République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université « Dr. MOULAY Tahar » de Saida

Faculté des sciences

Département de biologie

Laboratoire de Biotoxicologie, Pharmacognosie et Valorisation Biologiques des Plantes

Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme du Master en biologie

Option : Microbiologie appliquée

Contribution à la mise en évidence de l'effet des températures élevées sur des résidus d'antibiotiques et certains paramètres physico-chimiques du lait

Présenter par :

M^ELLE^. FATIMA IDRIS KHODJA

Soutenu publiquement, le 25 juillet 2019 devant le jury composé de :

Mr. Kahloula K	Professeur	Université de Saida	Président
Mr. Adli DEH	Maitre de conférences « A »	Université de Saida	Examinateur
Mr. ZIANI K	Maitre de conférences « A »	Université de Saida	Encadreur

Année Universitaire : 2018 – 2019

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui ma donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

Mes vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à cette recherche. Au professeur **Kahloula Khaled** d'avoir accepté de présider ce jury et au **Dr. Adli Djallel Eddine Houari** d'avoir examiné mon modeste travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Je souhaite remercier mon encadreur de mémoire, **M^{R}. ZIANI**, pour le temps qu'il a consacré à m'apporter les outils méthodologiques indispensables à la conduite de cette recherche. Son exigence m'a grandement stimulé.

Je remercie en particulier **Melle HENNI** et toute l'équipe du laboratoire de la laiterie, les vétérinaires praticiens et les inspecteurs vétérinaires de l'inspection vétérinaire de la wilaya, ainsi que le **D^{r}. MAATA** responsable de l'abattoir communal pour m'avoir donné l'occasion de réaliser mon travail de terrain.

Enfin, je tiens également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Résumé

Pour combler le déficit en protéines d'origine animale, les populations à faible revenu recourent généralement à la consommation du lait parce que, d'une part, en tant que produit très riche en nutriments, le lait peut suppléer à d'autres produits couteux tels que la viande, et d'autre part il est subventionné par l'état. Compte tenu du manque des données sur un statut national des denrées alimentaires d'origine animale et précisément le lait commercialisé vis-à-vis la présence des résidus d'antibiotiques, notre étude vise à chercher leur présence dans le lait de vache dans la région de Saida par une méthode immuno-chromatographique (Beta Star Combo). Ensuite, nous avons essayé de tester l'effet probable des températures élevées (pasteurisation à 85°C pendant 03 min et bouillage à 100°C pendant 3 min) sur des échantillons contaminés par ces substances chimiques et les caractéristiques physicochimiques du lait cru, pasteurisé et bouilli afin de vérifier la stabilité de ces paramètres vis-à-vis des différents traitement thermiques. A cet effet, 544 échantillons de lait cru ont été prélevé a partir des citernes de collecte dés leur arrivée à la laiterie « la source » groupe GIPLAIT unité de Saida durant une période de 04 mois (Janvier-Avril 2019), Tous les échantillons ont été analysés à l'aide du kit (Beta Star Combo) de détection rapide des résidus d'antibiotique dans le lait à l'état frais, pasteurisé (à 85°C) et bouilli (100°C). Une analyse physicochimique des mêmes échantillons a été mené pour vérifier la stabilité des paramètres physiques et chimiques suite a ces traitements thermiques. La recherche des résidus a révélé que 0,03% des échantillons était positifs dont les molécules majeures sont les Tétracyclines à 80% et les Beta-lactamines avec un pourcentage de 20%, les mêmes résultats sont trouvés dans les échantillons de lait après traitement thermique (pasteurisé et bouilli). Tandis que, la composition physico-chimique des différents types de lait analysés a montré une légère diminution du pH du lait bouilli par rapport au lait cru et pasteurisé, Les valeurs enregistrées de l'acidité sont situées entre 14 et 18°D avec une moyenne de 16,55 ±0,75 pour le lait cru et 15,60 ± 0,59 pour le lait pasteurisé. Cependant la densité, le taux de protéines et le taux butyreux ne présentent pas une différence significative suite aux traitements thermiques mais reste inférieur à la norme algérienne. Toutefois, une augmentation significative de la température du lait cru réceptionné a la laiterie avec une moyenne de 16,85±1,87 et après pasteurisation 11,60±1,35 loin de la norme. Ces résultats montrent une instabilité de la composition physicochimique du lait suite à l'ébullition ainsi qu'à la haute pasteurisation. On plus des tests et des analyses, une enquête à été réalisé auprès de 25 vétérinaires praticiens dans les différentes communes de la wilaya sur l'antibiothérapie en élevage bovin laitier dans la région. Ces questionnaires sur terrain ont confirmé nos résultats de laboratoire en ce qui concerne la large utilisation des Tétracyclines et des β-lactamines prouvé par la présence des résidus d'antibiotiques dans lait analysé. Ces résultats ont exprimé le statut actuel de la qualité du lait distribué dans notre région. Cette situation impose la nécessité d'une sensibilisation sur les risques de ces résidus au niveau des éleveurs, des producteurs et consomateurs.

Mots Clés : lait, résidus d'antibiotiques, Beta Star Combo, pasteurisation, bouillage, analyse physico-chimique, Saida

ملخص

لسد العجز في البروتين الحيواني, فإن السكان ذوو الدخل المنخفض يتجهون عموما إلى إستهلاك الحليب لأنه من جهة, بوصفه غني بالعناصـــر الغذائية, فإن الحليب يمكن أن يحل محل المنتجات الأخرى مرتفعة الثمن كاللحوم, و من جهة أخرى لأنه مدعوم من قبل الدولة. بالنظر إلى عدم وجود بيانات عن الوضـع الوطني للمواد الغذائية ذات الأصـل الحيواني والحليب الذي يتم تسـويقه على وجه التحديد فيما يتعلق بوجود بقايا المضـادات الحيوية ، تهدف دراسـتنا إلى العثور على وجودها في حليب البقر الطازج المسـوق على مسـتوى مدينة سـعيدة بالغرب الجزائري ثم حاولنا اختبار التأثير المحتمل لدرجات الحرارة المرتفعة (البسـترة عند 85 درجة مئوية لمدة 03 دقائق والغليان عند 100 درجة مئوية لمدة 3 دقائق) على العينات الملوثة بهذه المواد الكيميائية على الخصـائص الفيزيائية والكيميائية للحليب المبسـتر الطازج و المعالج بالحرارة للتحقق من مدى إسـتقرار هذه الخصـائص تحقيقًا لهذه الغاية ، تم جمع 544 عينة من الحليب الطازج من خزانات التجميع بمجرد اسـتلامها بمجمع إنتاج الحليب و مشـتقاته وحدة"المنبع" بالمدينة خلال فترة أشهر (من يناير إلى أبريل 2019). جميع العينات تم تحليلها باستخدام تحليل خاص للكشف السريع عن بقايا المضادات الحيوية في الحليب الطـازج لجميع العينـات التي تم جمعهـا في المنطقـة ؛ تم إجراء التحليـل الفيزيوكيميـائي لنفس العينـات للتحقق من ثبـات الخصـائص الفيزيائية والكيميائية بعد المعالجة الحرارية في درجات حرارة مختلفة. وكشـف البحث أن 0.03 ٪ من العينات كانت إيجابية "ملوثة بمخلفات المضـادات الحيوية" التي جزيئاتها الرئيسـية هي التتراسـيكلين 80 ٪ وبيتا لاكتام بنسـبة 20 ٪ ، تم العثور على النتائج نفسـها في عينات الحليب بعد المعالجة الحرارية (المبسـتروالمغلى) أظهرت التركيبة الفيزيائية والكيميائية لأنواع مختلفة من الحليب التي تم تحليلها انخفاضًـــا طفيفًا في الرقم الهدروجيني للحليب المغلى مقارنةً بالحليب الطازج والمبســـتر ، وتتراوح قيم الحموضـة المسـجلة بين 14 و 18 درجة مئوية بمتوسـط 16 ، 55 ± 0.75 للحليب الخام و 15.60 ± 0.59 للحليب المبسـتر. ومع ذلك ، فإن الكثافة ومحتوى البروتين والمحتوى من الدهون لا تظهر فرقًا كبيرًا بعد المعالجة الحرارية ولكنها تظل أدنى من المعايير الجزائرية. ومع ذلك ، هناك زيادة كبيرة في درجة حرارة الحليب الخام المستلم في الألبان بمتوسط 16.85 ± 1.87 وبعد البســـترة 11.60 ± 1.35 بعيدًا عن الدرجات العادية . هذه النتائج تظهر عدم اســـتقرار التركيب الفيزيائيو كيميائي للحليب بعد الغليان وكذلك البسـترة العالية. بالإضـافة إلى الاختبارات والتحليلات ، تم إجراء دراسـة اسـتقصـائية مع 25 من ممارسـي الطب البيطري مختلف بلديات الولاية حول العلاج بالمضـــادات الحيوية في علاج الأبقار الحلوبة في المنطقة. أكدت هذه الاســـتبيانات الميدانيةالنتائج التي حصـــلنا عليها مختبريا فيما يتعلق بوجود بقايا المضـــادات الحيوية في الحليب وكذلك الجزيئات الموجودة (الاسـتخدام الواسـع النطاق للتتراسـكلين والـــ β لاكتام. عبرت هذه النتائج عن الوضـع الحالي لجودة الحليب الموزع للاسـتهلاك المباشـر و / أو غير المباشـر لتحويل الحليب في منطقة سـعيدة يمكن تأكيد هذه النتائج من خلال ترسـيخ برنامج رقابة لوطنية و تحليلات أعمق لوجود بقايا المضـــادات الحيوية بالأغذية ذات الأصـــل الحيواني يعتبر أمرا وبالتالي فإن الحاجة إلى زيادة الوعي ضروريا بالنسبة لمربي الأبقار و ذلك بالتوعية لهم لاحترام أوقات الانتظار التي يوصى بها الأطباء البيطريين.

الكلمات المفتاحية : الحليب الطازج, بقايا المضادات الحيوية, البسترة, الغليان, التحاليل الفيزيوكيميائية , سعيدة

Abstract

To compensate for the protein deficit of animal origin, low-income populations usually resort to milk consumption because, on the one hand, as a product that is very rich in nutrients, milk can supplement other expensive products. such as meat, and secondly it is subsidized by the state. Given the lack of data on the national status of foodstuffs of animal origin and specifically marketed milk with regard to the presence of antibiotic residues, our study aims to find their presence in cow's milk in the region of Saida by an immunochromatographic method (Beta Star Combo). Then, we tried to test the likely effect of high temperatures (pasteurization at 85 °C for 03 min and boiling at 100 °C for 3 min) on samples contaminated with these chemicals and the physicochemical characteristics of the raw, pasteurized milk. and boiled to verify the stability of these parameters vis-à-vis different heat treatment. To this end, 544 samples of raw milk were collected from the collection tanks as soon as they were received at the dairy "source" group GIPLAIT Saida unit during a period of 04 months (January-April 2019), All samples were analyzed using the Beta star combo kit for rapid detection for antibiotic residues in fresh milk collected in the region, pasteurized and boiled (at 85°C and 100 ° C); Physicochemical analysis of the same samples was conducted to verify the stability of the physical and chemical parameters following heat treatment at different temperatures. The residue search revealed that 0.03% of the samples were positive "contaminated with antibiotic residues" whose major molecules are Tetracycline 80% and Beta-lactam with a percentage of 20%, the same results are found in milk samples after heat treatment (pasteurized and boiled). The physico-chemical composition of the different types of milk analyzed showed a slight decrease in the pH of boiled milk compared to raw and pasteurized milk. The recorded acidity values are between 14 and 18 °D with an average of 16.55±0.75 for raw milk and 15.60±0.59 for pasteurized milk. However, the density, the protein content and the butyrous content do not show a significant difference following the heat treatment but remain below the Algerian norm. However, a significant increase in the temperature of raw milk received at the dairy with an average of 16.85±1.87 and after pasteurization 11.60±1.35 far from the norm. These results show an instability of the physicochemical composition of the milk after boiling as well as the high pasteurization. In addition to tests and analyzes, a survey was conducted with 25 veterinary practitioners in the different communes of the town on antibiotic therapy in dairy cattle farming in the region. These field questionnaires confirmed our laboratory results regarding the presence of antibiotic residues in milk as well as the molecules found (wide use of Tetracyclines and β-lactams). These results expressed the current status of the quality of milk distributed for direct and / or indirect consumption for processing in the Saida region. This situation can be confirmed by national control with deeper analyzes of the presence of antibiotic residues in food of animal origin. And so the need to raise awareness of the risks of these residues at the level of farmers is essential for them to respect the wait times recommended by veterinarians.

Keywords: raw milk, antibiotic residues, Beta Star Combo, pasteurization, boiling, Physicochemical analysis, Saida.

LISTE DES ABRÉVIATION

AFNOR : Agence Française de Normalisation

AMM : Autorisation de la Mise sur Marché

ANDI : Agence Nationale de développement de l'Investissement

CEE : Communauté économique européenne

CNIEL : Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière

°D : Degré Dornic

DJA : Dose Journalière acceptable

DES : Dose Sans Effet

ELISA : Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

ESD : Extrait Sec Dégraissé

FAO : Food and Agriculture Organization (Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture)

FSA : Food Standard Agency

ISO : International Oranization for Standardization (organisation internationale de normalisation)

J.O.R.A.D.P : Journal officiel de la République Algérienne Démocratique et Populaire

LMR : Limite Maximale de Résidus

MG : Matière grasse

NF : Norme Française

T : Température

TP : taux protéique

OMS : Organisation Mondiale de Santé

pH : potentiel d'Hydrogéne

ppb : partie par billion

ppm : partie par million

CLHP : Chromatographie Liquide Haute Performance

UPLC : Chromatographie Liquide Ultra Performance

Table des Matières

Remerciements……i
Abstract……ii
Résumé……iii
ملخص……..……iv
Liste des abréviations……v
Table des matières……vi
Liste des figures……..……xiii
Liste des tableaux……..……xiv
Introduction générale……1

Partie Bibliographique

Chapitre I : Généralités sur le lait

1.1 Définition du lait……...3
1.2 Composition chimique moyenne du lait……...3
1.3 Propriétés physico-chimiques du lait……4
1.3.1 Aspect…….....4
1.3.2 Densité et masse volumique……5
1.3.3 pH et acidité……5
1.3.4 Point de congélation……...6
1.3.5 Point d'ébullition…….....6
1.3.6 Valeur nutritionnelle du lait……..6
1.4 Composant indésirables du lait …….....7
1.4.1 Pesticides ……7
1.4.2 Radio-éléments……7
1.4.3 Polychlorodryphénols……7
1.4.4 Métaux…….....8

1.4.5 Antibiotiques…….8

Chapitre II : Dangers liés aux présences des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires

2.1 Résidus d'antibiotiques……9
2.1.1 Origine des résidus d'antibiotiques……9
2.1.2 Évaluation de la toxicité des résidus……..10
2.1.2.1 Méthode d'évaluation de la dose sans effet d'un principe actif…10
2.1.2.2 Dose sans effet et « toxicité de relais »……...10
2.1.2.3 Dose journalière acceptable « DJA »…… 11
2.2 Dangers liés à la présence des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaire ……11
2.2.1 Toxicité directe des résidus d'antibiotiques……..12
2.2.2 Risques allergiques……..12
2.2.3 Risques cancérigènes……13
2.2.4 Risques bactériologiques……..13
2.2.4.1 Modifications de la flore digestive du consommateur……14
2.2.4.2 Risques d'antibiorésistances……..14
2.2.5 Problèmes liés à la transformation du lait……16
2.3 Réglementation concernant les résidus d'antibiotiques….17
2.3.1 Législation Européenne ……18
2.3.2 Législation Algérienne ……....18
2.3.3 Mise en place des limites maximales des résidus « LMR »…..18
2.3.4 Délai d'attente……19

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

3.1 Méthodes microbiologiques……20
3.1.1 Test d'acidification (Delvotest®)……20
3.1.2 Méthode de diffusion sur gélose……21
3.1.3 Méthode des quatre boites ……22
3.2 Méthodes physicochimiques……...22
3.2.1 Méthodes enzymatiques……22
3.2.2 Méthodes immunologiques……....23
3.2.3 Méthodes chromatographiques……24
3.2.4 Capteurs biologiques……...24

Partie Expérimentale

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

4.1 Rappel sur les objectifs de l'étude……25
4.2 Cadre et période de l'étude……...25
4.2.1 Présentation de la région d'étude ……..25
4.2.2 Démarche méthodologique……26
4.2.3 Questionnaire d'enquête……..27
4.2.4 Échantillonnage ……27
4.3 Analyse proprement dite……..28
4.3.1 Recherche avec BETA STAR Combo……28
4.3.1.1 Principe de la méthode……..28
4.3.1.2 Mode opératoire ……29
4.3.1.3 Sensibilité du test……30
4.3.2 Analyse physico-chimiques……30
4.3.2.1 Mesure du pH……..30

a. Principe……30
b. Mode opératoire……30
c. Expression des résultats……31
4.3.2.2 Détermination de l'acidité titrable……31
a. Principe……31
b. Mode opératoire……31
c. Expression des résultats……31
4.3.2.3 Détermination de la teneur en matière grasse……31
a. Principe……32
b. Mode opératoire……32
c. Expression des résultats……32
4.3.2.4 Détermination de la densité……32
a. Principe……32
b. Mode opératoire……32
c. Expression des résultats……33
4.3.2.5 Détermination de l'extrait sec totale……33
4.3.2.6 Détermination de l'extrait sec dégraissé……34
4.3.2.7 Détermination du taux de protéines……34
4.3.3 Analyse statistique……34

Chapitre V : Résultats et Discussion

5.1 Résultats de recherche des résidus……36
5.2 Résultats des analyses physico-chimiques……38
5.2.1 Température……38
5.2.2 pH et acidité……39
5.2.3 Densité ……41
5.2.4 Matière grasse……42
5.2.5 Extrait sec dégraissé……43

5.2.6 Taux de protéines……..44
5.3 Description du questionnaire ……45
5.3.1 Maladies dominantes……46
5.3.2 Critères de choix de l'antibiothérapie ……47
5.3.2.1 Spectre d'action……47
5.3.2.2 Efficacité et cout……...47
5.3.2.3 Délai d'attente……..47
5.3.3 Traitement par les antibiotiques……..48
5.3.3.1 Problèmes respiratoires……..48
5.3.3.2 Problèmes digestives……...48
5.3.3.3 Problèmes génitales et podales……..49
5.3.3.4 Traitement des mammites……..50
5.3.3.5 Respect du délai d'attente par les éleveurs……..51
5.3.3.6 Antibiorésistances……52

Conclusion et Perspectives…….53
Références Bibliographiques…….56

LISTE DES FIGURES

Figure 4.1	Situation géographique de la wilaya de Saida	**26**
Figure 4.2	Beta Star Combo (GHR HANSEN)	**29**
Figure 4.3	Résultats positif et négatif après analyse par le Beta Star Combo	**30**
Figure 5.1	Exemple de résultats positif et négatif de la contamination du lait par des résidus des antibiotiques après une analyse par le BetaStar Combo	**36**
Figure 5.2	Pourcentage des résultats des échantillons du lait contaminés par les tétracyclines et les beta-Lactamines après analyse par le test BetaStar Combo	**37**
Figure 5.3	Variations de la température des différents échantillons du lait analysés avant et après le traitement thermique	**38**
Figure 5.4	Variation de pH pour les différents échantillons du lait analysés	**40**
Figure 5.5	Variation de l'acidité pour les différents échantillons du lait cru analysés	**41**
Figure 5.6	Variation de la densité pour les différents échantillons du lait analysés	**42**
Figure 5.7	Variation de la matière grasse pour les différents échantillons du lait analysés	**42**
Figure 5.8	Variation de l'extrait sec dégraissé pour les différents échantillons du lait analysés	**43**
Figure 5.9	Variation de la matière protéique pour les différents échantillons du lait analysés	**44**

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1	Composition normale moyenne de lait de vache	**4**
Tableau 1.2	Caractères physique du lait cru	**4**
Tableau 1.3	Caractéristiques physico-chimiques d'un lait cru	**6**
Tableau 3.1	Présentation de la méthode des 4 boîtes utilisée pour le contrôle officiel.	**22**
Tableau 5.1	Résultats des moyennes des mesures des pH, Acidité, température et densité des échantillons de lait analysés	**35**
Tableau 5.2	Résultats des moyennes des mesures des matières grasses, extrait sec non dégraissé et des protéines des échantillons de lait analysés	**35**
Tableau 5.3	Présentation des problèmes rencontrés et des antibiotiques utilisée par les vétérinaires	**46**

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Le lait est un aliment très important dans notre société Algérienne, avec une consommation moyenne de 110 litres/an pour chaque habitant et une consommation nationale qui s'élève à plus de trois milliard de litres, ce qui rend l'Algérie est le premier consommateur du lait au pays du Maghreb **(Chambre Nationale d'Agriculture, 2008).** Le lait par ces caractéristiques nutritionnelles exceptionnelles considéré comme un aliment presque complet dont l'intérêt nutritionnel est incontestable chez le jeune en croissance et chez l'adulte. En Algérie, cette denrée, largement consommée, occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire. Comme le prix subventionné est à la portée du consommateur, elle représente, de ce fait, la principale source de protéine d'origine animale **(Benhedane, 2011 ; Boultif, 2015).**

Néanmoins, la production de cette denrée alimentaire n'échappe pas aux risques associés aux pratiques d'élevage. En effet, les antibiotiques en Algérie, restent parmi les molécules les plus utilisées en élevage bovin, leur usage, en traitement curatif, préventif ou en complémentation dans l'alimentation animale, conduit inévitablement à la présence de résidus dans les laits issus de ces animaux. Aujourd'hui, le problème causé par les résidus d'antibiotiques est à craindre car les quantités de laits frais réservées à la transformation sont encore insuffisantes pour se permettre de rejeter les laits contenant des antibiotiques **(Benzaoui, 2017, Boultif, 2015)**.

De point de vue sanitaire, la consommation des résidus d'antibiotiques conduit à l'émergence d'une multitude de désagréments, aboutissant à titre d'exemple au déséquilibre de la flore intestinale, des effets toxiques ou allergiques, la sélection de bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques **(Borras *et al.*, 2011 ; Mekademi, 2008)** et à l'augmentation du risque de la carcinogénicité jusqu'à la toxicité aigüe pouvant causer la mort (cas du chloramphénicol) **(Hou *et al.*, 2014 ; Petrović *et al.*, 2008).**

En revanche, à l'échelle industriel, les conséquences peuvent être désastreuses ; les résidus entravent toute maturation de ferments lactiques, au cours de la transformation, engendrant ainsi des pertes économiques énormes **(Boultif, 2015)**. On assiste aujourd'hui à une utilisation irrationnelle et de manière totalement abusive et anarchique des antibiotiques en pratique rurale en Algérie. Le contrôle des résidus d'antibiotique n'étant pas réglementé. À ce jour, notre pays ne possède pas de limite maximale de résidus dans le lait, et autres produits issus des animaux, propres aux antibiotiques utilisés **(Benzaoui, 2017 ; Layada, 2017 ; Boultif, 2015)**.

Pour cela, notre objectif de travail est de réaliser en premier lieu, une enquête sur les antibiotiques les plus utilisés dans le traitement des pathologies des vaches laitières auprès des vétérinaires praticiens à titre prévu dans la wilaya de Saida. En second, un contrôle des résidus d'antibiotique dans le lait cru et de mener une étude sur l'effet de pasteurisation et de l'ébullition sur la présence éventuelle de ses molécules et sur la stabilité de certains paramètres physico-chimiques a été réalisé.

Pour arriver à ces objectifs nous avons adopté trois démarches :

- ✓ Enquête sur les pratiques d'utilisation des antibiotiques en élevage bovin par les vétérinaires praticiens ;
- ✓ Le dépistage des résidus d'antibiotique dans le lait collecté dans la région à l'état frais, pasteurisé et bouilli (à 85°C et à 100°C);
- ✓ Les caractéristiques physico-chimiques des laits a été analysée pour les différents échantillons (cru, pasteurisé et bouilli)

L'évaluation des résidus d'antibiotiques qualitativement et semi quantitativement a été effectué par le biais d'une méthode immuno-chromatographique (Beta-Star Combo), et par la suite des analyses physicochimiques sur les échantillons à différents traitements thermiques pour tester l'effet probable des températures de pasteurisation et bouillage sur ces substances chimiques et ainsi sur la stabilité des paramètres physicochimiques des mêmes échantillons testés.

Les résultats de notre travail sont présentés dans une partie dite expérimentale après avoir présenté l'essentiel de la synthèse bibliographique dans les quatre premiers chapitres.

CHAPITRE I

GÉNÉRALITÉS SUR LE LAIT

Le lait est défini comme : « le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum » **(Bourgeois et *al.*, 1996 ; Larpent, 1997)**. Réglementairement le colostrum est le produit de la sécrétion mammaire obtenu au minimum pendant les sept jours qui suivent le part.

Le dictionnaire de terminologie de la fédération internationale de laiterie définit le lait ainsi : « le produit de la sécrétion mammaire normale obtenu par une ou plusieurs traites, sans aucune addition ou soustraction ».

La dénomination « lait » sans indication de l'espèce animale de provenance est réservée au lait de vache. Tout lait provenant d'une femelle laitière, autre que la vache, doit être désigner par la dénomination « lait », suivie de l'espèce animale dont il provient. **(J.O.R.A.D.P N° 69, 1993)**

1.1 Composition chimique moyenne du lait

La composition du lait (**Tableau 1.1**) varie d'une espèce de mammifère à une autre car elle est adaptée aux besoins de chacune d'elle. Cependant, on trouve des caractéristiques communes aux différents laits à savoir la richesse en calcium, qualité protéique appréciable, le lactose comme sucre prédominant et une richesse en vitamines notamment du groupe B. Sa composition dépend aussi d'autres facteurs tels que la race des vaches, la saison et le climat. Certains de ces facteurs peuvent être contrôlés donc modifiés pour améliorer la rentabilité laitière d'une vache **(Mathieu, 1998).**

Le lait est un substrat très riche fournissant à l'homme et aux jeunes mammifères un aliment presque complet : protides, glucides, lipides, sels minéraux et vitamines

sont présents à des concentrations tout à fait satisfaisantes pour la croissance et la multiplication cellulaire **(Larpent, 1997).**

Tableau 1.1 : Composition normale moyenne de lait de vache **(Joffin et Joffin, 1999)**

Composition	Pour 1 dm^3
Eau	900 g
Lactose	50 g
Lipides	35 g
Protéines	30 g
Ions minéraux	9 g
Vitamines	traces

1.2 Propriétés physico-chimiques moyennes du lait

1.2.1 Aspect

Le lait apparait comme un liquide opaque, blanc mat, plus ou moins jaunâtre selon la teneur de la matière grasse en ß-carotène **(Cudec, 2001).** L'examen de la consistance et de la couleur, de l'odeur et de la saveur du lait cru peut apporter certaines indications sur la qualité du produit. Il est blanc mat légèrement jaunâtre s'il est très riche en crème ; il est homogène ; son gout est agréable et son odeur faible **(Guiraud, 1998).** Le tableau 1.2 résume les différents caractères normaux et anormaux du lait cru.

Tableau 1.2 : Caractères physique du lait cru **(Larpent, 1997).**

	Caractère normal	Caractère anormal
Couleur	Blanc mat Blanc jaunâtre (lait riche en crème)	Gris jaunâtre : lait de mammite Bleu, jaune : lait coloré par des substances chimiques ou des pigments bactériens
Odeur	Odeur faible	Odeur de putréfaction, de moisis, de rance
Saveur	Saveur agréable	Saveur salée : lait de mammite Gout amer : lait très pollué par des bactéries
Consistance	Homogène	Granuleuse : mammite Visqueuse ou coagulée : pollution bactérienne

1.2.2 Densité et masse volumique

La masse volumique est le quotient de la masse d'un certain volume de lait à 20°C, par ce volume, elle s'exprime en g/ml. La densité du lait est le rapport des masses d'un même volume de lait et d'eau à 20°C **(Mathieu, 1998).** Selon la réglementation algérienne **(J.O.R.A.D.P ; N°6, 1993),** la densité doit être comprise entre 1030 et 1034.

1.2.3 pH et acidité

Dès sa sortie du pis de vache, le lait a une certaine acidité. Cette acidité est due principalement a la présence des protéines, surtout les caséines et les lactalbumines, de substances minérales telles que les phosphates et le gaz carbonique, ainsi que des acides organiques, le plus souvent l'acide citrique **(Amariglio, 1986).**

Le pH et l'acidité ont une importance exceptionnelle par l'abondance des indications et des renseignements qu'ils donnent sur la richesse du lait en certains de ces constituants, son état de fraicheur ou sa stabilité **(Mathieu, 1998).**

Le lait frais contient très peu d'acides et son pH est voisin de la neutralité. Le pH du lait frais normal de vache est de l'ordre de 6,6 **(Guiraud et Galzy, 1980).** Cette valeur est due en grande partie aux groupements basiques ionisables et acides dissociables des protéines, aux groupements esters phosphoriques et citriques **(Mathieu, 1998).**

Le lactose ($C_{12}H_{22}O_{11}$) est un glucide du lait qui peut être transformé en acide lactique par les bacilles lactiques. L'augmentation de l'acidité du lait est donc lié à un développement important de la flore lactique (fermentation lactique) influencé par de mauvaises conditions de conservation (mauvaises conditions d'hygiène lors de la traite, lait insuffisamment refroidi après la traite, durée de conservation du lait trop importante **(FAO, 1998).** La teneur en acide lactique (donc l'acidité totale) d'un lait est un bon critère de qualité du lait **(Guiraud, 1998).**

Un lait frais, lait dont le lactose n'a pas encore été transformé en acide lactique à une acidité de l'ordre de 16°D **(Mathieu, 1998).**

1.2.4 Point de congélation

Le point de congélation du lait est l'une de ces caractéristiques physiques les plus constantes. Sa valeur moyenne, si l'on considère des productions individuelles de vache, se situe entre - 0,54°C et - 0,55°C **(Mathieu, 1998).**

La mesure de ce paramètre permet l'appréciation de la quantité d'eau éventuellement ajoutée au lait. Un mouillage de 1% entraine une augmentation du point de congélation d'environ 0,0055°C **(Goursaud, 1985).**

1.2.5 Point d'ébullition

L'ébullition propre du lait a lieu de 100,15°C à 100,17°C. Cependant à une température voisine de 80 à 90°C, lorsqu'on porte le lait sur le feu, il y a une montée du lait c'est-à-dire formation d'une membrane protéino-calcaire ou peau du lait (frangipane) qui gêne l'ébullition du lait **(Bouix et Leveau, 1980).**

Tableau 1.3 : Caractéristiques physico-chimiques d'un lait cru **(Mathieu, 1998).**

Caractéristiques	Valeurs
Densité	1,028 – 1,034
Acidité titrable en degré Dornic °D	15 - 18
Point de congélation	-0,5 – 0,55
Point d'ébullition	100,5 °C
pH	6,5 – 6,7

1.2.6 Valeur nutritionnelle du lait

Le lait est un aliment complet à l'état naturel contenant plusieurs éléments nutritifs indispensables. Sa valeur énergétique est de 700 Kcal/L. le lactose est le sucre prédominant dans le lait, il est connu pour jouer un rôle important dans la formation et la croissance du système nerveux des mammifères (synthèse de galactosides) **(Thapon, 2005)**. La haute qualité nutritionnelle des protéines du lait repose sur leur forte digestibilité et leurs compositions particulièrement bien équilibrée en acides aminés indispensables. Pour les nouveau-nés, les protéines du lait constituent une

source protéique adaptée aux besoins de croissance durant la période néonatal **(Derby, 2001).**

Le lait est également une excellente source de minéraux intervenant dans divers métabolismes humains notamment comme cofacteurs et régulateurs d'enzymes. Le lait assure aussi un apport non négligeable en vitamines connues, elles aussi comme facteurs essentiels intervenant dans les réactions du métabolisme. Il est néanmoins pauvre en fer et en cuivre et il est dépourvu de fibres **(Cheftel et Cheftel, 1996)**

1.3 Composant indésirables du lait

1.3.1 Pesticides

Les résidus de pesticides sont des substances polychlorées, liposolubles et s'accumulent donc dans les graisses de réserve. Lors de la fonte des graisses, les substances emmagasinées sont brusquement remises en circulation, et des manifestations d'intoxication peuvent apparaitre **(Beroza et Bowman, 1996).**

1.3.2 Radio éléments

Les radio-éléments, provenant surtout des retombées consécutives aux explosions atomiques mais aussi à l'emploi de plus en plus fréquent de ces isotopes **(Madelmont et Michon, 1969).** Certains, comme l'iode, ont une durée de vie suffisamment courte pour ne pas constituer un danger grave pour le consommateur **(Laug *et al.*,1963).** Certains sont indiscutablement dangereux en raison de la longue durée de vie et des possibilités de stockage dans le corps tel le Strontium **(Michon, 1963).**

1.3.3 Polychlorodryphénols

Certains produits chimiques, comme les phtalates, les esters de l'acide sébacique et certains polychlorobiphényles (PCB), présentent un certain degré de toxicité pour l'homme, d'autant plus que ces substances sont stables dans l'organisme ou elles s'accumulent dans le tissu adipeux **(Murata, Zabik et Zabik, 1977 ; Luquet *et al.* ; 1979).** Ces contaminations posent des problèmes particuliers, parce qu'il est souvent difficile d'en apprécier les conséquences à long terme sur la santé **(Vanier, 2005).**

1.3.4 Métaux

Parmi les métaux susceptibles de contaminer le lait à des taux inquiétants pour la santé, on peut citer le sélénium, l'arsenic, le plomb, le mercure et le cadmium **(vanier, 2005)**.

1.3.5 Antibiotiques

Les résidus d'antibiotiques présents dans les denrées alimentaires d'origine animale sont des traces de traitements médicamenteux reçus par l'animal de son vivant, tous les principes actifs ou leurs métabolites qui subsistent dans les viandes, le lait ou d'autres denrées alimentaires provenant de l'animal auquel le médicament en question a été administré **(Kebir, 2016)**. Leur présence dans le lait peut être responsable de phénomènes allergiques et cancérigènes **(Mitchell, 2005)**.

CHAPITRE II

DANGERS LIÉS À LA PRÉSENCE DES RÉSIDUS D'ANTIBIOTIQUES DANS LES DENRÉES ALIMENTAIRES

L'antibiotique destiné à l'animal est un médicament au même titre que celui destiné a l'homme. Les deux sont soumis a une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) mais le médicament vétérinaire a une exigence supplémentaire ; la fixation d'un temps d'attente. L'utilisation des antibiotiques pourrait amener a une présence anormale de résidus dans les denrées d'origine animale **(Follet, 2007 ; Oliveira *et al.*, 2006 ; Moretain, 2000)**.

Les résidus sont définis 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 **(Kebir, 2016 ; Lauraentie et Sanders, 2002).**

Ces substances chimiques peuvent causer des problèmes à deux niveaux : *Hygiénique* **:** toxicité des résidus pour le consommateur et *Technologique* **:** entrave la transformation industrielle du lait **(Rexach et Petransxiene, 1987 ; Moretain, 2000)**.

2.1 Résidus d'antibiotiques

2.1.1 Origine des résidus d'antibiotiques

Les modalités d'utilisation des antibiotiques en élevage bovin sont très bien codifiées, le praticien de terrain peut y avoir recours pour prévenir ou guérir une infection bactérienne clairement identifiée **(Chatellet, 2007)**. Néanmoins, selon Schwarz et Kehrenberg *et al*. (2001), ces antibiotiques peuvent être utilisés de quatre façons différentes, avec des objectifs différents :

- **A titre thérapeutique curatif** : avec comme objectifs d'obtenir la guérison des animaux cliniquement malades, d'empêcher l'excrétion bactérienne dans

les produits (lait, viandes) et d'éviter la contamination humaine lors d'infections zoonotiques (**Kantati, 2011 ; Chataigner et Stevens, 2005 ; Phillips *et al.*, 2004 ; Konig *et al.*, 1998 ; Zanditenas, 1999).**

- **En métaphylaxie :** pour empêcher la contamination de tous les animaux d'un lot d'élevage, lorsqu'une infection se déclare chez quelques animaux ou lorsque les manifestations cliniques sont très discrètes **(Kantati, 2011 ; Maillard, 2002).**
- **A titre préventif :** pour empêcher l'apparition des signes cliniques d'une infection bien connue et récurrente a des périodes de la vie des animaux, ou encore pour compenser des conditions d'hygiène défavorable **(Kantati, 2011).**
- **En tant qu'additifs alimentaire :** les antibiotiques sont utilisés comme facteurs de croissance afin d'améliorer la productivité des élevages **(Sanders, 2005 ; Bories et Louisot, 1999)**. Cependant depuis l'année 2006 l'usage d'antibiotiques en tant qu'additifs en vue d'améliorer la croissance et les performances des animaux est banni dans l'union européenne **(Kantati, 2011 ; Guillemot, 2006).**

2.1.2 Évaluation de la toxicité des résidus

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 (DES) et l'étude de la « toxicité sans relais » **(Boultif, 2015)**

2.1.2.1 Méthode d'évaluation de la dose sans effet d'un principe actif

La DES d'un principe actif est la dose expérimentale maximale, qui administrée régulièrement per os pendant un temps suffisamment long n'entraine aucune manifestation toxique chez l'espèce la plus sensible, selon des critères cliniques, biochimiques et anatomopathologiques **(Stoltz, 2008)**. Les résultats sont ensuite extrapolés a l'homme **(Puyt, 2003 ; Laurentie et Sanders, 2002 ; Delatour, 1981).**

2.1.2.2 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 **(Dziedzic, 1988)**. Ce type de protocole reproduit ainsi les circonstances naturelles de consommation des résidus **(Stoltz, 2008)**. Partant de cette DES on peut calculer la Dose Journalière Admissible (DJA) **(Stoltz, 2008 ; Fabre *et al.*, 2006 ; Moretain, 2000).**

2.1.2.3 Dose Journalière Acceptable « DJA »

À partir de la dose sans effet, on détermine une dose journalière acceptable (DJA) pour l'homme en divisant la dose sans effet par un facteur de sécurité arbitraire de 100 à 1000, selon la nature des effets expérimentaux observés. 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 la santé **(Puyt, 2003 ; Laurentie et Sanders, 2002 ; FAO-OMS, 1995, Delatour, 1981)**.

2.2 Dangers liés à la présence des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaire

Une portion non négligeable des produits laitiers retrouvés sur le marché, tels les yogourts et les fromages, sont préparés par fermentation du lait à l'aide de bactéries lactiques. Les caractéristiques texturales et organoleptiques de ces produits sont directement liées au degré de croissance de ces bactéries dans le lait de départ. Occasionnellement, et a cause de la présence des antibiotiques, certains laits sont jugés impropre a la consommation et a la transformation en produits fermentés **(Barbut et Petit, 2007)**. Les risques pour le consommateur et la santé publique liés à cette présence de résidus dans les denrées alimentaires sont **(Reig et Toldra, 2008)** :

- risque de toxicité directe ;
- risque allergique ;
- risque cancérigène ;
- risque de pathologie liée à la modification de la flore digestive ;
- risque d'apparition, de sélection et de dissémination de résistances bactériennes aux antibiotiques au sein des populations humaines et animales.

La présence de résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires, et notamment le lait, pose également un problème à l'industrie agroalimentaire pour la fabrication de produits fermentés. Les résidus d'antibiotiques sont alors appelés « inhibiteurs ». Ainsi, la notion d'inhibiteur correspond à un problème technologique et la notion de résidu correspond à un problème de santé publique **(Fabre *et al.*, 2002)**.

2.2.1 Toxicité directe des résidus d'antibiotiques

Les antibiotiques sont des médicaments antibactériens d'origine naturelle, produits à partir des champignons ou des bactéries ou obtenus par synthèse ou semi-synthèse. Ils ont en principe une toxicité sélective, c'est-à-dire qu'ils sont toxiques pour les bactéries mais non pour l'organisme; ce qui malheureusement n'est pas toujours vrai. Comme pour tout médicament actif, les antibiotiques sont susceptibles de provoquer des accidents plus ou moins importants. Il faut cependant signaler que du fait de leur mode d'administration qui se fait souvent par voie générale, les antibiotiques constituent une classe relativement peu toxique. Ces effets indésirables, même s'ils sont relativement peu fréquents et rarement graves doivent dans tous les cas faire l'objet d'une déclaration au niveau des centres de pharmacovigilance **(Clive *et al.*, 1999)**.

2.2.2 Risques allergiques

En médecine humaine, l'allergie est un effet secondaire reconnu des antibiotiques et en particulier des beta-lactames car ces derniers sont a la fois très immunogènes et souvent utilisées **(Fabre *et al.*, 2006 ; Châtaigner et Stevens, 2005 ; Boatto *et al.*, 1998 ; Pepin et Boudene, 1977)**. Cependant, compte tenu du très faibles taux de résidus présents dans l'organisme, comparés aux concentrations d'antibiotiques administrées lors de traitement ou de prophylaxie, il est très improbable qu'ils soient à l'origine d'une sensibilisation primaire de l'individu **(Châtaigner et Stevens, 2005 ; Brouillet, 1994 ; Burgat et Sacaze, 1981 ; Labie, 1981).**

Cependant des cas d'allergies aux résidus de pénicilline dans les aliments d'origine animale ont été scientifiquement prouvés, ceux-ci restent extrêmement rares ; quelques cas seulement d'allergie a la pénicilline suite a la consommation des produits laitiers, ont été déclarés dans le monde depuis plusieurs décennies **(Federicci et Matthieu, 2000)**. Les antibiotiques, particulièrement les dérivés B- lactames et leurs

produits de dégradation, sont bien connus pour provoquer des réactions allergiques. Les patients ayant des antécédents d'allergie atopique paraissent particulièrement susceptibles de développer ces réactions. Les sulfamides, le triméthoprime, la nitrofurantoine et l'érythromycine ont aussi été associés à des réactions d'hypersensibilité, particulièrement des rashs **(Chambers et Sande, 1998).**

On peut dire que le rôle sensibilisant des résidus d'antibiotiques, c'est à- dire leur allergénicité, ne semble pas représenter un danger pour la santé publique. Par contre, leur rôle déclenchant, c'est-à-dire leur immunogénicité, peut entraîner des accidents chez des individus extrêmement sensibles (**Petrovic *et al.*, 2008 ; Stoltz, 2008 ; Hou *et al.*, 2014).** Cependant, les cas certains d'allergie, directement liés à la présence de résidus d'antibiotiques dans des denrées d'origine animale sont extrêmement rares **(Stoltz, 2008).**

2.2.3 Risques cancérigènes

Certains antibiotiques ont des propriétés carcinogènes connues. Les résidus de ces antibiotiques peuvent avoir un effet carcinogène sur le long terme **(Petrovic *et al.*, 2008 ; Hou *et al.*, 2014)**, 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 **(Stoltz, 2008)**.

2.2.4 Risques bactériologiques

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

2.2.4.1 Modifications de la flore digestive du consommateur

Notre tube digestif contient des bactéries dites entérobactéries avec lesquelles nous cohabitons toute notre vie. Leur fonction principale est de nous protéger en permanence contre les toxines, les microbes, les virus et les germes pathogènes nocifs

présents dans l'environnement mais également dans nos aliments. L'activité des antibiotiques peut provoquer la mort de certaines bactéries ou diminuer leur aptitude à proliférer dans l'intestin. L'atteinte de certaines populations bactériennes qui font partie de la flore normale entraine le développement d'autres populations pouvant être pathogènes ou opportunistes **(Wang *et al.*, 2006 ; Borràs *et al.*, 2011)**. Une bactérie résistante aux antibiotiques peut être sélectionnée par un résidu d'antibiotique, soit directement par l'élimination de la bactérie sensible correspondante, soit indirectement par l'affaiblissement des barrières. Les bactéries non pathogènes résistantes aux antibiotiques ne sont pas dangereuses. Cependant, la gravité des infections opportunistes est très augmentée par les résistances. De plus, ces résistances peuvent être transmises à des bactéries pathogènes si leur support génétique est mobilisable (plasmide, transposon) **(Stoltz, 2008)**. La consommation de produits contenant des résidus d'antibiotiques (cycline, sulfamides) perturbe cette flore intestinale **(Moulin, 2007 ; Broutin *et al.*, 2005 ; Chataigner et Stevens ; 2005 ; Fabre et Joyes, 2000 ; Gedilaghine, 2005)** en modifiant sa composition par inhibition sélective ; ils dévastent la flore normale et laissent place a des bactéries pathogènes ou opportunistes tels que les entérobactéries, les pseudomonas, les entérocoques, les staphylocoques et les levures **(Stoltz, 2008 ; Abidi, 2004 ; Corpet et Brugere 1995 ; Person, 1981)**, diminuant ainsi l'immunité naturelle préétablie. Ce déficit immunitaire peut conduire a certains problèmes sanitaires telle qu'une atteinte du système nerveux, des os, des dents (coloration des dents en jaune), du foie, du sang **(Broutain et al., 2005 ; Cerniglia et Kotarski, 2005)**, ainsi que l'apparition de bactéries mutantes résistantes aux antibiotiques, engendrant des échecs thérapeutiques **(Stolker *et al.*, 2008 ; Moulin, 2007 ; Broutin *et al.*, 2005 ; Corpet et Brugere, 1995 ; Labie, 1981).**

2.2.4.2 Risques d'antibiorésistances

Par définition, l'antibiorésistance correspond à la capacité d'une bactérie à résister aux effets des antibiotiques **(Zaidi, 2010)**. Elle peut être aussi définie de différentes manières : d'un point de vue *bactériologique* : « elle caractérise une souche bactérienne dont la croissance n'est pas inhibée au contact d'une concentration d'antibiotique, empêchant la multiplication de la majorité des autres souches de son espèce » **(Acar *et al.*, 1989)**. Et d'un point de vue *pharmacologique* : « la résistance est définie comme l'atteinte au niveau des tissus malades d'une concentration maximale en antibactérien trop faible pour inhiber la croissance bactérienne ».

Enfin, d'un point de vue *clinique* : « une bactérie est résistante si le traitement mis en place par le praticien est inefficace pour traiter l'infection dont elle est la cause » **(Chatellet, 2007)**.

Cette résistance peut s'opérer de deux façons : elle est dite « naturelle » lorsque les espèces de bactéries possèdent naturellement la capacité de résister aux antibiotiques. Elle est dite « acquise » quand les bactéries peuvent développer une mutation génétique aléatoire leur permettant de résister et de continuer à se multiplier **(Brouillet, 2011 ; Chatellet, 2007).**

Une des raisons de l'augmentation de cette résistance pourrait résider dans l'utilisation préventive et thérapeutique d'antibiotique en production animale **(Riantou, 2008 ; Gysi, 2006 ; Cloeckaert, 2003 ; Siousarran, 2003 ; Aarestrup, 1999 ; Davies, 1997)** car les médicaments vétérinaires contiennent en partie les mêmes matières actives qu'en médecine humaine **(Gysi, 2006 ; Sanders, 2005 ; Gyanes et Monnet, 1997).**

L'apparition de cette résistance peut être liée à des mauvaises pratiques thérapeutiques (posologie inadaptée, fréquence d'administration, non respect de la prescription, etc.) **(Fabre *et al.*, 2006 ; Châtaigner et Stevens, 2005 ; Maghuin-Rogister *et al.*, 2001)** ou a l'utilisation des antibiotiques comme facteurs de croissance (sous forme d'additifs alimentaires), favorisant ainsi le développement rapide du phénomène de la résistance bactérienne aux antibiotiques **(Châtaigner et Stevens, 2005 ; Bories et Louisot, 1998)**.

Vu qu'aucune nouvelle classe d'antibiotiques n'a été découverte depuis les 30 dernières années, les vétérinaires ont tous intérêt à préserver l'efficacité de la ressource antibiotique actuelle pour continuer à bien soigner les animaux. L'OMS et son comité ainsi que le Codex Alimentarius, ont défini une liste d'antibiotiques critiques. La liste est très voisine de celle de la médecine humaine. Parmi les plus importants, citons les Céphalosporines de 3ème et 4ème génération, les Fluoroquinolones et les Macrolides **(Brouillet, 2011)**.

2.2.5 Problèmes liés à la transformation du lait

L'industrie de transformation laitière s'est sensibilisée à la présence des résidus d'antibiotiques dès l'utilisation de ces molécules en élevage laitier. Ainsi, dès le début des années cinquante, des études ont montré l'importance de la sensibilité des starters industriels à la présence de résidus inhibiteurs **(Petrovic *et al.*, 2008 ; Stead *et al.*, 2008; Romnee, 2009)**.

Les résidus représentent un réel problème pour les transformateurs laitiers par leurs conséquences néfastes sur les fermentations lactiques **(Gedilaghine, 2005 ; Brouillet, 2002 ; Maghuin-Rogister *et al.*, 2001 ; Moretain, 2000 ; Gaudin, 1999 ; Bories, 1993 ; Labie, 1981 ; Mourot, 1981 ; Giraudet, 1978)** et constituent le problème majeur des accidents de fabrication en industrie laitière **(Oliveira *et al.*, 2006 ; Ouellette, 2004 ; Weisen, 1974)**.

Les fabrications les plus sensibles sont celles où interviennent les ferments lactiques et les germes d'aromatisation : yaourt, fromages à caillage acide et à caillage mixte, crème et beurres maturés. En effet, même une faible quantité d'antibiotique suffit en général à inhiber ces ferments **(Stoltz, 2008 ; Zinedine *et al.*, 2007 ; Broutin *et al.*, 2005; Ryckaert *et al.*, 2003).**

Au cours de la fabrication du fromage, la présence de résidus d'antibiotiques modifiés profondément l'équilibre normal de la flore microbienne présente dans le lait, souvent en faveur des bactéries coliformes (germes de contamination fécale). Le caillage se fait normalement, mais les ferments lactiques vrais, sensibles aux antibiotiques, sont inhibés. L'acidification du caillé ne se produit pas et l'égouttage naturel et spontané, s'effectue mal : le caillé reste volumineux, visqueux, mou et gorgé de lactosérum : c'est le caillé floconneux. La flore coliforme, insensible à la pénicilline grâce à une pénicillinase, se développe dans le caillé. Elle fermente le lactosérum résiduel en fermentation gazeuse dont les gaz s'accumulent dans le caillé en faisant apparaître de multiples petits trous et gonfler la pâte. Le manque d'acide lactique ne permet pas le développement des moisissures de surface qui sont remplacées par des moisissures anormales. Enfin, la pâte se trouve rapidement envahie par des germes de putréfaction **(Giraudet, 1978)**. Les crèmes et les beurres subissent une perte de goût ou d'arôme. L'arôme du beurre est dû à la présence de diacéthyle, produit du métabolisme de *Streptococcus diacetylactis*, principal ferment d'arôme. D'autre part,

l'aromatisation doit se faire en milieu acide et les antibiotiques retardent ou empêchent la phase d'acidification **(Fiscus-Mougel, 1993)**.

Les différents ferments ne sont pas sensibles de la même manière aux différents résidus d'antibiotiques présents dans le lait. Les laits contaminés par la pénicilline posent de sérieux problèmes de laiterie. Dès 0,01 ppm, la production d'arômes cesse, à 0,05 ppm, la fermentation lactique est ralentie de façon significative et à 0,1 à 0,2 ppm l'acidification est arrêtée **(Heeschen et Bluthgen, 1990 ; Mourot et Loussouarn, 1981)**.

Les résidus sont ainsi responsables de grandes pertes financières qui se répercutent tout au long la filière laitière **(Mitchell, 2005 ; Abidi, 2004 ; Fabre et Joyes, 2000 ; Raskin *et al.*, 1997 ; Brouillet, 1994)**. Nous citions ici une exemple : un seul traitement intramammaire peut rendre inutilisable plus de 100 000 litres de lait **(Fabre *et al.*, 2006).** En France ce sont les antibiotiques qui représentent la première cause d'inhibiteurs dans le lait **(Fabre *et al.*, 2000 ; Fabre *et al.*, 1996)** et les pics d'antibiotiques sont dus aux traitements par voie intramammaire plutôt qu'aux traitements par voie générale **(Sérieys, 2004)**.

2.3 Réglementation concernant les résidus d'antibiotique

Avant les années 1980, les méthodes de détection des résidus dans les viandes étaient relativement peu sensibles. Les services vétérinaires menaient alors, afin de protéger la santé publique, une politique de zéro résidu. Si une carcasse ou une pièce de viande était contrôlée positive aux résidus d'antibiotiques, elle était saisie et déclassée. Au début des années 1980, les progrès techniques ont permis un bon spectaculaire dans les méthodes de détection avec notamment le développement de la Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP). La politique du zéro résidu n'était alors plus tenable car des quantités infimes de résidus étaient presque systématiquement détectées. Ces quantités détectées étaient si faibles dans la grande majorité des cas qu'il devenait important d'évaluer le danger qu'elles représentaient vraiment pour la Santé Publique. Deux notions très importantes sont alors apparues dans la règlementation, afin de compléter celle de résidus: La notion de Dose Sans Effet (DES) et la notion de Limite Maximale de Résidus (LMR) (**Stoltz, 2008 ; Kassaify *et al.*, 2013**).

2.3.1 Législation Européenne

Le Journal Officiel de l'Union Européenne du 20 Janvier 2010 publie un règlement (Commission Regulation, 2010) qui consolide la nouvelle liste des LMR (Limites Maximales des Résidus). Ce règlement de 72 pages comprend deux tableaux dans lesquelles les LMR des substances pharmacologiquement actives listées par ordre alphabétique sont présentées. Le premier tableau de 72 pages présente «Les substances autorisées» en productions animales. Le second tableau d'une demi- page liste les substances interdites d'emploi en production animale. Dix inscriptions au total incluant le chloramphénicol et les nitrofuranes sont mentionnées.

2.3.2 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 **(JORADP N°69 du 27 Octobre 1993, P16)**, 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 .

2.3.3 Mise en place des limites maximales de résidus « LMR »

La LMR correspond à la concentration maximale en résidus, résultant de l'utilisation d'un médicament vétérinaire, sans risque sanitaire pour le consommateur et qui ne doit pas être dépassée dans ou sur les denrées alimentaires. Dans le cas du lait, une substance doit obtenir une LMR lait pour chaque espèce de destination, pour que son utilisation soit autorisée chez les femelles en cours de production laitière dans ces espèces de destination. Si une substance n'a pas de LMR lait dans une espèce, le médicament vétérinaire le contenant ne peut pas être utilisé chez une femelle de cette espèce en lactation. La mise en évidence de ce résidu dans le lait de cette espèce correspond à un non-respect de l'autorisation de mise sur le marché (AMM) et de la réglementation sur les résidus **(Laurentie et Sanders, 2002)**.

La fixation des LMR est obligatoire pour tous les principes actifs qui entrent dans la composition des médicaments administrés aux animaux de production. Elle signifie

que le potentiel toxique du médicament est parfaitement connu et que le consommateur n'encourt aucun risque si le délai d'attente est respecté et donc si les LMR ne sont pas dépassées **(Puyt, 2003)**.

2.3.4 Délai d'attente

Selon la directive 81/851/CEE émise par la communauté européenne, le temps d'attente est défini comme le délai entre la dernière administration à l'animale de l'antibiotique et le moment où celui-ci ne présente plus de résidus dans ses tissus ou dans ses productions (lait, œuf) **(Follet, 2007 ; Guillemot, 2006 ; Abidi, 2004 ;; Puyt, 2003 ; Ryckaert *et al.*, 2003 ; Laurentie et Sanders, 2002)**. Il est établi pour un schéma thérapeutique bien précis : espèces animales concernées, dose, rythme d'administration, voie d'administration, durée du traitement, etc. **(Moulin, 2007 ; Fabre *et al.*, 2006 ; Châtaigner et Stevens, 2005 ; Brouillet, 1994)**.

Le respect de ce temps d'attente permet de commercialiser les denrées qui résentent des concentrations inférieures ou proches de la limite maximale des résidus garantissant la protection de la santé du consommateur **(Moulin, 2007 ; Abidi, 2004 ; Ryckaert *et al.*, 2003 ; Laurentie et Sanders, 2002).**

Ce délai d'attente, généralement de plusieurs jours, varie énormément en fonction de la nature de l'antibiotique utilisé, de la dose injectée ainsi que de la fréquence d'utilisation et de la voie d'administration. Compte tenu de toutes ces variables, il est pratiquement impossible d'établir des délais exacts pour chaque famille d'antibiotiques. Cela explique en partie le fait qu'on retrouve occasionnellement des résidus d'antibiotiques dans le lait, et ce, même au-delà des délais d'attente prévus. Le manque d'informations sur la biodistribution et l'élimination de ces substances par l'organisme semble «être à l'origine de ce phénomène de persistance prolongée des antibiotiques dans le lait». Le respect des délais d'attente constitue toujours un moyen de prévention valable. Cependant, la recherche systématique des résidus d'antibiotiques dans les échantillons de lait demeure le seul moyen de prévention qui peut assurer l'innocuité complète des produits. Pour ce faire, il est donc impératif de disposer de méthodes de détection fiables, sensibles et spécifiques **(Le Minor, 1982)**.

CHAPITRE III

MÉTHODES DE RECHERCHE ET DE CONFIRMATION DES RÉSIDUS D'ANTIBIOTIQUES DANS LE LAIT

Dans le cadre de la surveillance de la qualité des denrées d'origine animales, plusieurs méthodes de détection des résidus sont mises en œuvre. Certaines de ces méthodes sont dites de dépistages qui consistent à distinguer les échantillons positifs des échantillons négatifs, et d'autres méthodes sont dites de confirmation **(Le Minor, 1982 ; Bergogne-Berizin et Dellamonica, 1999)**. Selon le principe de chacune de ces méthodes, on peut les classés en méthodes microbiologiques et en méthodes physico-chimiques.

3.1 Méthodes Microbiologiques

3.1.1 Test d'acidification (Delvotest®)

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 **(Romnée, 2009 ; Reybroeck, 2004 ; Verhnes et 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).**

Le test se présente sous la forme d'ampoules contenant un milieu gélosé ensemencé par le germe test (spores de *Bacillus stearothermophilus*var. *calidolactis*), avec un indicateur coloré de pH, du triméthoprime et des comprimés de milieu nutritif à incorporer dans les ampoules au moment de leur utilisation **(Romnée, 2009 ; Reybroeck, 2004 ; Abidi, 2004 ; Brouillet, 2002).**

Un échantillon de 0,1 mL de lait est laissé à diffuser dans le milieu gélosé, l'ampoule est fermée par un ruban adhésif et placée pendant 2 h 30 à 3 h dans un incubateur à 64 ± 1°C. Si le lait ne contient aucune substance inhibitrice, l'indicateur de pH vire du violet au jaune en raison de la production d'acide par le germe. Mais en présence de substances inhibitrices, la couleur du milieu gélosé reste pourpre (violet) car ces dernières empêchent la croissance du germe et par conséquent la production d'acide

lactique **(Romnée, 2009 ; Scippo et Maghuin- Rogister, 2006 ; Abidi, 2004 ; Reybroeck, 2004 ; Brouillet, 2002 ; Moretain, 2000).**

Bien que le test détecte certains antibiotiques qu'on trouve dans le lait, comme, la pénicilline G, la cloxacilline, la sulfaméthazine, la sulfadiazine, la céphalexine, la gentamicine, il est moins sensible pour d'autres comme la tétracycline et l'oxytétracycline **(Le Breton *et al.*, 2007)**.

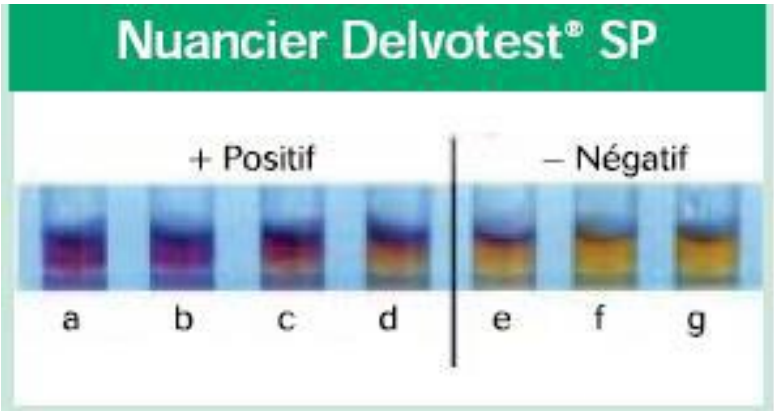

Figure 3.1 : *Expression des résultats de Delvotest®* ***(Reybroeck, 2004)***

3.1.2 Méthode de diffusion sur gélose

Elle consiste à faire diffuser un antibiotique dans un milieu gélosé contenant une souche bactérienne sensible à cet antibiotique. Pour ce faire, on dépose des volumes identiques représentant plusieurs dilutions de la solution contenant l'antibiotique sur des rondelles de papier buvard. Ces disques sont mis en contact d'une surface gélosée contenant 10^6 à 10^7 cellules souches indicatrices ou de spores. Pendant l'incubation, l'antibiotique diffuse dans la gélose de façon radiaire à partir de son point d'application. Après 15 à 48 heures à la température optimale de croissance du micro-organisme, on mesure les diamètres d'inhibition qui apparaissent sous l'aspect de zones claires.

3.1.3 Méthode des 4 boites

La méthode des 4 boites est la méthode officielle française de détection des résidus d'antibiotiques dans la viande. Elle a pour objet, à l'aide de microorganismes sensibles, la mise en évidence de résidus de substances à activité antibiotique sans en déterminer leur identité. La méthode est basée sur l'analyse de rondelles de viande selon le principe de la méthode de diffusion sur gélose (**Tableau 3.2**) **(Talnan, 2013).**

Tableau 3.1 : Présentation de la méthode des 4 boîtes utilisée pour le contrôle officiel.

Boite	*1*	*2*	*3*	*4*
Souche	*Bacillus subtilis*	*Bacillus subtilis*	*Bacillus subtilis*	*Micrococcus luteus*
pH	*6*	*7,4*	*8*	*8*
Observation		+Triméthoprime		
Molécules (cible)	Bétalactames + Tetracyclines	Sulfamides	Aminosides	Bétalactames + Macrolides

3.2 Méthodes Physicochimiques

Ce sont des méthodes confirmatives et/ou quantitatives, sont spécifiques à un antibiotique ou une famille d'antibiotiques. Les méthodes physico-chimiques regroupent les méthodes enzymatiques, immuno-enzymatiques et immunologiques qui sont dites des méthodes rapides et les méthodes chromatographiques dites aussi méthodes analytiques.

3.2.1 Méthodes Enzymatiques

Les méthodes enzymatiques sont très rapides 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 qui permet de détecter aussi peu que 0.017 UI des β-lactames dans le lait en 20 minutes seulement. Repose sur la capacité des β-lactames d'inhiber l'enzyme DD-carboxypeptidase responsable de la libération de la D-alanine

à partir de l'Acetyl2-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 **(Le Minor, 1982)**.

3.2.2 Méthodes Immunologiques

Sont basées sur l'interaction antigène-anticorps, qui est très spécifique pour un résidu particulier. La technique la plus répandue est l'Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) et le système de détection peut être basé sur des réactifs à enzymes marquées. Il y a différentes méthodes pour la quantification des antigènes, comme la méthode « double anticorps » encore appelée ELISA. C'est une est une technique rapide (de quelques minutes à 20 minutes) mais onéreuse. Elle est spécifique pour une famille d'antibiotiques et sensible pour cette dernière. Sa limite de détection est souvent inférieure à la limite maximale des résidus **(Abidi, 2004 ; Verhnes, 2002)**.

L'ELISA est une technique immuno-enzymatique de détection qui permet de visualiser une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps **(Hanzen, 2008).** Il y a différentes méthodes pour la quantification des antigènes, comme la méthode « double anticorps » encore appelée ELISA sandwich et le test de compétition directe ELISA **(Bergogne-Berizin et Dellamonica, 1999)**. Les Radio-Immuno-Assay (R.I.A.) sont compétitifs et utilisent des anticorps spécifiques pour les récepteurs des antibiotiques sont basés sur la mesure de la radioactivité du complexe immunologique en 10 minutes, ces tests permettent la détection des quantités de 05 à 80 partie par billion (ppb) **(Le Minor, 1982)**. D'autres tests utilisent la luminescence ou la fluorimétrie comme méthode de détection. Aujourd'hui, il existe de nombreux kits ELISA de différent type utilisables pour un grand nombre de substances et notamment de nombreux antibiotiques. Ils sont disponibles pour un résidu spécifique ou pour un groupe de composés apparentés comme par exemple le groupe des fluoroquinolones **(Bergogne-Berizin et Dellamonica, 1999).**

3.2.3 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).**

3.2.4 Capteurs Biologiques

Différents types de capteurs biologiques ont été développés ces dernières années pour le dépistage des résidus de médicaments vétérinaires dans la viande, dont bien sûr les résidus d'antibiotiques. En général, ces capteurs contiennent un anticorps comme élément de reconnaissance qui interagit avec l'analyte. Le signal biochimique qui en résulte est mesuré optiquement ou converti en un signal électronique qui est ensuite traité dans un équipement approprié. Les capteurs biologiques sont capables de détecter simultanément de multiples résidus dans un échantillon et en une seule fois ce qui les rend intéressants pour le contrôle en laboratoire car ils permettent l'analyse d'un grand nombre d'échantillons et de résidus en un minimum de temps et avec un minimum de consommables utilisés pour l'analyse. Ils représentent aujourd'hui une vraie alternative aux tests ELISA (**Singleton, 2008**).

CHAPITRE IV

MATÉRIEL & MÉTHODES

4.1 Rappel sur les objectifs de l'étude

L'objectif principal de ce travail est la contribution à la mise en évidence des résidus des antibiotiques dans le lait produit dans la wilaya de Saida par des méthodes immuno-chromatographique (Beta-Star Combo). Ensuite, nous avons tenté de tester l'effet probable des températures élevées (pasteurisation à 85°C pendant 03 min et bouillage à 100°C pendant 3 min) sur des échantillons contaminés par ces substances chimiques. En dernière étape, les caractéristiques physicochimiques du lait cru, pasteurisé et bouilli ont été testé afin de vérifier la stabilité de ces paramètres vis-à-vis la chaleur.

4.2 Cadre et période de l'étude

4.2.1 Présentation de la région d'étude

Notre étude s'est déroulée dans la wilaya de Saida et plus précisément dans la laiterie la source « groupe GIPLAIT unité de SAIDA » située dans la zone industrielle Rebahia, durant la période de 04 mois « Janvier-Avril 2019 ». La wilaya de Saida occupe une position centrale dans l'Ouest de l'Algérie (**Figure 4.1**). Elle s'étend sur une superficie de 676 4 Km^2, son climat est semi-aride, chaud et sec en été et froid en hiver avec gelées fréquentes, la moyenne pluviométrique est d'environ 348 mm/an.

Figure 4.1 *: Situation géographique de la wilaya de Saida* ***(ANDI, 2013)***

4.2.2 Démarche méthodologique

Pour notre travail, nous avons suit les étapes suivantes :

- La formulation du sujet et le choix de la région d'étude.
- Recherche bibliographique.
- L'élaboration d'un questionnaire d'enquête auprès des vétérinaires praticiens de la région de Saida dans le but de cerner la situation de l'antibiothérapie en pratique rurale.
- la recherche qualitative des résidus d'antibiotique par une méthode rapide appelée Béta Star Combo.
- La réalisation des analyses physicochimiques sur les échantillons de lait contenant des résidus d'antibiotique.
- Collecte et analyse des données.
- Discussion des résultats.
- Conclusion et perspectives.

4.2.3 Questionnaire d'enquête

Ces enquêtes reposent essentiellement sur un questionnaire permettant le recueil d'un maximum d'informations sur l'utilisation des antibiotiques dans la région d'étude (**Annexe 1**). Ce questionnaire vise principalement à connaitre :

- Les informations concernant les pathologies dominantes.
- La nature des antibiotiques utilisés dans le traitement, la durée du traitement et la durée d'attente.
- Les critères de choix d'un antibiotique et les conseils adressés aux éleveurs après traitement.

L'enquête est réalisée auprès des vétérinaires praticiens de région de Saida en essayant de passer par toutes le communes de la ville, dans le but de connaitre la situation d'utilisation d'antibiothérapie en pratique vétérinaire, savoir la manière dont les vétérinaires opérant avec les traitements à base antibiotiques, sont-ils donnée à tort et à travers, ou bien leur utilisation est rationnelle. Recueillir un maximum d'informations sur les pathologies les plus rencontrées et leur traitement à base d'antibiotiques.

4.2.4 Échantillonnage

Pendant l'étude qui s'étale du début Janvier à la fin d'Avril 2019, l'ensemble de 544 échantillons du lait cru ont été prélevés à partir des citernes de collecte dès leur rentrée à la laiterie. Chaque échantillon subi un test par **BetaStar**, le principe de ce dernier est de rechercher la présence des résidus d'antibiotiques (Beta lactames et des Tétracyclines) dans le lait. Les échantillons contaminés « positifs » vont subir directement un chauffage à 85°C pendant 03mn et un autre à 100°C pendant 03 mn pour évaluer l'effet de la température sur ces résidus.

À la même occasion, un autre échantillon est prélevé à partir de chaque citerne de collecte dédié aux analyses physicochimiques. Ces dernières ont été aussi réalisées sur le lait pasteurisé et bouilli.

4.3 Analyse proprement dite

4.3.1 Recherche des résidus d'antibiotiques (Beta-Star Combo)

Beta-Star Combo est une méthode de type « Receptor Assay » pour la recherche rapide, dans le lait, de résidus actifs d'antibiotiques de la famille des Beta lactames et des Tétracyclines. Ces derniers sont utilisés dans la prévention et le traitement des maladies infectieuses des femelles laitières et en particuliers des mammites.

La rapidité et la simplicité du Beta-Star Combo permettent une utilisation comme test de contrôle des citernes de collecte avant dépotage ou pour répondre à toute demande urgente de recherche ou de confirmation de la présence d'antibiotiques dans un échantillon de lait.

4.3.1.1 Principe de la méthode

Le test est basé sur l'emploi de récepteurs spécifiques liés à des particules d'Or et d'un support immuno-chromatographique sous la forme d'une bandelette. Le test se réalise en une seule étape : un volume de lait donné (0,2 ml) est introduit dans un tube puis déposé dans un incubateur ; la bandelette est ensuite introduite dans le tube pour démarrer le test.

Au cours de l'incubation, le lait migre le long de la bandelette en entrainant les réactifs présents au pied de celle-ci. En présence d'antibiotiques, les réactifs de détention vont être complètement ou partiellement bloqués par la présence des antibiotiques. Ce faisant, l'intensité de la couleur de la réponse correspondant à la ou aux lignes antibiotiques sera plus faible, montrant ainsi un résultat positif pour le ou les antibiotiques. Si la bande de contrôle est absente, le test est invalide :

- La *première* bande retient tous les récepteurs qui n'ont pas lié de Tétracyclines.
- La *seconde* bande retient tous les récepteurs qui n'ont pas liés de Beta lactames.
- La *troisième* bande est une bande de contrôle qui retient tous les récepteurs qui servent à réaliser la bande de référence. Elle sert ainsi à la fois de contrôle interne du bon fonctionnement du test et de bande de référence dans la comparaison de l'intensité de sa couleur à celle des autres bandes.

4.3.1.2 Mode opératoire

- Sortir le coffret du réfrigérateur ;
- Mettre le flacon contenant les bandelettes à température ambiante (10 minutes environ) ;
- Le volume de lait nécessaire à l'analyse, environ 0,2 ml, est ajouté dans le tube en plastique via la pipette à usage unique. Le volume exact n'est pas critique tant que la bandelette est au contact du lait dans l'incubateur ;
- Ajouter une bandelette dans le tube ;
- Mettre le tube dans un des puits de l'incubateur stabilisé à la température de 47,5°C ;
- Au bout de 2 minutes, les mains propres et sèches, ouvrir le flacon blanc et prendre une bandelette, et l'identifier avec le numéro du camion de citerne du lait cru et la date de l'échantillonnage ;
- Au bout de 3 minutes d'incubation, retirer la bandelette et lire immédiatement ;

Figure 3.2 *: Beta Star Combo (GHR HANSEN)*

4.3.1.3 Lecture des résultats

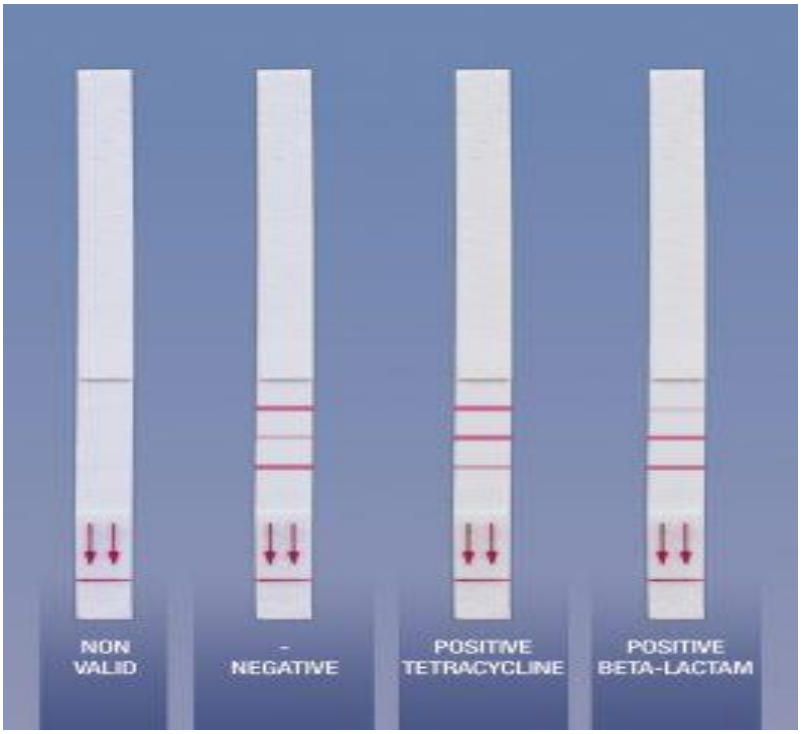

Figure 3.3 : *Résultats positif et négatif après analyse par le Beta Star Combo*

4.3.2 Analyse physico-chimiques

4.3.2.1 Mesure du pH (NF V04-035)

a. Principe

La mesure du pH est réalisée à l'aide d'un pH-mètre à une température avoisinant les 20°C. Elle est basée sur une réaction mettant en jeu les ions H_3O^+ libres d'une solution.

b. Mode opératoire

Quel que soit le mode opératoire, l'étalonnage du pH-mètre dans les solutions tampons **(pH4 et pH7)** précède le mesurage. L'électrode est introduite dans la prise d'essai et le système de correction de la température du pH-mètre à la température de la prise d'essai (généralement 20°C) est réglé.

c. Expression des résultats

Lire la valeur du pH après la stabilité de l'affichage sur l'écran du pH mètre.

4.3.2.2 Détermination de l'acidité titrable (NF V04-206)

a. Principe

Le principe est basé sur un titrage de l'acidité par l'hydroxyde de sodium (NaOH 0,111N) en présence de phénolphtaléine comme indicateur coloré.

b. Mode opératoire

Cette détermination s'effectue sur une prise d'essai de 10 ml de lait, faire couler goutte à goutte en agitant. Cesser lorsque la couleur rose est persistante. Lire le résultat de l'acidité sur la graduation.

c. Expression des résultats

On exprime l'acidité du lait en degrés Dornic. C'est-à-dire en décigramme d'acide lactique par litre. Un degré Dornic équivaut à 0,1g d'acide lactique dans un litre de lait.

- Une acidité de 14 à 18°Dornic, pH=6,5 à 6,7 caractérise un lait très frais ;
- Une acidité de 16 à 18°Dornic, pH=6,4 à 6,5 caractérise un lait acceptable ;
- Une acidité de 25 à 27°Dornic, pH=6,0 à 6,2 caractérise un lait à odeur acide détectable ;
- Une acidité de 26 à 30°Dornic, pH=5,6 à 6,0 caractérise un lait à flaveur acide détectable ;
- Une acidité de 50 à 60°Dornic, pH=4,4 à 4,8 coagulations de la caséine.

4.3.2.3 Détermination de la teneur en matière grasse (Gerber- ISO 1211)

Plusieurs méthodes sont utilisées pour le dosage de la matière grasse, mais la technique acido-butyrométrique de Gerber reste la plus répondue car elle permet une mesure rapide et précise.

a. Principe

Cette méthode est basée sur la dissolution des composants du lait par l'acide sulfurique à l'exception de la matière grasse qui se sépare sous l'influence de la centrifugation et grâce à l'adjonction d'une petite quantité d'alcool iso-amylique permettant la séparation de la phase aqueuse et la phase lipidique.

b. Mode opératoire

Le mode opératoire consiste à mélanger au niveau d'un tube de 10 ml d'acide sulfurique (0,9 N), 1ml d'acide iso amylique et 11 ml du lait à analyser, et après centrifugation on obtient le taux butyreux du lait.

c. Expression des résultats

Après centrifugation une lecture directe sur butyromètre gradué qui permet de mesurer le taux de la matière grasse en gramme par litre.

4.3.2.4 Détermination de la densité (NF V04-204)

a. Principe

La densité du lait est le rapport entre sa masse volumique et celle d'un même volume d'eau à 20°C. Elle est réalisée au moyen d'un thermo-lactodensimètre. Elle dépond de la teneur en matière sèche et en matière grasse.

b. Mode opératoire

Dans une éprouvette contenant le lait à analyser on plonge le lactodensimètre, à 20°C la lecture de la densité se fait directement sur la graduation de l'appareil. Mais à une température différente de 20°C, on fait les corrections nécessaires en fonction de la température (sur les tables de correction fournies avec le lactodensimètre). La valeur lue sur le lactodensimètre (lait de vache) doit être comprise entre 1,030 et 1,034 à 20°C.

c. Expression des résultats

Lecture directe sur la graduation du lactodensimètre qui permet de mesurer la densité en gramme par litre.

4.3.2.5 Détermination de l'extrait sec totale (EST) (NF V04-367)

a. Principe

On entend par «Matière Sèche» du lait le produit résultant de la dessiccation du lait dans les conditions décrites par la présente norme. L'extrait sec total est mesuré au moyen d'une étuve réglée à une température de 103±2°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant. L'EST moyen du lait de vache est de l'ordre de 128 g/l.

b. 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.

c. Expression des résultats

La matière sèche est exprimée en pourcentage comme suit :

$$[(M1-M0)/ (M2-M0)].100$$

- **M_0:** est la masse en grammes de la capsule vide.
- **M_1:** est la masse en grammes de la capsule et du résidu après dessiccation et refroidissement.
- **M_2 :** est la masse en grammes de la capsule et de l'échantillon avant dessiccation.

4.3.2.6 Détermination de l'extrait sec dégraissé (ESD)

La matière sèche dégraissée du lait est calculée en effectuant la différence entre l'EST et la matière grasse du lait, l'ESD d'un lait normal varie entre 90 à 95g/l **(Essalhi, 2002).**

4.3.2.7 Détermination du taux des protéines (LactoScan SP) :

Le taux de protéines est déterminé à l'aide d'un Lactoscan SP (Ultrasonic Milk analyzer) par la méthode suivante :

- Introduire une quantité de lait à analyser dans un bêcher.
- Porter le bêcher au Lactoscan et tromper l'électrode du Lactoscan dans le bêcher puis appuyer sur le bouton Start.
- Attendre 2 minutes et 30 secondes pour que l'appareil absorbe à l'aide d'une sonde une quantité de chaque échantillon.

Les résultats seront affichés sur l'écran du Lactoscan.

4.4 Analyse Statistique

L'analyse statistique des résultats est faite par le logiciel GraphPad Prism, 6.

CHAPITRE V

RÉSULTATS & DISCUSSION

Les moyennes des résultats des analyses des laits (cru, pasteurisés et bouillis) sont résumées dans les tableaux (**5.1 et 5.2**):

Tableau 5.1 : Résultats des moyennes des mesures des pH, Acidité, Température et densité des échantillons de lait analysés

Parameters	pH			Acidity (D°)			Temperature (°C)			Density		
	Raw	*Pasteurized*	*Boiled*	*Raw*	*Pasteurized*	*Boiled*	*Raw*	*Pasteurized*	*Boiled*	*Raw*	*Pasteurized*	*Boiled*
NA 69, 1993	**6,5 - 6,8**			**14 - 18**			**6°C**			**1030 - 1034**		
Mean	6,652	6,665	6,544	16,55	15,60	17,40	16,85	11,60	29,30	1028	1028	1030
Std. Erreur	0,03150	0,02645	0,06344	0,7592	0,5982	0,5026	1,872	1,353	0,8645	0,2463	0,3071	0,4796
Minimum	6,600	6,630	6,400	15,00	15,00	17,00	14,00	10,00	28,00	1028	1028	1029
Maximum	6,710	6,720	6,660	18,00	17,00	18,00	22,00	15,00	30,00	1029	1029	1030
Coefficient of variation	0,47%	0,40%	0,97%	4,59%	3,83%	2,89%	11,11%	11,67%	2,95%	0,02%	0,03%	0,05%

Tableau 5.2 : Résultats des moyennes des mesures des matières grasses, extrait sec non dégraissé et des protéines des échantillons de lait analysés

Parameters	Fat (g/L)			Solid Not Fat (g/L)			Proteins (g/L)		
	Raw	*Pasteurized*	*Boiled*	*Raw*	*Pasteurized*	*Boiled*	*Raw*	*Pasteurized*	*Boiled*
NA69, 1993	**34 – 24**			**90 - 95**			**33 - 36**		
Mean	31,30	28,85	29,20	91,80	90,10	88,85	29,30	28,00	27,05
Std. Erreur	0,5712	1,137	0,9515	3,563	2,075	1,182	0,5712	0,5620	0,7592
Minimum	30,00	28,00	28,00	86,00	86,00	87,00	28,00	27,00	26,00
Maximum	32,00	31,00	31,00	99,00	95,00	91,00	30,00	29,00	28,00
Coefficient of variation	1,83%	3,94%	3,26%	3,88%	2,30%	1,33%	1,95%	2,01%	2,81%

5.1 Recherche des résidus d'antibiotiques

À l'issu de ces analyses, 0.03% (soit 20/544) ont présenté des résultats positifs « contient des résidus d'antibiotiques ». Nos résultats sont comparables aux résultats d'autres étude à l'échelle nationale, nous citons ici à titre d'exemple : les résultats de **BENZAOUI** en **(2017),** avec un pourcentage entre 0,31 et 8,67 dans le lait de vache produit dans la ville de M'SILA et 2.67 % des prélèvements testés positifs par **BEN-MAHDI** et **OUSLIMANI (2009)**, dans le lait de vache produit dans l'Algérois. Par ailleurs, environ 29 % des échantillons de lait produit dans l'Ouest algérien contiennent des résidus d'agents antibactériens **(AGGAD *et al.*, 2009**) , 26,76% du lait collecté des fermes de Guelma étaient contaminés par les résidus d'antibiotiques aussi **(Layada,2017)** et au Maroc **Srairi *et al.* (2004)** avec 26 %. De même, les fréquences de résultats rapportés par **Titouche *et al* (2013)** à Tizi Ouzou entre 29 à 89% des échantillons positifs sont très supérieures à la nôtre. Les fréquences de contrôle des résidus d'antibiotiques par le transformateur sont très élevées et les contrôles sont systématiques au niveau des citernes de collecte pour déceler la présence d'inhibiteurs. L'absence d'inhibiteur est un critère de qualité qui conditionne la réception ou le refus de lait. C'est certainement pour cette raison que le taux de non-conformité en matière de résidus dans le lait est très faible dans notre cas avec la courte période de stage aussi.

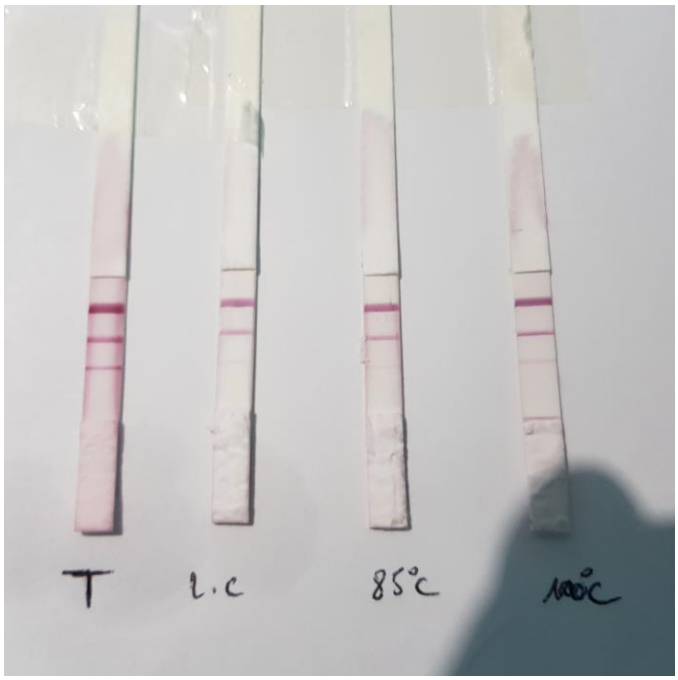

Figure 5.1 : *Exemple de résultats positif et négatif de la contamination du lait par des résidus des antibiotiques après une analyse par le BetaStar Combo*

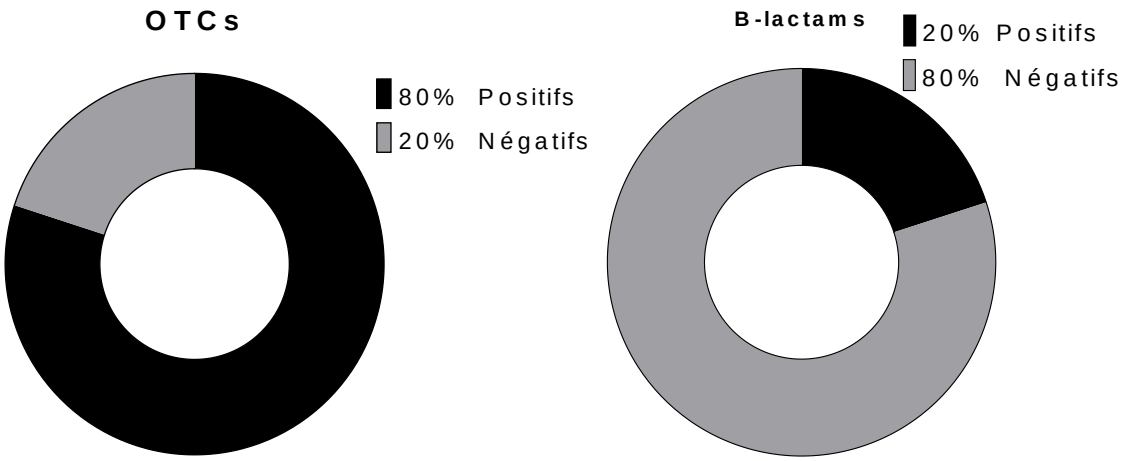

Figure 5.2 : *Pourcentage des résultats des échantillons du lait contaminés par les tétracyclines et les beta-Lactamines après analyse par le test BetaStar Combo*

Les antibiotiques révélés par ces tests ont montré un taux très élevé des tétracyclines (80% des résultats positifs) a l'instar des B-lactames qui ont présenté que 20%. Ces résultats sont proches de ceux trouvés par **Meddouri *et al* (2013)** dans la région de Souk Ahras. **Boultif (2015)** a trouvé un pourcentage de 29,16 de contamination par les résidus de tetracyclines, Alors que 89,09 % des laits provenant des élevages des Wilayas, Blida, Alger, Tipaza et Médéa ont donné des résultats positifs lors du contrôle de résidus de tétracyclines et 65,46 % lors du contrôle de résidus de bêta-lactamines **(TARZAALI et *al.*, 2008).**

D'autres études internationales ont aussi révélés des résultats proches a les nôtres tel que **Elena *et al.*, 2015** avec un pourcentage de 55,55 de contamination par les tetracyclines et 28,57 par les β-lactames dans le lait venant de la région métropolitaine de Bucharest (Romanie). **Adam et al,.2016** ont constaté que les β-lactames sont les résidus le plus trouvés dans le lait produit dans le Kosovo.

Les mêmes résultats ont été marqué après la pasteurisation et le bouillage du lait cru, ce qui est en concordance avec les résultats trouvés par **Zorraquino *et al.*(2008)** et **Roca *et al.* (2011),** qui ont trouvés qu'avec une pasteurisation à 63°C pendant 30 min, seulement 7 à 11% de perte d'activité pour les pénicillines et 6 à 18 % pour les céphalosporines, ainsi que les différents traitements thermiques utilisés en industrie laitière cause une perte d'activité mineures pour les beta lactames sauf pour le lait stérilisé à 120°C pendant 20 min **(Roca *et al.*, 2011, Zorraquino *et al.*,2010).**

Cependant **Gajda *et al.* (2017)** ont rapporté que le pourcentage de dégradation des tétracyclines dans le lait et les produits laitiers après pasteurisation de 63°C pendant 30 min est moins de 19%. Nos résultats se rapprochent aussi des résultats de **Noémi *et al* (2017)** qui ont montré que les résidus d'antibiotique ne disparaissent pas après un bouillage en quelques secondes à 100°C lors d'une étude sur l'effet de différents traitements thermiques sur la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait produits dans la Hongrie.

La stabilité de la pénicilline est maximale aux environs du pH normal du lait, et la pasteurisation influe peu l'altération de ce médicament. De même un chauffage momentané du lait n'altère pas l'activité biologique des tétracyclines, du chloramphénicol, ni de la streptomycine **(Boutlif, 2015**). De plus, des antibiotiques actifs ont déjà été décelés dans le fromage, le beurre et le lait en poudre préparé par atomisation **(Jepsen, 1996).**

5.2 Résultats des analyses physico-chimiques

5.2.1 Température

Les résultats des variations de la température avant et après le traitement thermique du lait sont présentés dans la (**Figure 5.3).**

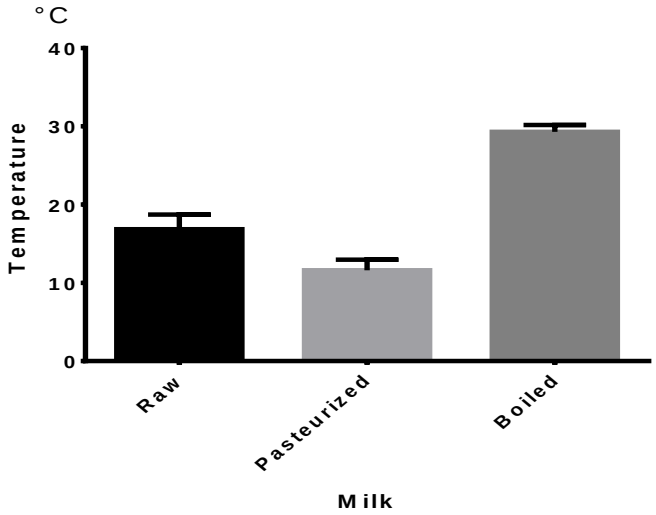

Figure 5.3 : *Variations de la température des différents échantillons du lait analysés avant et après le traitement thermique*

La valeur moyenne des températures enregistrées pour le lait cru est de 16,85±1,87°C, cette moyenne est très élevé par rapport à celle recommandée par le

(**JORADP N° 69, 1993**) concernant la température de conservation et de transport du lait cru des élevages aux lieux de vente ou de transformation. Cela pourra être expliqué par le non-respect de la chaîne de froid pendant le transport du lait des fermes à l'unité de production. La température du lait cru est mesurée directement dès la rentrée des camions citernes à la laiterie, les collecteurs collectent le lait de la traite du matin et le transportent directement à la laiterie, et parfois ils ont de longues distances à parcourir pour livrer à l'unité de transformation, Malheureusement ; ces camions ne sont pas dotés de système de refroidissement.

Concernant le lait pasteurisé, les résultats observés ont marqué une moyenne de 11,60±1,35°C, valeur aussi très élevée par rapport à la réglementation algérienne précédemment cité. Le lait doit être refroidi immédiatement après la pasteurisation et conservé à une température inférieure à 6°C. Un refroidissement très lent permet aux bactéries de ce multiplier et porte un danger au consommateur, sachant que la pasteurisation ne tue pas toutes les bactéries. En outre, le lait bouilli a marqué aussi une moyenne de (29,3 ± 0,86) loin de la norme. Mais, ceci n'est pas vraiment étonnant comme le cas de lait cru et pasteurisé puisque le bouillage c'est une sorte de stérilisation (température supérieur à 100°C) qui permet de détruire la totalité des microorganismes pathogènes et d'altération.

5.2.2 pH et Acidité

Les valeurs du pH obtenues pour tous laits analysés (crus, pasteurisés et bouillis) dans cette étude se situent entre (Min- Max : 6,40 et 6,80) avec une moyenne de 6,65 (**Figure 5.4**) pour les différents échantillons de lait analysé, valeurs conformes généralement aux normes nationales et internationales.

Le pH du lait frais normal est de l'ordre de 6,7. Cette valeur est due en grande partie aux groupements basiques ionisables et acides dissociables des protéines, aux groupements esters phosphoriques des caséines et aux acides phosphorique et citrique **(Mathieu, 1998).** Toutefois nos résultats ont montré que le pH du le lait bouilli est légèrement diminué par rapport aux autres laits, ceci peut être justifié par l'effet du bouillage, selon **Labioui (2009)**, les variabilités du pH sont aussi liées a l'apport hydrique. Nos résultats sont en concordances avec ceux trouvés par plusieurs auteurs **(Imran, 2008 Drackova *et al.*, 2008 et Sboui *et al.*, 2016)**.

Les valeurs enregistrées de l'acidité sont situées entre 14 et 18°D (**Figure 5.5**) avec une moyenne de 16,55 ±0,75 pour le lait cru et 15,60 ± 0,59 pour le lait pasteurisé, ces valeurs sont conformes aux normes **(JORADP N° 69, 1993)** indiquant une fraicheur et une stabilité du lait, absence d'altération pour le lait cru et bonne conditions de production pour le lait pasteurisé. Néanmoins, l'acidité du lait bouilli est légèrement augmentée par rapport au lait cru et pasteurisé (17,40 ± 0,50), mais toujours située dans l'intervalle 16-18 décrit par la réglementation, ceci est peut-être dû seulement à l'effet de l'évaporation de l'eau par le bouillage.

Le pH et l'acidité dépendent de la teneur en caséine, en sels minéraux et en ions **(Vignola ,2002),** des conditions hygiéniques lors de la traite, de la flore microbienne totale et son activité métabolique **(Mathieu, 1998)**. 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).** Elle 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).**

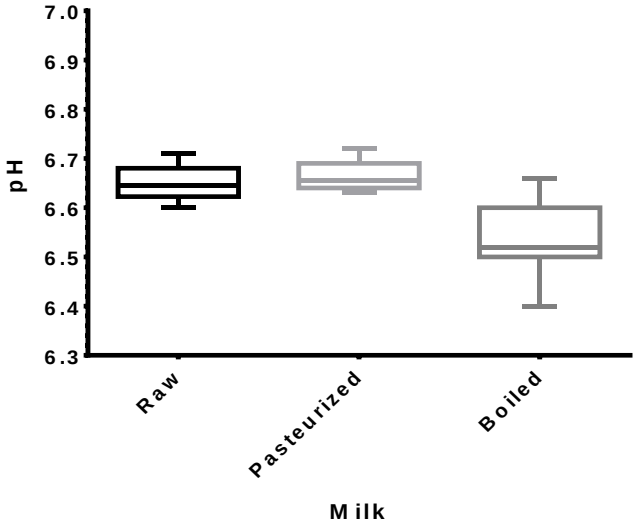

Figure 5.4 : *Variation de pH pour les différents échantillons du lait analysés*

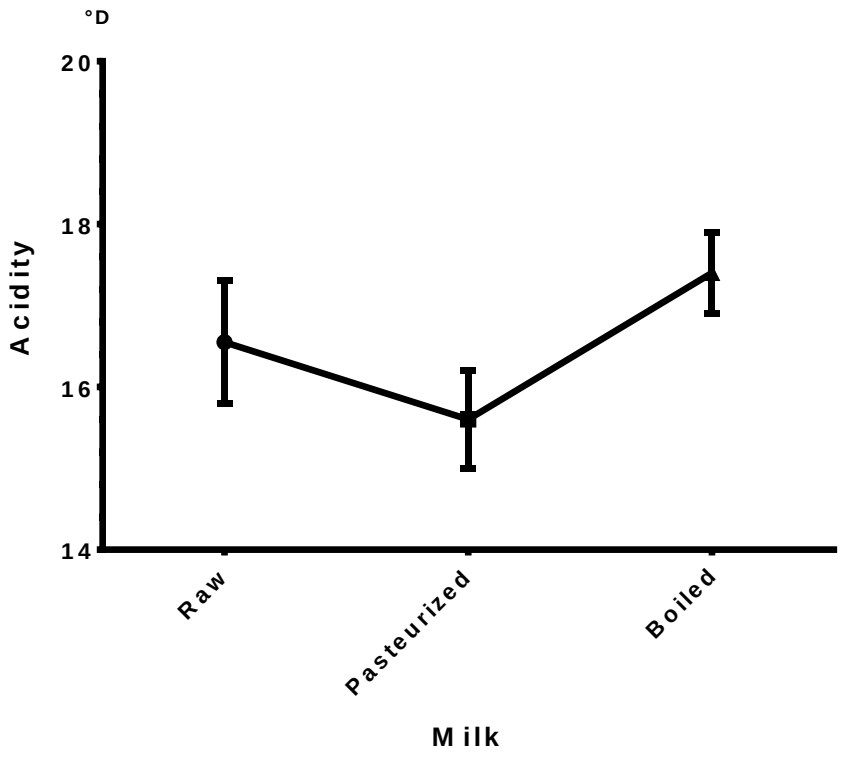

Figure 5.5 : *Variation de l'acidité pour les différents échantillons du lait cru analysés*

5.2.3 Densité

D'après la (**Figure 5.6**), les résultats moyens de la densité trouvés sont compris entre 1028 et 1030, correspondants aux valeurs plus faibles que la norme du (**JORADP N° 69, 1993).** Ces résultats peuvent être à l'origine d'un mouillage frauduleux du lait ce qui justifie les valeurs élevées de la densité observé après bouillage du lait par rapport aux laits crus et pasteurisés. La densité dépend de la teneur en matière sèche, en matière grasse, de l'augmentation de la température et des disponibilités alimentaires (**Labioui *et al.*, 2009).** L'addition de l'eau au lait (mouillage) diminue la densité **(El Houssain, 2009).** Ce paramètre est fortement lié au taux butyreux. Un autre facteur responsable à la baisse de la densité du lait cité par **Vignola (2002)** est la teneur élevé en matière grasse, mais malheureusement ce n'est pas notre cas d'après le résultat qui suit.

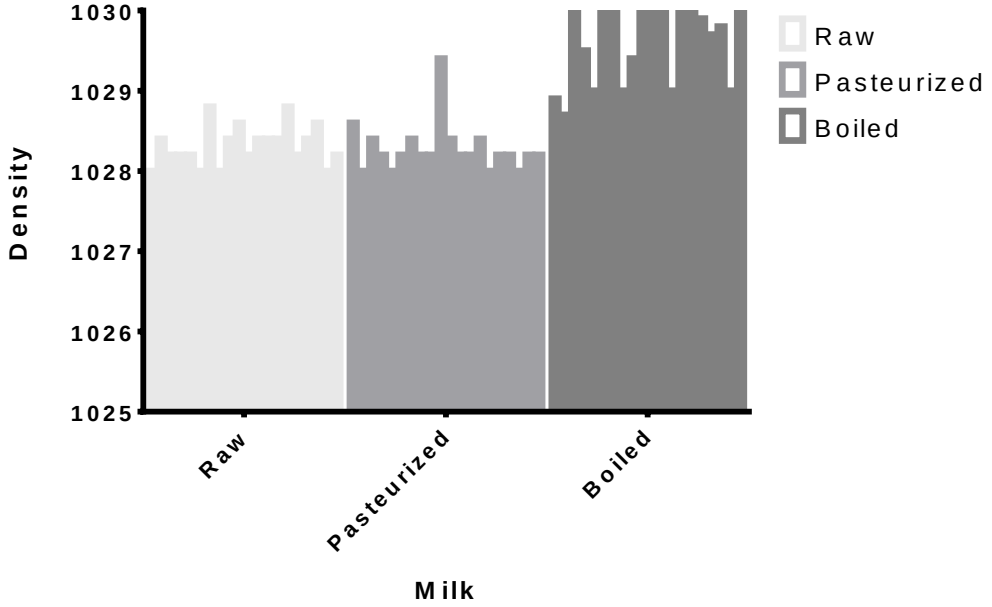

Figure 5.6 : *Variation de la densité pour les différents échantillons du lait analysés*

5.2.4 Matière Grasse

Les résultats de la MG sont variés entre 28 et 32g/l. La teneur moyenne en matière grasse pour le lait cru est de 31,30±0,57 g/l, 28,85±1,13g/l pour le lait pasteurisé et une moyenne de 29,20±0,95 g/l pour le bouilli (**Figure 5.7**). Ces taux restent faibles par rapport à la norme algérienne (**JORADP N°69, 1993).** La variabilité de la teneur en matière grasse dépend de facteurs tels que les conditions climatiques, le stade de lactation et surtout l'alimentation **(Labioui, 2009)**.

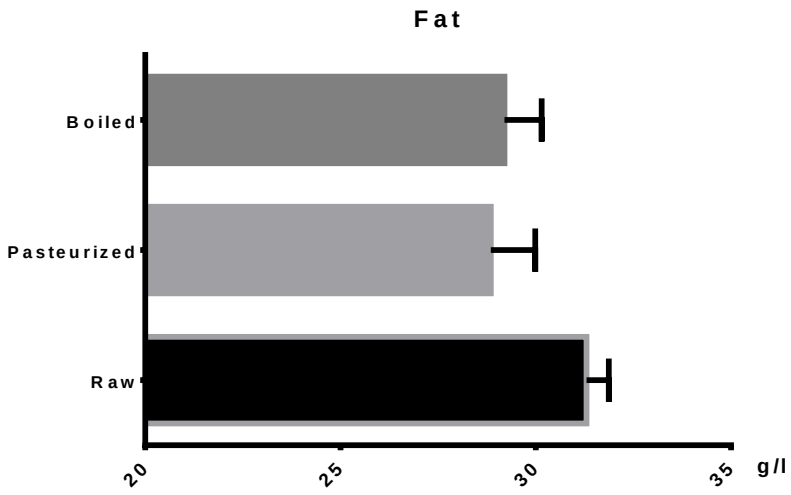

Figure 5.7: *Variation de la matière grasse pour les différents échantillons du lait analysés*

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

5.2.5 Extrait Sec Dégraissé (ESD)

Les résultats de la détermination de la teneur en extrait sec dégraissé des différents échantillons de lait analysés sont donnés dans la (**Figure 5.8**).

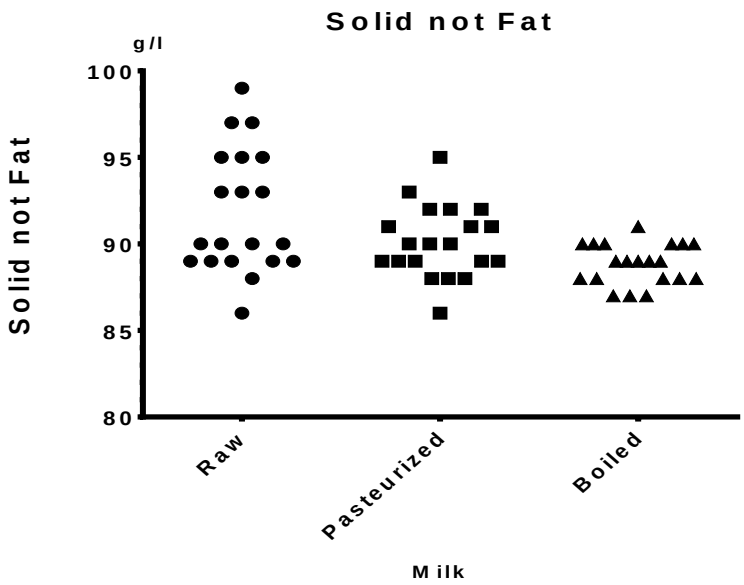

Figure 5.8 : *Variation de l'extrait sec dégraissé pour les différents échantillons du lait analysés*

La moyenne de la teneur en extrait sec dégraissé des échantillons du lait varie entre 91,80 ± 3,56 g/l pour le lait cru et 90,10± 2,07 g/l pour le lait pasteurisé, des valeurs qui répondent en moyenne aux normes algériennes, légère diminution pour les échantillons de lait bouilli avec une moyenne de 88,85 ± 1,18 g/l. Cela peut être expliqué par la réduction de la teneur en eau par bouillage et la richesse de ces échantillons en matière grasse. La valeur de la matière sèche dégraissé dépend de facteurs climatiques et alimentaires **(Sboui *et al.*, 2016, Labioui, 2009).** La teneur en

matière sèche est liée fortement a la fréquence d'abreuvement **(Siboukeur *et al.*, 2012).**

5.2.6 Taux de protéines

La valeur moyenne de la matière protéique était de 29,30±0,57 pour le lait cru inférieur à celle du lait trouvé par **(Boubezari *et al.*, 2010)** dans la région de Jijel au Nord-Est algérien. Les valeurs moyennes pour le lait pasteurisé 28±0,56 et bouilli 27,05±0,75 était légèrement élevées cela est dû peut être au traitement thermique qui a mené à une réduction de la teneur en eau. Le Taux protéique est la teneur en protéines du lait. Comme le taux butyreux, le TP conditionne la valeur marchande du lait. En effet plus le taux protéique (TP) est élevé et plus le rendement de transformation fromagère sera bon. La teneur totale avoisine 34 g/L.

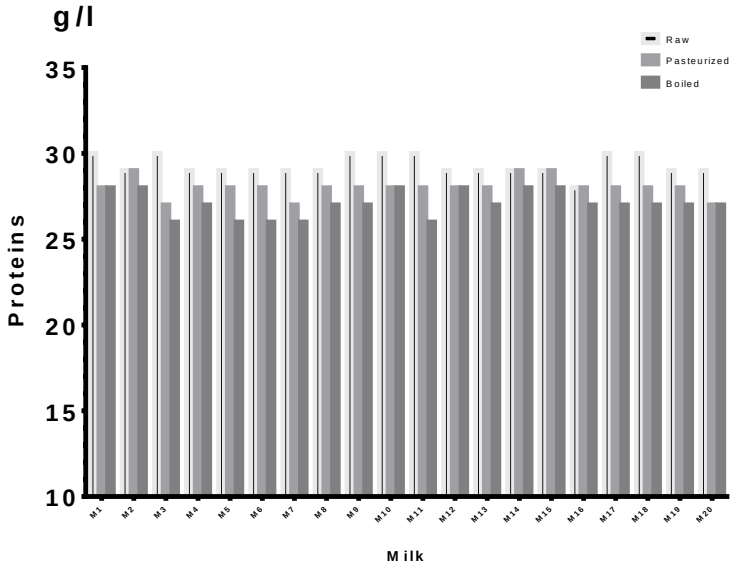

Figure 5.9 : *Variation de la matière protéique pour les différents échantillons du lait analysés*

5.3 Description du questionnaire

L'enquête a concerné 25 vétérinaires praticiens de presque toutes les communes de la wilaya. Le questionnaire est composé de 08 questions ayant des objectifs précis :

- L'antibiothérapie dans les pathologies les plus rencontrées chez les bovins ;
- Le choix de l'antibiotique : spectre, voie d'administration, durée de traitement ;
- Le délai d'attente dans le lait ;
- L'antibiotique de choix dans les pratiques médicamenteuses préventives ;
- L'estimation du poids des animaux avant de leur administrer un antibiotique ;
- Critère d'arrêt d'un traitement antibiotique ;
- Réalisation ou non d'un antibiogramme avant la mise en œuvre d'un traitement antibiotique ;
- Si l'éleveur est informé par le délai d'attente et s'il le respecte.

Le questionnaire en entier est porté sur l'annexe. Il comporte des questions à réponses suggérées et d'autres à réponses libres.

Cette démarche avait pour but de se rapprocher du terrain et de savoir, comment les vétérinaires opèrent avec les antibiothérapies. Sont-elles rationnelles et étudiées ou données de façon anarchique ? D'autre part, est-ce que les vétérinaires rencontrent des difficultés lors et après avoir donné un traitement à base d'antibiotiques (antibiorésistance notamment). Compte tenu du nombre limité de l'effectif des vétérinaires interrogés, le traitement des données a été restreint à une analyse statistique descriptive (pourcentages seulement) sans réalisation de tests statistiques.

5.3.1 Maladies dominantes

Le **tableau 5.3**, montre les maladies dominantes selon les réponses des vétérinaires. Ces maladies nécessitent un traitement avec un ou plusieurs antibiotiques, la durée de traitement varie entre 1 jour à 7 jours dans la plupart des cas. Certains cas prennent

plus de temps pour la guérison jusqu'à 20 jours et plus. L'augmentation de la durée de traitement augmente la dose d'antibiotique administré.

Tableau 5.3: Présentation des problèmes rencontrés et des antibiotiques utilisée par les vétérinaires

Problèmes de santé	Antibiotique			
	Beta lactamines	Tétracyclines	Macrolides	Sulfamides
Respiratoire	17	00	08	00
Digestive	04	06	01	14
Génitale	03	10	09	03
Podale	05	10	10	00
Mammite	15	03	06	01

Sur le terrain, les maladies d'origine ou avec complication bactérienne sont prédominantes. On constate que les problèmes respiratoires, digestives, génitales, podales et les mammites représentent les pathologies les plus importantes. Ainsi, les formulations médicamenteuses administrées aux animaux sont faites généralement à base d'antibiotiques. **Benzaoui, 2017** avait constaté que les maladies (Broncho-pneumonie, Mammite, Métrite, Diarrhée) représentent 71,8 % des maladies traitées par les vétérinaires dans la région de M'Sila. Presque les mêmes résultats révélés par **Boultif, 2015** dans la région de Constantine.

Dans une étude similaire menée en Anjou (France) en 2007 par **Chatellet**, ce dernier avait signalé que 80% des élevages étaient atteint de mammite, 33 % atteints de pathologie respiratoire et 10% touché par une pathologie podale. Ce sont donc les mêmes pathologies qui prédominent en élevage bovin en Algérie comme en France **(Boultif, 2015)**.

5.3.2 Critères de choix de l'antibiothérapie

Selon les réponses des vétérinaires, le choix d'un traitement antibiotique se fait selon :

5.3.2.1 Spectre d'action

La plupart des vétérinaires interrogés privilégiaient le spectre large, lors d'instauration d'un traitement à base d'antibiotiques, bien que ce type de traitement entraine l'émergence de bactéries antibiorésistantes. Les vétérinaires expliquent cette utilisation par la difficulté de déplacement pour la réalisation d'injections multiples, à plusieurs jours d'intervalles, que demande l'emploi d'antibiotique à spectre étroit. Les réponses nous permettent de constater, essentiellement, le non utilisation de l'antibiogramme par les vétérinaires praticiens, ce qui devrait permettre de les orienter vers l'antibiotique indiqué pour chaque situation. Aucun vétérinaire interrogé ne possède de laboratoire pour la réalisation des examens complémentaires, notamment le laboratoire de microbiologie, pour l'identification des bactéries. D'autre part absence des laboratoires spécialisés pour la réalisation d'un antibiogramme pour orienter son traitement aux résultats transmis par le laboratoire. Les raisons avancées par la grande majorité des vétérinaires objet de l'enquête, sont le manque de temps et parfois la lenteur dans l'obtention des résultats.

5.3.2.2 Efficacité et le cout et le délai d'attente

Le souci des vétérinaires, c'est l'efficacité complète du traitement avec un coût raisonnable pour le praticien aussi bien que pour l'éleveur.

5.3.2.3 Délai d'attente

Presque 80% des vétérinaires disent que le choix d'un antibiotique ou un autre est basé sur le spectre et le délai d'attente d'antibiotique.

5.3.3 Traitements par des antibiotiques

5.3.3.1 Problèmes respiratoires

D'après les réponses des vétérinaires, les antibiotiques utilisés pour le traitement des pathologies respiratoires sont : les bétalactamines (68 %), les macrolides (32%) (**Tableau 5.3**).

Selon **Chatellet** (2007), Les familles antibiotiques préconisées en cas d'infection respiratoire sont : les pénicillines du groupe A, les tétracyclines et les phénicolés, les macrolides ou les quinolones. **Layada (2017)** a confirmé aussi que le principal groupe d'antibiotique détecté dan les échantillons collecté dans la région de Guelma était bien les pénicillines (Bétalactamines). Nos résultats sont proches de **Boultif (2015)** qui a trouvé que 43% des pathologies respiratoires sont traités par les bétalactamines et 43,5% par les macrolides dans la région de Constantine. Ben-Mahdi et Ouslimani, (2009) à Alger et Titouche et al., (2013) à Tizi-Ouzou ; ont utilisé des méthodes microbiologiques pour la détection des résidus d'antibiotiques et déclarent que les résidus de pénicilline et/ou tétracyclines étaient à l'origine de la contamination de 97.33 % et de 88. 75% des échantillons de lait positifs successivement.

Au Kosovo, Rama et al., (2016) ont trouvé que les béta-lactames ont été détectés à un pourcentage de 30.18% des échantillons analysés. Au Pakistan, Khaskheli et al., (2008) ont trouvé que 36.5% des échantillons de lait de vache cru sur marché sont contaminés par les béta-lactames. Tandis que, Pogurschi et al., (2015) en Roumanie ont trouvé que les béta-lactames ont été détectés seulement à un pourcentage de 18.18% sur un total de 66 échantillons analysés positifs.

5.3.3.2 Problème Digestive

Nos résultats pour les pathologies digestives ont révélé que 16% des vétérinaires utilisent les bétactamines pour traiter les problèmes digestives chez le bétail bovin, alors que 24% utilisent les tétaracyclines, 4% utilisent les macrolides et 56% utilisent les sulfamides, Les sulfamides sont souvent abusés parce qu'ils sont peu coûteux et aisément disponibles et leur présence à une concentration au-dessus de la valeur limite est un danger potentiel à la santé humaine **(Granja *et al.*, 2012 ; Meng *et al.*, 2015)**, pour les bétalactamines, les mêmes résultats trouvé par Layada, 2017 (17% a Guelma), Nos résultats 4% sont supérieurs à 2,67% et inférieurs à 12.5% des résidus de macrolides et/ou d'aminosides qui ont été détectés dans des prélèvements testés positifs par Ben-Mahdi et Ouslimani, (2009) et Titouche et al., (2013) successivement.

En comparaison des résultats obtenus par cette étude avec d'autres travaux, nous avons trouvé qu'un pourcentage de 24% des échantillons positifs pour les

tétracyclines est le même trouvé par Benzaoui, 2015 avec 23,6% des échantillons contaminés par les oxytétracyclines dans la région de M'sila, proche de ceux trouvés par Layada en 2017 (16,49%) à Guelma , est supérieur à 1.17% et 1.32% trouvés dans 339 et 605 échantillons de lait analysés par Martins et al., (2014) ; Martins et al., (2016) en Brésil. Pour les sulfamides, notre résultat (56%) est inférieur à celui de Benzaoui, 2015 avec 15,5% seulement.

5.3.3.3 Problèmes génitales et podales

Suite à l'absence de l'antibiogramme, selon les vétérinaires, les infections génitales nécessitent l'emploi d'un antibiotique à large spectre, en première intention. Nos résultats montrent que les antibiotiques utilisés pour le traitement des pathologies génitales sont : Les bétalactamines (12%), les tétracyclines (40%), les macrolides (36%) et les sulfamides (12%). En 2007, Chatellet rapporte que pour les injections, les vétérinaires préfèrent utiliser les macrolides, les tétracyclines, le florfénicol, les fluoroquinolones et l'amoxicilline avec une préférence pour les pénicillines.

En pratiques vétérinaire plusieurs antibiotiques sont utilisés pour traiter les pathologies podales, les résultats de notre enquête en ce qui concerne les problèmes podales étaient comme suit : les bétalactamines (20%), les tétracyclines (40%), les macrolides (40 %), Ce sont globalement utilisés comme des antibiotiques à large spectre contre une vaste gamme de bactéries aérobies et anaérobies Gram-positive et Gram-négative. **(Bilandzic *et al.*, 2011)**. La présence de l'oxytétracycline dans la majorité des échantillons du lait analysés est en accord avec les résultats de Martins et al., (2016), supportant la proposition que l'oxytétracycline est probablement l'antibiotique le plus fréquemment utilisé chez les vaches.

5.3.3.4 Traitement des mammites

Les antibiotiques utilisés pour le traitement des mammites sont par ordre décroissant : les bétalactamines (60%), les tétracyclines (12%), les macrolides (24%) et enfin les sulfamides (4%). Pour les betalactamines, nos résultats sont proches à ceux trouvés par Boultif, 2015 à Constantine avec les pourcentages suivants : Les

bétalactamine (46.5%), les tétracyclines (26%), les macrolides (22.5%) et enfin les sulfamides (8.69 %), et Layada, 2017 à Guelma avec des valeurs : Les bétalactamine (47,42%), les tétracyclines (16.49%), les macrolides (17.52%) et les sulfamides (18.57 %). Ceci reflète l'utilisation fréquente de médicaments chimiothérapiques pour le traitement et la prévention des maladies spécifiques dans le bétail laitier et l'utilisation des infusions intra-mammaire contenant les béta-lactames pour le traitement des mammites **(Petrovic *et al.*, 2008 ; Rama *et al.*, 2016)**.

Pour **Chatellet (2007**), les formulations intra-mammaires sont à base de tétracyclines, de polypeptides et d'aminosides, associés à un anti-inflammatoire. Là on retrouve une grande partie des antibiotiques utilisés par nos vétérinaires, à l'exception des polypeptides, L'association d'une antibiothérapie par voie générale et intra mammaire doit être privilégiée **(Boultif, 2015)**. Par ailleurs, d'après l'enquête réalisée par Fabre *et al.* en 1996, dans 625 élevages répartis dans les principaux bassins laitiers français, dans le cadre du contrôle des résidus d'antibiotique dans le lait. Le traitement des mammites cliniques est incriminé dans 64% des cas de contamination du lait par les résidus d'antibiotiques et le traitement au tarissement dans 24% des cas. Ces chiffres sont, eux-mêmes, proches de ceux rapportés par d'autres auteurs : respectivement 52% et 19% Lepoutre (2000), et respectivement 42% et 24% Verhnes et Vandaele (2002).

En corrélant avec les résultats avancés par Fabre (1996), en Algérie, les deux antibiotiques (en raison de leur large utilisation) les plus susceptibles d'être retrouvés dans le lait sont donc : les tétracyclines et les bétalactamines. Là encore, on constate une similitude entre les molécules d'antibiotiques privilégiées en France et en Algérie pour le traitement des mammites par voie générale **(Boultif, 2015)**.

Dans notre étude pour l'antibiothérapie en élevage Bovin, on peut conclure que, pour le traitement des pathologies les plus répandues chez les bovins laitiers, ce sont les tétracyclines et les bétalactamines qui sont les plus largement utilisées.

En 1998, la Fédération Européenne de la santé animale a réalisé une enquête, sur l'usage des antibiotiques vétérinaires, dans les 15 États membres de l'Union

Européenne (UE). Il a été constaté que 65% de tous les antibiotiques et les antibactériens consommés, pour l'utilisation thérapeutique et la prévention, sont des tétracyclines **(Bogialli *et al.*, 2006)**.

Le traitement utilisé peut ne comporter qu'une seule molécule active antibiotique seul, ou bien plusieurs association d'antibiotiques ou encore associer l'antibiotique à un anti-inflammatoire. Certains vétérinaires utilisent les antibiotiques pour autre cause que le traitement des maladies, la majorité utilise les antibiotiques pour la prévention des maladies respiratoires.

5.3.3.5 Respect du délai d'attente par les éleveurs

Tous les vétérinaires interrogés indiquent que les éleveurs sont informé par le délai d'attente mais malheureusement ils ne respectent presque pas les délais d'attente préconisés, au cours des traitements antibiotiques .Selon leurs dires, moins de 3% seulement de vétérinaires interrogés pensent que le respect du délai d'attente par les éleveurs est bon. 68 % rapportent qu'il est mauvais. Le respect de ces délais est selon la conscience des éleveurs. Les vétérinaires confirment qu'il y des éleveurs qui ne respectent pas les délais d'attente et commercialisent les produit qui contient des résidus d'antibiotiques. Le choix des vétérinaires d'un antibiotique ou un autre est dans la majorité des cas (80%) basé sur le spectre et le délai d'attente d'antibiotique.

5.3.3.6 Antibiorésistances

Presque tous les vétérinaires ont enregistré des cas d'antibiorésistance, le cas le plus rencontré est la résistance des mammites à l'oxytétracycline, Ce dernier est couramment employé et d'une manière abusive. Ajouté à cela, la mauvaise manipulation des antibiotiques, car le vétérinaire laisse, parfois, à l'éleveur le soin d'administrer lui-même le médicament ou parfois même l'éleveur achète, directement, l'antibiotique sans l'avis du médecin. L'administration d'un traitement par l'éleveur, peut conduire à un mauvais suivi de la prescription du vétérinaire.

La dose à administrer dépend souvent du poids de l'animal, presque tous les vétérinaires questionnés, et même les éleveurs ne disposent pas d'une balance dans

leur stabulation, leur permettant de peser l'animal à traiter avant d'entamer un traitement antibiotique, ce qui peut conduire à des erreurs d'appréciation du poids et donc à des surdosages ou plus fréquemment des sous-dosages. Le sous-dosage est notamment à l'origine de la sélection de germes résistants aux antibiotiques **(Boultif, 2015, Chatellet, 2007)**.

L'administration d'un traitement par l'éleveur, peut conduire à un mauvais suivi de la prescription du vétérinaire. Pour l'automédication : si l'éleveur est confronté à des symptômes relevés sur son animal, il aura recours au même traitement que le vétérinaire aura mis en place précédemment, ne faisant appel à ce dernier qu'en cas d'échec thérapeutique. Cette pratique, peut aboutir d'avantage à la sélection de bactéries résistantes.

CONCLUSION & PERSPECTIVES

Le lait commercialisé dans la ville de Saida contient des résidus d'antibiotiques, Même si le taux est faible par rapport aux plusieurs autres résultats d'étude réalisé dans d'autres régions en Algérie. Mais le risque de ces résidus est toujours présent. La présence d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale doit constituer une préoccupation majeure, vu les risques encourus pour le consommateur vis-à-vis de ces produits et leurs dérivées, ainsi que les pertes économiques considérables au niveau de la transformation laitière.

Le manque total ou partiel de respect des prescriptions des vétérinaires liées au délai d'attente est la principale cause de présence de ces résidus dans le lait cru. Les éleveurs restent le maillon principal pour la qualité des denrées alimentaires d'origine animale ainsi que les vétérinaires qui ont une place centrale dans la maîtrise de l'utilisation des antibiotiques en santé animale. Egalement, Les autorités prennent une grande part de responsabilité lors d'absence d'une législation rigoureuse et stricte relative à l'utilisation des médicaments vétérinaires et qui reste sommaire faute de ressources financières et humaines. Il est devenu impératif de prévenir ces risques, d'instaurer une législation explicite et rigoureuse relative à ce problème.

Ce travail avait pour but d'estimer le taux de contamination du lait commercialisé dans la région de Saida par une méthode qualitative, semi-quantitative, et essayer par la suite de tester l'effet probable des températures élevées (haute pasteurisation et bouillage) sur des échantillons contaminés par ces substances chimiques et les caractéristiques physicochimiques du lait cru, pasteurisé et bouilli afin de vérifier la stabilité de ces paramètres vis-à-vis des différents traitements thermiques.

D'après les résultats obtenus, il s'avère que 0,03% des échantillons était positifs «contaminé par les résidus d'antibiotiques » dont les molécules majeures sont les Tétracycline 80% et les Beta-lactamines avec un pourcentage de 20%, les mêmes résultats sont trouvés dans les échantillons de lait après traitement thermique (pasteurisation et bouillage). Nos résultats ont aussi montré une instabilité de la composition physicochimique du lait contaminé suite à l'ébullition ainsi qu'à la haute pasteurisation. On plus des tests et des analyses, une enquête à été réalisé auprès vétérinaires praticiens dans les différentes communes de la wilaya sur l'antibiothérapie

en élevage bovin laitier dans la région. Ces questionnaires sur terrain ont confirmé nos résultats de laboratoire en ce qui concerne la présence des résidus d'antibiotiques dans lait ainsi que les molécules trouvées (large utilisation des Tétracyclines et des β-lactamines).

Ces résultats sont assez préoccupants et doivent interpeller les pouvoirs publics pour prendre les dispositions réglementaires nécessaires telles qu'établir une limite maximale de résidus (LMR) propre aux antibiotiques utilisés en Algérie.

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.

Par ailleurs, l'émergence de souches bactériennes résistantes aux antibiotiques, utilisés en pratique vétérinaire, doit faire l'objet d'une préoccupation sérieuse, en instaurant un plan de pharmacovigilance. Les vétérinaires praticiens doivent rationner les traitements à base d'antibiotiques. Ces derniers doivent être dirigés vers les germes cibles limitant ainsi l'utilisation des antibiotiques à large spectre.

Le statut actuel de la qualité du lait de la wilaya de Saida vis-à-vis de la contamination par les résidus d'antibiotiques explique l'absence totale d'un contrôle alimentaire. Cette situation est préoccupante et certaines mesures doivent être réalisées:

- ✓ La mise en place d'un plan national de contrôle rigoureux pour la recherche des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale au sein des fermes, des usines et des points de ventes afin de rassurer la sécurité du consommateur. Une pénalisation sur un lait contaminé peut freiner l'utilisation anarchique de ces médicaments.

- ✓ Les associations de consommateurs doivent être plus sensibles et montrer une réelle implication dans la contribution à la protection de la santé publique, surtout vis-à-vis des résidus d'antibiotiques ; notion très souvent négligée.
- ✓ instaurer un plan de pharmacovigilance en association entre le secteur de la santé animale et le secteur de la santé publique.
- ✓ Les vétérinaires et pharmaciens vétérinaires doivent être plus rigoureux dans la délivrance des ordonnances et la vente des antibiotiques.
- ✓ Les vétérinaires praticiens doivent s'équiper de laboratoires de microbiologie afin d'isoler les germes, réaliser un antibiogramme et cibler ainsi les traitements à base d'antibiotiques.

Ce travail pourra être poursuivi par :

- L'élargissement de la recherche à d'autres molécules d'antibiotiques tels que les macrolides et les sulfamides.
- L'utilisation de tests analytiques plus spécialisés en particulier la chromatographie liquide haute performance (HPLC) qui reste un moyen de contrôle très efficace pour les résidus d'antibiotique dans le lait. Etant une méthode qui permet de quantifier les résidus d'antibiotiques à l'échelle du nanogramme, elle représente, de ce fait, une méthode de choix qui pourra être utilisée pour le contrôle sanitaire au niveau des laboratoires de contrôle de la qualité.
- Les méthodes immuno-enzymatiques, comme l'ELISA, peuvent également être employées pour une détection précise des résidus d'antibiotiques dans le lait.
- L'étude de la stabilité des résidus d'antibiotiques dans le lait dans différentes conditions et une compréhension de l'effet de leur présence sur l'émergence de la résistance bactérienne semble être deux thématiques de recherche très importantes à prendre en considération par les futurs chercheurs.

Références Bibliographiques

1. **Aalipour F., Mirlohi M., Jalali M., Azadbakht L. (2015)**. Dietary exposure to tetracycline residues through milk consumption in Iran, J Environ Health Sci Eng, 13:80, doi:10.1186/s40201-015-0235-6.
2. **Abbasi M M., Babaeil H., Ansarin M., Nourdadgar AS., Nemati M. (2011).** Simultaneous determination of tetracyclines residues in bovine milk samples by solid phase extraction and HPLC-FL Method, Advanced Pharmaceutical Bulletin, 1(1): 34-39.
3. **Adrian J., Potus J., Frangne R. (1995).** La science alimentaire de A à Z, Lavoisier TEC & DOC, Paris, 477.
4. **Aggad H., Mahouz F., Ammar YA., kihal M. (2009).** Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest Algérien, Rev de Méd Vét, 160: 590-595.
5. **Alais C. (1984).** Science du lait. Principes et techniques laitières. édition Sepaic. 4ème éd. Paris. 814p.
6. **Alais C. Linden G. (1997)**. Lait et produits laitiers. In. Abrégé de biochimie alimentaire Edition Masson (4ème édition). 162p.
7. **Althaus R.L., Torres A., Montero A., Balasch S., Molina MP. (2003).** Detection limits of antimicrobials in ewe milk by Delvotest Photometric Measurements, J Dairy Sci, 86: 457–463.
8. **Amer A. M. M., Constable P.D., Goudah A., El Badawy S. A. (2012).** Pharmacokinetics of tulathromycin in lactating goats, Small Ruminant Research, 108 (1–3): 137–143.
9. **Amiot J., Fournier S., Lebeuf Y., Paquin P., Simpson R. (2002).** Composition, propriétés physico chimiques, valeur nutritive, qualité technologiques et techniques d'analyse du lait dans Carole Lapointe-Vignola, Science et technologie du lait: transformation du lait, Fondation de technologie laitière du Québec, Presses International Polytechnique, 1-68.
10. **Anna.Gadja, Ewelina.Nowacka-kozak, Malgorzata.Gbylik-sykorska, Anderzej.Posyniak (2017) :** Tetracycline antibiotics transfer from contaminated

milk to dairy products and the effect of the skimming step and pasteurisation process on residue concentrations, Food additives § contaminants journal :Part A Volume 35,2018-issue 1.

11. **ANDI (Agence Nationale de développement de l'Investissement). (2013).** Wilaya de Saida, http://www.andi.dz/PDF/monographies/Saida.pdf.
12. **Appicciafuoco B., Dragone R., Frazzoli CH., Bolzoni G., Mantovani A., Ferrini A. M. (2015).** Microbial screening for quinolones residues in cow milk by bio-optical method, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, SI: Analytical approaches, 106: 179– 185.
13. **Arrêté Ministériel (2003).** Arrété n° 2003-169 du 3 mars 2003 relatif au temps d'attente et aux limites maximales de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale au Maroc, Journal de Monaco, Bulletin principal de la principauté, n° 7951 du 21/03/2003.
14. **Arrêté Ministériel (1993).** Arrêté interministériel (ministère de l'économie, ministère de l'agriculture et ministère de la santé et de la population) du 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation, Journal officiel de la république algérienne.
15. **Barbut F., Petit J. C. (2007).** Mécanismes généraux de résistance aux antibiotiques, dans infectiologie par: Collignon A., Leymarie M. B., Farinotti R., Doutremepuich C, 3ème édition, 346-362.
16. **Belhadia M., Yakhlef H., Kouache B. (2011).** Filière lait, performances et insuffisances de la production et de la collecte du lait cru, cas des élevages bovins laitiers dans la région du haut Chéliff, papier présenté dans le Premier Séminaire National sur le lait et ses dérivés : « entre réalité de production et réalités de transformation et de consommation », Université de Guelma, Algérie, 4-5 Octobre 2011.
17. **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.

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

19. **Benkerroum N., Tamime A.Y. (2004).** Technology transfer of some Maroccan traditional dairy products (lben, jben and smen) to small industrial scale, Food. Microbiol, 21:399–413.

20. **rgogne-Berizin E., Dellamonica P. (1999).** Antibiothérapie en pratique Clinique, 2ème edition, Masson : 496.

21. **Bilandzic N., Kolanovic B.S., Varenina I., Scortichini G., Annunziata L., Brstilo M.,Rudan N. (2011).** Veterinary drug residues determination in raw milk in Croatia, Food Control, 22: 1941-1948.

22. **Boatto G., Cerri R., Pau A., Palomba M., Pintore G., Giovanna D.M. (1998).** Monitoring of benzylpenicillin in ovine milk by HPLC, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 17: 733-738.

23. **Borràs S., Companyó R., Granados M., Guiteras J. (2011).** Analysis of antimicrobial agents in animal feed, TrAC Trends in Analytical Chemistry, 30 (7): 1042-1064.

24. **Bories G., Louisot P. (1998).** Rapport concernant l'utilisation d'antibiotiques comme facteurs de croissance en alimentation animale, rapport effectué par le président de la Commission interministérielle et interprofessionnelle de l'alimentation animale et la président du Conseil supérieur d'hygiène publique de France, Conseil supérieur d'hygiène publique de France : 3-21.

25. **Bouazouni O., (2008)** Etude d'impact des prix des produits alimentaires de base sur les ménages pauvres algériens, une étude pour le compte du programme alimentaire mondial, disponible en : http://home.wfp.org/stellent/groups/public/documents/ena/wfp194575.pdf.

26. **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, 156.

27. **Bourgeois.C.M., Mescle.J.F., Zucca.J.** Microbiologie Alimentaire : aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments (tome 1). 2édition, 1996. Lavoisier édition.

28. **Brouillet P., (1994).** Maîtrise de la présence d'inhibiteurs dans le lait, Recueil de médecine vétérinaire, 170 : 443-454.

29. **Burgat-Sacaze V., Petit C. (1983).** Antibiothérapie intramammaire : notions pratiques de pharmacocinétique, Rec. Méd. Vét, 159 (6) : 561-573.

30. **Cazet L. M. D., (2007).** Bilan du taux de contamination et étude Préparatoire au dosage de résidus de produits phytosanitaires dans le lait de grand mélange bovin, thèse pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire, Université Claude-Bernard - Lyon I : 44-121.

31. **Chambers H.F., Sande M.A. (1998).** Médicaments antimicrobiens: Considération générales dans les bases pharmacologiques de l'utilisation des médicaments par Goodman et Gilman, 9ème édition, Mc Graw-Hill : 1027-1068.

32. **Charfaoui M., Mekersi S., Amroun M. (2003).** Le programme national de réhabilitation de la production laitière : objectifs visés, contenu, dispositif mise en oeuvre et impact obtenus:12.

33. **Chatellet.M.C (2007**). Modalités d'utilisation des antibiotiques en élevage bovin : enquête en Anjou, these de Doctorat vétérinaire, faculté de medecine de Créteil, 11-149

34. **Claps S., Morone G. (2011).** Produits laitiers et fromagers traditionnels de l'Algérie,

Développement de la Filière laitière et Fromagère en Algérie, CorFilac: 57-77.

35. **Clive P. P., Curtis M.J., Walker M.J., Sutter M.C., Hoffman B.B. (1999).** Pharmacologie intégrée traduction de la première édition anglaise par Georges C., avec collaboration de Jacques D., De BOECK Université : 606.

36. **Commission Decision (2002/657/EC).** Implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and interpretation of results, Official Journal of the European Communities, L 221: 8-36.

37. **Commission Regulation (EU N° 37/2010).** Text with EEA relevance of 22/12/2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin, Official Journal of the European Communities, L 15: 1-72.

38. **Commission Regulation (EU N° 2377/1990).** Laying down a Community procedure for the establishment of maximum residue limits of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin, Official Journal of the European Communities, L224.

39. **Community Reference Laboratories Residues (CRLs). (2010).** Guidelines for the Validation of Screening Method for residues of Veterinary Medicines (Initial Validation and Transfer), 1-15.

40. **Comunian R., Paba A., Dupré I., Daga E.S., Scintu M.F. (2010).** Evaluation of a microbiological indicator test for antibiotic detection in ewe and goat milk, Journal of Dairy Science, 93: 5644-5650.

41. **Council Regulation No 1831/2003.** Of the European parliament and of the council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition, Official Journal of th European Union, L268 : 29- 43.

42. **CVMP Committee for Medicinal Products for Veterinary Use (EMA /CVMP /380628 /2014). (2015).** European public MRL assessment report (EPMAR) tylvalosin (eggs), European Medicines Agency, 8.

43. **Décret exécutif n° 14-366 du 22 Safar 1436 correspondant au 15 décembre 2014.** fixant les conditions et les modalités applicables en matière de contaminants tolérés dans les denrées alimentaires, Journal Officiel de la République Algérienne, 74 : 13-14.

44. **Demoly P., Bousquet J., Godard P., Michel F.B. (2000).** Actualité des allergies médicamenteuses issues des antibiotiques et médicaments antirétroviraux, Bull. Acad. Nationale Méd, 184 (4): 761-774.

45. **DSM food Specialties B.V (Netherlands). (2012).** Bulletin technique Delvotest® SPNT,1.Disponible en

:https://www.hygialim.com/Assets/Client/images/HYGIALIM/Schema/1008123.pdf.

46. **Duboi M., Fluchard D., Sior E., Delahaut P. (2001).** Identification and quantification of five macrolide antibiotics in several tissues, eggs and milk by liquid chromatographyelectrospray tandem mass spectrometry, Journal of chromatography B, 753, 189-202.

47. **Enriquez B.J., Boulouis H.J. (1990).** Pharmacocinétique des anti-infectieux Rec. Méd. Vét, 166 :(3), 205-223.

48. **Fabre J.M., Bouquet O., Petit C. (2006).** Extrait du livre : Comprendre et prévenir les risques de résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale, 25-47.

49. **Fabre J.M., Moretain J.P., Berthelot X. (2002).** Evolution de la méthode interprofessionnelle de recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait, Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires, 15 : 172-178.

50. **Ferrini A.M., Agrimi U., Appicciafuoco B., et al. (2015).** PT as a tool to point out criticalities in the strategy for control of antibiotic residues in milk: the Italian experience, Accred Qual Assur, 20 (4): 267–272, doi:10.1007/s0076901511272.

51. **Fiscus-Mougel F., (1993).** Les résidus d'antibiotiques à usage vétérinaire dans le lait et la viande, thèse de Doctorat en Pharmacie, Université Claude Bernard, Lyon. n°53 : 84.

52. **Fisher N. R., Purnell C. B., Kang J. (2010).** Comment on effect of heating on the stability of quinolones in milk, J. Agric. Food Chem, 58 (24): 13020–13021, Doi: 10.1021/jf1034724.

53. **Freitas A., Barbosa J., Ramos F. (2013).** Development and validation of a multi residue and multiclass ultrahigh pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry screening of antibiotics in milk, Int Dairy J, 33(1):38–43.

54. **García N.D., Junza A., Zafra-Gomez A., Barron D., Navalon A. (2016).** Simultaneous determination of quinolone and b-lactam residues in raw cow milk samples using ultrasoundassisted extraction and dispersive-SPE prior to UHPLC-MS/MS analysis, Food Control, 60: 382-393.

55. Ghazi K., Niar A. (2011). Qualité hygiénique du lait cru de vache dans les différents élevages de la wilaya de Tiaret (Algérie), TROPICULTURA : 193-196.

56. Giraudet C., (1978) Etude de la prophylaxie des accidents de fromagerie dus à une contamination du lait à la ferme par des germes de souillure, thèse de Doctorat vétérinaire, Toulouse:77.

57. Granja R., Andreia C., de Lima A.C.G., Salerno A.G., Wanschel A. C. (2012). Validation of a liquid chromatography with ultraviolet detection methodology for the determination of sulfonamides in bovine milk according to 2002/657/EC, Food Control, 28 (2): 304–308.

58. Griffoul B. (2007). Une production laitière fortement dépendante des importations, Réussir Lait Élevage: 2-3.

59. Grunwald L., Petz M. (2003). Food processing effects on residues: penicillins in milk and yoghurt, Analytica Chimica Acta, 4th International Symposium on Hormone and Veterinary Residue Analysis, 483 (1-2): 73–79.

60. Guillemot M.D., et al. (2006). Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine, Document AFSSA (Agence Française de la Sécurité Sanitaire des Aliments) : 49-55.

61. Hakem A., Yabrir B., kheleF D., Laoun A., Mouffok F., El-gallas N., Titouche Y., Benaissa R. (2012). Evaluation of Microbial Quality of Raw Milk into two Dairies Mitidja's Farms (Algeria), Bulletin USAMV, Veterinary Medicine, 69 (1- 2): 1843-5262.

62. Han R.W., Zheng N., Yu Z.N., Wang J., Xu X.M., Qu X.Y., Li S.L., Zhang Y.D., Wang J.Q. (2015). Simultaneous determination of 38 veterinary antibiotic residues in raw milk by UPLC–MS/MS, Food Chemistry, 181: 119 –126.

63. Heeschen W.H., Blüthgen A. (1990). Veterinary drugs and pharmacologically active compounds residues and contaminants in milk and milk products, 9101: 16-39.

64. Hennart S.L., Faragher J.J. (2012). Validation of the Delvotest SP NT DA, Performance Tested Method 011101, AOAC Int, 95(1): 252-60.

65. Hillerton J.E., Halley B., Neaves P., ROS M. (1998). Detection of antimicrobial substances in individual cow and quarter milk samples using Delvotest microbial inhibitor tests, Journal of Dairy Science, 82:704 –711.

66. Holstage D.M., Punchner B., Whitehead G., Galey F.D. (2002). Screening and mass spectral confirmation of b-lactam antibiotic residues in milk using LC-MS/MS, J Agric Food Chem, 16:406e11. DOI: 10.1021/jf010994s.

67. Hou X.L., Chen G., Zhu L., Yang T., Zhao J., Wang L., Wu Y.L. (2014). Development and validation of an ultrahigh performance liquid chromatography tandem mass spectrometry method for simultaneous determination of sulfonamides, quinolones and benzimidazoles in bovine milk, Journal of Chromatography B, Analytical Technologies in the Biomedical and life sciences, 962: 20-29.

68. Hsieh M. K., Shyu C.L., Liao J.W., Franje C.A., Huang Y.J., Chang S.K., Shih P.Y., Chou C. C. (2011). Correlation analysis of heat stability of veterinary antibiotics by structural degradation, changes in antimicrobial activity and genotoxicity, VET MED-CZECH, 56 (6): 274–285.

69. Jank L., Martins M.M., Arsand J.B., Motta T.M.C., Hoff R. B., Barreto F., Pizzolato T.M. (2015). High-throughput method for macrolides and lincosamides antibiotics residues analysis in milk and muscle using a simple liquid–liquid extraction technique and liquid chromatography–electrospray–tandem mass spectrometry analysis (LC–MS/MS), Talanta, 144: 686 - 695.

70. Jank L., Martins M.T., Arsand J.B., Magalhães T., Motta C., Feijó T.C., Castilhos T. S., Hoff R.B., Barreto F., Pizzolato T.M. (2017). Liquid chromatography–tandem mass spectrometry multiclass method for 46 antibiotics residues in milk and meat: Development and validation, Food Analytical Methods, 1–13, doi: 10.1007/s12161-016-0755-4.

71. Junza A., Dorival-García N., Zafra-Gómez A., Dolores B., Oscar B., José Barbosa B., Alberto N. (2014). Multiclass method for the determination of quinolones and β-lactams, in raw cow milk using dispersive liquid–liquid microextraction and ultra-high performanceliquid chromatography–tandem mass

spectrometry, Journal of Chromatography; 1356:10–22. http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.

72. **Kabir A., (2015).** Contraintes de la production laitière en Algérie et évaluation de la qualité du lait dans l'industrie laitière (constats et perspectives), thèse de doctorat en Sciences en Microbiologie, Université d'Oran 1 (Ahmed Ben Bella). Algérie : 153.

73. **Kacimi S., (2013)** La dépendance alimentaire en Algérie: Importation de lait en poudre versus production locale, quelle evolution? Mediterranean Journal of Social Sciences MCSER Publishing, Rome-Italy, 4 (11). Doi:10.5901/mjss.v4n11:152.

74. **Kassaify Z., Abi Khalil P., Sleiman F. (2013).** Quantification of antibiotic residues and determination of antimicrobial resistance profiles of microorganisms isolated from bovine milk in Lebanon, Food and Nutrition Sciences, 4: 1-9.

75. **Khaskheli M., Malik R.S., Arain M.A., Soomroand A.H., Arain H.H. (2008).** Detection of beta-lactam antibiotic residues in market milk, Pak J Nutr, 7: 682-685, doi: 10.3923/pjn.682.685.

76. **Labie C.H., (1981).** Dispositions législatives destinées à éviter la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait, Recueil de médecine vétérinaire, 157 : 161-167.

77. **Labioui.H., El moualdi.L., Benzakour.A., El yachioui.M., Berny.E., Ouhssine.M (2009)** : étude physicochimique et microbiologique du laits crus , Bull.soc.pharm,2009,148, 7-16

78. **Lagrange L., (1989).** La commercialisation des produits agricoles et agroalimentaires, Lavoisier TEC & DOC, Paris, p 333.

79. **Larpent JP. (1997).**Les listérioses, les *Listeria* et les produits alimentaires. In Les *Listeria* (J.P.Larpent, édition.).Technique et documentation, Lavoisier, Paris, pp : 41-53

80. **Laurentie M., Sanders P. (2002).** Résidus de médicaments vétérinaires et temps d'attente dans le lait Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires, 15 : 197-201.

81. **Lei Tian, SalmaKhalil et Stéphane Bayen (2017) :** Effet des traitements thermiques sur la dégradation des résidus d'antibiotiques dans les denrées

alimentaires,critical reviews in food science and nutrition : volume 57,2017-numéro 17

82. **Le Breton M.H., Savoy-Perroud M.C., Diserens J.M. (2007).**Validation and comparison of the Copan Milk Test and Delvotest SP-NT for the detection of antimicrobials in milk, Analytica Chimica Acta, 586: 280–283.

83. **Le Minor L., (1982).** Bactériologie médicale, édition: Flammarion médecine-sciences, 773.

84. **Maillard R., (2002).** Antibiothérapie respiratoire**,** La Dépêche Vétérinaire, 80 : 15-17.

85. **Martins M.T., Melo J., Barreto F., Hoff R.B., Jank L., Bittencourt M.S., Arsand J.B., Schapoval E.E.S. (2014).** A simple, fast and cheap non-SPE screening method for antibacterial residue analysis in milk and liver using liquid chromatography–tandem mass spectrometry, Talanta, 129: 374-383.

86. **M. Roca , L. Villegas , M. L. Kortabitarte , R. L. Althaus , and M. P. Molina (2011)** : Effect of heat treatments on stability of β-lactams in milk, Journal of Dairy Science Vol. 94 No. 3, 2011.

87. **M. A. ZORRAQUINO, R. L. ALTHAUS, M. ROCA, AND M. P. MOLINA(2011)** : Heat Treatment Effects on the Antimicrobial Activity of Macrolide and Lincosamide Antibiotics in Milk, Journal of Food Protection, Vol. 74, No. 2, 2011, Pages 311–315.

88. **Mechai A., Kirane D. (2008).** Antimicrobial activity of autochthonous lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk "Raïb", African Journal of Biotechnology, 7 (16): 2908-2914.

89. **Meddouri.D.,Mamine.F., Madis.S (2013)**. Contrôle des résidus d'antibiotiques dans le lait cru dans la région de Souk Ahras : quelques renseignements pour assurer l'efficacité du dépistage. Communication affiché au rencontre qualiméditérranée 2013 : la sureté alimentaire, les 13 et 15 Novembre 2013, à Montpellier (Sup Agro-INRA).

90. Meng Z., Shi Z., Liang S., Dong X., Li H., Sun H. (2015). Residues investigation of fluoroquinolones and sulfonamides and their metabolites in bovine milk by quantification and confirmation using ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, Food Chemistry, 179: 597-605.

91. Mensah S.E.P., Koudandé O.D., Sanders P., Laurentie M., Mensah G.A., Abiola F.A. (2014a). Antimicrobial residues in foods of animal origin in Africa: public health risks,Scientific and Technical Review (International Office of Epizootics), 33 (3): 26.

92. Mensah S.E.P., Aboh A.B., Salifou S., Mensah G.A., Sanders P., Abiola F.A., Koudandé O.D. (2014b). Risques dus aux résidus d'antibiotiques détectés dans le lait de vache produit dans le Centre Bénin, Journal of Applied Biosciences, 80: 7102 – 7112.

93. Merad M., Merad R. (2001). Toxicité des antibiotiques, Médecine du Maghreb, 91: 5.

94. Mourot D., Loussouarn S. (1981). Sensibilité des ferments lactiques aux antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire Rec. Méd. Vét, 157:2. 175-177.

95. Navrátilová P., Ivanaová I.B., Vyhnálková J., Vorlová L. (2011). Fluoroquinolone residues in raw cow's milk, Czech J. Food Sci, 29 (6): 641–646.

96. Nebot C., Regal P., Miranda J.M., Fente C., Cepeda A. (2013). Rapid method for quantification of nine sulfonamides in bovine milk using HPLC/MS/MS and without using SPE, Food Chemistry, 141(3, 1): 2294–2299.

97. Nikolić N., Mirecki S., Blagojević M. (2011). Inhibitory substances in raw milk, Mljekarstvo, 61(2):182–7.

98. NMC (National Mastitis Council). (1990). Traduit de: Procedures for Collecting Milk Samples D'après: "Microbiological Procedures for the Diagnosis of Bovine Udder Infection", 3rd Edition, disponible en: www.reseaumammite.org.

99. Noémi.L., Katalin.L., Péter.L : LC-MS study of the heat degradation of veterinary antibiotics in raw milk after boiling, Food Chemistry, 267 (2018):178–186.

100. Ouadghiri M. (2009a). Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés «Lben» et «Jben» d'origine marocaine, thèse de doctorat en Microbiologie et Biologie Moléculaire, Université Mohammed V–agdal Faculté des sciences Rabat, Maroc : 132.

101. Ouadghiri M., Vancanneyt M., Vandamme P., Naser S., Gevers D., Lefebvre K., Swings J., Amar M. (2009b). 14 Identification of lactic acid bacteria in Moroccan raw milk and traditionally fermented skimmed milk 15 'lben', J Appl Microbiology, 106:486–95.

102. Pereira R.V., Siler J.D., Bicalho R.C., Warnick L.D. (2014). Multiresidue screening of milk withheld for sale at dairy farms in central New York State, Journal of Dairy Science, 97: 1513–1519.

103. Petrović J.M., Katić V.R., Bugarski D.D. (2008). Comparative examination of the analysis of βlactam antibiotic residues in milk by enzyme, receptor–enzyme, and inhibition procedures, Food Anal Methods, 1:119–25. doi: 10.1007/s121610079007y.

104. Pikkemaata M.G., Rapallinib M.L.B.A., Oostra-van Dijka S., Elferinka J.W.A. (2009). Comparison of three microbial screening methods for antibiotics using routine monitoring samples, Anal Chim Acta, 637:1–2, doi: 10.1016/j.aca.2008.08.023.

105. Pogurschi E., Ciric A., Zugrav C., Patrascu D. (2015). Identification of antibiotic residues in raw milk samples coming from the Metropolitan Area of Bucharest, Agriculture and Agricultural Science Procedia, 6: 242 – 245.

106. Rama A., Lucatello L., Benetti C., Galina G., Bajraktari D. (2016). Assessment of antibacterial drug residues in milk for consumption in Kosovo, journal of food and drug analysis, 1-8.

107. **Ramirez A., Gutiérrez R., Diaz G., Gonzalez C., Pérez N., Vega S., Noa M. (2003).** Highperformance thin- layer chromatography- bioautography for multiple antibiotic residues in cow's milk. Journal of Chromatography B.784: 315-322.

108. **Reig M., Toldra F., (2008).** Veterinary drug residues in meat: Concerns and rapid methods for detection, Meat Science, 78 (1-2): 60-67.

109. **Reybroeck W., (2010)** Screening for residues of antibiotics and chemotherapeutics in milk and honey, Doctorat dissertation, Faculteit Diergeneeskunde Universiteit Gent.

110. **Rhodes G., Huys G., Swings J.M.C., Gann P., Hiney M., Smith P., Pickup R.W. (2000).** Distribution of oxytetracycline resistance plasmids between Aeromonads in hospital and aquaculture environments: implication of Tn1721 in dissemination of the tetracycline resistance determinant Tet A, Appl. Environ. Microbiol, 66: 3883-3890.

111. **Riediker S., Andreas R., Stadler R.H. (2004).** Cold-temperature stability of five β-lactam antibiotics in bovine milk and milk extracts prepared for liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry analysis, Journal of Chromatography A Food Science, 1054 (1–2): 359–363

112. **Rizwan M.M., Shafqat ullah., Bacha N. (2014).** Screening of fresh, boiled and Pasteurized milk for Aflatoxin-M1 contamination and antibiotic residues in Pakistan, World Journal of Dairy & Food Sciences, 9 (1): 51-56.

113. **Roca M., Castillo M., Marti P., Althaus R. L., Molina M. P. (2010).** Effect of heating on the stability of quinolones in Milk, J. Agric. Food Chem, 58(9): 5427–5431.

114. **Roca M., Villegas L., Kortabitarte M.L., Althaus R.L., M.P. Molina. (2011).** Effect of heat treatments on stability of β-lactams in milk, Journal of Dairy Science, 94 (3):1155–1164.

115. **Rocaa M., Althaus R.L., Molina M.P. (2013).** Thermodynamic analysis of the thermal stability of sulphonamides in milk using liquid chromatography tandem mass spectrometry detection, Food Chemistry, 136 (2) 15: 376–383.

116. **Romnee J .M., (2009).** Potentialités des tests microbiens et de la spectrométrie infra-rouge dans la recherche d'antibiotiques dans le lait, thèse de doctorat en sciences agronomiques et ingénierie biologique, Académie Universitaire Wallonie-Europe, Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques De Gembloux, Communauté Française De Belgique : 340.

117. **Sanders P., (2005).** L'antibiorésistance en médecine vétérinaire : Enjeux de Santé Publique et de santé animale, Bulletin de l'académie vétérinaire de France, 158 (2) : 139-140.

118. **Schwarz S., Chaslus-Dancla E. (2001).** Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance, Vet. Res, 32: 201-225

119. **Sidak Z., (1967)** Rectangular confidence regions for the means of multivariate normal distributions, J Am Stat Assoc, 62:626–33.

120. **Sierra D., Sánchez A., Contreras A., Luengo C., Corrales J.C., Morales C.T., de la F .C.I., Guirao I., Gonzalo C. (2009a).** Detection limits of four antimicrobial residue screening tests for β-lactams in goat's milk, Journal of Dairy Science, 92: 3585–3591.

121. **Sierra D., Contreras A., Sánchez A., Luengo C., Corrales J.C., Morales C.T., de la FeC.I., Guirao I., Gonzalo C. (2009b).** Short communication: Detection limits of non-β-lactam antibiotics in goat's milk by microbiological residues screening tests, Journal of Dairy Science, 92: 4200–4206.

122. **Singleton P., (2008).** Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies, 6ème edition, DUNOD : 542.

123. **Stead S.L., Ashwin H., Richmond S.F., Sharman M., Langeveld P.C., Barendse J.P., Stark J., Keely B.J. (2008).** Evaluation and validation according to international

standards of the Delvotest® SP-NT screening assay for antimicrobial drugs in milk, International Dairy Journal, 18: 3-11.

124. **Stoltz R. (2008).** Les résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale : Evaluation et maitrise de ce danger, thèse de doctorat en médecine vétérinaire, Université Claude- Bernard - LYON I, France : 117.

125. **Stora D., (2005).** Pharmacologie B.P. Classes pharmacologiques, 3 ème édition, Porphyre : 845.

126. **Suhren G., Luitz M. (1995).** Evaluation of microbial inhibitor tests with indicator in microtiter plates by photometric measurements, Milchwissenschaft, 50: 467–470.

127. **Sulejmani Z., Shehi A., Hajrulai Z., Mata E. (2012).** Abuse of pharmaceutical drugsantibiotics in dairy cattle in Kossovo and detection of their residues in milk, J Ecosyst Ecogr, 2: 114. Doi: 10.4172/2157-7625.1000114.

128. **Talnan A., (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, thèse de Doctorat en Médecine vétérinaire, Université Cheikh Anta Diop De Dakar, 149.

129. **Tarzaali D., Dechicha A., Gharbi S., Bouaissa MK., Yamnaine N., Guetarni D. (2008).** Recherche des résidus des tétracyclines et des bêta-lactamines dans le lait cru par le MRL Test (ROSA TEST) à Blida, Algérie, Papier présenté dans : 6èmes Journées Scientifiques Vétérinaires sur le médicament vétérinaire : nouvelles approches thérapeutiques et impact sur la santé publique, E.N.V, Algérie.

130. **Titouche Y., Hakem A., Houali K., Yabrir B., Malki O., Chergui A., Chenouf N., Yahiaoui S., Labiad M., Ghenim H., Kechih-Bounar S., Chirilă F., Nadăş G., Fiţ N.I. (2013).** Detection of Antibiotics Residues in Raw milk Produced in Freha Area (Tizi-Ouzou), Algeria, Bulletin UASVM, Veterinary Medicine, 70: 1843-5378.

131. **Wang J., Leung D., Lenz S.P. (2006).** Determination of five macrolide antibiotic residues in raw milk using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54: 2873–2880.

132. **Wang J., Leung D. (2007).** Analyses of macrolide antibiotic residues in eggs, raw milk, and honey using both ultra-performance liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry and high-performance liquid

chromatography/tandem mass spectrometry, Rapid commun. Mass Spectrom, 21: 3213- 3222.

133. **Zamfir M., Vancanneyt M., Makras L., Vaningelgem F., Lefebvre K., Pot B., Swings J., De Vuyst L. (2006).** Biodiversity of lactic acid bacteria in Romanian dairy products, Syst Appl Microbiol, 29(23):487–95.

134. **Zhang Y.D., Zheng N., Han R.W., Zheng B.Q., Yu Z.N., Li S.L., Zheng S.S., Wang J.Q. (2014).** Occurrence of tetracyclines, sulfonamides, sulfamethazine and quinolones in pasteurized milk and UHT milk in China's market, Food Control, 36 (1): 238–242.

135. **Zinedine A., Faid M., Benlemlih M. (2007).** Détection des résidus d'antibiotiques dans le lait et les produits laitiers par méthode microbiologique, Revue de Microbiologie Industrielle, Sanitaire et Environnementale, 1 : 1-9.

136. **Zoubeidi M., Gharabi D. (2013).** Impact du PNDA sur la performance économique des filières stratégiques en Algérie : cas de la filière lait dans la wilaya de Tiaret, Revue Ecologie- Environnement, 9.

137. **Žvirdauskienė R., Šalomskienė J. (2007).** An evaluation of different microbial and rapid tests for determining inhibitors in milk, Food Control, 18:541–7.