08	1	2,08
<b>Boumerdes</b>	112	19	16,96	93	83,03	0	0
<b>Total</b>	<b>160</b>	<b>29</b>	<b>18,12</b>	<b>131</b>	<b>81,87</b>	<b>1</b>	<b>0,62</b>



**Figure n°09** : Résultats globaux du test d'acidification.

Sur les 160 échantillons de lait testés par l'épreuve d'acidification, 29 échantillons se sont révélés positifs (soit un pourcentage de 18,12%) mais, les 131 échantillons restants ont rendu

un résultat négatif pour l'ensemble des résidus d'antibiotiques recherché, soit un pourcentage de 81,87 % plus 1 échantillon douteux, soit un pourcentage de 0,62%.

### II.3.3. Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait de vache par l'épreuve de confirmation :

Il faut rappeler que nous avons d'abord contrôlé la sensibilité des souches avant d'entamer la technique proprement dite.

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

**Tableau XIX** : Diamètre moyen des inhibitions obtenues par wilaya et par micro-organisme test :

Wilaya	Nombre d'échantillons positifs	Microorganisme test	Famille d'antibiotique détectée	Moyenne des zones d'inhibitions
Alger	02	<i>Bacillus stearothermophilus</i>	12.00	Pénicillines et /ou Tétracyclines
	04		12.25	
	03		10.00	
	01		11.67	
Boumerdes	02		11.00	
	04		12.57	
	06		11.33	
	01		13.17	
	04		14.67	
		Moyenne 1	12,33	
Boumerdes	01	<i>Bacillus subtilis</i>	10.00	Aminosides et/ou macrolides
	01		11.00	

		Moyenne 2	10.5	
Total		Moyenne générale	11,28	

Un résultat considéré comme positif correspond à l'apparition d'une zone circulaire d'inhibition translucide autour du disque imprégné du lait à tester avec un diamètre supérieur ou égal à 10mm.

Sur les 160 échantillons de lait testés avec les deux souches de *B.stearothermophilus* et *B.subtilis*, 29 échantillons se sont révélés positifs :

✓ *B.stearothermophilus*

27 échantillons ont présenté des zones d'inhibition avec un diamètre supérieur à 12,07 mm en moyenne +/- 2,34 mm . Ces échantillons sont considérés comme positifs pour les résidus de pénicilline et/ou tétracyclines.

✓ *B.subtilis*

Seuls 2 échantillons sur les 29 testés ont présenté des zones d'inhibition avec un diamètre supérieur à 10,5 mm en moyenne +/- 0,5mm. Ces échantillons sont considérés comme positifs pour les résidus de macrolides et/ou aminoside.

Afin de donner plus de précision concernant les familles d'antibiotiques dépistées, nous avons présenté la répartition des échantillons positifs de chaque wilaya par rapport à chaque famille d'antibiotiques testée.

**a. Résultats de la recherche des résidus des bêta-lactamines et/ou des tétracyclines:**

La distribution des échantillons qui se sont révélés positifs par l'épreuve de confirmation par diffusion en gélose pour chaque wilaya par rapport aux  $\beta$ - Lactamines et/ou les Tétracyclines est représentée dans le tableau suivant.

**Tableau XX:** Résultat de la recherche des résidus des bêta-lactamines et/ou aux tétracyclines

Wilaya	Nombre des échantillons	Résultats			
		Positif	%	Négatif	%
<b>Alger</b>	11	10	90,90	1	9,09
<b>Boumerdes</b>	19	17	89,47	2	10,52

Total	30	27	90	3	10
-------	----	----	----	---	----

Les taux de positivité sont proches dans la Wilaya d'Alger (90,90%) (10/11 échantillons) et la wilaya de Boumerdès (90%) (17/20 échantillons).

Nous pouvons dire que sur les 30 échantillons positifs par le test d'acidification et l'échantillon douteux :

- 27 échantillons de lait positifs par l'étape de l'acidification (90%) sont contaminés par les résidus de Béta-Lactamines et/ou de Tétracyclines.

- 2 échantillons de lait positifs par l'étape de l'acidification (10%) ne contiennent pas de résidus de  $\beta$ -Lactamines et/ou de Tétracyclines.

#### b. Résultats de la recherche des résidus des macrolides et/ou des aminosides :

La distribution des échantillons qui se sont révélés positifs par l'épreuve de confirmation par diffusion en gélose pour chaque wilaya par rapport aux macrolides et/ou les aminosides est représentée dans le **tableau XXI**.

**Tableau XXI** : Résultat de la recherche des résidus des macrolides et/ou des aminosides

Wilaya	Nombre des échantillons	Resultats			
		positif	%	Négatif	%
<b>Alger</b>	11	00	00	11	100
<b>Boumerdes</b>	19	2	10,52	17	89,47
<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>2</b>	<b>6,66</b>	<b>28</b>	<b>93,33</b>

Un taux de positivité de 10,52% représentés par 2 échantillons de laits contaminés par les résidus de macrolides et/ou aminosides a été enregistré dans la wilaya de Boumerdès. Par contre dans la wilaya d'Alger, nous remarquons l'absence d'une contamination du lait par les résidus de macrolides et/ou aminosides.

Globalement, nous pouvons dire que :

- 2 des échantillons de lait révélés positifs par le test d'acidification (6,66%) présentent des résidus de macrolides et/ou aminosides.
- 28 échantillons de lait révélés positifs par le test d'acidification (93,33%) ne contiennent pas des résidus de macrolides et/ou aminosides.

#### c. Résultats global de la recherche des résidus d'antibiotiques par famille dans le lait de vache :

L'ensemble des résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques est présenté dans le **tableau XXII** et la figure suivants.

**Tableau XXII:** Résultat global de la recherche des résidus d'antibiotiques

wilaya	Nombre de prélèvements	Béta- lactamines		Tétracyclines		Macrolides		Aminosides	
		positifs	%	positifs	%	positifs	%	Positifs	%
<b>Alger</b>	48	4	8,33	6	12,5	00	00	00	00
<b>Boumerdes</b>	112	7	6,25	11	9,82	2	1,78	00	00
<b>Total</b>	<b>160</b>	<b>11</b>	<b>6,87</b>	<b>17</b>	<b>10,62</b>	<b>2</b>	<b>1,25</b>	<b>00</b>	<b>00</b>

**Figure n°10 :** Résultats global de la contamination du lait de vache par les résidus d'antibiotiques.

Nous constatons que sur les 160 échantillons de lait de vache testés :

- 11 échantillons de lait de vache sont contaminés par les résidus de beta-lactamines, soit un pourcentage de 6,87% ;
- 17 échantillons de lait de vache sont contaminés par les résidus de tétracyclines (10,62%) ;
- 02 échantillons de lait de vache sont contaminés par les résidus de macrolides (1,25%).

Aucun échantillon de lait de vache n'est contaminé par les résidus d'aminosides.

#### II.4. Discussion

Le lait et les produits laitiers occupent une place importante dans la ration alimentaire de chaque citoyen algérien. En Algérie, le problème causé par les résidus d'antibiotiques est à craindre car les quantités de laits frais réservées à la transformation sont encore insuffisantes pour se permettre de rejeter les laits contenant des résidus d'antibiotiques (**Ouslimani ., 2008**).

La recherche des résidus par l'épreuve d'acidification a permis dans un premier temps d'effectuer un premier screening de l'ensemble des échantillons de lait de vache alors que l'épreuve de diffusion en gélose a permis de confirmer la positivité des laits en identifiant les familles d'antibiotiques et de lever toute ambiguïté sur l'échantillon douteux.

#### II.4.1. Résultats positifs

D'une manière générale, notre étude a montré une contamination de 31 échantillons de lait de vache par les résidus d'antibiotiques sur les 160 échantillons de lait de vache analysés par l'épreuve d'acidification avec un pourcentage de 19,37%. Nos résultats diffèrent cependant de ceux rapportés dans les différentes études, au moyen de différents tests, ainsi:

- ❖ L'étude de **Lebres et Mouffok**, en **1989** réalisés sur 136 échantillons de lait cru d'élevage a révélé un taux de positivité de 25% en utilisant la méthode officielle ;
- ❖ Ouertani en 2003, en Tunisie a été rapporte un taux de positivité de 40% pour le lait de collecte dont l'analyse est réalisée au moyen de Delvotest SP ;
- ❖ L'étude faite par Siousarran en 2003, en Niger, qui avait utilisé le test du yaourt à partir de 06 échantillons de lait prélevé sur le quai de livraison des laiteries a montré un taux de positivité de 67% ;

Ces contaminations dues dans la plupart du temps à des causes différentes :

- L'utilisation excessive des antibiotiques à titre curatif afin d'éradiquer l'infection, d'éviter la mortalité des animaux et de restaurer leur production ;
- Le non-respect du délai d'attente souvent minoré, par ignorance ou volontairement pour écarter le moins de lait possible ;
- Le non-respect des posologies (augmentation/diminution des doses et/ou rythme d'administration) est également invoqué traduisant, entre autres, un manque de sensibilisation au fait que toute modification des protocoles de traitement induit une modification des délais d'attentes.

La confirmation par l'épreuve de diffusion en gélose des 31 échantillons de lait cru dont 30 positifs et un douteux, analysés par l'épreuve d'acidification, a présenté un taux de contamination de 90,32% pour les bêta-lactamines et/ou tetracyclines (28 échantillons) et un taux de contamination de 3,22% pour les aminosides et/ou macrolides (2 échantillons). L'échantillon douteux s'est révélé négatif.

Nos résultats sont proches de ceux rapporté par l'étude réalisée par (**Kress et al ., 2005**) sur 63 échantillons de lait cru révélés positifs, 95% l'ont été pour les bêta-lactamines.

Plusieurs questionnaires ont été posés par de nombreux chercheurs et qui ont constaté que les antibiotiques les plus utilisés en élevage bovin laitier sont :



- Les bêtalactamines sont encore les antibiotiques les plus actifs, les moins toxiques et les plus utilisés en clinique, ce qui explique le grand risque de contamination du lait par ces molécules et le choix de la laiterie du test spécifique à cette molécule.

Les antibiotiques utilisés en thérapeutique animale sont parfois incriminés en allergologie humaine. Parmi les antibiotiques les plus souvent incriminés, sont les pénicillines appartenant à la famille des bêtalactamines. Ces molécules utilisées en médecine humaine, sont impliquées dans la majorité des cas d'allergie médicamenteuse.

La présence de pénicilline dans le lait pourrait provoquer la sensibilisation de la population humaine et déclencher des symptômes de choc allergiques chez des sujets sensibilisés (**JEPSEN., 1950**).

Un cas cité par (**BORRIE et BARRETT., 1961**) prouve absolument que l'absorption de lait contenant de la pénicilline peut provoquer des éruptions eczémateuses rémittentes chez les personnes sensibilisées. Le malade cité réagissait fortement à une dose de 15 unités par jour, soit 500 ml de lait contenant 0,03 unités de pénicilline par millilitre.

- Les tétracyclines : en raison de leur large spectre d'activité, de leur faible toxicité et de leurs bonnes diffusions tissulaires, cela leur donne l'avantage d'être utilisées contre diverses maladies et contre de nombreux germes. Malgré l'ancienneté des tétracyclines, elles restent parmi les antibiotiques les plus utilisés en médecine vétérinaire et, en raison de leur délai d'attente assez important dans le lait, la probabilité de trouver des tétracyclines dans le lait cru est élevée.

### **II.2.2.Résultats négatifs**

Les résultats ont montré que sur un total de 160 échantillons de lait cru analysés, 130 échantillons sont considérés comme négatifs, soit un taux de 81,25%. Un taux élevé de lait négatif, n'est pas obligatoirement synonyme de salubrité car souvent nous pouvons être confronté à des laits qui contiennent des résidus d'antibiotiques, mais à des concentrations inférieures au seuil de détection du test déterminé par la limite maximum de résidus, ou à des laits qui contiennent des résidus d'antibiotiques qui ne s'expriment pas au test, donnant lieu à des résultats faussement négatifs comme les polypeptides et le chloramphénicol, bien que ce dernier est interdit chez les animaux de rente.

Dans notre étude, nous avons préchauffé les échantillons de laits au bain-marie à 80°C pendant 5 mn avant la réalisation du test afin d'éliminer les inhibiteurs naturels. Ce préchauffage peut détruire certains antibiotiques réputés être sensibles à la chaleur, tels que la

Néomycine, la kanamycine et le chlortétracycline à une proportion de 50% à 60% (**Billon., 1979**).

La mauvaise conservation du prélèvement peut permettre la croissance d'une flore de contamination, qui pourra provoquer une acidification du lait ou une destruction de certains antibiotiques (la conservation d'un prélèvement une heure et demie à la température ambiante du laboratoire peut faire diminuer de 50% le taux de détection de la pénicilline dans un lait supplémenté avec 0,005 et 0,01UI de cette molécule (**BROUILLET., 1994**).

### **II.2.3.Résultats douteux**

Nous avons constaté dans cette étude qu'un seul échantillon de lait analysé était douteux par la première épreuve d'acidification. En fait, pour trancher sur ce résultat, il était nécessaire de faire passer cet échantillon dans la deuxième épreuve de confirmation qui avait révélé l'absence de tous résidus d'antibiotiques.

Il est à noter que la méthode microbiologique utilisée se caractérise par un seuil de détection des résidus d'antibiotiques au plus proche des LMR des antibiotiques les plus utilisés dans le traitement des bovins laitiers.

La sensibilité de l'épreuve d'acidification est meilleure pour les deux familles d'antibiotiques les plus largement retrouvées dans les spécialités d'intra-mammaires utilisées en Algérie (bétalactamine et tétracycline). La croissance du *Bacillus stearothermophilus* est inhibée selon Heeschen et al, par une concentration de 5 ppb d'ampicilline (**Heeschen et al ., 1991**). L'épreuve de confirmation quant à elle montre une grande spécificité (**Fabre et al ., 2002**).

La législation algérienne rend obligatoire la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru (**JORA N°35 du 25 mai 1998**) pour plusieurs raisons :

- Pour assurer la sécurité de produit en respectant les limites maximales de résidus fixés par la réglementation.
- Pour disposer d'un lait apte à la transformation.

Malgré cette réglementation, elle n'est pas toujours systématiquement appliquée par certaines laiteries moins soucieuses des risques des résidus d'antibiotiques.

*Conclusion*

*ET*

*Recommandation*

### **III. Conclusion et recommandation**

Les médicaments vétérinaires notamment les antibiotiques font partie de l'arsenal thérapeutique indispensable dans l'élevage d'aujourd'hui car ils permettent de prévenir ou de traiter un grand nombre de maladies infectieuses.

Ces antibiotiques peuvent se retrouver sous formes de résidus dans le lait et les produits laitiers des vaches traitées. Les dangers liés à la présence de ces résidus sont d'ordre toxicologique, cancérigène, et allergique et l'apparition de souches bactériennes pathogènes résistantes aux antibiotiques en plus des effets néfastes en industrie laitière.

La présente étude a permis de mettre en évidence la contamination du lait par les résidus d'antibiotiques tel que les bêta-lactamines, les tétracyclines, et les macrolides qui constituent un risque non négligeable dans les cas d'allergies et le développement d'antibiorésistances chez le consommateurs.

La responsabilité est attachée à l'éleveur, due à l'automédication qu'au vétérinaire qui a une place centrale dans la maîtrise de l'utilisation des antibiotiques en santé animale. Il intervient notamment au stade de la conception, du développement, de l'autorisation de mise sur le marché du médicament vétérinaire antibiotique, mais aussi et surtout dans sa distribution, son administration ainsi que dans le contrôle des bonnes pratiques de son utilisation.

Et pour terminer ainsi que voyons qu'il est nécessaire de soulever le problème de l'antibiorésistances et des résidus d'antibiotiques qui deviennent de jour en jour un problème majeur, d'où la nécessité de travailler d'arrache-pied afin de conserver ces précieuses molécules.

Cependant les résultats de détection microbiologiques ne donnent pas une indication sur l'identité de la substance inhibitrice. L'évaluation des risques éventuels d'ordre sanitaire ou technologiques, associés à leur présence, passe par une connaissance qualitative et quantitative préalable de ceux-ci. Raison pour laquelle, nous allons poursuivre le travail pour une recherche semi quantitative par méthode ELISA et en fin, une qualification par HPLC des résultats révèle positifs ou douteux par le Delvotest.

## Références bibliographiques :

1. **Abidi k ; 2004** : Résidus d'antibiotiques dans le lait de boisson. Thèse : Médecine vétérinaire, Ecole nationale de médecine vétérinaire de Sidi Thabet, Tunisie, p 6-23.
2. **Aryal S., 2016**: Biochemical tests and indentification of Bsubtilis, Availbe from: <http://www.microbiologyinfo.com/biochimicle-test-andidentification-of-Bacillus-subtilis/>.
3. **Billon J., Seng Huuor Tao., 1979** : Détection des antibiotiques, identification et dosage par la méthode électrophorétique -Le Lait, 1979, 587,361-375.
4. **Borrie P., Baret L., 1961** : **Médicaments veterinaries et sécurité alimentaires, aspects analytiques du problem des résidus.** *Brit-Med-J.2, 1267*
5. **Brighty K.E., Gootz T.D., 2000**: Chemistry and mechanism of action of the quinolone antibacterial (chapter 2), the quinolones .V.T Andriole, ed. Elsevier, Connecticut, U.S.A.
6. **Brouillet P., 1994** : Maîtrise de la présence d'inhibiteurs dans le lait, Revue : recueil de médecine vétérinaire, n° 170, Juin-Juillet 1994, p. 443-454.
7. **Brouillet P., 2002** : Résidus de médicaments dans le lait et tests de détection. Bulletin des GVT n°15. Mai-Juin 2002, p 25-41.
8. **Burgot G., & Burgot J.L., 2002**: Méthodes instrumentals d'analyse chimique et applications. Méthodes chromatographiques, électrophorèses et méthodes spectrales. édition TEC&DOC p 26-27.
9. **CAC/MISC 5-1993** : Glossaire de termes et définitions (pour les résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments) .4p.
10. **Castro-Puyana M., Crego A.L., & Marina M.L., 2010**: Recent advences in the analysis of antibiotics by CE and CEC. Electrophoresis, *vol. 31, 229-250.*
11. **CE (commission Européen), 2009** :Règlement N°470/2009 du parlement Européen et du conseil du 06 Mai 2009. Etablissement des procédures communautaires pour la fixation des limites de résidus des substances pharmacologiquement actives dans les aliments d'origine animale, abrogeant le règlement (CEE) N° 2377/90 du conseil et le règlement (CE) N°726/2004 du parlement européen et du conseil. *J.Off. de L'Union Européenne, L152, 11-22.*
12. **CE (Commission Européenne), 2001** : Directive 2001/82/CE du parlement européen du conseil du 06 novembre 2001 instituant un code communautaire relatifs aux médicaments vétérinaires . *J.Off. de L'Union Européenne, L311,1-129.*
13. **CE (Commission Européenne), 2010** : Règlement N°37/2010 de la commission du 22 décembre 2009 relatif aux substances pharmacologiquement actives et à leur classification en ce qui concerne les limites maximales de résidus dans les aliments d'origine animale. *J.OFF. de l'Union Européenne, 115, 1-72.*
14. **Chalus-dancla E., 1999** : exemple de diffusion de mécanismes de résistance aux antibiotiques. Proceeding d'AFMPV. Maison Alfort.153-157.
15. **Chataigner B., 2004** : Etude de la qualité sanitaire des viandes bovines et ovines à Dakar (Sénégal). Contamination par les résidus des antibiotiques. Thèse de doctorat vétérinaire, Toulouse, n°4019, P103.

16. **Chataigner B., Stevens A., 2005** : Investigation sur la présence de résidus d'antibiotiques dans les viandes commercialisées a Dakar. Institut pasteur de Dakar, p.6-9.
17. **Chatellet M.C., 2007** : Modalités d'utilisation des antibiotiques en élevage bovin : ENQUETE EN ANJOU. Thèse de doctorat vétérinaire Al Fort.
18. **Chauvin C., Madec F., Le Bouquin S., Sander P., 2002** : Analyse pharmaco-épidémiologique de l'utilisation des antibiotiques. Relation avec la résistance aux antibiotiques. *Bull.acd.Vét.de France*, 155, P 277-282.
19. **Cherif E., 2013** : Un marché mondial de quoi aiguiser les appétits . Agroligne, N°90, 5-19.
20. **CNERNA., 1981** : La qualité bactériologique du lait. Détection des antibiotiques et des sulfamides.92-97.
21. **Courtet L.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 corteil, p18-37.
22. **Demoly P., Hillaire-Buys., Raison-Peyron N., Godard P., Michel E-B., Bousquet J., 2003**: identifier et comprendre les allergies médicamenteuses. *Médecine/science, vol. 19, N°3, 327-336*.
23. **Dewdney J. M. L., Maes J. P Raynaud., F. Blanc., J. P. Scheid., T. Jackson., Lens S., and Verschueren C., 1991**: Risk assessment of antibiotic residues of  $\beta$ -lactams and macrolides in food, products with regard to their immuno-allergic potential". *Food and Chemical Toxicology* 29, pp 477-483. Document AFSSA (Agence Française de la Sécurité Sanitaire des Aliments), p.49-55.
24. **Dominique V., 1982** : thèse pour le doctorat vétérinaire. Les résidus d'antibiotiques dans la viande de veau. p 6-7. ENQUETE EN ANJOU. Thèse de doctorat vétérinaire Al Fort.
25. **Duval J., & Soussy C.J., 1995** : Antibiothérapie bases bactériologie pour l'utilisation des antibiotiques. Edition Masson, Paris, 325p.
26. **Eck A., Gillis J.C., 1998** : Le fromage,3,7-513, Tec & Doc ;Paris.
27. **Enjalbert F., 2002** : Qualité nutritionnelle et diététique du lait en alimentation humaine. bulletin des GVT, n° 15, Avri-Mai-Juin 2002, p 57-58.
28. **Faber j.M ., Bouquet G., Sans P., 2010** : Méthode HACCP en élevage laitier : prévention du risque de résidus antibiotiques et intérêt d'un test de recherche des inhibiteurs. *Bull. des GTV-N°52* Février 2010.105-116.
29. **Faber J.M., Bouquet O., Petit C., 2006** : Extrait du livre : comprendre et prévenir les risques de résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale. P.25-47.
30. **Faber J.M., Joyes D., 2000**: Résidus dans le lait : observation des inhibiteurs bien utiliser les médicaments proceeding : lait, qualité et santé .p10-12.
31. **Faber J.M., Moretain J.P. & Berthelot X., 2002** : Evolution de la méthode interprofessionnelle de recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait. *Bulletin des GTV*. 15. Avril – Mai – Juin : 172 – 178.
32. **FAO., 1998** : Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine, collection FAO : Alimentation et nutrition n°28, ISBN 92-5-20534,

[http://WWW.fao.org/docrep/t4\\_280F/T428oFoo.htm# Contents](http://WWW.fao.org/docrep/t4_280F/T428oFoo.htm# Contents), Date de consultation. 04/05/2018.

33. **FAUL W.B., Walton J.R., Bramely A.J., et Hugues J.W., 1983** : Mastitis in a large. Zero-grazed herd. *Vet. Rec.*1983.113. 415-420.
34. **Ferrah A., 2000** : Séminaire atelier sur restructuration et stratégies des acteurs de la filière lait en Algérie ; L'élevage bovin laitier en Algérie problématique, questions et hypothèses de recherche.10p.
35. **Fontaine M., 1993** :Vade-Mecum vétérinaire. Formulaire vétérinaire de pharmacologie, de thérapeutique et d'hygiène volume 1,quinzième édition office des publications universitaire. 1642p.
36. **Frédéric D., 1982** : Thèse pour doctorat vétérinaire : Les résidus d'antibiotiques dans le lait après un traitement par voie intra-mammaire. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.
37. **Galesloot Tr.E., Hassing F., 1962**: A rapid and sensitive paper disc method for the detection of penicillin milk. *Neth Milk Dairy j.*, 16, 89-95.
38. **Ghering R., Haskell S.R., Payne MA., LCraigmill A., Webb A.L. & Rivier J.E., 2005**: Aminoglycosid reisdus in food of animal origin . *Journal of the American Veterinary medical association*, Vol.227, N°1,63-66.
39. **Ghoury I., 2006** :Etude des mammites subcliniques avec suivi des vaches pendant le tarissement dans la région de MITIDJA. Mémoire de Magister. DSV Université de Blida.
40. **Grenon C., Fournier S., Goulet J., 2004** : Symposium sur les bovins laitiers : Lait de qualité .33p.
41. **Gripon J.C., Desmazeau M.J., Lerars D. & Bergere J.L., 1975** : Etude du rôle des micro-organismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages. II. Influence de la présure commerciale. *Le lait*, 55,502-516.
42. **Guetarni D., NIAR A., Fernane Boumediene H., Ouzrout R., 2000**: Investigation des mammites par le test CMT et l'analyse bactériologique dans les exploitations de l'ouest Algérien. IVème séminaire international de médecine vétérinaire. Constantine.
43. **Guillemot M.D., 2006** : Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine.
44. **Hanzen C., 2008** : La pathologie infectieuse de la glande mammaire. Approche individuelle année 2007-2008. 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> Edit université de Liège.
45. **Helali A., 1999** : pharmacologie fondamentale et clinique à l'usage des étudiants en médecine Edition ENG, p.135.
46. **Jeon M., Kim J., paeng K.J., Park S.W., Paeng I., 2008**: Biotin-avidin mediated competitive enzyme-linked immunosorbent assay to detect residues of tetracyclines in milk. *Microchemical journal*, 2008, 88,(1), p 26-31.
47. **Jepsen A., 1950** : Les résidus de désinfectatns et d'antibiotiques dans le lait. *Nord. Vet. Med.* 2, 447.
48. **JORDAP ., N°74 du Rabie El Aouel 1436 correspondant au 25 Décembre 2014** : « Décret exécutif n°14-366 du 22 Safar 1436 correspondant au 15 décembre 2014. Fixant les conditions et les modalités applicables en matière de contaminations tolérés dans les denrées alimentaires » .13-14.

49. **Kobayashi K., Ehrlich S D., Albertini A., Amati G., Andersen K K., Arnaud M., 2003:** Essential Bacillus subtilis genes. Proceedings of the National Academy of Sciences; 100.
50. **Kress C., Seidler C., Kerp B., Schneider E. & Usleber E., 2005:** Experiences with an identification program for inhibitor-positive milk samples. *Analytica chimica Acta* 586 (2007) 275-279.
51. **Labie. Ch., 1981 :** Dispositions législatives destinés à éviter la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait. *Recueil de médecine vétérinaire* n°157, p161-167.
52. **Lambert G., Menassa A., 1983 :** Activités protéolytiques des streptocoques lactiques mésophiles. *Le lait*, 67,3-39.
53. **Larpent J.P., Sanglier J.J., 1989 :** Biotechnologie des antibiotiques P.7-9. Edition : Masson.
54. **Lebres E., Mouffok F., 1989 :** Recherche d'antibiotique et de résidus d'antibiotiques dans les laits. *Maghreb vétérinaire*. Vol 4. 17 :5 – 7.
55. **Lenoir J., 1963 :** La flore microbienne du camembert et son évolution au cours de la maturation. *Le Lait*, INRA Editions, 1963, 43 (425\_426), pp.262-270.
56. **M.A.D.R.P., 2015 :** évaluation de la mise en œuvre des programmes du renouveau agricole. 21<sup>ème</sup> session d'évaluation trimestrielle-Alger. Du ministère de l'Agriculture et du développement rural (M.A.D.R), Alger. 19 p.
57. **Makhlouf M., Montaigne E., Tessa A., 2015 :** La politique laitière algérienne : entre sécurité alimentaire et soutien différentiel de la consommation. *New Medit*, N°1,12p.
58. **Makhlouf M., Montaigne E., 2017 :** Impact de la nouvelle politique laitière algérienne sur la viabilité des exploitations laitières . *New Medit*,N°1,10p.
59. **Meklati Fawzi Rostane M., 2018 :** thèse de doctorat : Etude de la qualité sanitaire et nutritionnelle du lait cru produit en Algérie. Evaluation des teneurs en lipides et résidus d'antibiotiques .P39.
60. **Merad M., Merad R., 2001 :** Toxicité des antibiotiques. Edition PARIS-F.
61. **Mitchel J.M., Griffiths M.W., Yee A.J., 1998:** Antimicrobial drug residues in milk and meat: causes, concerns, prevalence, regulations, tests, and test performance. *Journal of food protection*, 61, 742-756.
62. **Moula N., Redjda Y., 2004 :** Enquête sur l'exercice de la médecine vétérinaire en Algérie : Constats et perspectives. Mémoire pour le diplôme de docteur vétérinaire. Université de Blida.
63. **Nakaro M M., Dailly y p., Zuber P., Clark DC., 1997:** Characterization of anaerobic fermentative Growth of B. subtilis identification of fermentation end products and genes required for growth. *Journal of bacteriology* 179-21-7
64. **Nuijens J.H., Van Berkel P.H.C., Schambacher F.L., 1996:** structure and biological of lactoferin. *Gland bio.neophasia* 1:285-295.
65. **Ouslimani S., 2008:** thèse. Contribution à l'étude des résidus d'antimicrobiens dans le lait cru produit dans l'Algérois.
66. **Perry K., Toney J. D., & Leblanc A. L., 1967:** Effect of nitrofurantoin on the human fetus .*Texas Reports on Biology and Medecine* 25, pp 270-272.



67. **Piggot P J., Schaechter M., 2009:** Encyclopedia of microbiologie 3<sup>ème</sup> edition: Exford Academic press p 45-56.
68. **Pilet C., Toma B., 1969 :** Etude de la thermostabilité de quelques antibiotiques. Journal of Dairy Science 145, pp 899-909.
69. **Pougheon S., Goursand J., 2001 :** le lait et ses constituants : caractéristiques physico-chimique, in : Debry,G. , lait, nutrition et santé , Edit Lavoisier, Tech&Doc Paris, 3-42.
70. **Pujol-Dupuy C ., 2004 :** Accidents alimentaires d'origine bactérienne lies à la consommation de lait et produits laitiers. Thèse doctorat (médecine-pharmacie) université Claude-Bernard-lyonI. P 20-25.
71. **Puyt J.D., Sachot E., 2001:** Résidus médicamenteux : les différents calculs du temps d'attente. *Le point Vétérinaire*, 242,52-57.
72. **Puyt j.D., 2000. :** Antibiothérapie (Antibiotherapy) . Encyclopédie vétérinaire. Edition scientifiques et médicales Elsevier SAS.15p.
73. **RAHAL M.K., GUETARNI D., BEROUAL K., KEBBAL S., TALI MAAMAR S., RAHALK., 2001:** Résistance des staphylocoques isolés des mammites bovines dans la Mitidja, Quels risques pour la santé publique ? Et quelles conséquences pour la thérapeutique vétérinaire. IV eme séminaire international de médecine vétérinaire. Constantine.
74. **Ramet J.P., 1984 :** Les enzymes coagulantes in. Le Fromage, Ed. Sepaic, Revue médecine du Maghreb 2001, n°91, p.17.
75. **Romnée J.M ., Raskim P., Instasse L.,Laloux J., & Guyot A., 1999 :** indice de facteurs alimentaires sur l'obtention de résultats faux positifs lors de la détection des antibiotiques dans le lait par la méthode Delvotest SP. *Le lait*, 79, 941-346.
76. **Romnée J.M., 2009 :** potentialités des tests microbiens et de la spectrométrie infra-rouge dans la recherche d'antibiotiques dans le lait, Dissertation originale présentée en vue de l'obtention du grade de docteur en sciences agronomiques et ingénierie biologique, p50-190.
77. **Schaechte M., Medoff G., Eisentein BI., 1999.** Microbiologie et pathologie infectieuse. Base de D Edition Masson.
78. **SEDDIKI M., & OUDAI I., 2006:** Enquete sur l'utilisation des médicaments vétérinaires en Algérie, cas particulier: Produits intramammaires. Mémoire pour le diplôme de docteur vétérinaire. Université de Blida.
79. **Siousarran V., 2003 :** Hygiène du lait cru en zone urbaine et périurbaine de Niamey, Niger. Rapport de stage, p. 42-43.
80. **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.
81. **Summer J., 1981:** Housing systemand mastitis. In: Mastitis control and herd management, technical Bulletin 4, N.I.R.D, Reading. 223-236.
82. **Tao S.H., Poumeyrol M., 1985:** Méthodes de détection des antibiotiques dans les viandes par électrophorèse. *Rec.Med.Vét*, 161(5) , p 456-463.

83. **Tristan C., 2016** : loi d'avenir agricole, réglementation du médicament vétérinaire et lutter contre l'antibiorésistance. Thèse pour de doctorat vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort .
84. **Valérie M ., Agnès H., Jean-François C., 2001** : La flore microbienne de laits crus de vache : diversité et influence des conditions de production. INRA, EDP Sciences, 2001
85. **Vignola C.L., 2002** : Science et technologie du lait : transformation du lait. Edit presses internationales polytechniques, Montréal, 600p.
86. **Yi H., Chum J C., Cha C J., 2014**: Genomic insights into the taxonomic status of the three subspecies of *Bacillus subtilis*, Systematic and Applied Microbiology. 37 (2) 95-90.
87. **Zaida W., 2016** : Evaluation de la nouvelle politique de régulation de la production nationale de lait cru. Revue Nouvelle Economie N°15 Vol 2, pp.51-67.
88. **Tingting Z., Zhiyang D., Peter S., Yong-qing Li., 2013**: Kinetics of Germination of Individual Spores of *Geobacillus stearothermophilus* as Measured by Raman Spectroscopy and Differential Interference Contrast Microscopy.
- 89.





**Question 03 :** Quels sont les antibiotiques les plus utilisés dans l'élevage bovin laitier ?

Tétracycline
Pénicilline
Sulfamide
Péni-streptomycine
Amoxicilline
Streptomycine
Erythromycine
Tylosine
Néomycine
Eurofloxacine
Gentamycine
Spiramycine

**Question 04 :** quelle est la fréquence d'apparition des mammites selon la saison ?

La saison	La fréquence
Eté	
Hiver	
Automne	
Printemps	

**Questions 05 :** Quels sont les antibiotiques et la voie d'administration les plus utilisés en cas de mammites ?

L'antibiotique	Voie générale	Voie locale
Oxytétracycline		
Penicilline		
Péni-streptomycine		
Tylosine		
Ampicilline		
Erythromycine		

Streptomycine

Sulfamide

Céphalosporine

Amoxicilline

**Question 06 : quel est le mode d'utilisation des antibiotiques en lactation ?**

- Toujours                       Souvent  
 Rarement                       Jamais

**Question 07 : Quels sont les antibiotiques utilisés le plus en cas de tarissement ?**

Oxytétracycline

Pénicilline

Ampicilline

Pénicilline-streptomycine

Céphalexine

Tylosine

Streptomycine

**Question 08 : Le choix des antibiotiques est-il fait selon**

Efficacité.

Longue action.

Délai d'attente plus court.

Coût (moins cher).

Disponibilité.

**Question 09 : Respectez-vous la dose prescrite sur la notice de l'antibiotique ?**

- Oui                       Non

**Question 10 :** Les éleveurs traitent-ils par eux-mêmes les mammites, précisez si c'est un traitement local ou général ?

	Mammites	Autres pathologies
Fréquence du Traitement Général		
Fréquence du Traitement Local		

**Question 11 :** est-ce que vous avez rencontrés des problèmes liés à la présence des résidus d'antibiotiques ?

Oui  Non

Si oui ; qui sont ces problèmes ?

Allergie	
Intoxication directe	
Modification de la flore digestive	
Antibiorésistance	

## Résumé

Nous avons réalisé une enquête auprès des vétérinaires praticiens relative à l'utilisation des antibiotiques dans les élevages bovins laitiers.

Une contamination par les résidus d'antibiotiques de 18,12% des échantillons collectés sur les deux wilayas : Alger et Boumerdès. Les résidus de tétracyclines et/ou pénicillines ont été à l'origine de la contamination de 90% des échantillons de laits positifs, alors que les résidus de macrolides et/ou aminosides n'ont été détectés que dans 6,66% des prélèvements testés positifs.

L'analyse des questionnaires remplis par 40 vétérinaires praticiens a montré que l'utilisation des antibiotiques essentiellement les tétracyclines 80%, et les pénicillines 72,5% en élevage bovin laitier est beaucoup plus importante à titre curatif que préventif. Le traitement des mammites étant la principale source de résidus dans le lait est utilisé à titre curatif et préventif, principalement par les oxytétracyclines et les pénicillines, le non respect de la dose d'antibiotique par 77,5% des vétérinaires et le non respect de délai d'attente par 52,5% des éleveurs sont l'une de la contamination du lait par les antibiotiques.

**Mots clés : résidus d'antibiotique, Méthodes microbiologiques, lait.**

ملخص

أجرينا مسحا للممارسين البيطريين على استخدام المضادات الحيوية في مزارع الأبقار الحلوب.



تلوث بقايا المضادات الحيوية بنسبة 18.12% من العينات التي جمعت في الولايتين: الجزائر وبومرداس. كانت تتراسيكلين و / أو مخلفات البنسلين مسؤولة عن تلوث 90% من عينات اللبن الإيجابية ، في حين تم الكشف عن بقايا الماكروليدات و / أو أمينوغليكوزيدات فقط في 6.66% من العينات المختبرة. إيجابية.

وأظهر تحليل الاستبيانات التي أكملها 40 ممارساً بيطرياً أن استخدام المضادات الحيوية أساساً تتراسيكلين 80% ، والبنسلينات 72.5% في الأبقار الحلوب هي أكثر أهمية للعلاج من الوقاية. علاج التهاب الضرع هو المصدر الرئيسي للبقايا في الحليب ويستخدم للعلاج والوقاية ، وذلك أساساً عن طريق الأوكسي تتراسيكلين والبنسيلين ، وعدم الامتثال بجرعة المضادات الحيوية من قبل 77.5% من الأطباء البيطريين وعدم الامتثال مع وقت الانتظار بنسبة 52.5% من المربين هو واحد من تلوث الحليب بالمضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية: بقايا المضادات الحيوية ، الطرق الميكروبيولوجية ، الحليب.

## summary

**The present study investigated antibiotic residues in cow's milk in north-central Algeria using two distinct microbiological techniques: the acidification test and the agar diffusion using two *Bacillus* strains. *stearotherophilus* and *Bacillus subtilis*.**

**Similarly, we conducted a survey of veterinary practitioners on the use of antibiotics in dairy cattle farms.**

**Contamination by antibiotic residues of 18.12% of the samples collected on the two wilayas: Algiers and Boumerdès. Tetracycline and / or penicillin residues were responsible for the contamination of 90% of the positive milk samples, whereas the residues of macrolides and / or aminoglycosides were detected only in 6.66% of the samples tested. positive.**

**Analysis of the questionnaires completed by 40 veterinary practitioners showed that the use of antibiotics mainly tetracyclines 80%, and penicillins 72.5% in dairy cattle is much more important for curative than preventive. The treatment of mastitis is the main source of residues in milk is used for curative and preventive, mainly by oxytetracyclines and penicillins, the non-compliance of the antibiotic dose by 77.5% of veterinarians and non-compliance with Waiting time by 52.5% of breeders is one of the contamination of milk by antibiotics.**

**Key words: antibiotic residues, microbiological methods, milk.**