

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA  
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE  
LA TERRE  
DÉPARTEMENT D'AGRONOMIE



Réf : ...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.AGR/2021

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES  
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV      Filière : Sciences Alimentaires  
Spécialité : Agroalimentaire et Contrôle Qualité  
Présenté par :

*ZOUAID Fedwa et KHALADI Imene*

*Thème*

**Recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru  
collecté par la laiterie HODNA au niveau de  
« M'sila et Sétif »**

Soutenu le : ... / ... / 2021

Devant le jury composé de :

***NOMS ET PRÉNOMS***

***Grade***

Mme. CHERIFI Assia	MAB	Univ. de Bouira	Présidente
Mme. DOUMANDJI Waffa	MAA	Univ. de Bouira	Promotrice
Mme. MOHAMEDI Saliha	MCB	Univ. de Bouira	Examinatrice
Mr. TEBIB Mustapha	MAA	Univ. de Tizi ousou	Co-promoteur

Année Universitaire : 2020/2021

# *Remerciements*

## REMERCIEMENTS

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

*On tien a exprimer le témoignage de toute notre gratitude et nos remerciements :*

*A madame DOUMANDJI W. pour avoir accepté de diriger et de guider ce travail.*

*A madame CHERIFI A. qui nous a fait l'honneur de présider le jury de ce travail.*

*A madame MOHAMDI S. pour le temps qu'il a consacré pour examiner ce modeste travail.*

*AU directeur de la laiterie HODNA monsieur BAKHTI Zakaria, de nous avoir ouvert les portes de son entreprise et d'avoir mis à notre disposition les moyens nécessaires pour la réalisation de notre étude.*

*A messieurs TEBIB M., HANSALI K., et MAIZ Y., pour leurs remarques et leurs conseils qui nous ont permis de mener à bien ce travail.*

*Un grand remerciement à madame KEBAILI N. et monsieur CHELOUCHE I. responsable qualité de la laiterie HODNA LAIT, pour tous ses conseils scientifiques.*

*A messieurs CHAOUI R., TALBI M., et MOSSOUD M. ainsi qu'à tout le personnel des laboratoires pour leur entière disponibilité et coopération lors de la réalisation de notre travail et leur aide de le finir et le préparer.*

*Enfin, que tous ceux et celles qui, de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce mémoire, trouvent ici notre estime, notre sympathie ainsi que nos vifs remerciements.*

# *Dédicaces*

## DEDICACES

*Grace à ALLAH...*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A mes plus chères personnes dans ma vie mes parents ;*

*Mon père Mohammed, qui a toujours été à mes côtés avec ses précieux conseils et son soutien moral, qui m'a encouragé sans limite.*

*Ma chère mère Sabiha, qui est la lumière de ma vie je ne peux pas vivre sans ses conseils, son affection et son amour, sans elle je n'aurais pas ce mémoire, elle y a un grand rôle car elle m'a donné le courage et la force dans les moments difficiles de ma vie.*

*Ma grande mère Halima, qui s'est toujours sacrifiée pour mon éducation, qui m'a entourée de son amour et de son affection, je la remercie et je n'oublierai jamais son soutien moral dans les moments les plus difficiles, que dieu la protège*

*A mes chères frères : Farouk, Sohaib, et Takj Allah*

*A ma sœur Rawassi*

*A toutes mes amies et surtout Chahinez*

*A mon binome Imene*

*A tous ceux qui m'aiment et que j'aime.*

*Fedwa*

## DEDICACES

*Grace à ALLAH...*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A mes plus chères personnes dans ma vie mes parents ;*

*Mon père Mohammed, qui a toujours été à mes cotés avec ses précieux conseils et son soutien moral, qui m'a encouragé sans limite.*

*Ma chère mère Kaltoum, qui est la lumière de ma vie je ne peux pas vivre sans ses conseils, son affection et son amour, sans elle je n'aurais pas ce mémoire, elle y a un grand rôle car elle m'a donné le courage et la force dans les moments difficiles de ma vie.*

*A mon cher mari Rabeh, qui m'a encouragé, son aide m'a été très précieuse.*

*À mon père Mohammad et à ma deuxième mère ma chère Fatima.*

*À ma chère fille Siline.*

*A mes chères sœurs Amina, Nadjwa et son mari Ahmed, Lydia, Katia et son mari Tarik, Lyna je les remercie du plus profond de mon cœur pour leurs soutiens .*

*A mon frère Yacine*

*À mes petits êtres chers, Eleen Mohammad Faris et Nilia.*

*A mon binôme et fidele amie Fadwa : je la remercie d'avoir été présente à chaque moment de ma vie.*

*Imen*

# *Sommaire*

## Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

**Introduction** ..... 1

### **I .Partie Bibliographique**

#### **Chapitre I : Généralités sur le lait**

I .1.Historique .....3

I .2.Définition de lait cru.....4

I.3. Composition chimique du lait.....4

I.3.1. l'eau.....6

I.3.2. les glucides.....6

I.3.3. Les matières grasses.....6

I.3.4. Matières azotées totales.....8

I.3.4.1. Matières azotées protéiques.....8

I.3.4.2. Matières azotée non protéiques.....8

I.3.5. Minéraux.....9

I.3.6. Vitamines.....9

I.3.7. Enzymes.....9

I.4. Qualité organoleptique du lait.....10

I.4.1. Couleur.....11

I.4.2. Odeur.....11

I.4.3. Saveur.....11

I.4.4. Viscosité.....11

I.5. Elaboration du lait.....12

I.6. Microbiologie de lait cru.....12

I.6.1. Flore originelle.....13

I.6.2. La flore de contamination.....13

1.6.2.1. La flore d'altération.....13

1.6.2.2. La flore pathogène.....14

#### **Chapitre II : Généralités sur les antibiotiques**

II.1.Définition.....17

II.2.Mode d'action des antibiotiques.....	17
II.2.1.La paroi bactérienne.....	18
II.2.2.La membrane cellulaire.....	18
II.2.3.Le ribosome bactérien.....	18
II.2.4.Autres.....	18
II.3.Classification des antibiotiques.....	19
II.4. Pharmacodynamie des antibiotiques.....	19
II.4.1. Mode d'action des bêta-lactamines.....	19
II.4.2. Mode d'action des tétracyclines.....	20
II.5. Pharmacocinétique des antibiotiques.....	21
II.5. 1. Absorption.....	21
II.5.2. Distribution.....	22
II.5.3. Métabolisme (Biotransformation).....	23
II.5.4. Voies d'élimination des antibiotiques.....	23
<b>Chapitre III : Les résidus d'antibiotiques vétérinaires</b>	
III. 1 Définition des résidus médicamenteux.....	24
III.2. Nature des résidus médicamenteux.....	24
III.2.1.Résidus non extractibles.....	24
III.2.2. Résidus extractibles.....	25
III.3.Évaluation de la toxicité des résidus.....	25
III.3.1.Méthode d'évaluation de la dose sans effet d'un principe actif.....	25
III.3.2.Dose sans effet et « toxicité de relais ».....	25
III.3.2.La dose journalière acceptable.....	25
III.4. Les problèmes liés à la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait.....	26
III.4.1. Les problèmes sanitaires engendrés.....	26
III.4.1.1. Problème d'allergie.....	26
III.4.1.2. Problèmes toxiques.....	26
III.4.1.2.1. Toxicité directe.....	26
III.4.1.2.2. Risque cancérigène.....	26
III.4.1.2.3. Risques bactériologiques.....	26
III.4.1.2.3.1. Modifications de la flore digestive du consommateur.....	27
III.4.1.2.3.2. Risques d'antibiorésistance.....	27
III.4.2. Les problèmes technologiques.....	27
III.5. La réglementation autour des résidus d'antibiotiques.....	27

III.5.1. La limite maximale des résidus.....	27
III.5.1.1. Définition.....	27
III.5.1.2. Réglementation« La législation Algérienne ».....	27
III.5.2. Le délai d’attente.....	28
III.5.2.1. Définition.....	28
III.5.2.2. Evaluation du délai d’attente.....	28
III.6. La détection des résidus d’antibiotiques dans le lait.....	28
III.6.1. L’identification des animaux traités.....	28
III.6.2. Le respect des mesures hygiéniques au cours de la traite .....	28
III.6.3. Le respect du délai d’attente.....	28
III.6.4. Le respect de la réglementation et des exigences de l’AMM.....	29
III.7. Mesures destinées à éliminer les résidus d’antibiotiques dans le lait.....	29

## **Partie expérimentale**

I. Présentation du lieu de stage.....	29
I.1.L’objectif de travail.....	29
I.2.Réalisation des tests de résidus d’antibiotique dans le lait.....	29
I.3.Description de l’organisme d’accueil HODNA LAIT de M’sila.....	29
I.3.1.présentation de la société HODNA LAIT .....	29
I.3.2.Les ateliers et capacités de production.....	30
I.3.3.Présentation des laboratoires.....	32
I.3.3.1. Laboratoire de microbiologie.....	32
I.3.3.2. Laboratoire de physico-chimique.....	32
I.3.3.3. Laboratoire de chimie des eaux.....	32
I.4. Echantillonnage.....	34
I.5. Technique de prélèvement.....	34
I.6. Analyses Physico-chimiques.....	34
I.7. Analyses bactériologiques.....	34
I.7.1. Matériel bactériologique utilisé.....	34
I.7.2. Matériels utilisés pour le contrôle des résidus d’antibiotiques « lactoscan ».....	34
I.7.3. Recherche d’antibiotique.....	35
I.7.3.1. Mesure de lactose et Protéines.....	35
I.7.3.2. Matériels et méthodes de test.....	35
I.7.3.3. Présentation du test AuroFlow™ BT combo Strip .....	35
I.7.3.5. Méthode de test.....	36

1.7.3.6. Interprétation des bandelettes après le test.....	37
--	----

## **Résultats et discussion**

I.1. Analyses physico-chimiques.....	39
I.1.1. Détermination de la stabilité .....	39
I.1.2. Mesure de pH.....	39
I.1.3. Détermination de l'acidité Dornic.....	40
I.1.4. Détermination du taux de la matière grasse.....	40
I.1.5. Mesure de la masse volumique.....	41
I.1.6. Détermination de la teneur en extrait sec total.....	41
I.1.7. Détermination de l'extrait sec dégraissé.....	43
I.2. Recherche d'antibiotique.....	44
I.3. Analyses microbiologiques.....	45
I.3.1 .Dénombrement de la flore totale.....	45
I.3.2. Dénombrement des coliformes totaux .....	45
I.3.3 Dénombrement des coliformes fécaux.....	46
I.3.4. Recherche de <i>staphylococcus aureus</i> .....	47
II. discussion.....	49
<b>Conclusion et recommandations</b> .....	<b>53</b>

## **Références bibliographiques**

## **Annexes**

# *Liste Des Abréviations*

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

**AFNOR** : Association Française de Normalisation

**ATB** : Antibiotique

**CF** : Coliformes Fécaux

**CT** : Coliformes Totaux

**DES** : La dose sans effet

**°D** : Degré Dornic

**ESD** : Extrait Sec Dégraissé

**EST** : Extrait Sec Total

**FAO** : Food and Agricultural Organization

**FTAM** : Flore Totale Aérobie Mésophile

**JORA** : Journal Officiel de la République Algérienne

**MG**: Matière Grasse

**MV** : Masse Volumique

**PCA**: Plant Count Agar

**PH**: Potentiel Hydrogène

**UFC**: Unité Formant Colonie

**VRBG** : Violet cristal Rouge neutre Bile Glucosée

# *Listes Des Figures*

## Listes des figures

Figure N°	Titres	page
01	Composition de la matière grasse du lait	07
02	Mode d'action des antibiotiques sur une bactérie	19
03	Schéma représentatif de différentes voies d'administration des antibiotiques	22
04	Logo de la laiterie HODNA	30
05	organigramme structurale de la laiterie HODNA LAIT.	33
06	Camion de collecte de lait de vache.	34
07	Lactoscan	35
08	test AuroFlow™ BT combo Strip	36
09	La lecture des résultats pour les $\beta$ -lactames et les Tétracyclines	38
10	Variation de pH pour les différents échantillons du lait cru analyses	39
11	Variation de l'acidité Dornic des différents échantillons du lait cru analyses	40
12	Variation de la matière grasse pour les différents échantillons du lait cru analysés.	41
13	Variation de la masse volumique pour les différents échantillons du lait cru analysés	42
14	Variation de l'extrait sec total pour les différents échantillons du lait cru analysés	43
15	Variation de l'extrait sec dégraissé pour les différents échantillons du lait cru analysés	44
16	Résultat du test d'antibiotique	44
17	Variation de la FMAT pour les différents échantillons du lait cru des deux régions	45
18	Variation des coliformes totaux pour les différents échantillons du lait cru des deux régions	46

19	Variation des coliformes fécaux pour les différents échantillons du lait cru pour les deux régions	47
----	--	----

# *Liste des tableaux*

## Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
01	Production des différents laits dans le monde dans la période 2009 à 2013	04
02	Composition chimique du lait de vache	05
03	Constituant lipidique du lait de vache et localisation dans la fraction Physicochimique (g/l de matière grasse)	07
04	Composition minérale du lait	09
05	Caractéristiques des principaux enzymes du lait	10
06	Flore originelle du lait cru de vache	13
07	Résultats de la recherche des <i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/ml) pour les différents échantillons du lait cru.	47

# *Introduction*

### Introduction

Le lait est un liquide blanc, opaque, de saveur légèrement sucrée, constituant un aliment complet et équilibré sécrété par les glandes mammaires de la femme et par celle des mammifères femelles pour la nutrition des jeunes. Le lait est de haute valeur nutritionnelle, très riche en protéines, lipides, glucides et en oligo-éléments tel que le calcium (**Onurlubas et Yilmaz, 2013**).

En Algérie, la filière lait occupe une place prépondérante et notre pays est considéré comme premier consommateur de lait au Maghreb, avec près de 3 milliards de litres par an. (**Benhedane, 2011**).

Par ailleurs, le lait peut rencontrer de nombreux problèmes sanitaires, notamment la contamination chimique, dues aux résidus de médicaments vétérinaires. Ces résidus sont utilisés dans les systèmes d'élevage en prophylaxie, comme additifs alimentaires ou comme facteurs de croissance des animaux tout en réduirait la qualité du lait(**Mensah et al., 2014**), ce qui entraîne des conséquences dangereuses et néfastes pour le consommateur. De ce fait, le lait doit être dépourvu de toute trace de médicaments tels que les antibiotiques. Il subit donc des traitements, le plus souvent thermiques. (**Tollefson et Miller, 2000**).

Actuellement, il existe plusieurs techniques qui peuvent être utilisées pour détecter leur présence. Les tests microbiologiques et immunologiques sont utilisés dans les laiteries comme le test Beta Star Combo pour la détection des résidus des Bêta-lactamines et des Tétracyclines.

Cependant, notre pays ne possède pas de limite maximale de résidus dans le lait, et autres produits issus des animaux, propres aux antibiotiques utilisés. La situation de la contamination éventuelle du lait consommé par les résidus d'antibiotiques dans notre pays est méconnue.

L'objectif de notre étude est la recherche des différentes familles d'antibiotiques les plus utilisées en élevage bovin laitier au niveau de deux régions M'sila et Setif, et le respect du délai d'attente de la commercialisation du lait cru provenant de vaches traitées aux antibiotiques selon la réglementation Algérienne en vigueur

La première partie bibliographique, qui traite des caractéristiques qualitatives, nutritives et microbiologiques du lait cru et de l'utilisation des antibiotiques.

La deuxième partie expérimentale qui expose la méthode utilisée pour réaliser les recherches de résidus d'antibiotique dans le lait cru, dans le but de le contrôler de la traite à la commercialisation, et selon les résultats obtenus, les solutions nécessaires pour leur maîtrise.

La discussion et les recommandations seront exprimées et développées à la fin de notre recherche, dans le but d'élaborer une conclusion et des perspectives afin d'optimiser la qualité du lait cru et d'éviter l'antibiorésistance chez les consommateurs. .

***PARTIE***  
***BIBLIOGRAPHIQUE***

**Chapitre I : Généralités sur le lait****I.1.Historique**

L'homme consomme du lait depuis 12000 ans. En effet, est au Proche Orient, qu'on retrouve les premières traces d'élevage de chèvres et de brebis. Ce fut ensuite le tour des vaches d'être domestiquées dans les montagnes de Turquie, de Macédoine et de Grèce. La place du lait et des produits laitiers dans l'alimentation s'est ensuite développée au cours des millénaires (**Cniel, 2013**).

Seule la production laitière de quelques espèces de mammifères présente un intérêt immédiat en nutrition humaine, même si le lait d'autres espèces animales possède des qualités nutritives supérieures. En effet, la production mondiale de lait provient presque entièrement de bovins, bufflonnes, chèvres, brebis et chamelles. La présence et l'importance de chacune de ces espèces varie considérablement entre les régions et les pays. Divers paramètres déterminent leur présence au sein de l'élevage, à savoir : le fourrage, l'eau, le climat, la demande du marché, les traditions alimentaires et les caractéristiques socio-économiques de chaque ménage (par exemple, les familles pauvres ont tendance à s'appuyer d'avantage sur les petits ruminants) (**Cniel, 2013**).

Bien que l'élevage de bovins puisse s'effectuer dans un large éventail d'environnements, les autres espèces laitières permettent de produire du lait dans des environnements défavorables. Les brebis permettent de produits du lait dans les régions semi-arides du pourtour méditerranéen, les chèvres dans les régions d'Afrique avec des sols pauvres, les juments dans les steppes d'Asie central, les chamelles dans les terres arides et les bufflonnes dans les régions tropicales humides (**FAO, 2015**).

Les chiffres sur la production laitière mondiale diffèrent selon les sources. Ils doivent donc être considérés avec prudence. Selon (**Cniel, 2013**), la production mondiale laitière a augmenté continuellement à un rythme proche de l'accroissement de la population dans la période 2009 à 2013 (tableau 1).

Il est à signaler que le lait de vache est de loin le lait plus produit, soit 83% des quantités produites en 2013 (équivalent de 646 millions de tonnes).

**Tableau 01** : Production des différents laits dans le monde dans la période 2009 à 2013, (Cniel, 2013). Unité : Millions de tonnes

Différents types de lait	2009	2010	2011	2012	2013
Lait de vache	596,5	610,5	626,2	640,1	646,1
Lait de bufflonne	89,7	93,1	97,0	99,8	103,1
Lait de chèvre	17,0	17,7	18,2	18,4	18,7
Lait de brebis	9,4	9,8	9,7	10,0	10,1
Autres laits	3,6	3,8	3,8	3,7	3,7
<b>Total</b>	<b>716,2</b>	<b>734,9</b>	<b>755,0</b>	<b>772,1</b>	<b>781,9</b>

En 2013, 69 millions de tonnes de lait et produits laitiers ont été échangés sur le marché mondial, soit à peine 9% de la production du globe. Les principaux fournisseurs mondiaux en produits laitiers sont l'Europe et la Nouvelle-Zélande. Ce dernier pays, tient une place particulière. Sa production est relativement modeste (20 millions de tonnes en 2013), mais sa consommation intérieure faible favorise les exportations (Cniel, 2013).

### I.2. Définition de lait cru

Le lait est un liquide blanc, opaque, de saveur légèrement sucrée, constituant un aliment complet et équilibré, sécrété par les glandes mammaires de la femme et par celles des mammifères femelles pour la nutrition des jeunes. (Aboutayeb, 2009).

Le lait cru est un produit hautement nutritif. Cependant sa production doit être sévèrement contrôlée en raison des risques éventuels qu'il peut présenter pour la santé humaine (Labioui et al., 2009).

Le lait cru est un lait qui n'a subi aucun traitement de conservation sauf la réfrigération à la ferme. La date limite de vente correspond au lendemain du jour de la traite. Le lait cru doit être porté à l'ébullition avant consommation (car il contient des germes pathogènes) (Fredot, 2005).

### I.3. Composition chimique du lait

Franworth et Mainville (2010) évoquent que le lait est reconnu depuis longtemps comme étant un aliment bon pour la santé. Source de calcium et de protéines, il peut être ajouté à notre régime sous plusieurs formes.

Le lait constitue une source nutritionnelle et énergétique importante. En effet, il contient des protéines de haute qualité et de matières grasses. En plus, il peut apporter une contribution significative aux besoins nutritionnels recommandés en calcium, magnésium, sélénium, riboflavine, vitamine B12 et acide pantothénique. L'eau constitue la composante majeur (98%) du lait qui se divise en plusieurs phases, à savoir ; une solution varie contenant les sucres, les protéines solubles, les minéraux et les vitamines hydrosolubles ; une solution colloïdal contenant les protéines, en particulier les caséines et une émulsion de matières grasse dans l'eau,

le tableau 02 résume les différents constituants du lait qui rentre dans la composition de ces phases (Alais et al., 2008).

**Tableau 02 : Composition chimique du lait de vache (Alais et al., 2008).**

<b>Elémentss</b>	<b>Composition (g/l)</b>	<b>Etat physique des composants</b>
<b>Eau</b>	905	Eau libre (solvant) + eau liée 3,7%
<b>Glucides : lactose</b>	49	Solution
<b>Lipides :</b>	35	Emulsion de globules gras (3 à 5µm)
-matière grasse proprement dite	34	
-lécithine (phospholipides)	0,5	
-partie insaponifiable (stérois, carotènes, tocophérols)	0,5	
<b>-protides :</b>	34	Suspension micellaire se phosphacaseinate de calcium Solution colloïdale Solution varie
-Caséines	27	
-Protéines solubles (globulines albumine)	5,5	
-Substances azotées non protéique	1,5	
<b>Sels :</b>	9	Solution ou état colloïdale
-acide citrique	2	
-acide phosphorique	2,6	

-acide chlorhydrique	1,7	
<b>Constituants divers :</b> Vitamines, Enzymes, gaz dissout)	Traces	
<b>Extrait sec total</b>	127	
<b>Extrait sec non gras</b>	92	

### I.3.1. l'eau

D'après (**Amiot et al., 2002**) l'eau est le constituant le plus important du lait, en proportion. La présence d'un dipôle et de doublets d'électrons libres lui confère un caractère polaire.

Ce dernier lui permet de former une solution vraie avec les substances polaires telles que les glucides, les minéraux et une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles du sérum.

Puisque les matières grasses possèdent un caractère non polaire (ou hydrophobe), elles ne pourront pas se dissoudre et formeront une émulsion du type huile dans l'eau. Il en est de même pour les micelles de caséines qui formeront une suspension colloïdale puisqu'elles sont solides.

### I.3.2. les glucides

Les glucides représentent 4,6% à 5,1% du poids du lait (**Vierling, 2008**). Ils représentent près de 1/3 de la valeur énergétique du lait entier, mais ceci est insuffisant pour faire de lui un aliment équilibré. Il est à noter que le lait le seul aliment riche en protéines, contient des glucides (**Fredot, 2009**).

Le lactose est le glucide, ou l'hydrate de carbone, le plus important du lait puisqu'il constitue environ 40% des solides totaux.

La proportion des autres glucides étant toujours très faible (**Amiot et al, 2002**), il représente dans le lait de vache une teneur qui varie entre 32-47g/l.

### I.3.3. Les matières grasses

Les matières grasses sont présentes dans le lait sous forme d'une émulsion de globules gras.

La teneur en matières grasses du lait est appelée taux butyreux (TB). Les matières grasses du lait représentent près de la moitié de sa valeur énergétique, par ailleurs, elles

participent aux caractéristique gustatives (souhaités ou non) et aux propriétés rhéologiques des produits laitiers (Brule et al., 2008). (Tableau 03)

Les matières grasses du lait sont la majoritairement présentes sous forme de globules gras de diamètre compris entre 0,2 et 15µm et qui sont entourée d’une membrane communément appelée « la membrane du globule gras du lait ». Cette enveloppe protectrice est un assemblage complexe de protéines, de phospholipides, de glycoprotéines, de lipides neutres, d’enzymes et d’autres composés mineurs, elle agit comme un émulsifiant naturel permettant la dispersion de la matière grasse dans le plasma du lait, de ce fait elle contribue au maintien de l’émulsion (figure01) (Jeantet et al., 2007).

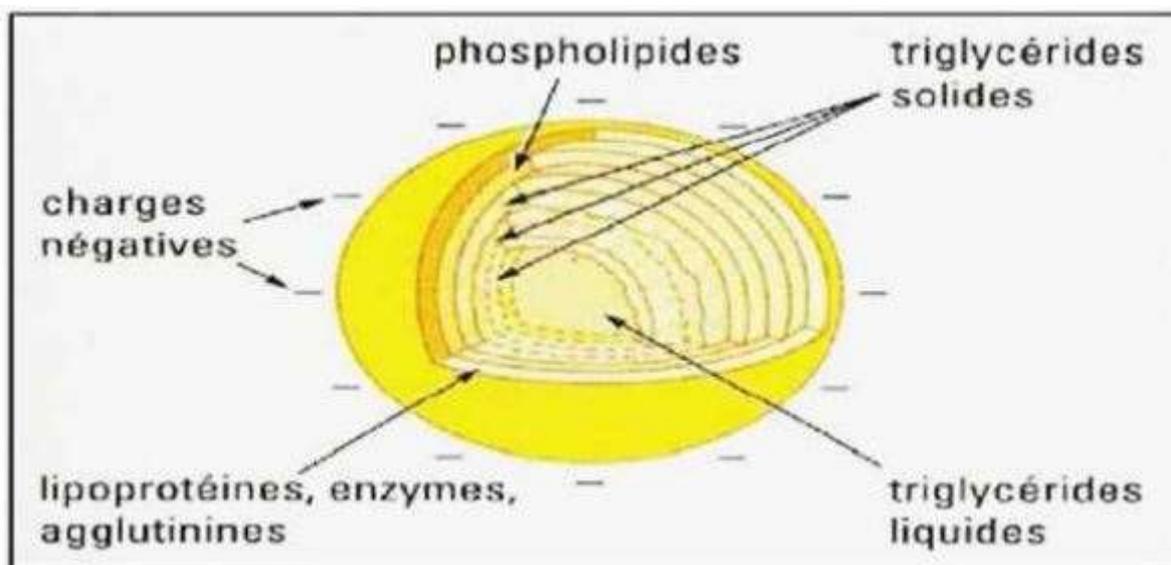


Figure 01 : Composition de la matière grasse du lait (Vignola, 2002).

Tableau 03 : Constituant lipidique du lait de vache et localisation dans la fraction Physicochimique (g/l de matière grasse) (Jeantet et al., 2007).

Constituants lipidiques	Proportions	Localisation
Triglycérides	96-98	Globule gras
Diglycérides	0,3-1,6	Globule gras
Monoglycérides	0,0-0,1	Globule gras
Phospholipides	0,2-1,0	Membrane du globule gras et lactosérum
Cérébrosides	0,0-0,08	Membrane du globule gras

Stéroïdes	0,2-0,4	Globule gras
Acides gras libres	0,1-0,4	Membrane du globule gras et lactosérum
Esters du cholestérol	traces	Membrane du globule gras
Vitamines	0,1-0,2	Globule gras

### I.3.4. Matières azotées totales

La dénomination « matières azotées totales » regroupe les protéines (Taux Protéique), ainsi que l'azote non protéique (dont l'urée).

#### I.3.4.1. Matières azotées protéiques

Les protéines du lait forment un ensemble assez complexe constitué de 80% de caséines et 20% de protéines solubles qui englobent les lactalbumines, sérum albumines, et immunoglobuline (Jeantet *et al.*, 2007).

- **Caséines**

Les caséines sont de petites protéines dont le poids moléculaire varie entre 19 et 25 kDa.

La caséine native a la composition suivante : protéine 94%, calcium 3%, phosphore 2.2%, acide citrique 0,5% et magnésium 0,1% (Adrian *et al.*, 2004). Le caséinate de calcium forme une dispersion colloïdale dans le lait.

Les micelles protéiques ont un diamètre de l'ordre de 0,1 $\mu$ m, les caséines se subdivisent en quatre groupes principaux ( $\alpha$ S1,  $\alpha$ S2,  $\beta$ , k) et qui représentent 80% des protéines soit 26g/kg (Jeantet *et al.*, 2007).

- **Protéines solubles ou protéines du lactosérum**

Les protéines de lactosérum ont une valeur nutritive majeure en nutrition humaine, car elles sont riches en acides aminés essentiels. Les protéines solubles représentent environ 20% des protéines totales du lait de vache. Elles sont constituées essentiellement de la  $\beta$  lactoglobuline bovine (50-55%) et de l' $\alpha$ -lactalbumine (20-25%). On note également la présence de la sérumalbumine, à faible valeur nutritionnelle, des immunoglobulines et de la lactoferrine qui n'en ont pas du tout (Court et Leymarios, 2010).

Il est intéressant de signaler que les protéoses peptones forment une fraction protéique soluble après chauffage du lait acidifié à pH 4,6 à 95°C pendant 20 à 30 minutes (Debry, 2001).

### I.3.4.2. Matières azotée non protéiques

Ce sont des composés à poids moléculaire faible qui appartiennent à plusieurs familles chimiques, le plus important est l'urée (30 à 80% de l'NNP) ; on trouve aussi des acides aminés libres, des peptides et des bases organiques.

### I.3.5. Minéraux

La fraction minérale est considérée mineure dans la composition du lait. En revanche, elle est importante tant d'un point de vue structural que nutritionnel et technologique. Le lait et ses dérivés constituent le principal apport de calcium et de phosphore dans la ration alimentaire.

Selon (Jeantet *et al.*, 2007), Les principaux minéraux sont calcium, magnésium, sodium et potassium pour les cations phosphate, chlorure et citrate pour les anions (tableau 04).

**Tableau 04** : Composition minérale du lait (Jeantet *et al.*, 2007) .

Eléments minéraux	Concentration (mg.kg <sup>1</sup> )
Calcium	1043-1283
Magnésium	97-146
Phosphate inorganique	1805-2185
Citrate	1323-2079
Sodium	391-644
Potassium	1212-1681
Chlorure	772-1207

### I.3.6. Vitamines

Les vitamines sont des substances biologiquement indispensables à la vie puisqu'elles participent comme cofacteurs dans les réactions enzymatiques et dans les échanges à l'échelle des membranes cellulaires. L'organisme humain n'est pas capable de les synthétiser (tableau 03). Deux types de vitamines sont présents dans le lait, en l'occurrence, les vitamines hydrosolubles (vitamine du groupe B et vitamine C) ; et les vitamines liposolubles (A, D, E et K) (Jeantet *et al.*, 2008).

### I.3.7. Enzymes

Les enzymes sont définies comme des substances organiques de nature protéidique, produites par des cellules ou des organismes vivants. Agissant comme catalyseurs dans les

réactions biochimiques. Environ 60 enzymes principales ont été répertoriées dans le lait dont 20 sont des constituant natifs, une grande partie se retrouve dans la membrane des globules gras mais le lait contient de nombreuses cellules (leucocytes, bactéries) qui élaborent des enzymes :

La distinction entre élément natifs et élément extérieur n'est donc pas facile (Tableau 05) (Vignola, 2002).

**Tableau 05 : Caractéristiques des principaux enzymes du lait (Vignola, 2002).**

Groupes d'enzyme	Classe d'enzyme	Ph	Température (C°)	Substrat
Hydrolases	Lipases	8,5	37	Triglycérides
	Phosphatases alcaline	9-10	37	Esters phosphoriques
	Phosphatases acide	4,0-5,2	37	Esters phosphoriques
	Protéases			
	Lysozyme	7,5	37	Parois cellulaires microbiennes
	Plasmines	8	37	Caséines
Déshydrogénases ou oxydases	Sulphydrile oxydase	7	37	Protéines, peptides
	Xanthine oxydase	8,3	37	Bases puriques
Oxygénases	Lactoperoxydase	6.8	20	Composés réducteurs+H2O2
	catalase	7	20	H2O2

**I.4. Qualité organoleptique du lait**

L'aspect, l'odeur, la saveur, la texture sont les paramètres organoleptiques qui caractérisent la qualité du lait, et se trouvent en relation intime avec les propriétés et la perception de la qualité par le consommateur (Rheotest, 2010).

**I.4.1. Couleur**

Le lait est de couleur blanc mat, qui est due en grande partie à la matière grasse, aux pigments de carotène (la vache transforme le  $\beta$ -carotène en vitamine A qui passe directement dans le lait) (**Fredot, 2005**).

Dans le lait les lipides se trouvent sous forme de globules de matière grasse et les protéines sous forme de micelles de caséines. Ces agrégats diffractent la lumière et dispersent les rayons lumineux sans les absorber (**Reumont, 2009**).

**I.4.2. Odeur**

L'odeur est caractéristique le lait du fait de la matière grasse qu'il contient fixe des odeurs animales. Elles sont liées à l'ambiance de la traite, à l'alimentation (les fourrages à base d'ensilage favorisent la flore butyrique, le lait prend alors une flore odeur), à la conservation (l'acidification du lait à l'aide de l'acide lactique lui donne une odeur aigrelette) (**Vierling, 2003**).

**I.4.3. Saveur**

La saveur du lait normal frais est agréable. Celle du lait acidifié est fraîche et un peu piquante.

Les laits chauffés (pasteurisés, bouillis ou stérilisés) ont un goût légèrement différent de celui du lait cru.

Les laits de rétention et de mammites ont une saveur salée plus ou moins accentuée. Peut transmettre au lait des saveurs anormales en particulier un goût amer. La saveur amère peut aussi apparaître dans le lait par suite de la pullulation de certains germes d'origine extra-mammaire (**Thieulin et Vuillaume, 1967**).

**I.4.4. Viscosité**

La viscosité du lait est une propriété complexe qui est particulièrement affectée par les particules colloïdes émulsifiées et dissoutes. La teneur en graisse et en caséine possède l'influence la plus importante sur la viscosité du lait.

La viscosité est une caractéristique importante de la qualité du lait, étant donné qu'une relation intime existe entre les propriétés rhéologiques et la perception de la qualité par le consommateur (**Rheotest, 2010**).

**I.5. Elaboration du lait**

La mamelle ou pis est constituée par un nombre de glande ou quartiers variable avec les espèces. Il y en a quatre chez la vache, deux seulement chez la chèvre et la brebis. Les quartiers paraissent indépendants les uns des autres (**Barone, 1978**).

Chaque glande est constituée par un tissu comprenant essentiellement de nombreux alvéoles ou acini groupés en grappes et tapissés intérieurement par les cellules qui secrètent le lait. Ces acini sont reliés à des fins canaux excréteurs par les quels le lait s'écoule vers des canaux collecteurs pourront contenir 300 à 400 ml de lait, située au-dessus d'une tétine ou trayon. Cette citerne, ou sinus galactophore, se prolonge par la citerne du trayon qui s'ouvre vers l'extérieur par un canal dont l'orifice peut être clos par un sphincter puissant (**Chevremont, 1979**).

**I.6. Microbiologie du lait cru**

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 microorganismes contaminants. Les microorganismes, principalement, présents dans le lait sont les bactéries mais, on peut aussi trouver des levures et des moisissures, voire des virus. De très nombreuses espèces bactériennes sont susceptibles de se développer dans le lait qui constitue, pour elles, un excellent substrat nutritif. Au cours de leur multiplication dans le lait, elles libèrent des gaz (oxygène, hydrogène, gaz carbonique, etc.), des substances aromatiques, de l'acide lactique (responsable de l'acidification en technologie fromagère), diverses substances protéiques. (**Institut des techniques des élevages, 2009**).

L'importance et la nature des bactéries contaminants le lait, dépendent, de l'état sanitaire de l'animal, de la nature des fourrages, mais aussi des conditions hygiéniques observées lors de la traite, de la collecte, de la manutention et de la température de conservation du lait (**Robinson, 2002**).

Un lait est considéré comme peu contaminé s'il renferme quelques centaines à quelques milliers de germes par millilitre, un lait fortement pollué peut en contenir plusieurs centaines de milliers à plusieurs millions par ml dans cette microflore contaminant, les bactéries conditionnent le plus directement la qualité hygiénique ainsi que l'aptitude à la conservation et à la transformation de la matière première (**Institut des technique des élevages, 2009**).

### I.6.1. Flore originelle

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de  $10^3$  germes/ml) (Cuq, 2007).

La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, les genres dominants sont essentiellement des mésophiles (Vignola, 2002). Il s'agit de microcoques, mais aussi streptocoques lactiques et lactobacilles (tableau 06).

Ces microorganismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation (Guiraud, 2003) et n'ont aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production (Varnam et Sutherland, 2001).

**Tableau 06 :** Flore originelle du lait cru de vache (Vignola, 2002)

Microorganismes	Pourcentage (%)
<i>Micrococcus sp.</i>	30-90
<i>Lactobacillus sp</i>	10-30
<i>Streptococcus sp</i> ou <i>Lactococcus sp</i>	<10
<i>Gram negative</i>	<10

### I.6.2. La flore de contamination

Cette flore est l'ensemble des microorganismes contaminant le lait, de la récolte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène dangereuse du point de vue sanitaire (Vignola, 2002).

#### 1.6.2.1. La flore d'altération

La flore d'altération causera des défauts sensoriels de goût, d'arôme, d'apparence ou de texture et réduira la vie du produit laitier. Parfois, certains microorganismes nuisibles peuvent aussi être pathogènes.

Les principaux genres identifiés comme flore d'altération ; les coliformes, et certains levures et moisissures (Essalhi, 2002).

##### ➤ Les coliformes

En microbiologie alimentaire, on appelle <coliformes> les entérobactéries fermentant le lactose avec production de gaz à 30°C. Cependant, lorsqu'ils sont en nombre très élevé, les

coliformes peuvent provoquer Des intoxications alimentaires. Le dénombrement des coliformes a longtemps été considéré comme un indice de contamination fécale. Comme les entérobactéries totales, ils constituent un bon indicateur de qualité hygiénique. (**Guiraud, 2003**).

➤ **Les levures**

Bien que souvent présentes dans le lait, elles s'y manifestent rarement. Peu d'entre elles sont capables de fermenter le lactose. Le genre *Torulopsis*, productrices de gaz à partir du lactose, supportent des pressions osmotiques élevées et sont capable de faire gonfler des boîtes de lait concentré sucré (**FAO, 2007**).

Les levures associées au lait sont les espèces suivantes : *Kluyveromyces lactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, , *Candia kefir*, (**Bourgeois et al.,1988**)

➤ **Les moisissures**

Les moisissures sont des champignons microscopiques. Ce sont des eucaryotes hétérotrophes, ils sont obligés de prélever le carbone et l'azote nutritifs de la matière grasse, le sucre et les protéines.

D'une façon générale, les aliments sont des substrats très favorables à leur développement, ces germes peuvent y causer des dégradations par défaut d'apparence, mauvais goût, ou plus gravement production de mycotoxines (**Cahagnier, 1998**).

### **1.6.2.2. La flore pathogène**

La contamination du lait et des produits laitiers par les germes pathogènes peut être d'origine endogène, et elle fait, alors, suite à une excrétion mammaire de l'animal malade ; elle peut aussi être d'origine exogène, il s'agit alors d'un contact direct avec des troupeaux infectés ou d'un apport de l'environnement (eaux) ou bien liées à l'Homme (**Brisabois et al., 1997**). Parmi ces germes :

➤ **Bactéries infectieuses**

Ces bactéries doivent être vivantes dans l'aliment lors de sa consommation pour agir. Une fois ingérées, elles dérèglent le système digestif. Apparaissent alors divers symptômes connus, tels que la diarrhée, les vomissements, les maux de tête...etc.

Les principaux micro-organismes infectieux :

➤ **Salmonelles**

Ces entérobactéries lactose-, sont essentiellement présentes dans l'intestin de l'Homme et des animaux. Ce sont des bactéries aéro-anaérobies facultatives, leur survie et leur multiplication est possible dans un milieu privé d'oxygène. Elles se développent dans une gamme de température variant entre 4°C et 47°C, avec un optimum situé entre 35 et 40°C.

Elles survivent aux basses températures et résistent à la réfrigération et à la congélation. En revanche, elles sont détruites par la pasteurisation (72°C pendant 15 secs). Elles sont capables de se multiplier dans une gamme de pH de 5 à 9, mais sont sensibles à la fermentation lactique (Jay, 2000 et Guy, 2006).

➤ **Listeria**

Les bactéries du genre *Listeria* se présentent sous la forme de petits bacilles de forme régulière arrondis aux extrémités et ne formant ni capsule ni spore. Elles sont à Gram positif (Seelinger et Jones, 1986).

Leur croissance est possible entre 0 °C et 45 °C (température optimale : 30°C- 37°C), pour des pH compris entre 4,5 et 9,6. Elles sont mobiles grâce à des flagelles péritriches (Lovett, 1989).

*Listeria monocytogenes* peut être considérée comme un agent pathogène alimentaire « parfait » car elle est ubiquiste, très résistante aux conditions extrêmes (température, pH...) et surtout elle est capable de se développer aux températures de réfrigération des aliments. (Kornacki et Marth, 1982).

➤ **Bactéries toxigènes**

Qui produisent une toxine dans l'aliment qui est responsable de l'intoxication du consommateur. Il n'est donc pas suffisant de détruire la bactérie pour éviter l'incidence de la maladie. De plus, certaines toxines sont très résistantes aux traitements thermiques, telle que la pasteurisation et même la stérilisation (Lamontagne et al., 2002).

Les principaux micro-organismes toxigènes :

✓ **Staphylocoques**

Le genre *Staphylococcus* appartient à la famille des *Staphylococaccae*. Ce sont des coques à Gram positif de 0,5 à 2,5 µm de diamètre, non sporulés et immobiles. (Leyral et Vierling, 2007).

Ils se trouvent assez fréquemment dans le lait et parfois, en nombre important. L'origine de la contamination est l'infection mammaire et peut être plus fréquemment, l'Homme. Leur fréquence tend à augmenter du fait de leur antibiorésistance, ils provoquent par leur production de toxines thermostables, des intoxications de gravité variable pouvant être redoutable chez l'enfant (FAO, 2007).

Pour cela, les normes exigent leur absence dans les produits alimentaires (J.O.R.A, 1998).

✓ **Les clostridiiums sulfito-réducteurs**

Ce sont des bâtonnets sporulés, mobiles, Gram+ anaérobies stricts, présentent généralement dans le sol et l'eau, mais aussi dans le tube digestif Humain et animal, le pouvoir pathogène est dû à la synthèse des toxines (**Lamontagne et *al.*, 2002**).

## Chapitre II : Antibiotiques, définition, classification, modes d'actions et éliminations

---

### Chapitre II : Généralités sur les antibiotiques.

Garantir au consommateur un lait et des produits laitiers de bonne qualité est un enjeu majeur pour le secteur laitier. Cette qualité est affectée par plusieurs contaminants; parmi eux les antibiotiques. Ces derniers sont généralement utilisés en élevage à des buts: thérapeutiques, prophylactiques, métaphylactiques et comme additifs alimentaires ou promoteurs de croissance (**Dibner et Richards, 2005 ; Guardabassi et al. 2008 ; Bowater et al., 2009 ; Nickell et White, 2010**). En effet, leur usage pourrait amener à une présence anormale de résidus dans le lait.

#### II.1.Définition

Les antibiotiques (ATB) se définissent comme des molécules antibactériennes synthétiques ou naturelles (d'origine biologique) capables d'inhiber la croissance des bactéries ou les détruire (**Le Chat, 2007**) Ils ont une toxicité sélective ; ils sont toxiques pour les bactéries mais pas pour l'organisme cible (**Merad et Merad, 2001**).

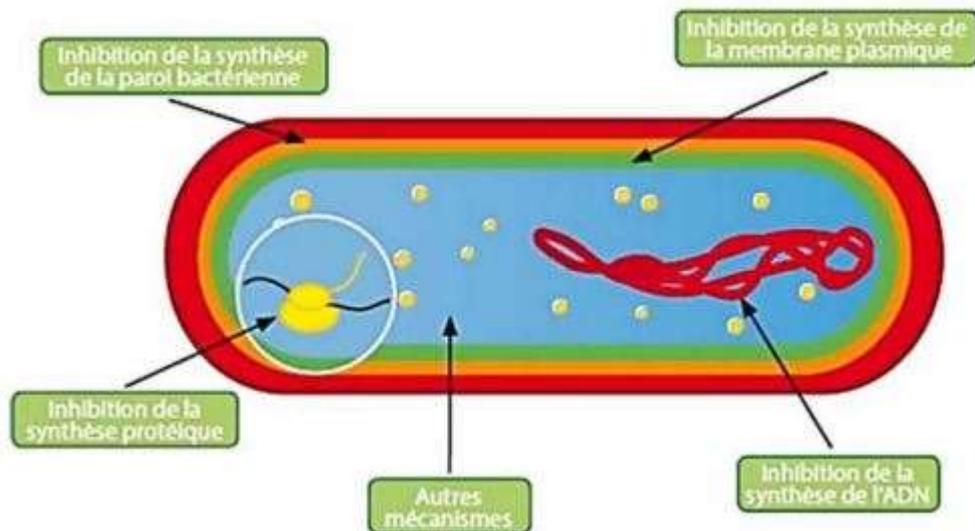
Les sources principales des antibiotiques sont les champignons, mais aussi les Bactéries. Il existe également des antibiotiques entièrement synthétiques (**Ziadi, 2010 ; Guillemot et al, 2006 ; Merad et Merad, 2001; Yala et al., 2001**).

D'après les mêmes auteurs, les antibiotiques sont définis aussi par leur spectre d'activité, leur toxicité sélective, leur mode d'action, et leurs propriétés pharmacocinétiques.

#### II.2.Mode d'action des antibiotiques

A la différence des antiseptiques et des désinfectants, les antibiotiques agissent en général de façon très spécifique sur certaines structures de la cellule bactérienne, cette grande spécificité d'action explique pourquoi les antibiotiques sont actifs à très faible concentration.

Cette action s'exerce selon les molécules sur des sites variés (Figure 02), (**Mevius et al., 1999; Oxoby, 2002**).



**Figure 02** : Mode d'action des antibiotiques sur une bactérie (Afssa, 2006).

### II.2.1. La paroi bactérienne

Bacitracine, Pénicilline et Céphalosporines agissent sur les germes en croissance inhibent la dernière étape de la biosynthèse du peptidoglycane (muréine composant essentiel de la paroi bactérienne, qui confère à la bactérie sa forme et sa rigidité,

Ce qui lui permet de résister à la forte pression osmotique intra cytoplasmique) au cours de la multiplication cellulaire. La nouvelle bactérie n'est plus protégée entraînant ainsi une lyse bactérienne (Zeba, 2005).

### II.2.2. La membrane cellulaire

En désorganisant sa structure et son fonctionnement, ce qui produit des graves troubles d'échanges électrolytiques avec le milieu extérieur L'ADN: Certaines familles d'antibiotiques empêchent la réplication d'ADN en bloquant la progression de l'ADN polymérase. L'actinomycine bloque la progression de l'ARN polymérase. Les sulfamides provoquent une inhibition de la synthèse des bases nucléiques et la cellule meurt par carence en bases nucléiques, les quinolones et fluoroquinolones inhibent l'ADN gyrase.

### II.2.3. Le ribosome bactérien

## Chapitre II : Antibiotiques, définition, classification, modes d'actions et éliminations

---

Sur les ribosomes ce qui entraîne l'arrêt de la biosynthèse des protéines ou la formation de protéines anormales. Les aminoglycosides ou aminosides (streptomycine, gentamycine, amikacine), empêchent la traduction de l'ARNm en se fixant sur la petite sous-unité des ribosomes (**Hermann, 2005**).

Les phénicolés (chloramphénicol, thiamphénicol) bloquent la formation de la liaison peptidique sur la grosse sous-unité du ribosome bactérien. Les cyclines (tétracycline, doxycycline) bloquent l'élongation de la chaîne peptidique en se fixant sur la petite sous-unité les macrolides et les kétolides (érythromycine, azithromycine) bloquent l'élongation de la chaîne peptidique (**Nilius et Ma, 2002**).

La puromycine copie l'extrémité d'un ARN t, prend sa place dans le ribosome et bloque l'élongation de la chaîne peptidique.

### II.2.4. Autres

En agissant tant qu'anti métabolites bactériens (c'est à dire au niveau des étapes du métabolisme intermédiaire des bactéries).

### II.3. Classification des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères: l'origine (naturelle, semi synthétique et synthétique), le mécanisme d'action, le spectre d'action, et la composition chimique. Les principales cibles des antibiotiques sont d'après (**Gras et Choutet, 2010**):

- La paroi bactérienne (bêta-lactamines, glycopeptides);
- La synthèse de l'ADN (quinolones, nitro-imidazolés);
- La synthèse protéique (macrolides, aminosides, cyclines);
- L'inhibition compétitive (sulfaméthoxazole et triméthoprime). Les principales familles d'antibiotiques sont: les sulfamides, les tétracyclines, les quinolones, les macrolides et les bêta-lactamines.

### II.4. Pharmacodynamie des antibiotiques

La pharmacodynamie étudie les effets propres d'un médicament sur l'organisme ou sur un organe donné (**Fontaine, 1987**). Dans cette partie nous allons voir le mode d'action des bêta-lactamines et des tétracyclines les deux antibiotiques recherchés dans notre partie expérimentale.

## Chapitre II : Antibiotiques, définition, classification, modes d'actions et éliminations

---

### II.4.1. Mode d'action des bêta-lactamines

Les bêta-lactamines possèdent un noyau bêta-lactame qui leur confère une activité bactéricide (**Anonyme, 2016**).

Les bêta-lactamines sont des antibiotiques actifs sur la paroi bactérienne agissant essentiellement comme inhibiteurs de la synthèse de peptidoglycane.

Ils opèrent sur les dernières étapes de la synthèse du peptidoglycane (**Allain, 2006 ; yala et al., 2001 ; Ziadi, 2010**).

Les bêta-lactamines exercent leur effet antibiotique sur les germes possédant une paroi riche en peptidoglycane et sont sans effet sur les organismes dépourvus de paroi (mycoplasmes). Les bêta-lactamines, de par leur structure chimique, inhibent les transpeptidases extra-cytoplasmiques à condition d'entrer en contact avec elles. Dans les bactéries Gram positif, les différentes bêta-lactamines atteignent les transpeptidases à travers la paroi de peptidoglycane déjà constituée ou en cours de constitution. Par contre, dans les bactéries Gram négatif, elles n'atteignent ces enzymes qu'après pénétration à travers les canaux porines de la membrane externe (**Allain, 2006 ; Hennel, 2006**).

### II.4.2. Mode d'action des tétracyclines

Comme leur nom l'indique, les tétracyclines (TC) possèdent une structure chimique commune composée de quatre cycles hexacarbonés fusionnés en ligne, elles ont été découvertes pour la première fois en 1945 par Duggar. B (**Chopra et Roberts 2001 cité par Ziadi, 2010**), et depuis elles sont utilisées dans le contrôle des infections bactériennes chez les animaux et chez les humains (**Samanidou 2005 cité par Ziadi, 2010**).

Les tétracyclines sont utilisées de façon importante depuis les années 50, les mécanismes responsables de leur action inhibitrice ne sont pas entièrement connus. Cependant, il semble établi qu'une fois dans le cytoplasme, elles inhibent la synthèse protéique en se fixant sur la structure cible, un site localisé sur la sous-unité 30S des ribosomes pour lequel elles présentent une grande affinité.

Elles perturbent ainsi l'interaction codon-anticodon entre l'ARNt et l'ARNm ce qui bloque la phase d'élongation. Les tétracyclines agissent donc au stade de la traduction protéique. (**Allain, 2006 ; Hennel, 2006 ; Yala et al., 2001 ; Helali, 1999 ; Ziadi 2010**).

## Chapitre II : Antibiotiques, définition, classification, modes d'actions et éliminations

---

Les tétracyclines sont des antibiotiques à large spectre, couvrant des bactéries à Gram positive et d'autres à Gram-négative, tels que les atypiques Chlamydiae, les mycoplasmes, les rickettsies, les parasites et les protozoaires. On distingue des cyclines naturelles tels les Chlortétracyclines et les Tétracyclines, et Les cyclines semi-synthétiques comme : Oxytétracycline, Doxycycline et Minocycline.

### II.5. Pharmacocinétique des antibiotiques

La pharmacocinétique est l'étude du devenir du médicament dans l'organisme. Les quatre phases de la pharmacocinétique sont généralement regroupées sous le sigle ADME :

- Absorption (pénétration) du produit dans l'organisme,
- Distribution du produit dans les tissus de l'organisme,
- Métabolisme (transformation) du produit en de nouvelles entités chimiques grâce aux enzymes de l'organisme, et
- Excrétion (élimination) du produit de l'organisme dans les urines, les fèces et le lait sous la forme de la molécule parent ou sous la forme de métabolites.

Les antibiotiques possèdent des structures très différentes les unes des autres, ont chacun un comportement pharmacocinétique spécifique qui est conditionné par leurs propriétés physiques et chimiques et principalement par leur solubilité (liposolubilité, hydrosolubilité), leur ionisation (acides, basiques, neutres), ainsi que leur stabilité (hydrolyse, oxydation) (**Puyt, 2002**).

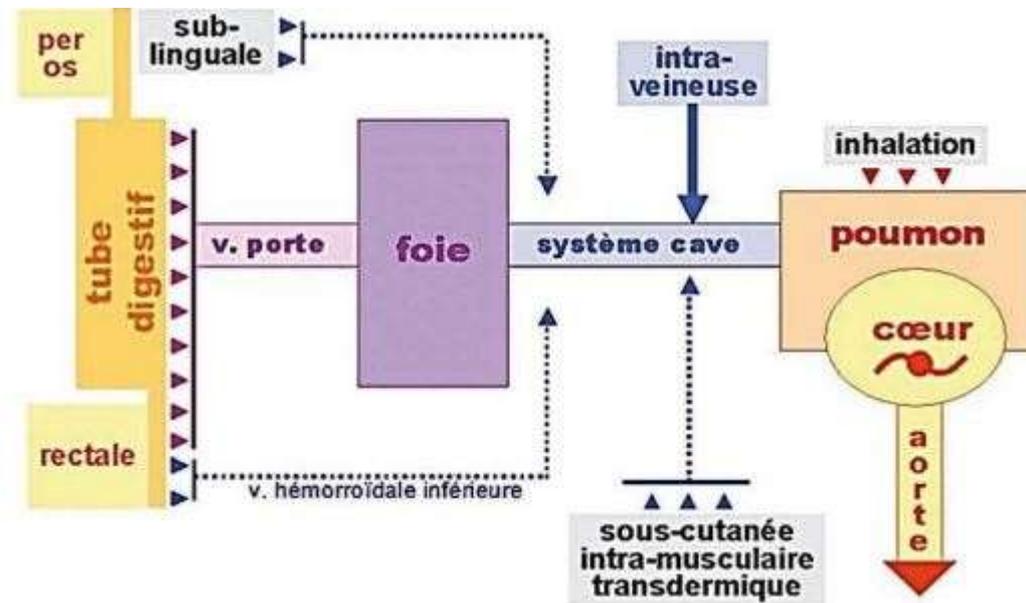
#### II.5. 1. Absorption

L'absorption d'une molécule, c'est-à-dire son passage du site d'administration à la circulation sanguine est fonction à la fois des propriétés de la molécule et des modalités d'administration notamment de la voie (orale et parentérale) et de la formulation du médicament (**Jackuemin, 2006**) ( figure 03)..

Certaines classes d'antibiotiques ont une bonne absorption digestive (macrolides, tétracyclines, sulfamides), pour d'autres classes, l'absorption est nul (aminoside, polypeptides), et la voie injectable est nécessaire pour obtenir un effet systémique.

## Chapitre II : Antibiotiques, définition, classification, modes d'actions et éliminations

Enfin, dans certaines classes d'antibiotiques (bêta-lactamines) certaines molécules sont bien absorbées, ce qui permet l'administration orale alors que d'autres devront être injectées (Anonyme A, 2006).



**Figure 03:** Schéma représentatif de différentes voies d'administration des antibiotiques (Chaatellet.2007).

### II.5.2. Distribution

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

Dans le sang, le médicament existe sous 2 formes : une forme libre et une forme liée; cette liaison, aux conséquences biologiques importantes, se fait essentiellement par fixation sur les protéines plasmatiques, beaucoup plus accessoirement sur les éléments figurés du sang (Fontaine, 1993) La diffusion tissulaire est variable selon les antibiotiques (Labayle, 2001).

Certains antibiotiques ont une bonne diffusion tissulaire : quinolones, bêta-lactamines, macrolides. Les tétracyclines, le chloramphénicol peuvent par ailleurs diffuser à l'intérieur des cellules.

### II.5.3. Métabolisme (Biotransformation)

Au sein des tissus, a lieu des biotransformations qui sont un ensemble de réactions chimiques, en générale catalysées par des enzymes, ayant pour effet de modifier la structure des principes actifs, on observe par exemple des oxydations, des hydroxylations, des réductions ou des hydrolyses (**Stoltz, 2008**), qui aboutissent à des métabolites plus polaires et plus hydrosolubles susceptible d'être éliminés plus rapidement que la molécule initiale (**Bourrin et Jollieti, 1999**).

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

### II.5.4. Voies d'élimination des antibiotiques

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

- Rénale, dans l'urine,
- Biliaire, dans les matières fécales,
- Elimination, dans les œufs,
- Elimination lactée, dans le lait. Les voies d'élimination d'un principe actif antibiotique dépendent de ses caractéristiques pharmacocinétiques (**JaussaudU, 2002**).

L'élimination lactée est particulièrement importante à considérer en médecine vétérinaire, sur le plan de l'hygiène alimentaire (résidus médicamenteux dans le lait et les produits laitiers).

**Chapitre III : Les résidus d'antibiotiques vétérinaires****III. 1 Définition des résidus médicamenteux**

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

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

**III.2. Nature des résidus médicamenteux****III.2.1. Résidus non extractibles**

De façon plus claire, les résidus non extractibles sont des résidus dérivés de la liaison covalente du médicament souche ou d'un métabolite de celui-ci avec un produit biologique cellulaire soluble ou une macromolécule insoluble. Ces résidus ne sont pas extractibles de la macromolécule par des techniques de dénaturation, de solubilisation ou d'extraction exhaustive (Arnaud, 2013).

**III.2.2. Résidus extractibles**

Les résidus extractibles ou « libres » représentent la fraction pouvant être extraite des tissus ou des liquides biologiques par divers solvants, avant et après dénaturation des macromolécules. Les composés concernés sont le principe actif initial et ses métabolites, en solution dans les liquides biologiques ou liés par des liaisons non covalentes, donc labiles, à des biomolécules (Stoltz, 2008).

**III.3. Évaluation de la toxicité des résidus**

(Boultif, 2014), deux méthodes d'évaluation de la toxicité des résidus peuvent être employées :

- l'étude toxicologique des différents métabolites d'un médicament (dont le médicament lui même), en se basant principalement sur la notion de la Dose Sans Effet.
- et l'étude de la « toxicité de relais ».

**III.3.1. Méthode d'évaluation de la dose sans effet d'un principe actif**

La dose sans effet (DES) d'un principe actif est la dose expérimentale maximale, qui administrée régulièrement pendant un temps suffisamment long n'entraîne aucune manifestation toxique chez l'espèce la plus sensible, selon des critères cliniques, biochimiques et anatomopathologiques (Stoltz, 2008).

**III.3.2. Dose sans effet et « toxicité de relais »**

Cette méthodologie considère l'animal de rente traité comme un relais au cours duquel le principe actif antibiotique initial peut subir de multiples transformations. Un deuxième animal est utilisé pour jouer le rôle de consommateur : il ingère les denrées provenant de l'animal relais. Partant de cette DES on peut calculer la dose journalière acceptable (DJA) (Boultif, 2009).

**III.3.2. La dose journalière acceptable**

Selon Arnaud, (2013), une fois la DES calculée, elle est utilisée pour la détermination de la dose journalière admissible par extrapolation des données toxicologiques obtenues chez les animaux à l'homme.

Stoltz (2008), cette dose journalière acceptable, exprimée en mg/kg par jour, représente la quantité totale de substance que l'homme peut ingérer chaque jour pendant toute sa vie sans qu'il en résulte de problèmes pour sa santé.

**III.4. Les problèmes liés à la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait**

D'après Mekademi (2008), la présence de ces derniers dans les aliments peut entraîner plusieurs risques et problèmes sont d'ordre sanitaire et technologique.

**III.4.1. Les problèmes sanitaires engendrés.****III.4.1.1. Problème d'allergie**

Selon Arnaud (2013), Les résidus d'antibiotiques utilisés en thérapeutique animale sont parfois incriminés en allergologie humaine. Les antibiotiques les plus souvent incriminés sont les pénicillines, suivis des sulfamides et, dans une moindre mesure les tétracyclines ou la spiramycine (Gedilaghine, 2005).

**III.4.1.2. Problèmes toxiques****III.4.1.2.a. Toxicité directe**

La toxicité directe des résidus d'antibiotiques est assez difficile à mettre en évidence car il s'agit en générale de toxicité chronique. Cette dernière ne s'exprime qu'après consommation répétée de denrées alimentaires contenant des résidus du même antibiotique.

Certains scientifiques évoquent alors une possible toxicité hépatique (**JEON et al., 2008**).

#### **III.4.1.2.b. Risque cancérigène**

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

#### **III.4.1.2.c. Risques bactériologiques**

Le risque bactériologique lié à la consommation de denrées alimentaires contenant des résidus d'antibiotiques peut être attribué à deux phénomènes : la modification de la flore digestive pouvant entraîner des troubles et une symptomatologie indésirables, et la sélection chez l'homme de souches de germes pathogènes résistantes à ces antibiotiques (**Boultif, 2014**).

##### **III.4.1.2.c.1. Modifications de la flore digestive du consommateur**

Certains résidus d'antibiotiques ayant encore une activité contre les bactéries, sont potentiellement capables de modifier la microflore intestinale de l'homme. La présence de résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires peut ainsi entraîner un risque d'affaiblissement des barrières microbiologiques et de colonisation de l'intestin par des bactéries pathogènes ou opportunistes (**Stoltz, 2008**).

##### **III.4.1.2.c.2. Risques d'antibiorésistance**

D'après **Ziadi (2010)**, l'antibiorésistance correspond à la capacité d'une bactérie à résister aux effets des antibiotiques.

L'utilisation des antibiotiques en thérapeutique humaine ou vétérinaire s'accompagne par l'apparition de résistances à rapporte **Chataighner (2004)**, 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.

#### **III.4.2. Les problèmes technologiques**

---

**Boultif (2014)**, évoque que Les résidus représentent un réel problème pour les transformateurs laitiers par leurs conséquences néfastes sur les fermentations lactiques et constituent le problème majeur des accidents de fabrication en industrie laitière. ces mêmes antibiotiques se trouvent chez les bactéries (**Chauvin et al., 2002**).

### **III.5. La réglementation autour des résidus d'antibiotiques**

#### **III.5.1. La limite maximale des résidus**

##### **III.5.1.1. Définition**

C'est la concentration maximale en résidus, résultant de l'utilisation d'un médicament vétérinaire considéré, comme sans risque sanitaire pour le consommateur, et qui ne doit pas être dépassée dans ou sur les denrées alimentaires (**Abidi, 2004**). Elles sont calculées en prenant compte de la santé du consommateur ; le risque toxicologique, le risque microbiologique sur la flore digestive humaine et surtout le risque économique d'inhibition de la transformation du lait (**Fabre et al., 2006**).

##### **III.5.1.2. Réglementation de « La législation Algérienne »**

La législation algérienne dans sa définition du lait, dans l'article 6 de l'arrêté interministériel (le ministère de l'économie, le ministère de l'agriculture et le ministère de la santé et de la population) du 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation, mentionne le fait qu'un lait propre à la consommation humaine ne doit pas contenir des résidus d'antibiotiques mais ne précise pas explicitement des limites maximales de résidus. (**Boultif, 2014**).

#### **III.5.2. Le délai d'attente**

##### **III.5.2.1. Définition du respect de délai d'attente**

Il s'agit du délai entre la dernière administration d'un médicament et le prélèvement de tissus ou produits comestibles sur un animal traité, garantissant que la teneur des résidus de médicament dans les aliments est conforme à la limite maximale de résidu pour ce médicament vétérinaire (**Arnaud, 2013**).

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

##### **III.5.2.2. Evaluation du délai d'attente**

L'évaluation du délai d'attente repose sur la LMR et sur les études métaboliques et pharmacocinétiques du médicament en question, qui fournissent des informations sur la décroissance, en fonction du temps, des teneurs résiduelles dans les différents tissus et produits destinés à la consommation humaine. Le délai d'attente varie en fonction de la formulation du médicament, sa voie d'administration, la dose utilisée, l'espèce animale cible et la nature de la denrée (**Abdennebi, 2006**).

### **III.6. La détection des résidus d'antibiotiques dans le lait**

#### **III.6.1. L'identification des animaux traités**

Cela repose sur la bonne tenue du registre d'élevage, le marquage des animaux traités et des animaux taris (**Boultif, 2014**).

#### **III.6.2. Le respect des mesures hygiéniques au cours de la traite**

Cela passe par un ensemble de points à respecter tels l'établissement d'un ordre de traite en trayant en dernier les animaux traités, en utilisant un matériel adéquat réservé à ces animaux (**Gedilaghine, 2005**).

#### **III.6.3. Le respect du délai d'attente**

Le respect du temps d'attente garantit, pour le consommateur, que la quasi-totalité des denrées alimentaires issues des animaux traités auront des concentrations en résidus proches ou inférieures à la LMR (**Laurentie et al., 2002**).

#### **III.6.4. Le respect de la réglementation et des exigences de l'AMM**

En respectant la voie d'administration, dose, délai d'attente, lors des traitements hors AMM par changement de la durée de traitement ou de la dose, le délai d'attente doit impérativement être modifié en prenant une marge supplémentaire de sécurité (**Boultif, 2014**).

### **III.7. Mesures destinées à éliminer les résidus d'antibiotiques dans le lait**

Certes, des alternatives existent ; Différentes méthodes permettent d'assainir le lait et éliminer les résidus d'antibiotiques, le traitement enzymatique, le traitement thermique et l'utilisation de bactéries sélectionnées pour leur antibiorésistances (**FORM, 2003**).

La détection des résidus d'antibiotiques est d'une importance majeure sur le plan médical, les résidus d'antibiotiques présentent des risques pour la santé à savoir les allergies, la toxicité, la résistance bactérienne. Leur détection sera d'un grand apport pour l'homme, une clé de sa sécurité sanitaire. Pour assurer une bonne qualité des denrées alimentaires d'origine animales, plusieurs méthodes de détection des résidus sont mises en oeuvre, des méthodes de dépistages et des méthodes de confirmations (**Rezgui, 2009**).

*Partie*  
*Expérimentale*

### I. Présentation du lieu de stage

#### I.1.L'objectif de travail

L'objectif de travail est la réalisation en premier lieu d'un aperçu sur la situation de contrôle des résidus d'antibiotique dans le lait cru dans deux région M'sila et Setif. Puis évaluer les risques de ces résidus à partir de quantités détectées.

#### I.2.Réalisation des tests de résidus d'antibiotique dans le lait

Nos tests ont été réalisées au niveau de la laiterie (HODNA LAIT) qui se situe dans la zone industriel de M'sila. Cette laiterie est choisie pour réaliser des tests de résidus d'antibiotique dans le lait cru collecté dans la région de M'sila et de Sétif.

#### I.3.Description de l'organisme d'accueil HODNA LAIT de M'sila

##### I.3.1.présentation de la société HODNA LAIT

Créée en fin de l'année 1999 par Monsieur DILMI ISMAIN , en association avec deux autres actionnaires, HODNA LAIT, est une société à responsabilité limitée (SARL) (figure 04) , à 100% Algérienne, spécialisée dans la production de produits laitiers, sise dans la zone industrielle du chef-lieu de la wilaya de M'sila. Elle s'étale sur une superficie de 06 hectares dont 06 sont construits en ateliers de production, en magasins de stockage des matières premières, d'emballage et le reste représente les chemins et passages utiles aux camions de transport, implantation des bâches de stockages d'eau brute, générateurs d'énergies et autres.

Historiquement, l'entreprise a connu un début très timide en se contenant de produire du lait pasteurisé partiellement écrémé, totalisant modestement 40 000L/jour. Contre toute attente, certains facteurs encouragement sont apparus, motivant ainsi les propriétaires à revoir les capacités de production en investissant encore d'avantage. Parmi ces facteurs, citons principalement la bonne qualité du produit, sa forte demande et surtout le fait que l'entreprise soit l'unique dans la région.

Ce dernier point reste le plus déterminant, car il faut souligner que dans le passé, le lait était fourni par des entreprises du secteur étatique ou privé des wilayas (Setif, Batna, Constantine, Bourdj Bouarréridj).

Avec un réseau de distribution des plus développés, l'entreprise se démarque par la disponibilité de ses produits sur tout le territoire national. En effet, elle n'exploite pas moins de cinq bassins en Algérie à savoir Sétif, Batna, Bourdj BouArréridj, Média, Oran, Alger et

Annaba. Ainsi que d'un réseau de distribution secondaire comprenant un grand dépôt particulier au niveau de chaque Wilaya.

Depuis, l'entreprise n'a pas cessé d'investir dans les moyens matériels et humains, ce qui lui a permis d'arriver aujourd'hui à conquérir le marché national et d'inscrire son nom dans la cour des grandes entreprises.

HODNA LAIT emploi plus de 800 personnes, majoritairement M'sila.



**Figure 04 :** Logo de la laiterie Hodna.

### **I.3.2. Les ateliers et capacités de production**

L'unité comporte 06 ateliers de production qui fonctionnent en régime continu de 03 équipes × 08 heures (figure 05).

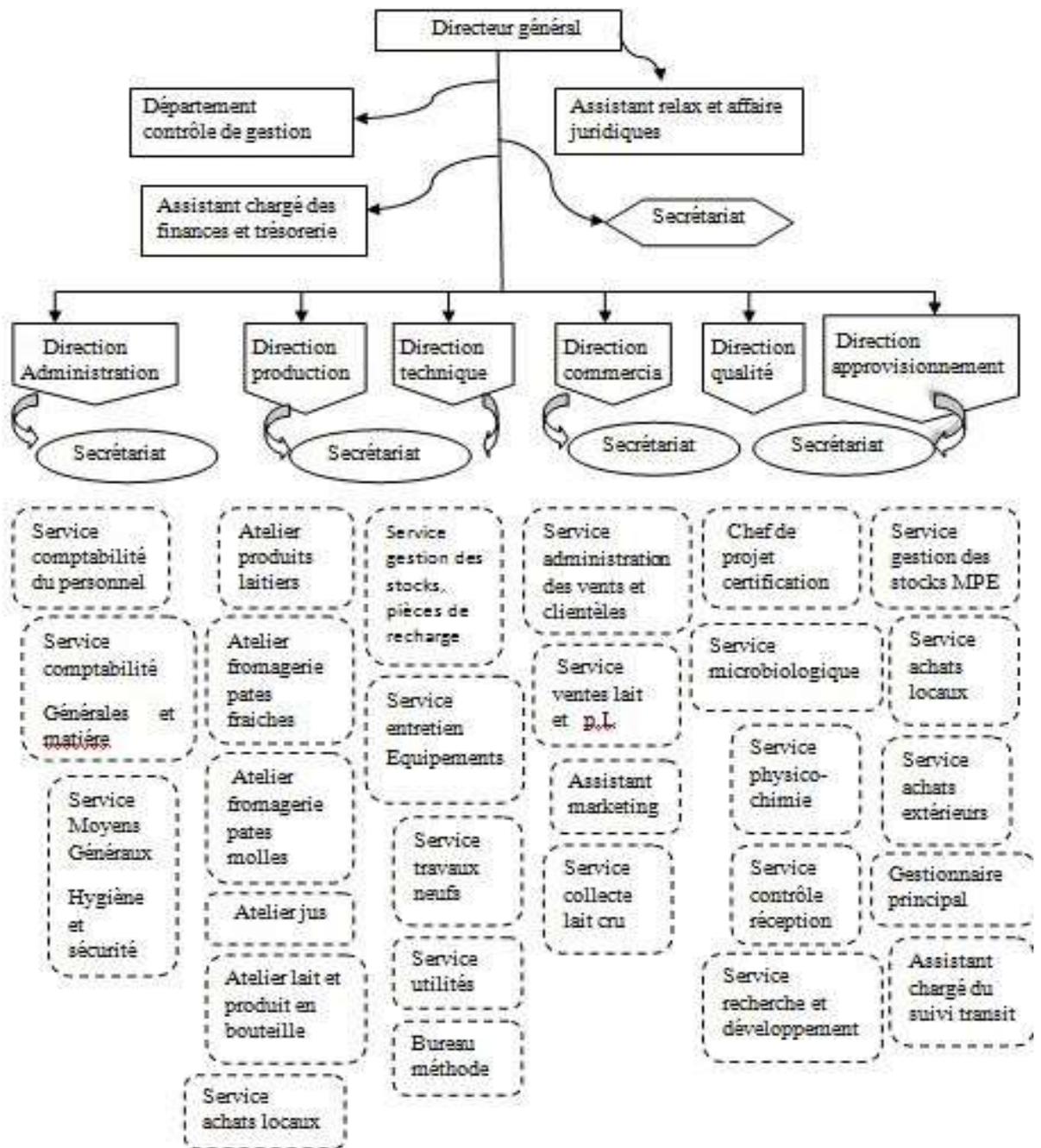


Figure05 : organigramme structurel de la laiterie HODNA LAIT.

### ➤ ATELIER 01

- Date d'entrée en production octobre 1999.
- Première extension fin année 2000.
- Deuxième extension fin 2008.
- Production de lait pasteurisé (lait reconstitué, lait de vache), l'ben et raïb en coussin plastique de 01 litre.
- Capacité 220000 litres/jour.

### ➤ ATELIER 02

- Date d'entrée en production septembre 2003
- Première extension février 2005.
- Deuxième extension juin 2007.
- Troisième extension juillet 2010.
- Production de produits lacto-fermentés(PLF) et desserts lactés.
  - 1) Conditionnement en pots thermoformés : yaourt aromatisé ferme, yaourt brassé aromatisé et fruité, crème dessert et flanc au caramel de nappage.
  - 2) Conditionnement en bouteilles : yaourt à boire aromatisé et fruité, l'ben et raïb.
- Capacité 200 000 litres/jour.

### ➤ ATELIER 03

- Date d'entrée en production février 2010.
- Production de produits lacto-fermentés, fromage frais et dessert lacté.
- Capacité 95000 litres

### ➤ ATELIER 04

- Date d'entrée en production août 2010.
- Production de Yaourt à boire aromatisé et fruité, l'ben et raïb.
- Capacité 250 000 litres/jour.

### ➤ ATELIER 05

- Date d'entrée en production avril 2012.
- Réception de lait cru.
- Production de lait UHT :
  - a) Lait UHT à base de lait de vache (Badwa).
  - b) Lait UHT 100% à base de lait de vache (lait frais HODNA). Ce dernier sera le premier lait UHT à base de lait de vache produit commercialisé en Algérie.

c) Lait entier, demi-écrémé, lait reconstitué, lait reconstitué partiellement écrémé, écrémé, vitaminé, vitaminé aromatisé (Milkos)

d) Production du beurre.

➤ ATELIER 06

• Date d'entrée en production 2013.

• Crème dessert, flan, caramel, chocolat.

### **I.3.3. Présentation des laboratoires**

L'unité HODNA LAIT (M'sila) possède trois laboratoires rattachés au département Qualité pour le contrôle de ses produits.

1. Laboratoire de microbiologie.
2. Laboratoire de physico-chimique.
3. Laboratoire de chimie des eaux.

#### **I.3.3.1. Laboratoire de microbiologie**

C'est une salle bien éclairée à l'abri du courant d'air, le sol et les murs sont lisses et très faciles à nettoyer. Il est muni d'une grande paillasse sous forme de (L) avec trois lieux pour manipulations, des étuves avec différentes températures, deux bains marie et deux grands réfrigérateurs pour stockage des milieux de cultures.

Le contrôle de produit est un travail d'équipe qui se fait 24h/24h et 7jours/7jours.

#### **I.3.3.2. Laboratoire de physico-chimique**

On trouve une grande paillasse sur laquelle se trouvent les appareils : PH-mètre, balances, 2 dessiccateurs infrarouges, viscosimètre et une centrifugeuse.

Il est équipé d'une hotte qui permet le travail en sécurité, 2 réfrigérateurs pour garder les échantillons. Les analyses sont assurés 24h/24h et 7 jour/jours.

#### **I.3.3.3. Laboratoire de chimie des eaux**

Afin d'avoir une qualité des produits et éviter les corrosions et la destruction du matériel, on procède à des analyses qui sont assurées avec des solutions, des flacons et des appareils : PH-mètre, salinomètre, ainsi qu'une paillasse pour manipulation.

En plus des laboratoires, on trouve une salle pour lavage et stérilisation du matériel, possédant un autoclave et bain marie, ainsi qu'une salle des milieux.

### 1.4. Échantillonnages physico chimique et bactériologique

Lors de la livraison du lait cru, des échantillons sont prélevés de chaque camion, à l'aide d'une louche dans les flacons stériles portant le numéro de chaque cuve et le collecteur. Ces échantillons sont acheminés directement aux laboratoires physico-chimique et bactériologique de l'unité (figure06).



**Figure 06:** camion de collecte de lait de vache (originale)

### 1.5. Technique de prélèvement

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

- Remuer le lait avant le prélèvement pour bien homogénéiser le mélange ;
- Prélever le lait dans des flacons propres (stériles) ;
- Identifier les flacons (collecteur et n° de la cuve).

### 1.6. Analyses Physico-chimiques et bactériologiques (Annexe N°03 et Annexe N°04)

#### 1.6.1. Test d'ébullition

#### 1.6.2. Mesure de pH du lait

#### 1.6.3. Mesure de l'acidité du lait

#### 1.6.4. Dosage de la matière grasse (Méthode de GERBER)

#### 1.6.5. Détermination de la masse volumique

#### 1.6.6. Mesure de la teneur en matière sèche totale

#### 1.6.7. Détermination de l'extrait sec dégraissé

#### 1.7.1. Matériel bactériologique utilisé (Annexe N°4)

#### 1.7.2. Matériels utilisés pour le contrôle des résidus d'antibiotiques « lactoscan »

- puits de réaction

- châssis en plastique
- pipette à volume fixe (200µl)
- bandelettes réactives
- pointes de pipette
- contrôle positif
- contrôle négatif

### 1.7.3. Recherche d'antibiotique

#### 1.7.3.1. Mesure de lactose et Protéines

Les mesures de lactose et Protéines ont été effectuées depuis un lactoscan, la technique d'analyse consiste à :

- Allumer l'appareil
- Rincer l'électrode avec de l'eau distillée.
- Plonger l'électrode dans un béccher contenant le lait à analyser et lire la valeur mesuré

Sur l'écran de l'appareil (figure07).



**Figure 07 : Lactoscan (originale)**

#### 1.7.3.2. Matériels et méthodes de test

L'étude faite à la laitiers consacré aux contrôles des résidus d'antibiotiques dans le lait cru par un test rapide Auro Flow Tm combo strip test sensible au Béta-lactamine et Tétracycline.

#### 1.7.3.3. Présentation du test AuroFlow™ BT combo Strip ‘

Le test AuroFlow™ BT Combo Strip est un test qualitatif et rapide à flux latéral conçu pour détecter à la fois les résidus d'antibiotiques bêta-lactamine et tétracycline dans le lait de vache cru mélangé (figure08). Ce test est conçu pour une utilisation rapide sur le terrain ou en laboratoire de référence.

Les caractéristiques du kit sont :

- détection simultanée des bêta-lactamines et des tétracyclines
- méthode de test rapide de bande - 7minutes
- fonctionne dans le lait froid
- détecte 15 bêta-lactamines (y compris certains métabolites) et 3 tétracyclines en dessous de la LMR de l'UE.

Le test permet de détecter les tétracyclines et les bêta-lactames. La méthode employée est du type « Receptor Assay » : le test emploie des récepteurs spécifiques liés à des particules d'or et un support immuno-chromatographique sous forme de bandelette. Pendant l'incubation la bandelette absorbe le mélange « Lait +réactifs » présent dans la cupule.

En présence d'antibiotiques, les récepteurs se lient aux résidus pendant la phase de migration.



**Figure 08:** test AuroFlow™ BT combo Strip (originale)

### 1.7.3.5. Méthode de test

- **Mode opératoire**

- ✓ Sortir un flacon de récepteur du coffret et s'assurer que tout le lyophilisat se trouve au fond du flacon.

**Remarque :** pour faire descendre le lyophilisat au fond du flacon, frapper délicatement le flacon sur une surface solide.

- ✓ **Préparation pré-test**

1. à l'aide de ciseaux, coupez soigneusement le nombre de puits de réaction et retirez les bandelettes réactives adaptées au nombre d'échantillons à tester.
2. Laissez les réactifs atteindre la température ambiante ( $25\pm 5$ ). Assurez-vous que les puits inutilisés restent bien bouchés. Remettez rapidement les composants restants en chambre froide à  $2-8^{\circ}\text{C}$ .
3. secouez vigoureusement le lait pour assurer l'homogénéité de l'échantillon.

✓ **Procédure de test**

- fixez un embout de pipette jetable à l'extrémité de la pipette.
- insérez l'embout de la pipette dans l'échantillon de lait, enfoncez le piston de la pipette jusqu'à la première butée, puis relâchez lentement le piston pour aspirer  $200\ \mu\text{l}$  de lait dans l'embout de la pipette.
- positionnez la pointe de la pipette (chargée de lait) sur un puits de réaction et appuyez sur le piston pour expulser complètement l'échantillon de lait dans le puits.
- à l'aide de la même pointe de pipette, aspirez l'échantillon de haut en bas environ 10 fois pour dissoudre complètement les particules de réaction lyophilisées dans le lait. retirez et jetez la pointe de la pipette.
- incubez 3 minutes à température ambiante ( $25\pm 5$ ).
- après 3 minutes, insérez le bas de la bandelette réactive dans le puits contenant l'échantillon de lait avec les flèches pointant vers le bas.
- incubez 4 minutes à température ambiante ( $25\pm 5$ ).
- retirez la bandelette et placez-la sur une surface horizontale avec le côté non marqué vers le haut et retirez le tampon échantillon de la bandelette.
- interprétez immédiatement les résultats du test visuellement en comparant les intensités de la ligne de test et de la ligne de contrôle ou en lisant la bandelette dans le lecteur de bandelettes Quick Star™

✓ **Procédure de préparation des contrôles**

1. Pipeter soigneusement 1 ml d'eau distillée jusqu'au contrôle viral négatif ou positif.
2. Boucher hermétiquement le flacon de contrôle.
3. Bien mélanger en retournant le flacon au moins 20 fois, ou jusqu'à dissolution complète.
4. Les contrôles reconstitués sont stables pendant 24 heures à  $4^{\circ}\text{C}$

### 1.7.3.6. Interprétation des bandelettes après le test

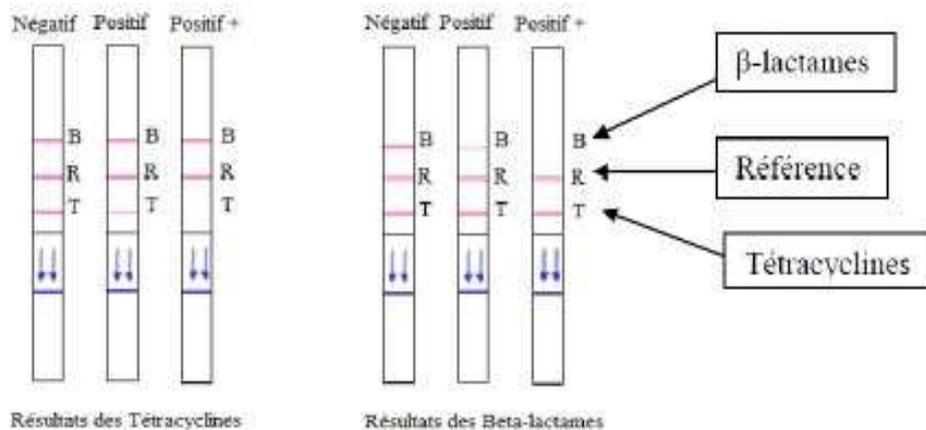
- Interpréter immédiatement et visuellement le résultat comme suit :

- ❖ Aucune bande rouge n'apparaît, le test est non valide, recommencer l'analyse.

Cela peut se produire si les réactifs ne sont pas conformes ou si le lait est non conforme.

La lecture se fait selon la coloration des bandes en rose :

- présence de la bande : absence des antibiotiques.
- Absence de la bande : présence des antibiotiques correspondant à la bande.



**Figure 09:** La lecture des résultats pour les β-lactames et les Tétracyclines.

- ❖ Si la première bande a une intensité :
  - Supérieure à la celle de la bande référence l'échantillon ne contient pas ou peu de résidus de substances inhibitrices de la famille beta lactames le résultat est négatif.
  - égale ou inférieure à celle de la bande référence l'échantillon contient des substances inhibitrices de la famille bêta-lactames le résultat est positif.
  - Très Faible ou est absente l'échantillon contient des substances inhibitrices de la famille bêta- lactame le résultat est positif.
    - Un échantillon de lait dans lequel les antibiotiques sont positifs est écrit dans une Fiche de non-conformité et envoyé à un comité spécial pour empêcher l'utilisation de ce lait dans les différents produits.
    - Enregistrer le résultat de l'analyse sur un registre suivi : réception du lait cru.

### I. Résultats et discussion :

#### I.1. résultats physicochimiques

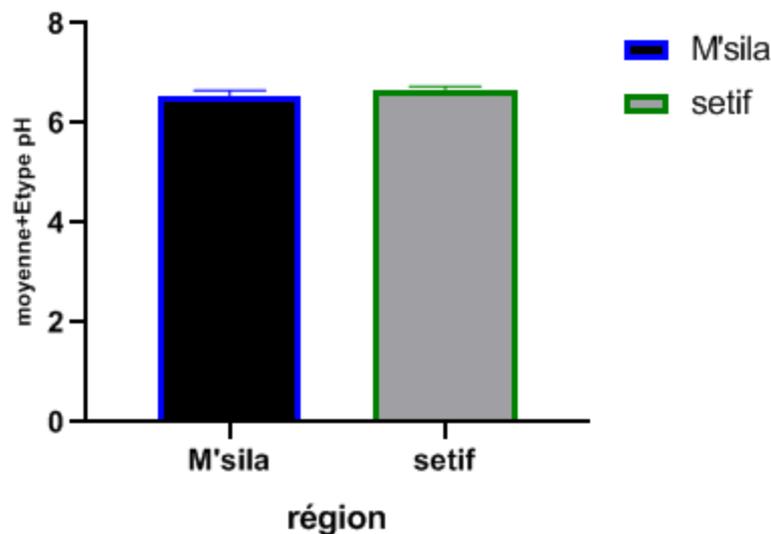
Les tableaux des résultats d'analyses physico-chimiques effectuées sur les 30 échantillons du lait cru, collectés au niveau de M'sila et de Setif, sont donnés dans l'annexe.

##### I.1.1. Détermination de la stabilité

Les résultats du test de stabilité obtenus pour tous les échantillons du lait analysés sont positifs, de ce fait, tout lait destiné à la consommation doit être stable à l'ébullition (J.O.R.A. N° 35, 1998).

##### I.1.2. Mesure de pH

Les résultats de la mesure du pH des différents échantillons du lait cru analysés sont représentés dans la figure 10.

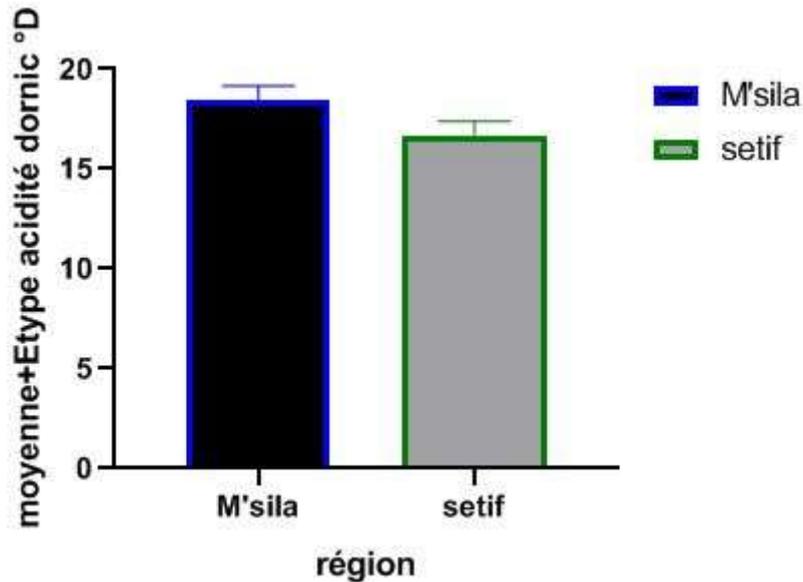


**Figure 10:** Variation de pH pour les différents échantillons du lait cru analysés.

Les valeurs obtenues du pH se situent entre 6,50 et 6,79 pour le lait collecté au niveau de Setif. Ces valeurs sont conformes aux normes d'entreprise (6.50 -6,80) et entre 6,40 et 6,78 pour le lait de la région de M'sila ; dont 06/15 échantillons sont inférieur à la norme.

### I.1.3.Détermination de l'acidité Dornic

Les résultats de la mesure de l'acidité des différents échantillons de lait cru analysés sont donnés dans la figure11.

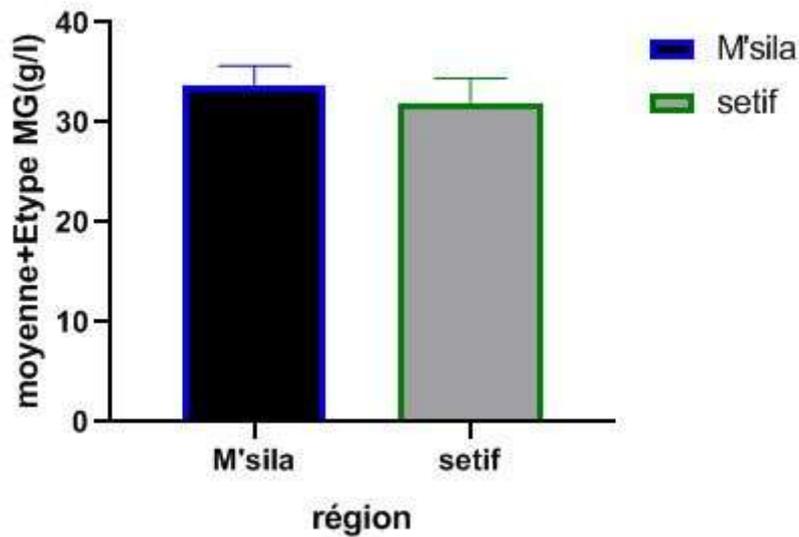


**Figure 11 :** Variation de l'acidité Dornic des différents échantillons du lait cru analysés

Les valeurs de l'acidité Dornic obtenues se situent entre 16 et 18 °D pour le lait de la région Setif. Ces valeurs sont conformes aux normes d'entreprise et la norme **AFNOR (1985)**, fixée entre 16 et 18°D. Par contre, le lait de la région de M'sila montre une faible variabilité des résultats entre 18 et 20°D, dont 07/15 échantillons sont supérieurs à la norme.

### I.1.4.Détermination du taux de la matière grasse

Les résultats de la détermination de la matière grasse des différents échantillons de lait cru analysés sont représentés dans la figure12.

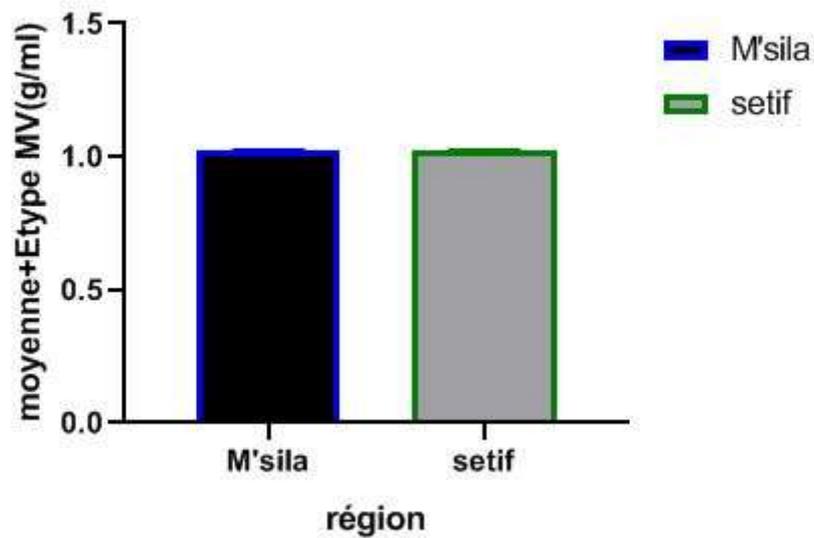


**Figure 12 :** Variation de la matière grasse pour les différents échantillons du lait cru analysés.

La teneur en matière grasse des échantillons des laits varie entre 31 et 37 g/l pour le lait de la région de M'sila, dont 12/15 échantillons sont conformes aux normes d'entreprise (32 - 36g/l). Cependant, le lait collecté au niveau de la région de Sétif présente des valeurs comprises entre 28 et 36g/l, dont 08/15 échantillons sont inférieurs aux normes, cela peut être dû à un écrémage frauduleux du lait ou bien à une traite incomplète des vaches.

#### **I.1.5. Mesure de la masse volumique**

Les résultats de la mesure de la masse volumique des différents échantillons de lait cru analysés sont révélés dans la figure 13.

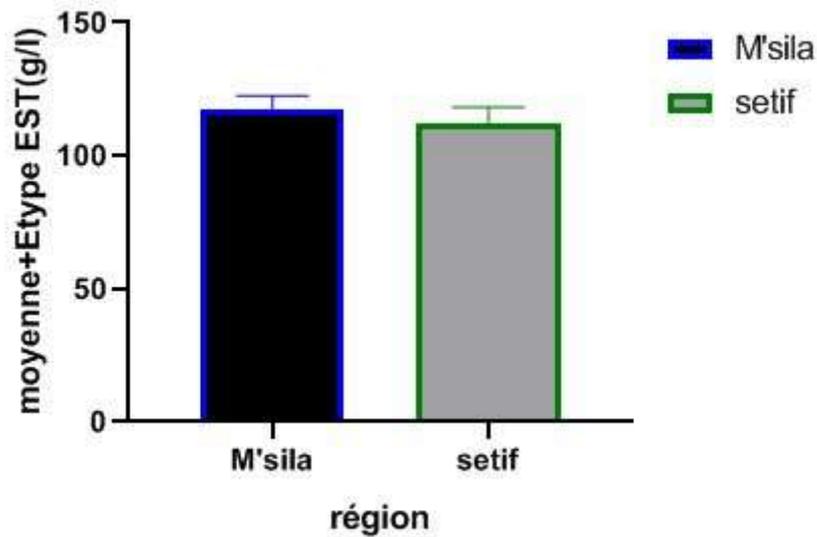


**Figure 13:** Variation de la masse volumique pour les différents échantillons du lait cru analysés.

Les valeurs obtenues se situent entre 1.026 et 1.030 g/ml pour le lait de la région de M'sila, dont 12/15 échantillons sont conformes aux normes d'entreprise (1,027-1,030g/ml). Par contre le lait de la région de Setif présente des valeurs entre 1,025 et 1,030 g/ml, dont 8/15 échantillons sont inférieurs aux normes.

#### **I.1.6. Détermination de la teneur en extrait sec total**

Les résultats de la détermination de la teneur en extrait sec total des différents échantillons de lait cru analysés sont donnés dans la figure 14.

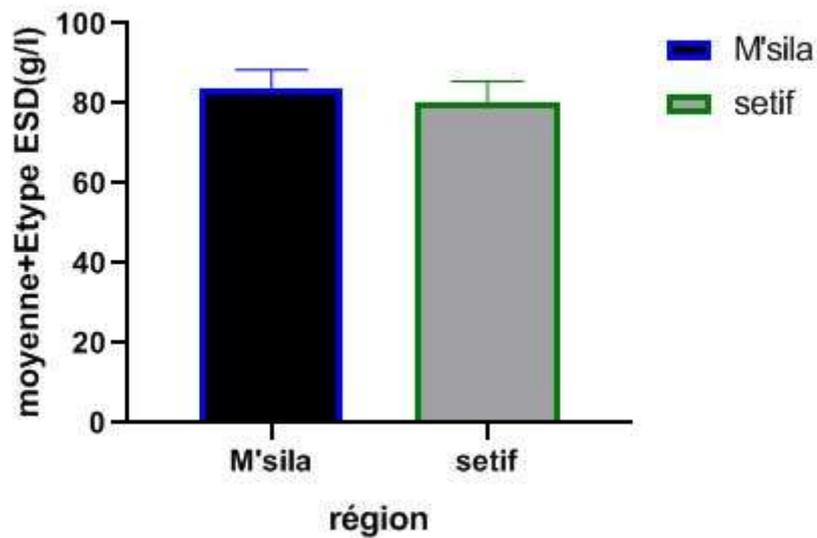


**Figure 14 :** Variation de l'extrait sec total pour les différents échantillons du lait cru analysés

Les valeurs obtenues se situent entre 110,39 et 130,39g /l pour le lait de la région de M'sila, dont 12/15 échantillons sont conformes aux normes d'entreprise ( $\geq 113$ g/l). Alors que le lait collecté au niveau de la région de Setif représente des valeurs comprises entre 103,32 et 126,07 g /l, dont 09/15 échantillons sont inférieurs aux normes,

#### **I.1.7. Détermination de l'extrait sec dégraissé**

Les résultats de la détermination de la teneur en extrait sec dégraissé des différents échantillons de lait cru analysés représentés dans la figure 15.



**Figure 15 :** variation de l'extrait sec dégraissé pour les différents échantillons du lait cru analysés

La teneur en extrait sec dégraissé des échantillons du lait varie entre 76,03 et 94,39 g/l, pour le lait de la région de M'sila , et entre 72,7 et 90,07 g/l pour le lait de Setif , ces résultats sont inférieurs aux normes d'entreprise (90 - 94 g/l). à l'exception d'un seul échantillon pour chaque région, avec une valeur de 94,39 g/l pour le lait M'sila 90,07g/l pour le lait de Setif. Cela peut être expliqué par la richesse de ce lait en matière grasse.

### I.2. Test d'antibiotique

Les résultats de test d'antibiotiques des différents échantillons de lait cru analysés représentés dans la figure 16.



**Figure 16 :** Résultat du test d'antibiotique (originale)

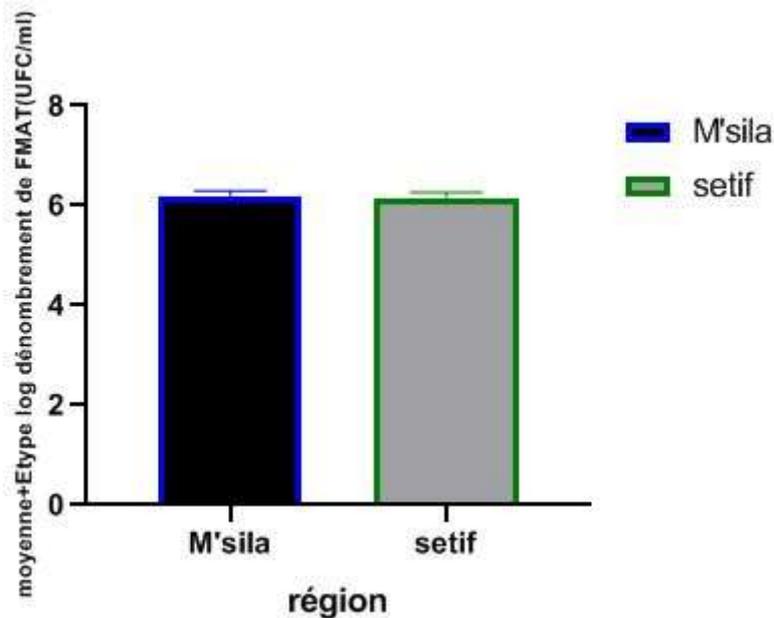
Les résultats obtenus pour tous les échantillons des deux régions, indiquent l'absence d'antibiotiques dans le lait car si la 1 bande a une intensité supérieure à la celle de la bande référence l'échantillon ne contient pas ou peu de résidus de substances inhibitrices de la famille beta lactames le résultat est négatif. Ces résultats sont conformes aux normes recommandées par le **J.O.R.A., (1998)**.

Les vaches n'ont pas subi un traitement en utilisant des antibiotiques, et l'alimentation ne contient pas d'antibiotiques. De ce fait, le lait collecté est de bonne qualité.

### I.3. Analyses microbiologiques

#### I.3.1 .Dénombrement de la flore totale mésophile

Les résultats du dénombrement de la flore totale mésophile des différents échantillons sont représentés dans figure 17.

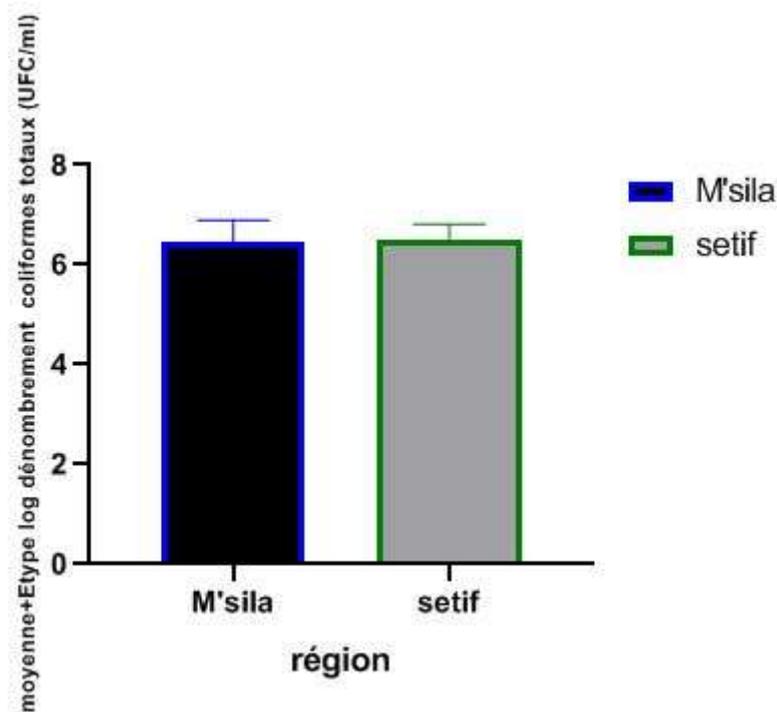


**Figure 17 :** Variation de la FMAT pour les différents échantillons du lait cru des deux régions.

Les valeurs enregistrées sont situés entre  $1,05 \times 10^6$  et  $2,25 \times 10^6$  UFC/ml pour le lait de la région de M'sila et entre  $0,96 \times 10^6$  et  $2,84 \times 10^6$  UFC/ml pour le lait de Setif. D'après les résultats obtenus, aucun des échantillons ne répond aux normes recommandées par le **J.O.R.A.,(1998)**, ( $<10^5$  UFC/ml).

### I.3.2. Dénombrement des coliformes totaux

Les résultats du dénombrement des coliformes totaux des différents échantillons du lait cru sont représentés dans la figure 18.

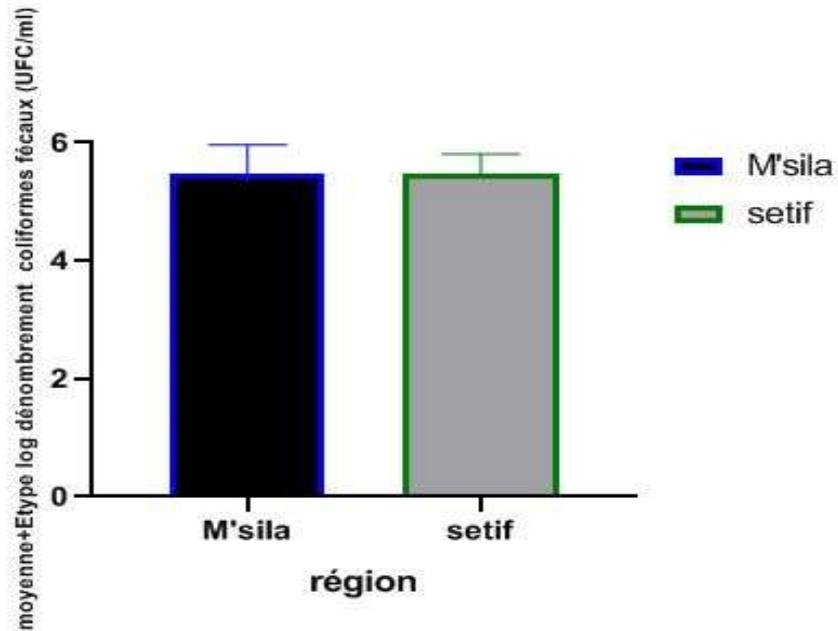


**Figure 18 :** Variation des coliformes totaux pour les différents échantillons du lait cru des deux régions

Les taux des coliformes totaux enregistrés sont compris entre  $7 \times 10^5$  et  $9,3 \times 10^6$  UFC/ml pour le lait de la région de M'sila et entre  $6 \times 10^5$  et  $8,6 \times 10^6$  UFC/ml pour le lait la région de Setif. Ces résultats confirment une forte hétérogénéité entre les différents échantillons de lait analysés. La réglementation algérienne ne définit pas une norme pour cette flore. Pour cela, nous essayeront de comparer nos résultats à d'autres études similaires.

### I.3.3. Dénombrement des coliformes fécaux

Les résultats du dénombrement des coliformes fécaux des différents échantillons du lait cru analysés sont représentés dans la figure 19.



**Figure 19 :** Variation des coliformes fécaux pour les différents échantillons du lait cru pour les deux régions

Les résultats obtenus sont compris entre  $5 \times 10^4$  et  $1,35 \times 10^6$  UFC/ml pour le lait de la région de M'sila et entre  $7 \times 10^4$  et  $9,8 \times 10^5$  UFC/ml pour le lait de Setif. Ces résultats sont très variables et supérieurs à la norme  $10^3$ UFC /ml **J.O.R.A., (1998)**.

#### I.3.4. Recherche de *staphylococcus aureus*

Les résultats de la recherche des staphylocoques des différents échantillons du lait cru sont représentés dans le tableau suivant (tableau 07) ;

**Tableau 07 :** Résultats de la recherche des *Staphylococcus aureus* (UFC/ml) pour les différents échantillons du lait cru.

Region Échantillons	M'sila	Setif
1	Abs	Abs
2	Abs	10
3	Abs	abs
4	Abs	19
5	Abs	Abs

6	Abs	Abs
7	Abs	05
8	Abs	Abs
9	Abs	Abs
10	Abs	Abs
11	Abs	15
12	Abs	Abs
13	Abs	16
14	Abs	10
15	Abs	Abs

**Abs** : absence

Nous avons enregistré l'absence des staphylocoques pour le lait collecté au niveau de la région de M'sila, ces résultats sont conformes à la norme de **J.O.R.A.,(1998)**(Absence). Alors que 06/15 échantillons, présentent une contamination pour le lait de Setif.

### II. Discussion

Les valeurs obtenues du pH se situent entre 6,50 et 6,79 pour le lait collecté au niveau de Setif. Ces valeurs sont conformes aux normes d'entreprise (6,50 -6,80) et entre 6,40 et 6,78 pour le lait de la région de M'sila ; dont 06/15 échantillons sont inférieurs à la norme. Selon **Alias (1984)**, le pH n'est pas une valeur constante et peut varier selon le cycle de lactation et sous l'influence de l'alimentation. Dans le cas où le pH est inférieur à la norme cela indique une acidification du lait, qui peut être due à un stockage inadéquat (**Diao, 2000**).

**Mathieu (1998)** rapporte que le pH évolue avec la composition du lait, une teneur élevée en substances acides : anions phosphates, citrate ou acides lactiques s'accompagne d'un pH faible.

Les valeurs de l'acidité Dornic obtenues se situent entre 16 et 18 °D pour le lait de la région Setif. Ces valeurs sont conformes aux normes d'entreprise et la norme **AFNOR (1985)**, fixée entre 16 et 18°D. Par contre, le lait de la région de M'sila montre une faible variabilité des résultats entre 18 et 20°D, dont 07/15 échantillons sont supérieurs à la norme, selon **Mathieu (1998)**, le lait de vache en début de lactation présente une acidité titrable de 19°D à 20°D. L'acidité du lait est liée au climat, au stade de lactation, à la saison et à la conduite d'élevage notamment l'alimentation et l'apport hydrique (**Aggad et al., 2009**).

L'acidité du lait peut être un indicateur de la qualité du lait au moment de la livraison car elle permet d'apprécier la qualité d'acide produit par les bactéries ou les éventuelles fraudes (**Joffin et Joffin, 1999**).

La teneur en matière grasse des échantillons des laits varie entre 31 et 37 g/l pour le lait de la région de M'sila, dont 12/15 échantillons sont conformes aux normes d'entreprise (32 - 36g/l). Cependant, le lait collecté au niveau de la région de Setif présente des valeurs comprises entre 28 et 36g/l, dont 08/15 échantillons sont inférieurs aux normes, cela peut être dû à un écrémage frauduleux du lait ou bien à une traite incomplète des vaches. En effet, selon **Coulon et Hoden (1991)** cités par **Yennek (2010)**, le taux butyreux augmente de 1 à 10g/l entre le début et la fin de traite. Selon **Srairi et al., (2006)**, le taux butyreux semble le plus variable des caractéristiques physico-chimiques du lait à l'égard de sa très forte corrélation à la teneur en fourrages et à la nature des fibres des concentrés utilisés dans les rations pour vaches laitières. Une alimentation riche en cellulose à l'origine d'acide acétique favorise l'augmentation du taux butyreux (**Cauty et Perreau, 2009**) d'autres facteurs influent

d'une manière significative sur le taux butyreux, sont la race des vaches et les conditions d'élevage (**Luquet, 1985**).

Les valeurs de la masse volumique obtenues se situent entre 1.026 et 1.030 g/ml pour le lait de la région de M'sila, dont 12/15 échantillons sont conformes aux normes d'entreprise (1,027-1,030g/ml). Par contre le lait de la région de Setif présente des valeurs entre 1,025 et 1,030 g/ml, dont 8/15 échantillons sont inférieurs aux normes. Ces résultats peuvent être à l'origine d'un mouillage frauduleux du lait. En dehors de tout mouillage du lait, la masse volumique d'un lait varie selon sa richesse en matière sèche, et est inversement proportionnelle au taux de matière grasse (**Filipovitch, 1954**). Ainsi l'écémage du lait conduit à une élévation de sa masse volumique (**Luquet, 1985**).

Les valeurs de la teneur en extrait sec total obtenues se situent entre 110,39 et 130,39g /l pour le lait de la région de M'sila, dont 12/15 échantillons sont conformes aux normes d'entreprise ( $\geq 113$ g/l). Alors que le lait collecté au niveau de la région de Setif représente des valeurs comprises entre 103,32 et 126,07 g /l, dont 09/15 échantillons sont inférieurs aux normes, cela peut être dû selon (**Preston ,1988**), à un déséquilibre dans l'alimentation du bétail, puisque les éléments qui composent le lait proviennent de l'alimentation, d'autre part le mouillage du lait réduit la teneur en extrait sec total.

La teneur en extrait sec dégraissé des échantillons du lait varie entre 76,03 et 94,39 g/l, pour le lait de la région de M'sila, et entre 72,7 et 90,07 g/l pour le lait de Sétif, ces résultats sont inférieurs aux normes d'entreprise (90 - 94 g/l). à l'exception d'un seul échantillon pour chaque région, avec une valeur de 94,39 g/l pour le lait M'sila 90,07g/l pour le lait de Setif. Cela peut être expliqué par la richesse de ce lait en matière grasse. Selon (**Coubronne et al.,1980**), les rations peu énergétiques réduisent le taux d'extrait dégraissé.

Les résultats obtenus pour tous les échantillons des deux régions, indiquent l'absence d'antibiotiques dans le lait car si la 1 bande a une intensité supérieur à la celle de la bande référence l'échantillon ne contient pas ou peu de résidus de substances inhibitrices de la famille beta lactames le résultat est négatif. Ces résultats sont conformes aux normes recommandées par le **J.O.R.A., (1998)**. Les vaches n'ont pas subi un traitement en utilisant des antibiotiques, et l'alimentation ne contient pas d'antibiotiques. De ce fait, le lait collecté est de bonne qualité.

Les valeurs microbiologiques sur le dénombrement de la flore totale mésophile enregistrées sont situées entre  $1,05 \times 10^6$  et  $2,25 \times 10^6$  UFC/ml pour le lait de la région de M'sila et entre  $0,96 \times 10^6$  et  $2,84 \times 10^6$  UFC/ml pour le lait de Setif. D'après les résultats obtenus, aucun des échantillons ne répond aux normes recommandées par le **J.O.R.A.,(1998)**, ( $<10^5$  UFC/ml). La teneur élevée en flore totale et la variabilité de la qualité microbiologiques des laits sont liées à des facteurs d'élevage au sein des exploitations, l'état sanitaire de l'animal. Selon **Faye et Loiseau (2002)**, le lait cru est produit par l'animal sain, dont la traite effectuée dans de bonnes conditions d'hygiène, donne normalement un lait peu contaminé contenant une flore globale de  $10^3$  à  $10^5$  UFC/ml.

Les taux des coliformes totaux enregistrés sont compris entre  $7 \times 10^5$  et  $9,3 \times 10^6$  UFC/ml pour le lait de la région de M'sila et entre  $6 \times 10^5$  et  $8,6 \times 10^6$  UFC/ml pour le lait la région de Setif. Ces résultats confirment une forte hétérogénéité entre les différents échantillons de lait analysés. La réglementation algérienne ne définit pas une norme pour cette flore. Pour cela, nous essayeront de comparer nos résultats à d'autres études similaires. Les résultats obtenus sont inférieurs aux dénombrements retrouvés par **Ouinine et al.,(2004)** à savoir  $1,07.10^7$ UFC/ml. Cependant ils sont supérieurs à ceux rapportés par **Afif et al.,(2008)** avec  $3,2.10^5$  UFC/ml. Cela est dû, d'après **Magnusson et al.,(2007)**, aux mauvaises conditions de transport et le manque d'hygiène pendant la traite.

Les résultats des coliformes fécaux obtenus sont compris entre  $5 \times 10^4$  et  $1,35 \times 10^6$  UFC/ml pour le lait de la région de M'sila et entre  $7 \times 10^4$  et  $9,8 \times 10^5$  UFC/ml pour le lait de Setif. Ces résultats sont très variables et supérieurs à la norme  $10^3$  UFC /ml **J.O.R.A., (1998)**.

Selon **Rozier et al.,(1985)**, cités par **Bouchibi et Boulam en (1997)**, les coliformes fécaux sont des *Escherichia coli* dans 95 à 99% des cas. **Mocquot et Guittonneau(1939)** ont démontré que les coliformes du genre *Escherichia* sont les plus fréquents dans les excréments des vaches laitières. Ils contaminent le lait directement (par contact direct avec le pis), ou se multiplient lors d'un mauvais nettoyage dans les rinçures des ustensiles laitiers.

Nous avons enregistré l'absence des staphylocoques pour le lait collecté au niveau de la région de M'sila, ces résultats sont conformes à la norme de **J.O.R.A.,(1998)** (Absence). Alors que 06/15 échantillons, présentent une contamination pour le lait de Setif.

Cela est peut être dû d'après **Thieulin(2005)**, à la contamination par les infections mammaires qui représentent la principale source de contamination du lait, les premiers jets sont fortement contaminés d'où la nécessité de s'en débarrasser ; la peau de l'Homme, plus particulièrement en cas de lésion ; ainsi que les voies respiratoires en cas d'infection (angine) et la contamination à la laiterie.

# *Conclusion*

### Conclusion

Le lait reste dans la mémoire collective un excellent produit doué de qualités nutritionnelles importantes et est, généralement, considéré comme un allié important de la santé, dans ce cas, garantir au consommateur un lait et des produits laitiers de bonne qualité est un enjeu majeur pour le secteur laitier. Cette qualité est affectée par plusieurs contaminants ; parmi eux les antibiotiques.

La recherche systématique des résidus d'antibiotiques dans les échantillons de lait demeure le seul moyen de prévention qui peut assurer l'innocuité complète de ce produit. Pour ce faire, il est donc impératif de disposer des méthodes de détection fiables, sensibles et spécifiques.

Les résultats d'analyses physico-chimiques effectuées sur le lait cru de M'sila, révèlent que 09/15 échantillons sont conformes aux normes. Cependant ce taux diffère pour le lait cru de Setif avec une variation des paramètres : (M.G, MV, EST, ESD). Cela peut être dû à l'alimentation de bétail, le climat, la race bovine.

Les résultats microbiologiques sont très variables avec des moyennes de dénombrements de la flore mésophile aérobie total ( $1,68.10^6$ UFC/ml) pour le lait de M'sila et ( $1,56.10^6$ UFC/ml) pour le lait de Setif.

Les échantillons sont également contaminés par les coliformes totaux avec des moyennes respectives de ( $4,17.10^6$  UFC/ml) pour le lait de M'sila, ( $3,57.10^6$  UFC/ml) pour le lait de Setif et par les coliformes fécaux avec des moyennes de ( $4,58.10^5$ UFC/ml) pour le lait de M'sila, ( $3,706.10^5$ UFC/ml) pour le lait de Setif.

Les Staphylocoques sont présents dans 04/08 échantillons du lait collecté au niveau de Setif, cela est peut être dû à la contamination par l'Homme ou bien à l'infection mammaire des vaches laitières.

Les résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques par le test AuroFlow™ BT combo Strip, les échantillons analysés sont exempts d'antibiotiques. Cela est un bon indicateur sanitaire, car le lait destiné à la consommation ou à la transformation industrielle ne doit contenir aucune trace d'antibiotiques.

### Recommandations

Le contrôle et la surveillance des antibiotiques et de leurs résidus dans les aliments d'origine animale sont particulièrement importants pour garantir l'innocuité des denrées d'origine animale et protéger le consommateur.

L'absence de programmes de surveillance conduit au manque de données scientifiques nécessaires pour informer les décideurs politiques, communiquer avec les vétérinaires et les éleveurs et soutenir les politiques de développement durable.

Des programmes d'études doivent être élaborés pour documenter tous ces aspects afin de développer des dispositifs réglementaires, des formations professionnelles destinées à atteindre des objectifs de sécurité alimentaire, de sécurité sanitaire des aliments et de développement durable des productions agro-alimentaires dans notre pays.

## *Références bibliographiques*

### Références bibliographiques

#### A

- Abdennebi, E. H. (2006).** Antibactériens en médecine vétérinaire. *Actes Editions Maroc*. 303p.
- Abidi, K., (2004).** Résidus d'antibiotiques dans le lait de boisson. Thèse : Médecine vétérinaire, École nationale de médecine vétérinaire de Sidi Thabet, Tunisie, p 6-23
- Aboutayeb, R. (2009).** Technologie du lait et dérivés laitiers. *Consulté à l'adresse <http://www.azaquar.com>, 15(05), 2016.*
- Adrian, J., Frangne, R., Potus, J. (2004).** La science alimentaire de A à Z ,2ème édition, Tec et Doc, Lavoisier ; 79,477p
- Afif A, Faid M et Najimi M. (2008).** Qualité microbiologique du lait cru produit dans la région de Tadla au Maroc. *Reviews in Biology and Biotechnology Vol 7. N°1*.pp: 2-7.7
- AFNOR. (1985).** Contrôle de la qualité des produits laitiers-Analyses physiques et chimiques, 3 ème édition.
- AFSSA, (2006).** Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine. Rapport du groupe de travail "Antibiorésistance"[En ligne]. Maisons-Alfort : AFSSA, 214 pages. Disponible sur : [www.anses.fr/Documents/SANTRa-ABR.pdf](http://www.anses.fr/Documents/SANTRa-ABR.pdf).
- Aggad, H, Mahouz, F., Ahmed Ammar, Y., Kihal, M. (2009).** Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien. *Revue Méd. Vét.*, 160, 12,pp : 590-595
- Alais, C., Linden, G., Mielo, L. (2008).** Abrégé en biochimie alimentaire. Paris, Dunod, 260p.
- Alias. (1984).** Sciences du lait, principes des techniques laitiers. Edition SEPAIC.Paris.pp : 441- 432.
- Allain, P. (2006).** Bêta-lactamines, pénicillines et céphalosporines, Extrait du livre Les médicaments,3ème édition, <http://www.pharmacorama.com/Rubriques/Output>.
-

## Références bibliographiques

---

- Amiot, J., Fournier, S., Lebeuf, Y., Paquin, P., Simpson, R. (2002).** In Vignola C .L, Brulé G, Jeantet R, Croguennec T, (2008). Fondement physicochimique de la technologie laitière. Rennes, Lavoisier, 160p
- Anonyme. (2016).**Répertoire commenté des médicaments à usage vétérinaire. Centre belge d'information pharmaco thérapeutique. <http://www.cbip-vet.be>.
- Anonyme. (2006).** La chromatographie liquide haute performance, Cours de chimie Organique, minérale et structurale, Académie de Nancy, Metz, <http://www.ac-nancymetz.fr/enseign/Physique/HPLC.htm>.
- Arnaud, T. (2013).** Contrôle des résidus de médicaments vétérinaires dans les denrées alimentaires d'origine animale : Cas du chloramphénicol dans le lait produit en zone périurbaine de Dakar, Sénégal. 48-50p.

### B

- Ben-Mahdi, M., Ouslimani, S. (2009).** Mise en évidence des résidus d'antibiotiques dans le lait de vache produit dans l'Algérois, European Journal of Scientific Research, 36 (3): 357- 362.
- Bergogne-Berizin, E., Dellamonica, P. (1999).** Antibiothérapie en pratique Clinique, 2ème edition, Masson : 496p.
- Bouchibi, A.M., Boulam, M. (1997).** Contribution à l'étude microbiologique du lait cru de trois fermes de la région de Constantine. Mémoire d'ingénieur d'état en industries agro alimentaires. Institut de la Nutrition de l'Alimentation et des Technologies Agro-alimentaires. Université de Constantine. pp: 50-74
- Boultif, L. (2009).** Optimisation des paramètres de détection et de quantification des résidus d'antibiotiques dans le lait par chromatographie liquide haute performance (HPLC).Thèse de Magister. Université Mentouri, Constantine, 60p.
- Boultif, L. (2014).** Détection et quantification des résidus de terramycine et de pénicilline dans le lait de vache par chromatographie liquide haute performance (hplc)- optimisation des paramètres d'analyse – adaptation des méthodes d'extraction des molécules d'antibiotiques- comparaison de quelques résultats obtenus sur le lait de la région de Constantine et le lait importe (reconstitué). Thèse de Doctorat d'état, Univ. Mentouri, Constantine, 35- 90p.
-

## Références bibliographiques

---

- Boultif, L. (2015).** Détection et quantification des résidus de terramycine et de pénicilline dans le lait de vache par chromatographie liquide haute performance (HPLC), thèse de Doctorat: Université Mentouri Constantine, Algérie, 156p.
- Bourgeois, C.M., Mescle, J.F., Zucca J. (1988).** Microbiologie Alimentaire Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments Tome 1. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris. 32p.
- Bourrin, M., Jolliet, P. (1999).** Pharmacologie générale et pratique. Cours national de pharmacologie ,3émeédition, Ellipses/, Edition Marketing. Paris.
- Brisabois, A., Lafarge, V., Brouillard, A., Buysier, M.L., Collette, C., Garin-Bastuji, B., Thorel, M.F. (1997).** Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers: situation en France et en Europe. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 16 (1). pp: 452-471.
- Brouillet, P. (2002).** Résidus de médicaments dans le lait et tests de détection. Revue : Bulletin des GVT, n°15. Mai-Juin 2002, p 25-41.

### C

- Caghanier, B. (1998).** Moisissures des aliments peu hydratés collection Sciences et techniques agroalimentaires. Lavoisier Tec et Doc. pp : 39.
- Cauty, I., Perreau, J.M. (2009).** Conduite du troupeau bovin laitier. Production, Qualité Rentabilité. 2ème édition France Agricole. 334p.
- Chatellet, M.C. (2007).** Modalité d'utilisation des antibiotiques en élevage bovin : enquête en Anjou. Thèse de doctorat vétérinaire .Ecole nationale vétérinaire d'Alfort.
- Chopra, I., Roberts, M. (2001).**Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 65(2). p 232-260.
- Cniel. (2013).** Economie laitière dans le monde. coord,AmiotJ,AngersP, [et al], collab, sciences et technologie du lait .in : composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait, Canada, Presses Internationales Polytechniques, 1-73p.
- Cniel. ( 2016).** Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière,Etude comparative de tests rapides de détection des résidus d'antibiotiques dans le lait. Service des laboratoires, p 18.
- Coubronne, C. (1980).** Variation de quelques paramètres biochimiques du lait en relation avec l'alimentation des vaches laitières étude dans deux élevages, école vetalfort, Paris.
-

## Références bibliographiques

---

**Coulon, J.B., Hoden, A. (1991).** Maitrise de la composition du lait : influence des facteurs nutritionnels sur la quantité et les taux de matières grasses et protéiques. INRA Prod. Anim., 4 (5).pp: 361-367.

**Court, Leymarios, F. (2010).** Qualité nutritionnelle du lait de vache et de ses acides gras. Voies d'amélioration par l'alimentation. Thèse de doctorant disponible sur [theses.vetalfort.fr/télécharger.Php](http://theses.vetalfort.fr/télécharger.Php?id=1207), id=1207.

**Cuq, J. (2007).** Microbiologie Alimentaire, Edition Sciences et Techniques du Languedoc, Université de Montpellier, 25p.

### D

**Debry, G. (2001)** le lait : Caractéristiques physicochimique. In : lait, nutrition et santé.

**Diao, M. (2000).** La qualité du lait et produits laitiers. Institut Sénégalais de recherches agricoles. Edition GRET/ ENDA-ERAF Dakar, pp : 1-7.

**Dibner, J.J., Richards, J.D. (2005).** Antibiotic growth promoters in agriculture; history and mode of action. p634-643.

**Dziedzic, E. (1988).** Les résidus de médicaments vétérinaires anthelminthiques thèse de doctorat vétérinaire, université Claude Bernard, Lyon, n°99, 192p.

**Essalhi, M. (2002).** Relation entre les systèmes de production bovine et les caractéristiques du lait .Mémoire d'ingénieurs. Institut Agronomique et vétérinaire, Hasan II, Rabat .104p.

### F

**Fabre, J-M., Bouquet, O., Petit, C. (2006).** Comprendre et prévenir les risques de résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale, 47p.

**FAO. (2015).** La production laitière et les produits laitiers, les animaux laitiers.

**FAO. (2007).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine

**Filipovitch, D. (1954).** Etude sur les variations de la densité du lait de mélange. International dairy journal.

**Fontaine, M. (1987).** VADE MECUM du vétérinaire. Formulaire vétérinaire de pharmacologie, de thérapeutique et d'hygiène. Édition VIGOT, 15<sup>ème</sup> édition. p 78.

---

## Références bibliographiques

---

- Fontaine, M. (1993).** VADE MECUM du vétérinaire. Formulaire vétérinaire de pharmacologie, de thérapeutique et d'hygiène. 15<sup>ème</sup> édition. Volume 1. Office des publications Universitaires. Alger. p 560
- Form, G. (2003).** Les résidus inhibiteurs dans le lait. Evolution des méthodes de détection- Facteurs de risques en région Rhône-Alpes. Thèse Médecin Vétérinaire, p105.
- Fredot, E. (2005).** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier, 14-379p.
- Fredot, E. (2009).** Connaissance des aliments : bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. Paris, Lavoisier, 530p.

### G

- Gaudin, V., Afssa, F. (2005).** Dossier de reconduction du test Béta star. Test rapide de détection de résidus actifs d'antibiotiques de la famille des Béta-lactamines (pénicillines, céphalosporines) dans le lait.
- Gedilaghine, V. (2005).** La rationalisation du traitement des mammites en exploitation laitière-conception et réalisation d'une enquête d'évaluation de la mise en place de l'action GTV partenaire dans le département de la manche, thèse pour le doctorat vétérinaire, faculté de médecine de Créteil. p 70-73.
- Gras, G., Choutet, P. (2010).** Prescription et surveillance des antibiotiques. La Revue du Praticien, 60, p 573-579.
- Guiraud, J.P. (1998).** Microbiologie alimentaire. Edition Dunod. Paris.615p
- Guiraud, J.P. (2003).** Microbiologie Alimentaire. Edition Dunod. Paris. pp : 136-139.
- Guy, F.I. (2006).** Elaboration d'un guide méthodologique d'intervention lors de contaminations par les salmonelles de produits laitiers au lait cru en zone de productions fromagères AOC du massif central. Thèse de doctorat d'état, université Paul-Sabatier de Toulouse, France. pp : 17.

### H

- Hanzen, C. (2008).** La pathologie infectieuse de la glande mammaire. Approche individuelle. [http://eap.mcgill.ca/AgroBio/ab\\_head.htm](http://eap.mcgill.ca/AgroBio/ab_head.htm).
- Hennel, C.K., (2006).** Pharmacovigilance vétérinaire : application aux médicaments antibactériens, anti-inflammatoires et antiparasitaires disponibles en médecine équine. Thèse de Doctorat vétérinaire, faculté de médecine de Créteil. p 83
- Hermann, T. (2005).** Drugs tragesting the ribosome. Corrent opinion in Microbiology. 15,355- 366. <http://www.fao.org/docrep.T4280F.htm>.
-

## Références bibliographiques

---

### I

**Institut des techniques des élevages, (2009).**Traite des vaches laitières. Matériel. Installation. 1ere Edition France Agricole,Produit mieux,55-506p.

### J

**J.O.R.A. N° 35. (1998).** Critères microbiologiques des laits et des produits laitiers

**Jacquemin, F. (2006).**Viandes : Après les hormones, les antibiotique». [Http://pagesperso-orange.fr/alps08-carignan.htm#haut](http://pagesperso-orange.fr/alps08-carignan.htm#haut).

**Jaussaud, P. (2002).** Cours de pharmacologie de première année de deuxième cycle, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.

**Jay, J.M. (2000).** Taxonomy, role, and significance of microorganisms in food. Dans Modern Food Microbiology, Aspen Publishers, Gaithersburg MD, pp : 13.

**Jeantet, R., Croguennec, T., Schuck, P., Brule, G. (2007).** Science des aliments : biochimie, microbiologie, procédés, produits. Paris, Lavoisier, 456-457p.

**Jeantet, R., Croguennee, T., Mahaut, M., Schuck, P., Brule, G. (2008).**les produits laitiers, 2ème édition, Tec et Doc,Lavoisier,17-185p.

**Jeon, M., Kim, J., Paeng, K-J., Park, S-W., Paeng, I-R. (2008).** Biotinavidinmediated competitive enzyme-linké dimmunosor bentassay to detect residues of tetracyclines in milk. Microchemical Journal, n°88 : 31p

**Joffin, C., Joffin, J.N. (1999).** Microbiologie alimentaire Collection biologique et techniques. 5 èmeédition, pp : 11.

### K

**Kim, H., Hardy, J., Novak, G., Ramet, J.P., Weber, W. (1982).** Les goûts anormaux du lait frais et reconstitué. Collection FAO Alimentation et nutrition n°35.

### L

**Labayle, D. (2001).**Guide Pharmaco, Édition lamare, Paris, p 568.

**Labioui, H., Elmoualdi, L., Benzakour, A., EL Yachioui, M., Berny, E. H., et Ouhssine, M. (2009).** Etude physicochimique et microbiologique de laits crus. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 2009, 148, 7-16

---

## Références bibliographiques

---

- Lamontagne, M., Claude, P., Champagne, J., Joelle, R., Moineau, S., Gardner, N., Lamouteux, M., Jean, J., Fliss, I. (2002).** Science et technologie du lait "transformation du lait", chapitre II, p 74-145.
- Laurentie, M., Sanders, P. (2002).** Résidus de médicaments vétérinaires et temps d'attente dans le lait Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires, n°15, p197.
- Le Chat, P. (2007).** Pharmacologie, Service de pharmacologie, Université Paris-VL, Edition EXT EM. p 307.
- Leyral, G., Vierling, É. (2007).** Microbiologie et toxicologie des aliments: hygiène et sécurité alimentaires. 4e édition Biosciences et techniques.87p.
- Loichot, A., Grima, B. (2006).** Introduction à la pharmacocinétique -passages transmembranaires.Faculté de Médecine de Strasbourg, Module de Pharmacologie Générale DCEM1.
- Lovett, J. (1989).** *Listeria monocytogenes*. In Foodborne, bacterial pathogens (M.P. Doyle,
- Luquet, F.M. (1985).** Lait et produits laitiers - Vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits De la mamelle à la laiterie. Tec et Doc., Coll. STAA, Lavoisier, Paris.334p.
- M**
- Magnusson, M., Christiansson, Svensson, B. (2007).** Bacillus cereus spores during housing of dairy cows: factor affecting contamination of raw milk. Journal of dairyscience.n° 90. pp: 2745- 2754.
- Mathieu, J. (1998).** Ecole nationale des industries du lait et des viandes de la Roche-Sur-Foron. Initiation à la physico-chimie du lait. Edition. Tec et Doc. Lavoisier, Paris. pp : 12-210.
- Mekademi, K. (2008).** Les résidus d'antibiotiques dans le lait de vache. Le médicament vétérinaire : Nouvelles approches thérapeutiques et impact sur la santé publique, 20 Avril 2008, Département des Sciences Vétérinaires, Laboratoire de microbiologie, Université Saad Dahlab Blida, Algérie, 25-26p.
- Mevius, D.J., Rutter, J.M., Hart, C.A., Imberechts, H., Kempf, G., La Font, J.P., Luthman, J., Moreno, M.A., Pantositi, P., Willadsen, C.M. (1999).** Antibiotic
-

---

## Références bibliographiques

---

resistance in the European Union associated with the therapeutic use of veterinary medicines. Report and qualitative risk assessment by the committee for veterinary medicinal products, Edition Le point vétérinaire. P 1-57.

**Mocquot, G., Guittonneau, G. (1939).** Recherches sur la pasteurisation des laits de consommation sur la colimétrie appliquée aux contrôles de la pasteurisation des laits et des laits pasteurisés. Le lait n°182. pp : 114-139

### N

**Nillius, A.M., MA, Z. (2002).** Ketolides : the Future of microlides ? Current opinion in pharmacology. 2, 1-8.

### O

**Ounine, K., Rhoutaise, El Halou, NE. (2004).** Caractérisation bactériologique du lait cru produit dans les étables de la région du Gharb. Al awamia, 109-110. pp : 187-204.

### P

**Preston. (1988).** Développement des systèmes de production laitière sous les tropiques CTA Publ. pp : 71.

**PUYT, J.D. (2002).** Médicaments anti-infectieux en médecine vétérinaire: Base de l'antibiothérapie. École nationale vétérinaire, Nantes, p 201.

### R

**Reumont, P. (2009).** Licencié Kinésithérapie.

**Reybroeck, W. (2004).** Résidus d'antibiotiques dans le lait : Utilisation des kits de dépistage des inhibiteurs. Le Point Vétérinaire, n° 242. p 52-57.

**Reybroeck, W., Ooghe, S. (2012).** Validation of the Beta-STAR COMBO for fast screening of raw milk on the presence of betalactam antibiotics and tetracyclines . Technology and Food Science Unit .Brusselsesteenweg 370,B-9090 Melle , Belgium.

---

## Références bibliographiques

---

- Rezgui, A. (2009).** Analyse des résidus d'antibiotiques dans les denrées dans les denrées alimentaires en Tunisie : Les tétracyclines, les quinolones, et les sulfamides. Thèse de licence appliquée en biotechnologie. Université De La Manouba, Sidi Thabet, Tunisie, 16p.
- Rheotest, M. (2010).** Rhéomètre RHEOTEST® RN et viscosimètre à capillaire RHEOTEST®LK-produits alimentaires et aromatisants. Technologie et documentations, Paris, Lavoisier, 566p.
- Robinson, R. (2002),** Dairy microbiology handbook .The microbiology of milk and milk products, third edition, DOI:10.1002/0471723959.
- Romnee, 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. p 50- 190.
- Rulquin, H., Hurtaud, C., Lemosquet, S., Peyraud, J. (2007).** Effet des nutriments énergétiques sur la production et la teneur en matière grasse du lait de vache .INRA Prod, Anim, 2-17p.

## S

- Seelinger, H.P.R., Jones, D. (1986).** *Listeria*. In Bergey's Manual of systematic bacteriology, Vol. 2 (P.H.A. Sneath,Edit.). Williams &Wilkins, Baltimore,pp: 1235-1245.
- Singleton, P. (2008).** Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies, 6ème édition, DUNOD : 542p.
- Srairi, M.T., Hamama, A. (2006).** Qualité globale du lait cru de vache au Maroc, concepts, état des lieux et perspectives d'amélioration. Transfert de technologie en agriculture, 137, pp : 1-4.
- Stoltz, R. (2008).** Les résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale : évaluation Et maîtrise de ce danger. Thèse de Doctorat vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire de Lyon.Université Claude-Bernard –Lyon. 50p.
-

### T

**Thieulin, Vuillaume. (1967).**Eléments pratiques d'analyse et d'inspection du lait de produits laitiers et des œufs-revue générale des questions laitières 48 avenue, Président Wilson, Paris : 71-73.388p.

### V

**Varnam, A.H., Sutherland, P. (2001).** Milk and Milk Products: Technology, Chemistry, and Microbiology. Volume 1 Food products series. An Aspen Publication. New York, pp: 35-37.

**Vierling, E. (2003).**Aliment et boisson- Filière et produit, 2ème édition, Doin éditeurs, centre régionale de la documentation pédagogique d'aquitaine, 11,270p.

**Vierling, E. (2008).**Aliment et boisson : Filière et produits. 3éd. Le Corosa, Doin, 277p.

**Vignola, C. (2002).** Science et Technologie du Lait Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechniques, Canada. pp :3-75.

### Y

**Yennek, N. (2010).** Effets des facteurs d'élevage sur la production et la qualité du lait de vache en régions montagneuses. Mémoire de magister en agronomie. Université des Sciences Agronomiques Mouloud Mammeri TiziOuzou.

### Z

**Zeba, B. (2005).**overview of  $\beta$ -lactamase incidence on bacterial drugs resistance,African Journal of biotechnology,4(13),1559-1562.

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

---

# *Annexes*

**Annexe N°01 :**

**Tableau I:** Résultats de pH pour les différents échantillons du lait cru

Échantillons \ Région	M'sila	Setif
1	6,50	6,55
2	6,48	6,64
3	6,40	6,50
4	6,72	6,74
5	6,68	6,75
6	6,78	6,79
7	6,55	6,71
8	6,60	6,51
9	6,58	6,69
10	6,54	6,66
11	6,44	6,69
12	6,45	6,57
13	6,46	6,60
14	6,45	6,69
15	6,58	6,57

**Tableau II:** Résultats de l'acidité Dornic pour les différents échantillons du lait cru

Échantillons \ Région	M'sila	Setif
1	18	16,2
2	19	16
3	20	16,2
4	18	17,2
5	18	17,2
6	18	17
7	18	17,2
8	18	18
9	18	16,4

10	17	16,2
11	19,2	16,2
12	19	18
13	19	16
14	19	16,2
15	18	16,4

**Tableau III :** Résultats de la matière grasse (g/l) pour les différents échantillons du lait cru

Échantillons \ Région	M'sila	Setif
1	36	34
2	34	28
3	36	28
4	31	31
5	34	33
6	32	36
7	34	29
8	31	31
9	34	34
10	34	29
11	33	33
12	33	36
13	36	31
14	37	33
15	32	31

**Tableau IV:** Résultats de la Masse volumique (g/ml) pour les différents échantillons du lait cru

Échantillons \ Région	M'sila	Setif
1	1,026	1,025
2	1,026	1,027
3	1,027	1,026

4	1,028	1,025
5	1,028	1,028
6	1,027	1,026
7	1,027	1,025
8	1,029	1,027
9	1,027	1,028
10	1,026	1,027
11	1,027	1,026
12	1,027	1,030
13	1,030	1,026
14	1,028	1,029
15	1,027	1,026

**Tableau V** : Résultats de l'extrait sec total (g/l) pour les différents échantillons du lait cru

Échantillons \ Région	M'sila	Setif
1	112,03	106,70
2	110,80	112,76
3	119,15	105,67
4	116,98	104,55
5	120,27	115,34
6	115,43	111,62
7	119,13	103,32
8	118,12	114,61
9	118,92	117,19
10	110,39	113,17
11	117,07	109,16
12	117,48	126,07
13	130,39	108,34
14	121,30	121,21
15	115,84	108,03

**Tableau VI** : Résultats de l'extrait sec dégraissé (g/l) pour les différents échantillons du lait cru

Échantillons \ Région	M'sila	Setif
1	76,03	72,7
2	76,8	84,76
3	83,95	77,67
4	85,98	73,55
5	86,27	82,34
6	83,43	75,62
7	85,13	74,32
8	87,12	83,61
9	84,92	83,19
10	76,39	84,17
11	84,07	76,16
12	84,48	90,07
13	94,39	77,34
14	84,3	88,21
15	83,84	77,03

**Tableau VII**: Résultats de la recherche des antibiotiques pour les différents échantillons du lait cru

Échantillons \ Région	M'sila	Setif
1	Abs	Abs
2	Abs	Abs
3	Abs	Abs
4	Abs	Abs
5	Abs	Abs
6	Abs	Abs
7	Abs	Abs
8	Abs	Abs
9	Abs	Abs

10	Abs	Abs
11	Abs	Abs
12	Abs	Abs
13	Abs	Abs
14	Abs	Abs
15	Abs	Abs

**Tableau VIII** : Résultats de test de stabilité pour les différents échantillons du lait cru

Échantillons \ Région	M'sila	Setif
1	+	+
2	+	+
3	+	+
4	+	+
5	+	+
6	+	+
7	+	+
8	+	+
9	+	+
10	+	+
11	+	+
12	+	+
13	+	+
14	+	+
15	+	+

**Annexe N°02 :**

**Tableau IX:** Résultats de dénombrement de FMAT (UFC/ml) pour les différents échantillons du lait cru

Échantillons \ Région	M'sila		Setif	
	$\times 10^6$	Log	$\times 10^6$	Log
1	1,66	6,22	1,51	6,18
2	1,05	6,02	1,28	6,11

3	1,51	6,18	1,63	6,21
4	2,06	6,31	1,37	6,14
5	2,10	6,32	1,60	6,20
6	1,38	6,14	1	6
7	1,43	6,16	1,46	6,16
8	1,23	6,09	1,07	6,03
9	1,14	6,16	0,96	5,98
10	1,45	6,15	1,21	6,08
11	1,42	6,31	1,78	6,25
12	2,03	6,21	1,50	6,18
13	1,63	6,11	1,23	6,09
14	1,30	6,35	2,84	6,45
15	2,25	6,19	1,47	6,17

**Tableau X:** Résultats de dénombrements des coliformes totaux (UFC/ml) pour les différents échantillons du lait cru

Échantillons \ Région	M'sila		Setif	
	$\times 10^5$	Log	$\times 10^5$	Log
1	70	6,84	39	6,59
2	35	6,54	47	6,67
3	48	6,68	86	6,93
4	85	6,92	06	6,83
5	13	6,11	21	6,32
6	93	6,96	71	6,85
7	57	6,75	31	6,49
8	07	5,48	10	6,00
9	16	6,20	20	6,30
10	62	6,79	25	6,40
11	08	5,90	11	6,04
12	64	6,80	80	6,90
13	25	6,39	12	6,07
14	18	6,25	35	6,54
15	25	6,39	42	6,62

**Tableau XI** : Résultats de dénombrement des coliformes fécaux (UFC/ml) pour les différents échantillons du lait cru

Échantillons \ Région	M'sila		Setif	
	×10 <sup>4</sup>	Log	×10 <sup>4</sup>	Log
1	68	5,83	54	5,73
2	135	6,13	98	6
3	25	5,39	38	5,58
4	32	5,50	40	5,60
5	50	5,7	66	5,82
6	11	5,04	08	4,9
7	77	5,89	52	5,72
8	05	4,7	18	5,26
9	08	4,9	10	05
10	55	5,74	32	5,51
11	03	4,47	07	4,85
12	72	5,88	46	5,66
13	66	5,82	42	5,62
14	48	5,68	27	5,43
15	32	5,51	18	5,26

### Annexe N°03 :

#### Analyses physicochimiques

##### Test d'ébullition

###### 1. définition

C'est un simple traitement thermique suffit à faire précipiter les caséines du lait. Un lait qui n'est pas frais présente une structure de caséines particulièrement instables.

###### 2. Mode opératoire

- Introduire dans un tube 2 à 5ml de lait et porter à l'ébullition.

###### 3. Expression des résultats :

Dans le cas normal, le liquide reste homogène après quelques instants il forme en surface une pellicule blanche, plissée (formée principalement de calcium, de protides et de matière grasse). Les laits acidifiés (au 25°D) coagulent par ébullition.

##### Mesure de PH du lait

###### 1. Définition

Le pH par définition est une mesure de l'activité des ions H<sup>+</sup> contenue dans une solution.

###### 2. Principe

Détermination du pH de lait cru par voie électro-métrique en utilisant pH-mètre.

###### 3. Réactifs

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique reconnue.

- Eau distillée
- Solution tampons pour l'étalonnage du pH-mètre. Deux solutions tampons étalon, ayant à 20°C, des valeurs de pH connues, par exemple une solution phtalate ayant un pH voisin de 4 et une solution de phosphate ayant un pH voisin 7.

###### 4. Appareillage

- pH-mètre muni d'un thermomètre.
- Becher.

###### ❖ Mode opératoire

- Préparation de l'échantillon pour l'essai
- Détermination :

###### ✓ Etalonnage du PH-mètre

1. Ajuster la température des solutions tampons à 20°C±1°C.
  2. Etalonner le PH-mètre conformément aux instructions du fabricant.
-

3. Placer l'électrode dans le bécher contenant le tampon Ph 7 sous agitation modérée et régler le PH-mètre à 7 après stabilité de l'indicateur de valeur.
4. Rincer l'électrode à l'eau distillée, essuyer l'électrode en la tamponnant et la prolonger dans le bécher contenant le tampon pH 4.
5. Régler la pente de l'électrode pour amener l'indicateur de pH à la valeur du tampon.
6. Rincer et essuyer l'électrode et vérifier que le premier réglage à pH 7 n'a pas varié, sinon pour suivre les réglages.
7. Si une série d'échantillon est analysé, vérifier l'étalonnage du PH-mètre avec les deux solutions étalons au moins toutes les 30 minutes.

### ✓ **Mesure de pH**

1. Plonger l'électrode dans le lait et déterminer immédiatement le pH au moyen du PH-mètre après avoir soigneusement rincé l'électrode de mesure avec l'eau.
2. Après stabilisation de la valeur par le PH-mètre, procéder à lecture.

## **5. Expression des résultats**

### • **Lecture du pH**

Noter comme pH de lait, la valeur indiquée par le PH-mètre.



**Figure 20 : PH-mètre (originale)**

## **Mesure de l'acidité du lait (NF-V04-206)**

### **1. Définition**

En entend par acidité titrable du lait, l'acidité déterminée dans les conditions de la méthode décrite par la présente norme. Elle est exprimée conventionnellement en gramme de phénolphtaléine comme indicateur.

### **2. Principe**

Titration de l'acidité par l'hydroxyde de sodium en présence de phénolphtaléine comme indicateur.

---

### 3. Réactifs

- Solution d'hydroxyde de sodium titrée 0.111N.
- Phénolphtaléine 1%.

### 4. Appareillage

Matériel courant de laboratoire, et notamment :

- Burette à robinet graduée NF B35-301.
- Bêchers NF B35-001.
- Pipette à lait de 10ml.

#### ❖ Mode opératoire

- Préparation de l'échantillon.
- Prise d'essai :
  - ✓ Dans un bécher, introduire 10ml de lait prélevé à la pipette, ou peser, à 0.001g près, environ 10g de lait.
    - Dosage :
      - ✓ Ajouter dans un bécher 02 à 03 gouttes de phénolphtaléine.
      - ✓ Titrer par la solution d'hydroxyde de sodium jusqu'à virage au rose, facilement perceptible par comparaison avec un témoin constitué du même lait.
      - ✓ Après le virage la teinte rose disparaît progressivement. Il n'y a pas lieu de tenir compte de cette décoloration. On considère que le virage est atteint lorsque la coloration rose persiste pendant une dizaine de secondes.

#### ❖ Expression des résultats

Mode de calcul et formules :

L'acidité exprimée en gramme d'acide lactique par 100g de lait est donnée par la formule suivante :

$$A = V \times 10$$

Où : A : est l'acidité doronic.

V : est le volume en (ml) de soude doronic.

Répétabilité :

La différence entre les résultats de deux déterminations effectuées simultanément ou rapidement l'une après l'autre par le même analyste ne doit pas être supérieure à 0.05g d'acide lactique par litre de lait ou 0.005g pour cent grammes de lait.

---

### Dosage de la matière grasse (Méthode de GERBER)

#### 1. Définition

La méthode acido-butyrométrique est une technique conventionnelle qui donne une teneur en matière grasse exprimée en gramme pour 100g de lait, qui est obtenue par la méthode de référence gravimétrique.

#### 2. Principe

Dissolution des protéines du lait, matière grasse exceptée, par l'acide sulfurique. Sous l'influence de la force centrifuge et grâce à l'addition d'une quantité d'alcool iso-amylique, la matière grasse se sépare.

Le butyromètre est gradué de manière à donner par lecture directe le pourcentage en masse matière grasse.

#### 3. Réactifs

Les réactifs doivent être de qualité analytique.

-Acide sulfurique (91°) : Masse volumique à 20°C est égale  $1.820 \pm 0.005$  g/ml.

-Alcool iso-amylique : Masse volumique à 20°C est égale  $0.811 \pm 0.002$  g/ml.

#### 4. Appareillage

- Butyromètre 6%.
- Mesure ou pipette de sûreté permettant de délivrer  $10 \pm 0.2$  ml d'acide sulfurique.
- Mesure ou pipette de sûreté permettant de délivrer  $1 \pm 0.05$  ml d'alcool iso-amylique.
- Pipette de  $10 \pm 0.2$  ml graduée en ml.
- Centrifugeur fonctionnant à  $1100 \pm 50$  tours/minute.

##### ❖ Mode opératoire

1. Placer 10 ml d'acide sulfurique (91%) dans le butyromètre en prenant la précaution de ne pas mouiller le col du butyromètre en laissant le réactif s'écouler le long de la paroi du tube du butyromètre.
  2. Ajouter 11 ml de lait.
  3. Ajouter 01 ml d'alcool iso-amylique puis bien fermé le butyromètre.
  4. Agiter et retourner le butyromètre, le manipulateur étant convenablement contre les risques de casse, jusqu'à ce que son contenu soit complètement mélangé, et jusqu'à dissolution complète des protéines.
-

5. Placer le butyromètre dans la centrifugeuse. Centrifuger 05 min dès que la vitesse requise est atteinte.

### ❖ Lecture

1. Retirer le butyromètre de la centrifugeuse, le bouchon étant toujours dirigé vers le bas, et ajuster soigneusement avec le bouchon pour amener l'extrémité inférieure de la colonne de grasse avec le minimum de mouvement de cette colonne au trait de graduation 0.
2. Lorsqu'on fait la lecture, le butyromètre doit être maintenu verticalement, l'œil au niveau du point de lecture.

### ❖ Expression des résultats

- Mode de calcul :

La teneur en matière grasse est égale à la valeur lue à l'extrémité supérieure de la colonne de la matière grasse.

La teneur en matière grasse est exprimée en gramme pour 100g de lait.

- Fidélité :

Répétabilité :

La différence entre deux résultats obtenus sur un produit identique soumis à essai, par le même analyste utilisant le même appareillage dans un court intervalle de temps, ne doit pas excéder 0.4.

Reproductibilité :

La différence entre deux résultats individuels et indépendants obtenus par deux opérateurs travaillant dans des laboratoires différents sur un produit identique soumis à essai, ne doit pas excéder 1.



**Figure 21** : butyromètre

---

### Détermination de la masse volumique

La densité du lait est une résultante intrinsèque de ses constituants, elle dépend de leur degré d'hydratation notamment en ce qui concerne les protéines (**Hardy, 1987**). La densité du lait est le rapport des masses d'un même volume de lait et d'eau à 20°C (**Mathieu, 1998**).

On a déterminé la masse volumique par deux méthodes différentes :

#### ❖ Méthode du pycnomètre

##### • Mode opératoire

- ✓ Peser le pycnomètre à vide.
- ✓ - Remplir de lait à 20°C et cela en évitant toute incorporation en bulles d'air.
- ✓ - Le pycnomètre est peser une 2<sup>ème</sup> fois.

##### • Expression des résultats

On a :

$$MV = [(M2 - M1) / V]$$

MV : la masse volumique

M1 : la masse du pycnomètre vide

M2 : la masse du pycnomètre remplis

V : volume du pycnomètre.

#### ❖ Méthode de lactodensimètre

##### • Mode opératoire

- ✓ Verser le lait dans l'éprouvette de 250 ml tenue inclinée afin d'éviter la formation de mousse ou de bulles d'air.
  - ✓ L'introduction de lactodensimètre dans l'éprouvette remplie de lait provoque un débordement de liquide ce débordement est nécessaire, il débarrasse la surface du lait des traces de mousse qui gêneraient la lecture.
  - ✓ Attendre trente secondes à une minute avant d'effectuer la lecture de la graduation, cette lecture étant effectuée à la partie supérieure du ménisque, lire la température.
-



**Figure 22** : Mesure de la densité par lactodensimètre (**originale**)

- **Expression de résultats**

$$MV = MV1 - [(20 - X) \cdot 0,0002]$$

**MV** : Masse volumique finale

**MV1** : la masse volumique lue sur lactodensimètre

**20°C** : la température référence

**X** : la température lue sur lactodensimètre (C°)

**0,0002** : constante.

### Mesure de la teneur en matière sèche totale

On entend par «matière sèche» du lait le produit résultant de la dessiccation du lait dans les conditions décrites par la norme (AFNOR, 1985).

- **Mode opératoire**

- ✓ Dans la capsule séchée et tarée, introduire à l'aide de la pipette 3g de lait.
- ✓ - Introduire dans l'étuve réglée à 103°C ± 2°C et l'y laisser 3 heures.
- ✓ - Mettre ensuite la capsule dans le dessiccateur et laisser refroidir jusqu'à la température ambiante.
- ✓ - On pèse en suite à l'aide d'une balance analytique le résidu.

- **Expression des résultats**

La matière sèche est exprimée en pourcentage comme suit :

$$[(M1 - M0) / (M2 - M0)] \cdot 100$$

**M0** : est la masse en grammes de la capsule vide.

**M1** : est la masse en grammes de la capsule et du résidu après dessiccation et refroidissement.

**M2** : est la masse en grammes de la capsule et de l'échantillon avant dessiccation.

### Détermination de l'extrait sec dégraissé

La matière sèche dégraissée est obtenue par différence entre la matière sèche totale et la matière grasse. Les laits normaux contiennent habituellement de 90 à 95 g de matière sèche non grasse.

$$\text{ESD} = \text{EST} - \text{MG}$$

**ESD** : extrait sec dégraissé.

**EST** : extrait sec total. **MG** : matière grasse.

### Annexe N°04 :

#### Analyses microbiologiques du lait cru

L'analyse microbiologique du lait est une étape importante qui vise d'une part à conserver les caractéristiques organoleptiques et sensorielles du lait, donc d'allonger sa durée de vie et d'autre part à prévenir les cas d'intoxication alimentaire liée à la présence des microorganismes pathogènes avant la transmission au consommateur .

L'analyse microbiologique du lait cru consiste en la recherche et /ou dénombrement d'un certain nombre de microorganismes susceptibles d'être présents dans le lait. Les analyses effectuées sont portées sur :

- la flore aérobie mésophile totale.
- les coliformes totaux et fécaux.
- les microorganismes pathogènes : les staphylococcus aureus

#### Méthode de dénombrement des microorganismes

- **Homogénéisation**

Elle est facilement réalisable par agitation manuelle.

- **Préparation des dilutions**

- ❖ Une série de dilutions est réalisée à partir de l'échantillon à l'aide d'une pipette pasteur stérile, 1 ml de l'échantillon à analyser est prélevé, ensuite l'introduire dans un tube contenant 9 ml de diluant ; l'eau physiologique (dilution  $10^{-1}$ ).
- ❖ Répéter ces étapes jusqu'à la dilution  $10^{-7}$

- **Le dénombrement des colonies**

On retient les boîtes contenant de 15 à 300 colonies. Le dénombrement des colonies est réalisé selon la formule suivante :  $N = \frac{\sum c}{(n1 + 0.1n2) d}$

$\sum c$  : somme des colonies de toutes les boîtes.

**d**: le facteur de dilution à partir duquel les premiers comptages ont été obtenus.

**n1** : nombre de boîtes positives de la première dilution.

---

**n2** : nombre de boites positives de la deuxième dilution.

### Dénombrement de la flore totale

- **Principe**

La technique est celle de numération en milieu solide en boite de Pétri avec l'ensemencement en masse sur le milieu PCA (Plate Count Agar) (**Guiraud, 1998**) (Figure 12).

- **Mode opératoire**

- ✓ Préparer les boites de pétries stériles.
- ✓ Ensemencer les boites par 1 ml de chaque dilution ( $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  et  $10^{-6}$ ).
- ✓ Ajouter la gélose PCA maintenue en surfusion à (45°C).
- ✓ Le mélange est homogénéisé par des mouvements circulaires.
- ✓ Après solidification, les boites sont retournées puis incubées à 30°C pendant 72 h, l'opération est réalisée en double.

- **Lecture des résultats**

La flore totale apparait sous forme de colonies blanchâtres de tailles et de formes différentes.

---

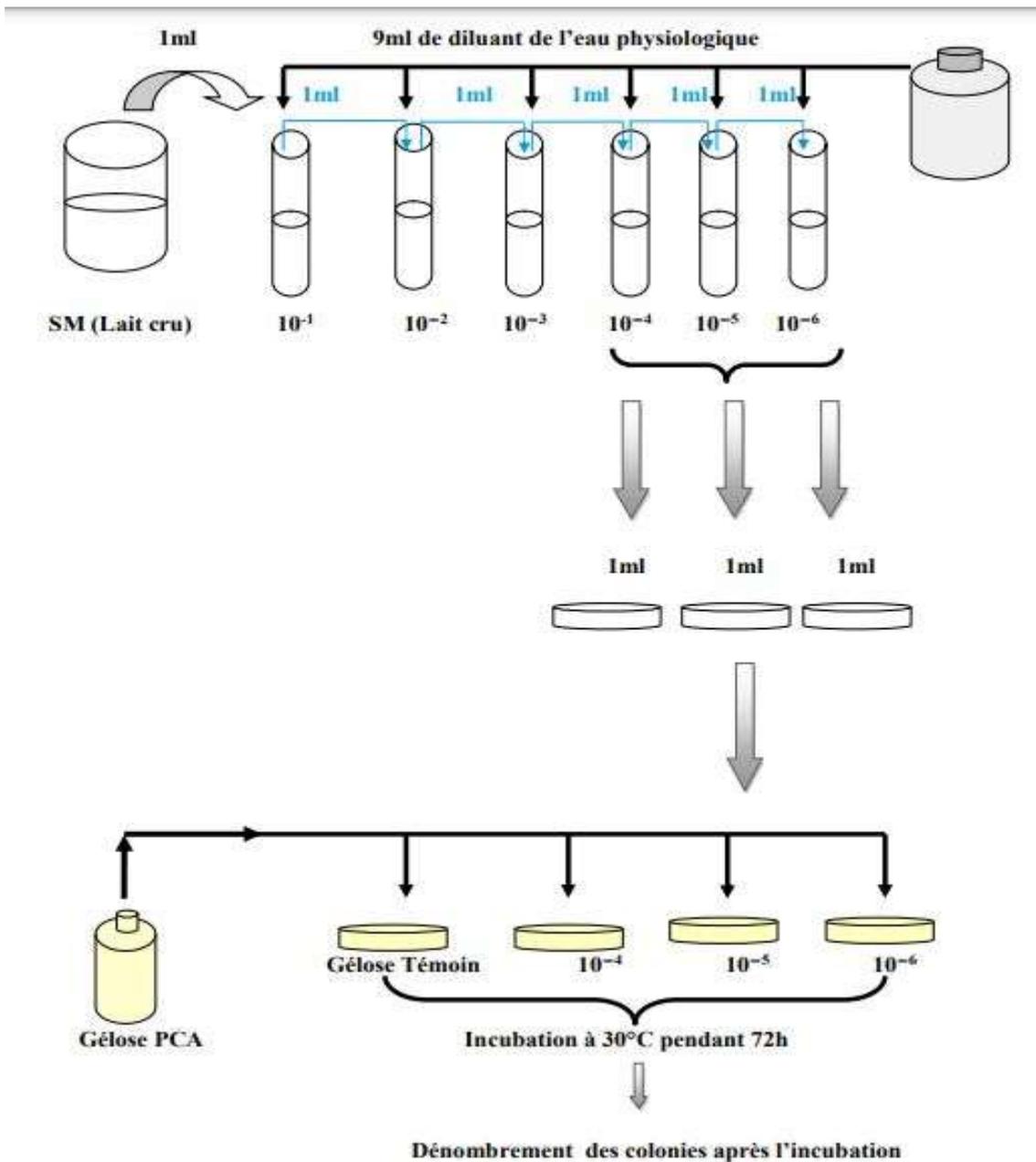


Figure 23 : Dénombrement de la flore aérobie mésophile

### Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux

- Principe

Le dénombrement des coliformes peut se faire soit sur milieu solide tel que le V.R.B.G (violet cristal rouge neutre bile glucosée) ; soit sur milieu liquide le bouillon lactosé au vert brillant et à la bile (BLBVB).

On a utilisé le milieu VRBG avec un ensemencement en masse de 1 ml de chaque dilution, les boites sont incubées pendant 24 h, à 30°C pour les coliformes «totaux» et à 44°C pour les coliformes «fécaux»(figure 24).

- **Mode opératoire**

- ✓ Préparer les boites de pétri stériles ;
- ✓ Introduire dans les boites 1ml de chaque dilution 10<sup>-4</sup> pour les coliformes fécaux et 10<sup>-5</sup> pour les coliformes totaux ;
- ✓ Ajouter la gélose VRBG ;
- ✓ Homogénéiser avec des mouvements circulaires ;
- ✓ Après la solidification, recouvrir la surface avec une 2ème couche mince du même milieu et laisser gélifier à température ambiante ;
- ✓ L'incubation a lieu pendant 24 heures, à 30°C pour les coliformes «totaux» et à 44°C pour les coliformes «fécaux».

- **Expression des résultats**

Les coliformes apparaissent sous forme de colonies de forme lenticulaires, violet avec un anneau rosâtre.

---

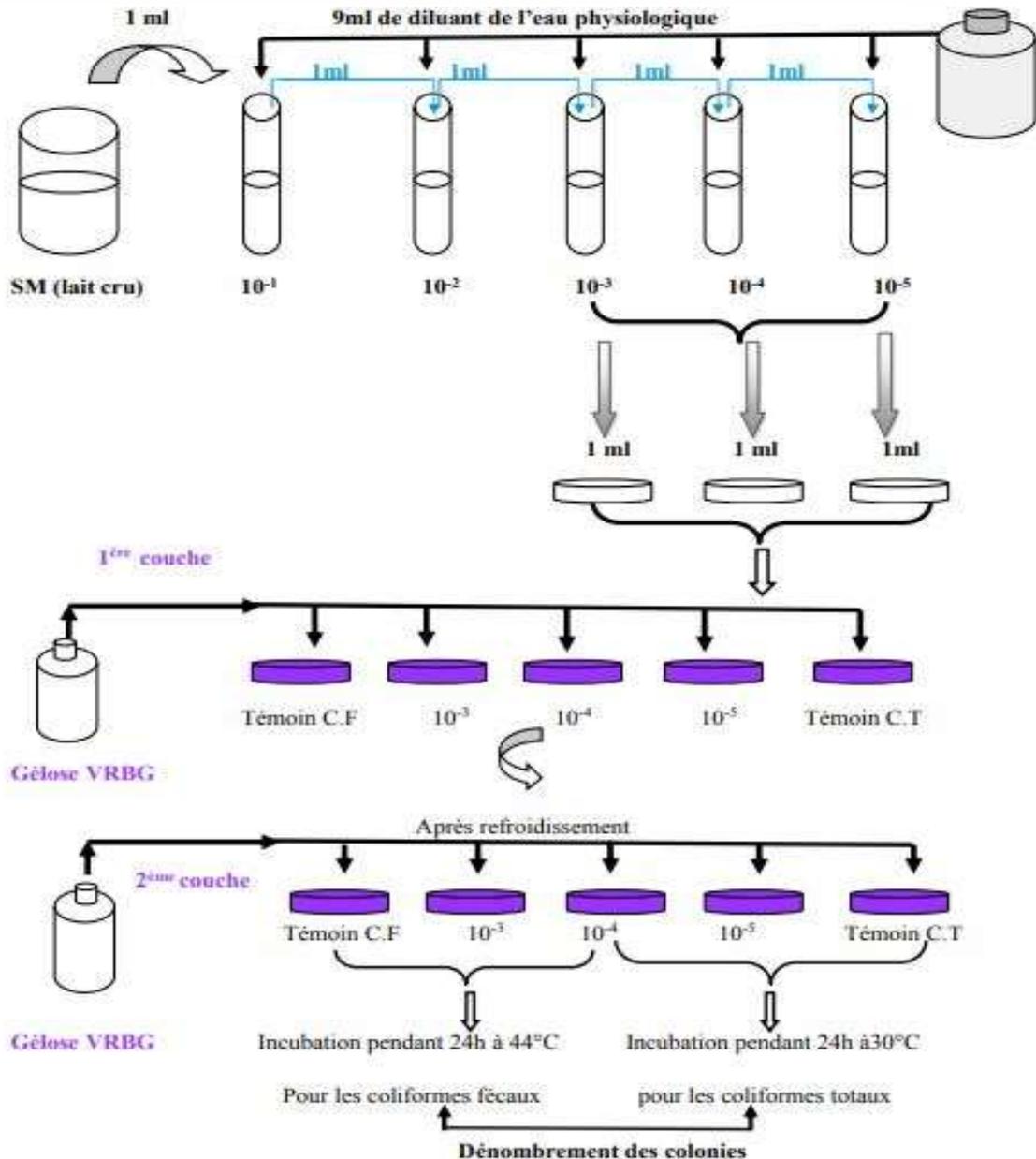


Figure 24 : Dénombrement des coliformes.

### Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus*

- **Principe**

On peut utiliser soit le milieu Baird Parker solide ou bien le milieu Chapman mannité contient une forte teneur en NaCl (7,5%) et inhibe la croissance de nombreuses bactéries autres que les Micrococcus et Staphylococcus.

On a utilisé le milieu Chapman, avec ensemencement en stries de 1ml de lait prélevé de la solution mère et l'incubation à 30°C pendant 24h (figure 14).

- **Mode opératoire**

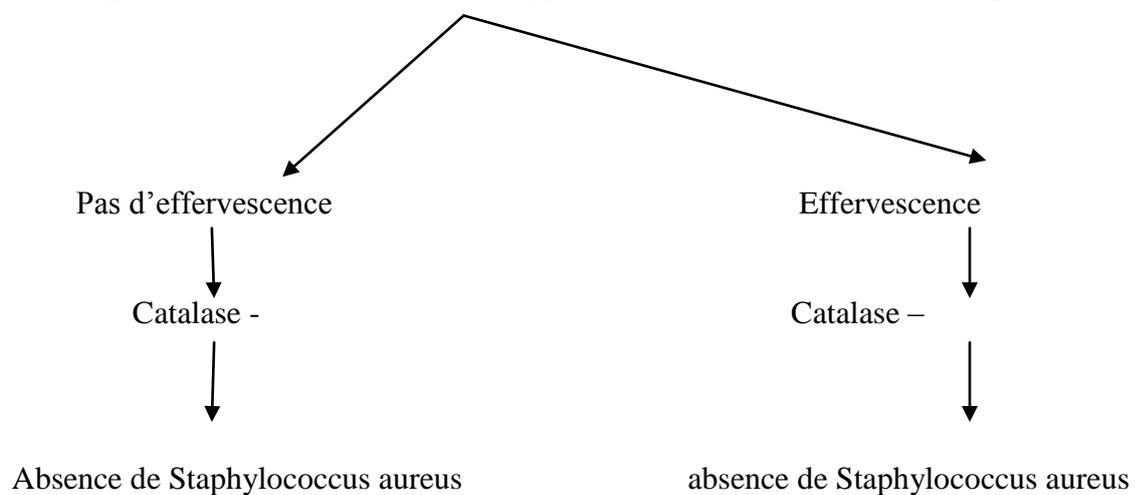
- ✓ Préparer une boîte de pétrie stérile.
- ✓ Ajouter la gélose Chapman mannité.
- ✓ Après la solidification, prélever une goutte du lait cru avec l'anse de platine.
- ✓ Ensemencer la goutte par des stries croisées et incuber à 30°C pendant 24 h.
- ✓ La présence de *Staphylococcus aureus* est confirmée par le test de la catalase.

- **Expression des résultats**

Les staphylococcus apparaissent sous forme de colonies bombées jaunes dorées et entourées d'un halo jaune résultant de la réduction de mannitol.

- **Test de la catalase**

Une goutte de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30%) (Eau oxygénée) est mise sur une colonie suspecte



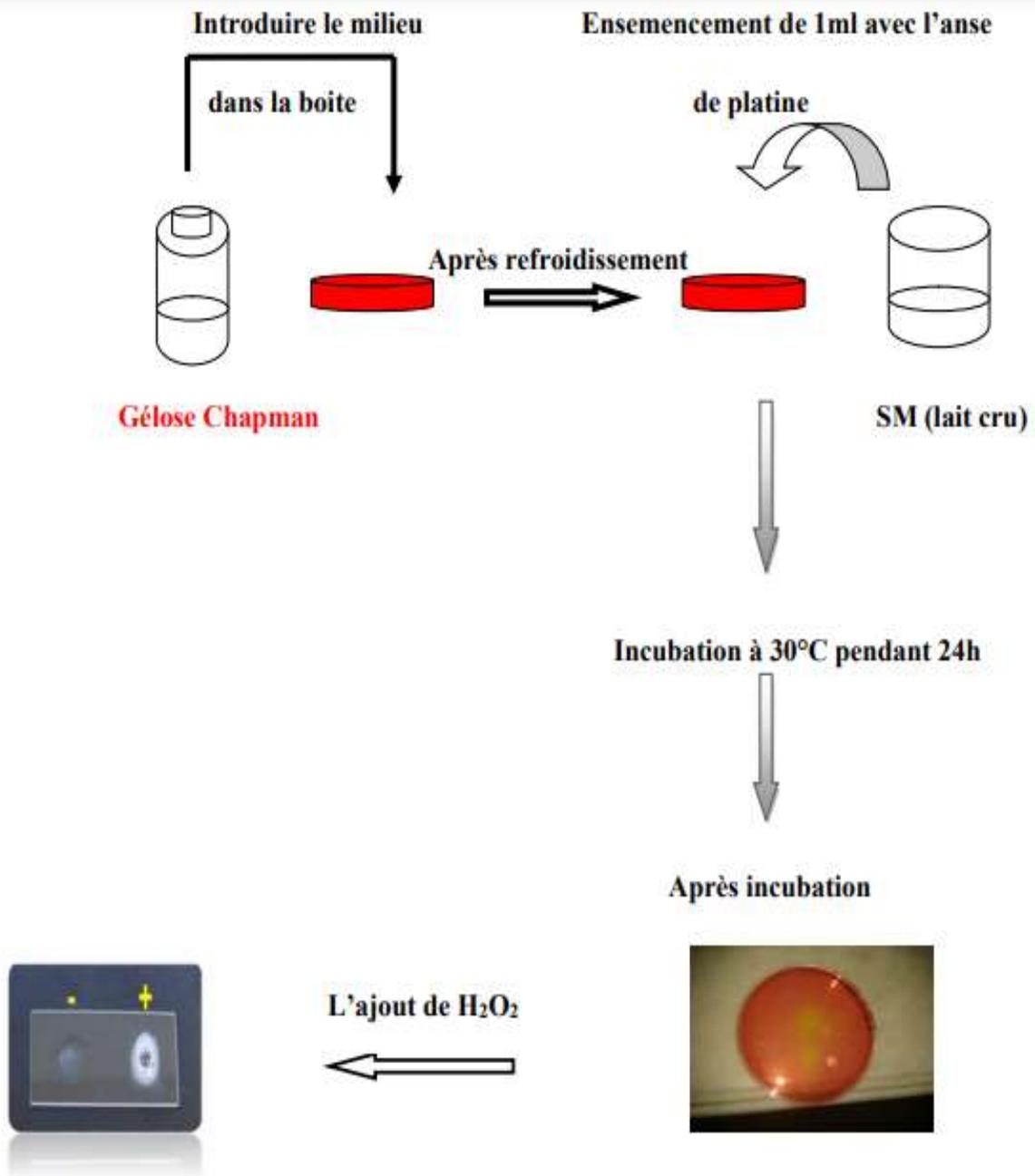


Figure 25 : Recherche et identification des staphylococcus aureus.

### Annexe n°05 : Les différentes méthodes de recherche des résidus d'antibiotiques

Les différentes méthodes de détection des résidus d'antibiotiques dans le lait sont représentées dans cette annexe.

Les méthodes microbiologiques sont très largement utilisées en routine. Elles sont qualitatives et constituent la première étape des plans de contrôle, et sont basées sur l'inhibition de la croissance bactérienne. Ces méthodes consistent à effectuer un contrôle positif «un antibiotique auquel la souche utilisée est sensible» et un contrôle négatif «l'eau distillée stérile ou un lait ne contenant pas d'antibiotiques» pour permettre de valider les résultats (**Bergogne-Berizin et Dellamonica, 1999**).

#### Test d'acidification

Pour ce test, on utilise une culture d'une bactérie capable de dégrader le lactose en acide lactique et un indicateur de couleur, le pourpre de bromocrésol, qui nous permet de savoir s'il y a eu acidification du milieu. La souche la plus adaptée pour cette méthode est *Bacillus stearothermophilus var. calidolactis* C953 (souche C953, CIP 5281) (**Ben Mahdi et Ooslimani, 2009**). Si le lait analysé contient des antibiotiques alors les bactéries ne dégraderont pas le lactose, la couleur du milieu reste inchangée. Par contre, l'absence d'antibiotique, se traduit par le virage de la couleur du bleu vers le jaune, il y a donc acidification.

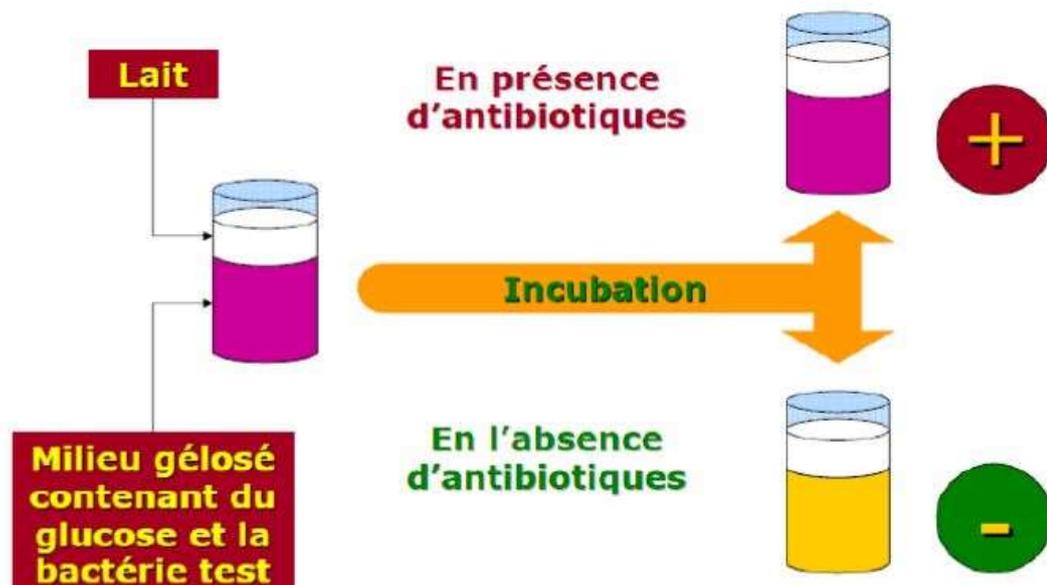


Figure 26 : Principe du test d'acidification (Singleton, 2008).

## Tests rapides

### Delvo test®

C'est un test de sélection microbiologique à large spectre, permettant de déceler les résidus de substances anti-infectieuses dans le lait à des niveaux proches des limites maximales des résidus, Il est particulièrement sensible vis-à-vis des pénicillines, des céphalosporines et des sulfamides (Romnee, 2009 ; Reybroeck, 2004 ; Verhneset Vandaele, 2002). Le principal inconvénient de ce test est sa durée d'incubation de 2 h 30 à 3 h (Brouillet, 2002 ; Verhnes et Vandaele, 2002). Il est livré sous forme de kits normalisés qui rendent son utilisation très simple (Brouillet, 2002).

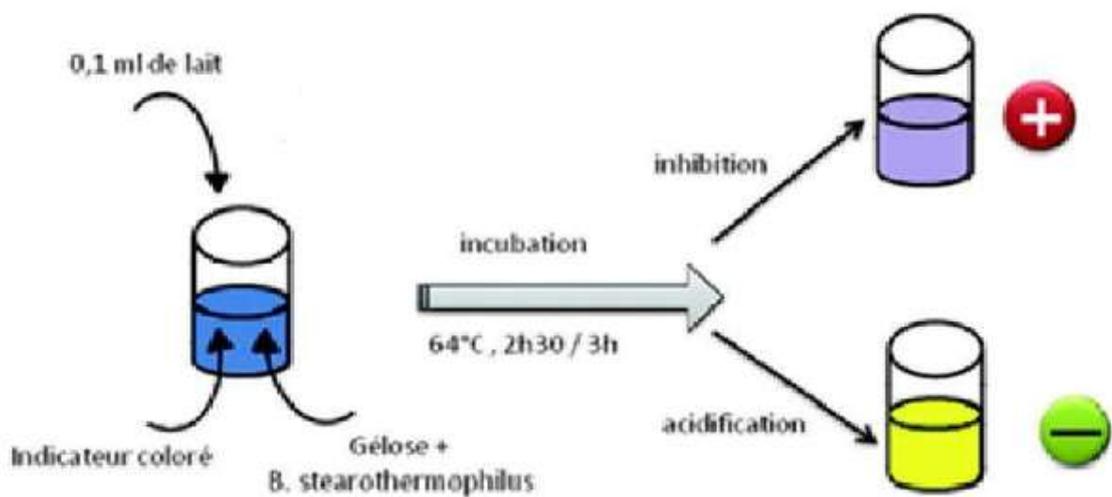


Figure 27 : Principe du Delvo test SP (Brouillet, 2002).

### .Copan test

Les Copan test P® et Copan test S100® kits : ont le même principe que le Delvo test SP®, la seule différence est que la tablette nutritive est préalablement incorporée à gélose, ce qui réduit la procédure d'une étape par rapport au Delvo test ®.

Ils associent le principe de diffusion en gélose avec la réduction d'un indicateur coloré. L'absence de substances antibiotiques inhibitrices est indiquée par un virement de l'indicateur.

Il se présente sous la forme de tubes unitaires ou de microplaques prêts à l'emploi permettant selon la présentation d'effectuer des analyses individuelles ou collectives (Reybroeck, 2004).

### Tests enzymatiques

Les méthodes enzymatiques sont très rapides et ont pour principe l'inhibition d'une enzyme en présence d'un résidu d'antibiotique spécifique. Cette enzyme n'est alors plus révélée par un indicateur coloré (**Bergogne-Berizin et Dellamonica, 1999**).

Le test le plus répandu est le Penzyme. Le test repose sur la capacité des  $\beta$ -lactames d'inhiber l'enzyme DD-carboxypeptidase responsable de la libération de la D-alanine à partir de l'Acetyl-L-Lys-D-Ala-D-Ala. En absence d'antibiotiques, la D-alanine est oxydée par la D-amino-oxydase et libère du peroxyde d'oxygène qui, en présence d'un indicateur coloré, génère une coloration rose. En présence d'antibiotiques, cette réaction colorimétrique est inhibée et le lait demeure blanc (**Lamontagne et al., 2002**).

### Tests immuno-enzymatiques

#### Beta Star

Le test Beta Star est une méthode du type "Receptor Assay" basée sur l'emploi d'un récepteur spécifique lié à des particules d'or (**Gaudin et AFSS A, 2005**). Il permet la détection rapide des résidus de bêta-lactames (pénicillines et céphalosporines) et tétracyclines dans le lait cru (**Reybroeck et Ooghe, 2012**) au-dessous de la Limite Maximale de Résidus. Le principe du test : un échantillon de 0.2 ml de lait est versé dans le flacon de récepteur qui contient le lyophilisat. Au cours de la première étape d'incubation, les antibiotiques, s'ils sont présents dans l'échantillon de lait, se lient aux récepteurs. Pendant la deuxième étape d'incubation, le lait migre sur un support immuno- chromatographique qui présente trois bandes:

- La première bande retient les bêta-lactamines
- La seconde bande sert de référence.
- La troisième bande retient les tétracyclines.

#### Twin Sensor BT

Est un test de compétition qui se base sur la reconnaissance de deux récepteurs spécifiques, l'un pour les bêta-lactames et l'autre pour les tétracyclines. Ce test permet l'analyse de lait cru, de poudre de lait ou de crème. Il est compatible pour le lait de vache, de chèvre et de brebis (**CNIEL, 2016**). Ce nouveau test est facile à utiliser, fiable et ne prend que 6 minutes pour obtenir le résultat (**Brouillet, 2002**).

---

### **ELISA test**

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

### **Test AuroFlow™ BT Combo Strip**

Le test AuroFlow™ BT Combo Strip est un test qualitatif et rapide à flux latéral conçu pour détecter à la fois les résidus d'antibiotiques bêta-lactamine et tétracycline dans le lait de vache cru mélangé.

### **Méthodes physico-chimiques**

Elles permettent d'identifier formellement la molécule de résidu présente dans la denrée et sa teneur exacte. Elles sont qualitatifs et quantitatifs, plus précis, et permettent de détecter les résidus même en concentration très faible, jusqu'à deux fois moins que les LMR. Ces tests de confirmation sont très coûteux en temps, en matériel et en réactifs et nécessitent un personnel bien formé.

### **Méthodes chromatographiques**

La chromatographie liquide haute performance (HPLC) et la chromatographie liquide ultra performance (UPLC) sont les méthodes chromatographiques les plus utilisées. Ces méthodes physico-chimiques sont basées sur l'extraction et la purification des antibiotiques à partir des tissus ou des liquides comme le lait (**Bergogne-Berizin et Dellamonica, 1999**).

De ce fait, la séparation de composés en solution élués s'effectue à travers une colonne chromatographique à l'aide d'une phase mobile liquide percolée grâce à une pression élevée. Effectivement, 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 (**Boultif, 2015**).

---

**Annexe N°06 : La composition de milieu de culture PCA**

❖ **Gélose standard pour dénombrement (Plat Count Agar)**

La gélose standard pour dénombrement est préparée selon la norme française N.F.04-505 et les recommandations de « American public Heath association ». Elle est utilisée pour le dénombrement des germes aérobies mésophile totaux dans les eaux, le lait, les viandes et produits à base de viande, et d'autres denrées alimentaires.

**Composition :**

Peptone .....	05g
Extrait de levure.....	2,5g
Glucose.....	01g
Gélose.....	15g
Eau distillé.....	1000ml
PH.....	7,2
Autoclavage.....	20min à 120°C



Annexe N°07 : Journal Officiel de la République Algérienne N° 39.

Journal 1434  
Juillet 2017

JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 39

13

ANNEXE I

Critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires

1- Lait et produits laitiers

Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/ métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc (1/g ou ufc/ml))	
		n	c	m	M
Lait cru	Germes aérobies à 30 °C	5	2	$5 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^6$
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	$10^2$	$10^3$
	Coliformes thermotolérants	5	2	$5 \cdot 10^2$	$5 \cdot 10^3$
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 ml	
	Antibiotiques	1	—	Absence dans 1 ml	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	
Lait pasteurisé et autres produits laitiers liquides pasteurisés	Germes aérobies à 30 °C	5	2	$10^4$	$10^5$
	Enterobacteriaceae	5	0	10	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 ml	
Lait UHT et lait stérilisé	Germes aérobies à 30 °C	5	0	100/1ml	
Lait en poudre et lactosérum en poudre	Enterobacteriaceae	5	2	10	$10^2$
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	$10^2$
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
Fromages au lait cru	<i>Escherichia coli</i>	5	2	$10^4$	$10^5$
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	$10^3$	$10^4$
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	
Fromages à base de lait ayant subi un traitement thermique moins fort que la pasteurisation et fromages affinés à base de lait ou de lactosérum pasteurisés ou ayant subi un traitement thermique plus fort que la pasteurisation	<i>Escherichia coli</i>	5	2	$10^2$	$10^3$
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	$10^2$	$10^3$
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	
Fromages à pâte molle non affinés (fromages frais) à base de lait ou de lactosérum pasteurisés ou ayant subi un traitement thermique plus fort que la pasteurisation	<i>Escherichia coli</i>	5	2	$10^2$	$10^3$
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	$10^2$
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	
Crème au lait cru	<i>Escherichia coli</i>	5	2	$10^2$	$10^3$
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	$10^3$	$10^4$
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	

AIN 25  
 1998  
 GRA 216  
 CF 2  
 c. Post. 1/16  
 L. 1/16  
 13-1/16  
 St. 1/16

**Annexe N°07 : Les calculs de la moyenne et l'écart type pour les deux régions**

<b>Tableau de bord</b>										
Région		pH	Acidité Dornic	Matière grasse (g/l)	Masse volumique (g/ml)	Extrait sec total (g/l)	Extrait sec dégraissé (g/l)	Log dénombrement de FMAT (UFC/ml)	Log dénombrement coliformes totaux (UFC/ml)	Log dénombrement coliformes fécaux
M'sila	Moyenne	6.5473	18.4133	33.8000	1.02733	117.5533	83.8067	6.1947	6.4667	5.4787
	Ecart-type	0.11119	.75011	1.85934	0.001113	4.84666	4.64661	.09395	0.42145	.48643
Sétif	Moyenne	6.6440	16.6933	31.8000	1.02673	111.8493	80.0493	6.1487	6.5033	5.4627
	Ecart-type	0.08990	.68813	2.62406	0.001486	6.35649	5.47666	.11476	0.31146	.34246
Total	Moyenne	6.5957	17.5533	32.8000	1.02703	114.7013	81.9280	6.1717	6.4850	5.4707
	Ecart-type	0.11085	1.12487	2.45511	0.001326	6.26580	5.34360	.10567	0.36459	.41341

## Résumé

Notre travail porte sur la détection des résidus d'antibiotiques dans le lait cru d'élevage dans la région de M'sila et Sétif. Un nombre de 30 échantillons de lait cru ont été prélevés et analysés à l'aide du test AuroFlow™ BT combo Strip. Des analyses bactériologiques et physicochimique sur ces échantillons ont été effectuées pour apprécier la qualité du lait cru, collecté par la laiterie HODNA. Les résultats physicochimiques sont conformes aux normes du JORA. Par contre les résultats microbiologiques sont supérieurs aux normes pour les FTAM au niveau de M'sila :  $1,68.10^6$ UFC/ml, et  $1,56.10^6$ UFC/ml], à Sétif. Le taux des échantillons de lait positifs aux résidus d'antibiotiques est nul. L'étude a confirmé qu'il y a absence effective de résidus d'antibiotiques dans le lait cru, mais la vulgarisation sur les risques des résidus sur la santé humaine doit être effectuée auprès des éleveurs, et une prise en charge légale doit être mise en place pour éviter les problèmes d'antibiorésistance chez les consommateurs.

**Mots clés :** Lait, résidus d'antibiotiques, normes risques, antibiorésistance

## Summary

Our work focuses on the detection of antibiotic residues in raw milk from farms in the region of M'sila and Setif. A number of 30 samples of raw milk were collected and analyzed using the AuroFlow™ BT combo Strip test. Bacteriological and physicochemical analyses on these samples were performed to assess the quality of raw milk, collected by the HODNA dairy. The physicochemical results are in accordance with the standards of JORA. On the other hand, the microbiological results are higher than the standards for FTAM at the level of M'sila:  $1.68.10^6$ UFC/ml, and  $1.56.10^6$ UFC/ml], in Setif. The rate of milk samples positive for antibiotic residues is zero. The study confirmed that there is effective absence of antibiotic residues in raw milk, but the popularization on the risks of residues on human health must be carried out among farmers, and a legal management must be put in place to avoid problems of antibiotic resistance among consumers.

**Key words:** Milk, antibiotic residues, risk standards, antibiotic resistance

## ملخص

يركز عملنا على الكشف عن بقايا المضادات الحيوية في الحليب الخام في منطقة المسيلة وسطيف , تم اخذ 30 عينة من الحليب الخام و تحليلها باستخدام اختبار اوروفلاو وتم اجراء التحليلات البكتيريولوجية و الفيزيائية الكيميائية على هذه العينات لتقييم جودة الحليب الخام الذي تم جمعه بواسطة منتجات ملبنة الحضنة. تتوافق النتائج الفيزيائية و الكيميائية مع معايير الجريدة الرسمية للجمهورية الجزائرية. ومن ناحية أخرى ، فإن النتائج الميكروبيولوجية للفتام تتفوق على معايير منطقة المسيلة  $1.68 \times 10^6$  وحدة و  $1.56 \times 10^6$  وحدة في منطقة سطيف .

معدل عينات الحليب الموجبة لبقايا المضادات الحيوية هو صفر، وأكدت الدراسة أن هناك غياب فعال لبقايا المضادات الحيوية في الحليب الخام ، ولكن يجب القيام بتعميم مخاطر المخلفات على صحة الإنسان مع المربين، والدعم القانوني و يجب وضعها لتجنب مشاكل مقاومة المضادات الحيوية بين المستهلكين.

**الكلمات المفتاحية :** الحليب ، بقايا المضادات الحيوية ، معايير المخاطر ، مقاومة المضادات الحيوية