

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université MOULOUD MAMMERY de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département des sciences alimentaires

Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de Master en sciences alimentaires
Option : Agro-alimentaire et contrôle qualité

Thème

*Détection des résidus d'antibiotiques dans le lait cru issu du circuit
formel et informel dans la région de Tizi Ouzou*

Réalisé par :

M IMARAZENE Mahmoud

M LARIOUAT Sofiane

Devant le jury composé de :

Promotrice : M^{me} Benmalle Remane Y

Maitre de conférences B

Président : M Msela A

Maitre de conférences B

Examinatrice : M^{me} Lammi Mefidene S

Maitre de conférences B

Année universitaire : 2023-2024

Remerciement

Nous remercions Allah, le tout puissant, de nous avoir donné l'énergie pour aller au bout de ce travail.

Le présent mémoire a été revu, corrigé et approuvé par notre promotrice Madame Ben Mallem Remane Y, Maître de conférences "B". Nous la remercions avant tout de la confiance qu'elle a manifesté à notre égard, mais aussi pour ses conseils avisés et son soutien tant moral que scientifique.

Nous tenons à remercier notre honorable jury:

M. Msela A Maître de conférences "B" à l'université de Tizi Ouzou qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de jury.

Mme. Lammi Mefidene S Maître de conférences "B" à l'université de Tizi Ouzou qui nous a honoré de faire partie de notre jury et a consenti d'examiner ce travail.

Nos remerciements s'adressent également, à l'ensemble des enseignants du département des sciences alimentaires de l'Université de Tizi Ouzou qui ont contribué à notre formation.

Nous tenons aussi à remercier les responsables de l'industrie laitière FERMIER pour leur accueil chaleureux et leur aide, et à l'égard de toute personne ayant pris part de près ou de loin dans l'accomplissement de ce travail.

Nous exprimons notre gratitude à chaque éleveur, en les nommant individuellement, pour leur compréhension et pour nous avoir fourni des échantillons de lait.

Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail
accompagné d'un amour profond à :

Celle qui s'est sacrifiée pour me voir réussir, ma chère mère

«**FLORA**».

A celui qui m'a guidé et aidé et a fait de moi un homme mon cher père

«**MAKHLOUF**».

À ma chère sœur «**THILLELI**».

À mon cher petit frère «**MOUHEND SAID**».

À «**SABRINA**».

À toute ma famille.

Spécialement à mon binôme «**SOFIANE**» et toute sa famille.

À toute la promotion « Agroalimentaire et Contrôle de qualité ».

Et à tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à la réussite et la
réalisation de ce mémoire.

Merci.

Mahmoud

Dédicace

Tout d'abord, je dédie ce travail à mes parents qui m'ont soutenu tout le temps, et qui m'ont donné l'espoir et le courage d'achever ce travail. Sans oublier mes deux frères, ma sœur et toute ma famille.

Je tiens à remercier tous mes amis pour leur soutien, surtout "Rafik, Ramzi, Mouh, Massi Ing, Massi, Mouloud, Belkacem, Amar et Mahmoud". Vous avez tous été là pour moi quand j'ai eu besoin de courage, vous êtes si importants pour moi quoi qu'il arrive. Merci encore de m'avoir aidé à trouver des solutions.

Je me dédie à moi-même, à mon âme pour avoir terminé le travail et avoir été patient face à tous les obstacles que j'ai rencontrés.

J'apprécie vos précieux efforts, vous serez toujours mes préférés.

Je vous aime tous, SOSO.

Résumé :

L'administration fréquente des antibiotiques aux animaux d'élevage, à des fins thérapeutiques ou pour favoriser leur croissance, peut entraîner la présence de résidus d'antimicrobiens dans le lait. Ces résidus ont des répercussions importantes sur la santé publique et l'économie pour les raisons suivantes : réactions allergiques, sélection de bactéries résistantes, toxicité, et l'entrave à la production de certains produits alimentaires. La cause principale de la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait est le non-respect des délais d'attente. L'objectif de cette étude est de détecter les résidus d'antibiotiques dans le lait cru destiné à la transformation (CF), et celui de CIF produit dans des différentes régions de la Wilaya de Tizi Ouzou (Algérie). Un total de 35 échantillons de lait ont été prélevés dans plusieurs fermes et examinés. Le premier dépistage des échantillons a été effectué par un test d'acidification utilisant *Géobacillus stéarothermophilus*, suivi d'un test de confirmation sur gélose MH inclinée en utilisant des spores de *G. stéarothermophilus* et *B. subtilis*. Nos résultats ont montré une forte présence de résidus d'antibiotiques dans le lait cru, avec 16 échantillons positifs (45,71 %). La plupart d'entre eux contenaient de la pénicilline et/ou de la tétracycline (93,75 %), suivis par des macrolides et/ou des aminoglycosides (6,25 %). Les résultats indiquent que la plupart des éleveurs ne respectent pas toujours le délai entre l'administration d'antibiotiques et la collecte du lait. Par conséquent, le contrôle des résidus d'antibiotiques doit être une préoccupation majeure pour les producteurs et les transformateurs afin de protéger la santé des consommateurs et d'éviter les pertes économiques dans les industries laitières.

Mots clés :

Antibiotique, résidus d'antimicrobien, bactéries résistantes, toxicité, réactions allergiques. délai d'attente, test d'acidification, test de confirmation,

Abstract:

The frequent administration of antibiotics to farm animals, for therapeutic or growth-promoting purposes, can lead to the presence of antimicrobial residues in milk. These residues have a major impact on public health and the economy for the following reasons: allergic reactions, selection of resistant bacteria, toxicity, and hindrance to the production of certain food products. The main cause of antibiotic residues in milk is non-observance of withdrawal times. The aim of this study is to detect antibiotic residues in collected and uncollected raw milk produced in different regions of the Wilaya of Tizi Ouzou (Algeria). A total of 35 milk samples were collected from several farms and examined. Samples were first screened by an acidification test using *Geobacillus stearothermophilus* (calidolactis variety ATCC 10149), followed by a confirmatory test on MH agar with spores of *G. stearothermophilus* and *B. subtilis*. Our results showed a strong presence of antibiotic residues in raw milk, with 16 positive samples (45.71%). Most of these contained penicillin and/or tetracycline (93.75%), followed by macrolides and/or aminoglycosides (6.25%). The results indicate that most farmers do not always respect the delay between antibiotic administration and milk collection. Consequently, the control of antibiotic residues must be a major concern for producers and processors in order to protect consumer health.

Key words :

Antibiotic, antimicrobial residues, resistant bacteria, toxicity, allergic reactions. waiting period, acidification test, confirmation test.

ملخص

يمكن أن يؤدي إعطاء المضادات الحيوية بشكل متكرر لحيوانات المزارع، أغراض عالجية أو لتعزيز النمو، إلى وجود مخلفات مضادات الميكروبات في الحليب. ولهذه البقايا تداعيات كبيرة على الصحة العامة والاقتصاد لأسباب التالية: الحساسية، وتكاثر البكتيريا المقاومة، والتسمم، وإعاقة إنتاج بعض المنتجات الغذائية. السبب الرئيسي لوجود بقايا المضادات الحيوية في الحليب هو عدم الالتزام بفترات السحب. كان الهدف من هذه الدراسة هو الكشف عن بقايا المضادات الحيوية في الحليب الخام المجمعة وغير المجمعة المنتجة في مناطق مختلفة من والية تيزي وزو (الجزائر).

تم أخذ 53 عينة من الحليب من عدة مزارع وفحصها. فُحصت العينات أولاً عن طريق اختبار الحموضة باستخدام جيوباسيلوس

، تاله اختبار تأكيد على أجار باستخدام بكتيريا (ATCC 10149 صنف كاليدوالكتيس) *stearothermophilus*، جيوباسيلوس ستيروثرموفيلوس وبكتيريا ب. أظهرت نتائجنا وجوداً قوياً لبقايا المضادات الحيوية في الحليب الخام، مع وجود 11 عينة إيجابية (13.51%). احتوت معظم هذه العينات على البنسلين و/أو التتراسيكلين (55.53%)، تليها الماكروليدات و/أو الألمينو غليكوزيدات (1.3%). تشير النتائج إلى أن معظم المزارعين ال يحترمون داءً ما الوقت بين إعطاء المضادات الحيوية وجمع الحليب. لذلك يجب أن تكون السيطرة على بقايا المضادات الحيوية مصدر قلق كبير للمنتجين والمجهزين من أجل حماية صحة المستهلك.

الكلمات المفتاحية

المضادات الحيوية، ومخلفات مضادات الميكروبات، والبكتيريا المقاومة، والتسمم، والحساسية، وفترة السحب، واختبار التخمض، واختبار التأكيد

Liste des abréviations

- **OMS** : Organisation mondiale de la santé
- **AFNOR** : Association française de normalisation
- **AG** : Acide gras
- **BL** : Bactéries lactique
- **Cmax** : Concentration maximale
- **CE** : Commission européenne
- **CF** : Circuit formel
- **CIF** : Circuit informel
- **DO** : Densité optique
- **DSENO** : dose sans effet nocif observé
- **ESD** : Extrait sec dégraissé
- **EU** : Union européenne
- **JORA** : Journal officiel de la république Algérienne
- **HPLC** : Chromatographie liquide à haute performance
- **LMR** : Limite maximale de résidus
- **MH** : Muller Hinton
- **pH** : potentiel d'hydrogène
- **PASCRA** : Programme Algérien de surveillance des contaminants et des résidus dans les aliments

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principales classes et molécules d'antibiotiques autorisées dans l'Union européenne (Mensah et al., 2014).....	8
Tableau 2 : Limites maximales de résidus (LMR) ($\mu\text{g /kg}$) pour les antibiotiques vétérinaires (Nisha, 2008).....	14
Tableau 3 : Le délai d'attente de quelques antibiotiques (Menkem et al., 2019)	15
Tableau 4 : Résultat de l'analyse physicochimique du lait.	28
Tableau 5 : Taux de détection des résidus par les bactéries testes.	31

Liste des figures

Figure 1 : Le rôle de l'acide butyrique dans la santé (Gómez-Cortés et al., 2018)	6
Figure 2 : Processus de formation de résidus dans les aliments (Mensah et al., 2014).....	13
Figure 3 : Réalisation des analyses physicochimique du lait.	24
Figure 4 : Suspension de <i>Geobacillus stearothermophilus</i>	25
Figure 5 : <i>Bacillus subtilis</i>	26
Figure 6 : <i>Géobacillus stearothermophilus</i>	26
Figure 7 : Résultats de l'analyse des échantillons de lait cru (CF et CIF) après le test d'acidification.	30
Figure 8 : Résultat du test d'acidification du lait cru prélever.	31
Figure 9 : Résultat du test de confirmation	32
Figure 10 : Taux de détection des résidus d'antibiotique par les bactéries <i>G. stearothermophilus</i> et <i>B. subtilis</i> .selon le test de confirmation	32
Figure 11 : Répartition des échantillons positifs sur l'ensemble du lait prélevé.	33

Table des matières

Remerciement

Dédicaces

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction générale 1

Chapitre I : Généralités sur le lait

I.1. Définition : 3

I.2. Caractéristiques physico-chimiques : 3

I.2.1. L'acidité 3

I.2.1.1 Le pH 3

I.2.1.2 Acidité titrable (en degré Dornic) 3

I.2.2. La densité : 4

I.2.3. Le point de congélation : 4

I.2.4. Point d'ébullition : 4

I.3. Valeur nutritionnelle : 4

I.3.1. Apport en protéine : 4

I.3.2. Apport en glucides : 5

I.3.3. Apport en lipides : 6

I.3.4. Les minéraux et les vitamines : 7

Chapitre II : Généralités sur l'antibiotique

II.1. Historique et définition : 8

II.2. Famille d'antibiotiques et leur mode d'action : 8

II.3. Pharmacocinétiques des antibiotiques : 9

II.3.1. Absorption : 9

II.3.2. Distribution : 10

Table des matières

II.3.3. Métabolisme :.....	10
II.3.4. Elimination :.....	10
II.4. Usage des antibiotiques en élevage :.....	11
II.4.1. Usage thérapeutique :.....	11
II.4.2. Usage en prophylaxie :.....	11
II.4.3. Usage en tant qu'additif alimentaire :.....	11

Chapitre III : Les résidus d'antibiotiques

III.1. Notion de résidu d'antibiotique :.....	13
III.2. La limite maximale de résidus :.....	13
III.3. Le délai d'attente :.....	15
III.4. Causes de présence des résidus d'antibiotiques dans le lait :.....	15
III.5. L'impact des résidus d'antibiotiques :.....	17
III.5.1. Sur l'organisme humain :.....	17
III.5.1.1. Réaction d'hypersensibilité :.....	17
III.5.1.2. Effet cancérogène :.....	18
III.5.1.3. Effet mutagène :.....	18
III.5.1.4. Effet tératogène :.....	18
III.5.1.5. Perturbation de microbiote intestinal :.....	18
III.5.1.6. La résistance aux antibiotiques :.....	18
III.5.2. Impact sur l'industrie agroalimentaire :.....	19
III.5.3. Impact sur l'environnement :.....	20
III.6. Techniques de détection des résidus d'antibiotiques :.....	20
III.6.1. Tests d'inhibition microbiologique :.....	20
III.6.2. Chromatographie liquide à haute performance (HPLC) :.....	21
III.6.3. Les biocapteurs :.....	21
III.6.4. Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC/MS/MS) :.....	21
III.7. Delvotest :.....	22

Table des matières

Matériel et méthodes

IV.1. Objectif :	23
IV.2. Période et lieux de prélèvement :	23
IV.3. Cadre de l'étude :	23
IV.4. Matériels et méthode :	23
IV.4.1. Les tests physico-chimiques des échantillons du lait :	23
IV.5. Recherche d'antibiotique au niveau du laboratoire de l'université Mouloud Mammeri: ...	24
IV.5.1. Test d'acidification	24
IV.5.2. Test de confirmation	24
IV.6. Préparation des suspensions bactériennes et réalisation des tests :	25
IV.6.1. Le test d'acidification :	25
IV.6.2. Le test de confirmation (diffusion sur gélose) :	26

Résultats et discussions

V.1. Résultats :	28
V.1.1. Les analyses physicochimiques :	28
V.1.2. Discussion :	28
V.1.3. La recherche des résidus d'antibiotiques :	30
V.1.3.1. Test d'acidification :	30
V.1.3.2. Test de diffusion sur gélose :	31
V.1.4. Discussion des résultats	33
Conclusion générale	36

Références Bibliographiques

Annexes

Introduction générale

Introduction générale

La santé humaine est directement liée à l'environnement, et en particulier à la nature et à la qualité des aliments qui préoccupe largement les autorités de santé publique du monde entier, car les médicaments vétérinaires ont joué un rôle important dans le domaine de l'élevage et de l'agro-industrie (Beyene, 2015). La sécurité sanitaire des denrées alimentaires est une préoccupation de plus en plus importante en matière de santé publique. Les maladies d'origine alimentaire sont généralement causées par l'ingestion des agents pouvant être de nature chimique, physique ou infectieuse (bactéries, parasites, etc.) (Serge et al., 2015). Le lait est le liquide sécrété par les glandes mammaires des femelles mammifères. Il contient presque tous les nutriments nécessaires à la vie. Depuis les temps les plus reculés, l'homme utilise le lait de chèvre, de brebis et de vache pour se nourrir. Aujourd'hui, le terme "lait" est synonyme de lait de vache. Le lait d'autres animaux est indiqué en toutes lettres, par exemple le lait de brebis ou le lait de chèvre, lorsqu'il est fourni dans le commerce (Belitz et al., 2008). Le lait est un aliment de haute valeur nutritionnelle très riche en protéines, lipides, glucides et en oligo-éléments tel que le calcium (Aoues et al., 2019).. Le lait bovin prédomine (83%) dans la production mondiale de lait, qui a augmenté d'environ 60 % en trois décennies, passant de 522 millions de tonnes à 828 millions de tonnes entre 1987 et 2017 (Górska- Warsewicz et al., 2019).

La filière laitière représente un secteur stratégique de la politique agricole algérienne, notamment pour son rôle polyvalent en tant que fournisseur de protéines animales (lait et viande) et de source de revenu. En effet, le lait contribue en moyenne avec 16% dans l'apport protéique journalier, l'Algérie est le premier consommateur de lait au Maghreb avec une consommation moyenne de 147 l/habitant/an en 2015. La production nationale a atteint près de 3,6 milliards de litres en 2019 dont 2,7 milliards de litres de lait de vache représentant plus de 75% de la production totale nationale. La production laitière demeure insuffisante par rapport à la demande en lait qui est estimée à presque 6 milliards de litres pour une population d'environ 40 millions d'habitants (Abdelli et al., 2021). Les antibiotiques vétérinaires sont généralement utilisés en élevage à des buts, thérapeutique, prophylactique, métaphylactique et comme additifs alimentaires ou promoteur de croissance, en élevage bovin, une gamme très variée d'antibiotiques est utilisée par les éleveurs pour lutter contre diverses maladies et améliorer le rendement de leurs productions. Les principales pathologies pour lesquelles les antibiotiques sont généralement utilisés en élevage bovin sont les mammites, les affections respiratoires.

Les antibiotiques les plus utilisés sont les tétracyclines, les pénicillines et les céphalosporines administrés par voie parentérale. La mauvaise utilisation de ces antibiotiques par les éleveurs et les vétérinaires ainsi que le non- respect des délais d'attente après le traitement des animaux

Introduction générale

conduisent à la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait et les autres denrées d'origine animale. La présence des antibiotiques dans le lait constitue un facteur limitant pour les mini laiteries de yaourts parce qu'ils inhibent le processus de fermentation. Les antibiotiques sont souvent à l'origine de potentiels risques toxicologiques pour le consommateur et de développement de bactéries résistantes aux antibiotiques (Mensah et al., 2014). Afin de préserver la santé humaine, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) ont établi des normes relatives à la dose journalière admissible et aux limites maximales de résidus dans les aliments (Asredie & Engdaw, 2015). En Algérie, le contrôle des résidus d'antibiotique n'est pas réglementé. On assiste actuellement à une utilisation irrationnelle et de manière totalement abusive et anarchique des antibiotiques en pratique rurale (Aoues et al., 2019).

En Algérie, le contrôle des résidus d'antibiotique n'est pas réglementé. On assiste actuellement à une utilisation irrationnelle et de manière totalement abusive et anarchique des antibiotiques en pratique rurale (Aoues et al., 2019), contrairement au contexte européen, la présence de résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale a rarement fait l'objet d'une attention sérieuse et peu de contrôles sont réalisés sur les circuits de distribution. La recherche de résidus n'a jamais été intégrée dans un véritable programme de surveillance jusqu'à l'avènement en 2013 d'un nouveau programme dénommé Programme Algérien de surveillance des contaminants et des résidus dans les aliments (PASCRA) lancé par le ministère de l'Agriculture, du développement rural et de la pêche et financé par l'Union européenne, En l'état actuel des connaissances, il n'y a pas de données nationales officielles disponibles sur la prévalence des résidus d'antibiotiques, leur consommation et leur usage ni sur les facteurs de risque au niveau des élevages. Cependant, de nombreuses études récentes ont fait état de résistances multiples aux antibiotiques chez les souches bactériennes isolées à partir des différentes espèces animales de production (Baazize-Amami et al., 2020).

Dans ce contexte, on a procédé à évaluer les différentes caractéristiques physicochimiques du lait, et de mettre en évidence les résidus d'antibiotiques (β lactamines et tétracyclines) dans le lait (issu du circuit formel et informel) en utilisant une méthode microbiologique (méthode officielle européenne). Dans la partie bibliographique, on a consacré un chapitre sur le lait, un deuxième sur les antibiotiques et un troisième sur la notion de résidus d'antibiotiques dans le lait. Dans la partie pratique, on a présenté les résultats obtenus tout en précisant la méthode utilisée et les différents matériaux. Et enfin on a terminé par une conclusion.

Chapitre I :
Généralités sur le lait

I.1. Définition :

La première définition du lait apparaît en 1908, au Congrès international de la Répression des Fraudes de Paris. Le mot « lait » a été 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 ». Le décret du 25 mars 1924 précise que la dénomination « lait » sans indication de l'espèce animale de provenance est réservée au lait de vache (Noblet, 2012).

Le lait est un liquide biologique comestible généralement de couleur blanchâtre produit par les glandes mammaires des mammifères femelles. Aliment complet équilibré, il est la seule source de nutriments pour les jeunes mammifères au tout début de leur vie avant qu'ils puissent digérer d'autres types d'aliments. Le lait en début de lactation, de couleur jaunâtre, présente une composition différente et est appelé colostrum. Il porte les anticorps de la mère, réduisant ainsi le risque de nombreuses maladies chez le nouveau-né, et contient tous les nutriments indispensables (Anonyme, 2024).

I.2. Caractéristiques physico-chimiques :

I.2.1. L'acidité

Deux types de mesures sont utilisés : le pH, qui permet de mesurer l'activité des ions hydrogène dans le lait, et l'acidité titrable (°D), qui est le degré d'acide lactique par litre de lait (Azzouz et al, 2014).

I.2.1.1 Le pH

Le pH du lait de vache à 25 °C se situe généralement entre 6,5 et 6,7, 6,6 étant la valeur la plus courante. Le pH diminue avec l'augmentation de la température. Cela implique des changements induits par la température dans le système tampon complexe du lait plutôt qu'une augmentation de l'acidité du lait (McCarthy, 2002).

I.2.1.2 Acidité titrable (en degré Dornic)

L'acidité du lait frais est de 15 à 18°D .Elle est mesurée par titrage avec la soude Dornic, en présence de phénolphtaléine, elle est exprimée en degrés Dornic (Tir et al., 2015). L'acidité titrable est déterminée dans l'industrie laitière principalement pour deux raisons : pour vérifier la fraîcheur du lait et des produits laitiers et pour contrôler la fabrication des produits laitiers cultivés (fermentés) (Çak et Demirel, 2018).

I.2.2. La densité :

La densité (ρ) d'une substance est sa masse par unité de volume, La densité varie en fonction de la composition du lait et sa mesure a été utilisée pour estimer la teneur totale en solides du lait (Fox et al., 2015).

La densité du lait cru est comprise entre 1,026 et 1,034 g/cm³ à 20°C. Elle est influencée par divers facteurs tels que l'historique de la température des échantillons, les différences biologiques du lait et le traitement du lait. Parmi les différents composants, la variation de la teneur en matière grasse est connue pour être la principale cause de variation de la densité du lait. La densité du lait augmente si la teneur en solides non gras augmente, mais elle diminue si la teneur en matières grasses augmente (Çak et Demirel, 2018).

I.2.3. Le point de congélation :

Le lait se congèle à environ -0,55°C, en raison de la présence de lactose et de minéraux dans sa composition, alors que le lactose et les minéraux ont un effet de 75 % sur le point de congélation, l'effet des protéines et des lipides sur le point de congélation est insignifiant (Çak et Demirel, 2018).

I.2.4. Point d'ébullition :

Le lactose et les minéraux solubles, qui forment la solution actuelle dans la structure du lait, augmentent le point d'ébullition. Grâce à ces substances, le point d'ébullition est de 100,16°C. L'ajout d'eau au lait réduit le point d'ébullition et augmente le point de congélation. Mais l'ajout de substances telles que la soude diminue le point de congélation tout en augmentant le point d'ébullition (Çak et Demirel, 2018).

I.3. Valeur nutritionnelle :

Le lait est composé en moyenne de 87 % d'eau, de 4 à 5 % de lactose, de 3 % de protéines, de 3 à 4 % de matières grasses, de 0,8 % de minéraux et de 0,1 % de vitamines (Pereira, 2014).

I.3.1. Apport en protéine :

Les protéines du lait sont souvent considérées comme la meilleure source de protéines, compte tenu de l'indice d'acides aminés essentiels et de l'indice d'acides aminés corrigé de la digestibilité des protéines.

Les protéines du lait et plusieurs peptides bioactifs résultant de leur hydrolyse

enzymatique ont montré de multiples rôles biologiques susceptibles d'exercer une action protectrice sur la santé humaine. Les principales actions biologiques comprennent des rôles antibactériens, antiviraux, antifongiques, antioxydants, antihypertenseurs, antimicrobiens, anti thrombotiques, opioïdes et immunomodulateurs, en plus d'améliorer l'absorption d'autres nutriments (Pereira, 2014). Le rôle principal attribué aux caséines est la fixation des minéraux et les capacités de transport, principalement pour le calcium et le phosphore.

Les caséines totales peuvent être divisées en α , β et κ -caséines. Elles transportent le calcium et le phosphore en formant un coagulum et en améliorant leur digestibilité dans l'estomac. En outre, les caséines sont à l'origine de plusieurs peptides bioactifs qui se sont révélés bénéfiques pour la santé humaine. Ils agissent notamment sur les systèmes cardiovasculaire, nerveux, immunitaire et digestif grâce à leurs actions antioxydantes, cytomodulatrices, immunomodulatrices, antihypertensives et antithrombotiques. Des études expérimentales ont également montré que certains peptides interfèrent dans le tractus gastro-intestinal en favorisant la production de mucine, empêchant ainsi l'adhésion des pathogènes à la surface intestinale, et ont des effets intéressants sur la motilité intestinale, ce qui peut justifier un rôle possible dans le contrôle du poids par la régulation de la prise alimentaire (Pereira, 2014). La fraction protéique soluble comprend les protéines suivantes : β -lactoglobuline, α lactoalbumine, immunoglobulines, sérum-albumine, lactoferrine, lactoperoxydase, lysozyme, protéose-peptone et transferrine. La lactoferrine et le lysozyme sont d'importants agents antimicrobiens, tandis que la β -lactoglobuline et l' α -lactoalbumine ont montré une action suppressive sur le développement des tumeurs. La β -lactoglobuline est un important transporteur de rétinol (Pereira, 2014).

I.3.2. Apport en glucides :

Le lactose contenu dans le lait a un faible indice glycémique, ce qui est généralement considéré comme un avantage métabolique. Récemment, d'autres avantages de la consommation de lactose via le lait ont été identifiés ou suggérés : absence d'effets neurologiques gratifiants lors de l'ingestion, soutien de la fonction immunitaire et facilitation de l'absorption des minéraux. Il peut protéger le tractus gastro-intestinal du nouveau-né ou du sein allaitant contre les infections en limitant sélectivement les micro-organismes environnementaux qui ont plus de difficultés à fermenter le lactose que les polymères de glucose simples liés à l'alpha. En tant que tel, le lactose peut jouer un rôle important dans la formation précoce du microbiote intestinal néonatal (Romero-Velarde et al., 2019).

Il possède également des propriétés similaires à celles des fibres alimentaires et des prébiotiques et améliore l'absorption du calcium et du magnésium (Çak et Demirel, 2018).

I.3.3. Apport en lipides :

Les lipides sont parmi les constituants les plus importants du lait pour des raisons nutritionnelles et économiques. Ils constituent une bonne source d'énergie et confèrent aux produits laitiers des attributs sensoriels et physiques uniques. La matière grasse du lait est également le support des vitamines liposolubles naturellement présentes (A, D, E et K) ainsi que du β -carotène, un caroténoïde pro-vitamine A. Les principaux lipides de la matière grasse laitière sont les triacylglycérides (TAG), qui représentent plus de 98 % de la matière grasse totale, les 2 % restants étant constitués de diacylglycérides, de monoacylglycérides, d'acides gras libres (AGL), de phospholipides, de stérols et d'hydrocarbures. La graisse laitière est pratiquement la seule source d'acide butyrique (C4:0), d'acide linoléique conjugué (ALC) et d'AG à chaîne ramifiée dans l'alimentation humaine. L'acide C4:0 est la principale source d'énergie des cellules épithéliales intestinales et joue un rôle essentiel dans le maintien de l'homéostasie et de la santé du côlon (Hamer et al., 2008). L'acide butyrique joue un rôle prépondérant dans la préservation des fonctions physiologiques de la muqueuse colique, une barrière composée principalement de mucines, qui est considérée comme la première ligne de défense contre les agents pathogènes et les substances nocives. La sécrétion de mucine influence positivement l'adhésion des probiotiques tels que les bifidobactéries et les lactobacilles, tout en inhibant l'incorporation des bactéries pathogènes (Gómez-Cortés et al., 2018).

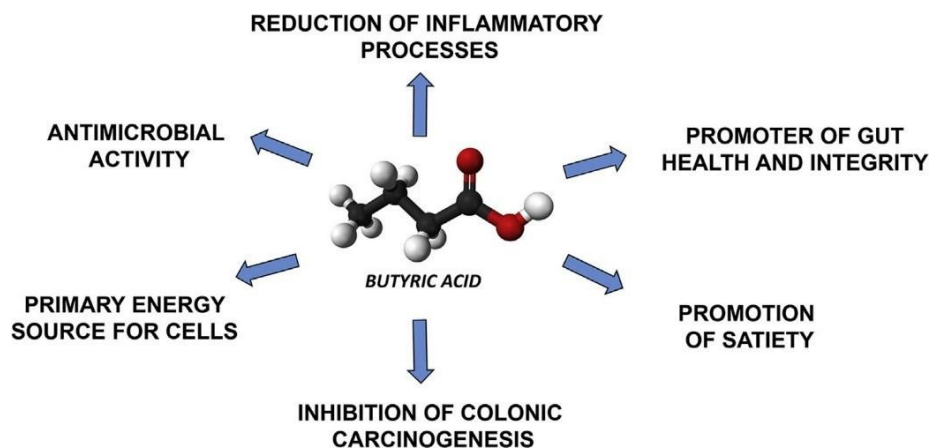


Figure 1 : Le rôle de l'acide butyrique dans la santé (Gómez-Cortés et al., 2018)

I.3.4. Les minéraux et les vitamines :

Les produits laitiers en général et le lait en particulier, en tant que matière première, ont une composition en micronutriments assez particulière. Le lait est naturellement reconnu comme une source privilégiée de calcium, mais dans sa fraction minérale, plusieurs autres éléments peuvent être distingués comme le phosphore, le magnésium, le zinc et le sélénium. La fraction vitaminique est composée des vitamines liposolubles A, D et E mais aussi des vitamines hydrosolubles du complexe B comme la thiamine et la riboflavine. Le calcium est naturellement le macro-élément le plus présent dans le lait. La concentration moyenne est de 1200 mg de calcium par litre de lait. La vitamine A est particulièrement importante pour la croissance, le développement, l'immunité et la santé oculaire et sa teneur dans le lait dépend principalement de la quantité de matières grasses, mais aussi de facteurs tels que l'alimentation des animaux et la saison. Récemment, la vitamine D a commencé à mériter plus d'attention en tant que micronutriment polyvalent, compte tenu de certaines actions protectrices qui lui sont attribuées. Des études ont suggéré qu'elle a des effets anti cancérogènes, cardioprotecteurs et immunomodulateurs et qu'elle est néanmoins cruciale dans l'absorption du calcium, donc dans la formation de la masse osseuse et peut être déterminante dans la prévention de l'ostéoporose (Pereira, 2014).

Le lait se distingue certainement par sa richesse en vitamines du complexe B, fournissant 10 à 15 % de l'apport journalier recommandé pour la plupart des gens. Ces vitamines sont d'importants cofacteurs enzymatiques et participent à plusieurs voies métaboliques telles que la production d'énergie à partir de nutriments, la synthèse de neurotransmetteurs et d'hormones (Pereira, 2014).

Chapitre II :
Généralités sur l'antibiotique

II.1. Historique et définition :

Le premier antibiotique identifié fut la pénicilline. Si dès la fin du XIXe siècle Ernest Duchesne découvrit les propriétés curatives de *Penicillium glaucum*, la découverte de la pénicilline est à mettre au crédit de Sir Alexander Fleming qui s'aperçut en 1928 que certaines de ses cultures bactériennes dans des boîtes oubliées avaient été contaminées par les expériences de son voisin de paille étudiant le champignon *Penicillium notatum* et que celui-ci inhibait leur reproduction (Anonyme, 2024). La pénicilline a ensuite été purifiée par Norman Heatley (Hutchings *et al.*, 2019).

Un antibiotique du grec anti : « contre », et bios : « la vie » est une substance naturelle ou synthétique qui détruit ou bloque la croissance des microorganismes. Dans le premier cas, on parle d'antibiotique bactéricide et dans le second cas d'antibiotique bactériostatique (Anonyme, 2024).

II.2. Famille d'antibiotiques et leur mode d'action :

Tableau 1: Principales classes et molécules d'antibiotiques autorisées dans l'Union européenne (Mensah *et al.*, 2014)

Classe	Molécules	Mode d'action antibactérien	Spectre d'activité
sulfamides	Toutes les substances appartenant au groupe des sulfonamides	Inhibition de la synthèse des folates par l'action des inhibiteurs compétitifs de la dihydropteroate synthétas	Cocci à gram positif
Quinolones	Acide oxolinique, difloxacin, sarafloxacin, danofloxacin, enrofloxacin, flumequine, marbofloxacin	Inhibe la gyrase de l'ADN bactérien par conséquent l'inhibition de la réplication et de la transcription de l'ADN	Large spectre sur Mycobacterium tuberculosis (fluoroquinolones, tuberculosis)

Bêta-lactamines	Amoxicilline, ampicilline, benzylpénicilline, céfalexine, céfacétrile, céfalonium	Les bêta-lactamines perturbent la synthèse de la couche des peptidoglycanes des parois cellulaires bactériennes en se liant aux protéines contribuant à cette synthèse	Cocci à Gram positif Bactéries à Gram positif et Gram négatif, Treponema pallidum, Borrelia
Tétracyclines	Chlortétracycline, doxycycline, oxytétracycline, tétracycline	Se lient aux sous-unités ribosomales 30S en inhibant la liaison de l' aminoacyl-ARNt au complexe ARNm-ribosome	Treponema pallidum, Chlamydia, Borrelia, Rickettsia, Plasmodium falciparum
Aminoglycosides	Dihydrostreptomycine, gentamicine, kanamycine, néomycine, streptomycine, apramycine, spectinomycine	Se lient à la sous-unité 30S du ribosome bactérien (certains se lient à la sous-unité 50S) en inhibant la translocation de la peptidyl-ARNt du site A au site P et en causant une lecture erronée de l' ARNm	Bactéries à Gram positif et Gram négatif (comportant Pseudomonas aeruginosa), Mycobacterium tuberculosis
Macrolides	Erythromycine*, spiramycine, tylosine, tilmicosine, gamithromycine, tulathromycine, tylvalosine, tildipirosine	Se lient réversiblement aux sous-unités 50S du ribosome de la bactérie en inhibant la translocation du peptidyl- ARNt	Cocci à Gram positif, Treponema pallidum, pathogènes intracellulaires, Mycoplasma, Plasmodium falciparum

II.3. Pharmacocinétiques des antibiotiques :

Le terme pharmacocinétique fait référence au mouvement du médicament dans, à travers et hors de l'organisme : l'évolution temporelle de son absorption, de sa biodisponibilité, de sa distribution, de son métabolisme et de son excrétion (Beyene, 2015).

II.3.1. Absorption :

Elle est décrite comme le processus par lequel un composé passe de son site d'administration dans la circulation sanguine. L'absorption est influencée par de nombreux facteurs tels que les

propriétés de la membrane cellulaire, les propriétés du médicament, la voie d'administration et l'état physiopathologique de l'animal. La concentration plasmatique maximale (C_{max}) et le temps nécessaire pour atteindre la concentration maximale (T_{max}) donnent une indication de la vitesse d'absorption du médicament (Beyene, 2015).

II.3.2. Distribution :

C'est le processus par lequel un médicament est transporté vers tous les tissus et organes. Après avoir pénétré dans la circulation systémique, quelle que soit la voie d'administration, les médicaments sont acheminés dans tout l'organisme et atteignent leur site d'action (Beyene, 2015).

II.3.3. Métabolisme :

C'est le principal mécanisme d'élimination pour la transformation des médicaments ou des xénobiotiques en métabolites de la réaction chimique. Les hépatocytes jouent un rôle extrêmement important dans le métabolisme des médicaments et des composés xénobiotiques étrangers à l'organisme, dont certains sont toxiques. Les reins sont responsables en dernier ressort de l'élimination de ces substances, mais pour une élimination efficace, le médicament ou ses métabolites doivent être rendus hydrophiles (polaires, solubles dans l'eau). En effet, la réabsorption d'une substance par les tubules rénaux dépend de son hydrophobie. Plus une substance est hydrophobe (non polaire, soluble dans les lipides), plus elle a de chances d'être réabsorbée. De nombreux médicaments et métabolites sont hydrophobes et le foie les transforme en composés hydrophiles (Beyene, 2015).

II.3.4. Elimination :

Il s'agit du processus par lequel la molécule mère ou ses métabolites sont éliminés des fluides corporels. Le rein est le site le plus important de l'excrétion des médicaments. Il existe trois mécanismes rénaux : la filtration glomérulaire, la sécrétion tubulaire proximale médiée par un transporteur et la résorption tubulaire passive dépendante du pH dans le néphron distal. L'insuffisance rénale affecte généralement de manière significative l'excrétion des médicaments. Bien que la plupart des composés soient principalement excrétés par voie rénale, certains médicaments sont partiellement ou totalement excrétés par la bile. Il a été rapporté qu'il existe une grande variation entre les espèces animales dans leur capacité générale à excréter les médicaments dans la bile ; par exemple, le poulet est caractérisé comme un bon excréteur biliaire, tandis que le mouton et le lapin sont caractérisés comme des excréteurs modérés et médiocres (Beyene, 2015).

II.4. Usage des antibiotiques en élevage :

Les trois modes d'intervention utilisés en médecine vétérinaire sont les suivants : les traitements préventifs (prophylaxie) administrés à un moment de la vie de l'animal où l'apparition d'infections bactériennes est considérée comme très probable ; les traitements curatifs administrés aux animaux malades ; les traitements de contrôle (métaphylaxie) prescrits à des groupes d'animaux en contact avec les animaux malades (Mensah et al., 2014).

II.4.1. Usage thérapeutique :

Administration d'un médicament antimicrobien pour le traitement de maladies cliniquement évidentes. Elle est également pratiquée pour contrôler la morbidité/mortalité chez les animaux, ce qui implique généralement des doses élevées de médicament pendant une période relativement courte (Prajwal et al., 2017). L'utilisation indiscriminée d'antibiotiques dans tous les cas de pyrexie, d'inflammation, de blessures et de maladies virales a des effets résiduels étendus sur les tissus comestibles. L'utilisation d'antibiotiques uniquement dans des conditions spécifiques est justifiée car le rôle des agents antimicrobiens est principalement de tuer les cellules envahissantes à division rapide (Nisha, 2008).

II.4.2. Usage en prophylaxie :

Les animaux et les volailles reçoivent des niveaux subthérapeutiques d'antibiotiques pour prévenir une éventuelle infection. Mais les antibiotiques sont spécifiques à leur spectre d'activité uniquement dans la phase active de multiplication des bactéries. Ils n'offrent donc pas de protection globale. La prophylaxie antibiotique n'est souhaitée que dans certains cas, comme la thérapie des vaches tarées et les interventions chirurgicales (Nisha, 2008). La plupart des utilisations prophylactiques impliquent une médication massive d'un groupe d'animaux par le biais de l'alimentation ou de l'eau (Barton, 2000).

II.4.3. Usage en tant qu'additif alimentaire :

Les promoteurs de croissance sont des antibiotiques qui, administrés à faibles doses dans l'alimentation animale ont un effet préventif sur certaines infections bactériennes et modifient la composition du microbiote intestinal entraînant une meilleure assimilation des aliments par les animaux. Ces effets protecteurs entraînent un effet zootechnique sous forme d'une augmentation de la vitesse de croissance. Par souci de protection du consommateur, les instances européennes responsables de l'autorisation de mise sur le marché des additifs destinés à l'alimentation animale ont considéré que le bénéfice zootechnique ne justifiait pas cette utilisation. En effet, il existe un

risque de sélection de bactéries résistantes pouvant avoir un effet désastreux sur la santé publique.

Cependant aux États-Unis, un grand nombre d'antibiotiques reste autorisé à faible dose comme facteurs de croissance. Dans l'UE, seuls les antibiotiques ionophores (monensin, narasin, salinomycine et lasalocid A) sont encore autorisés comme coccidiostatiques et en tant qu'additifs alimentaires (Mensah *et al.*, 2014), les agents antimicrobiens améliorent l'absorption des nutriments disponibles dans l'épithélium intestinal, favorisent la synthèse des facteurs de croissance et des vitamines et détruisent les agents pathogènes, ce qui réduit efficacement la libération de toxines, Les antimicrobiens couramment utilisés pour le traitement, la prophylaxie et la stimulation de la croissance chez les animaux destinés à l'alimentation sont la streptopénicilline, la benzylopénicilline, l'enroflaxocine, l'amoxicilline, l'ampicilline, le sulfa triméthoprime, la tylosine, le sulfaméthoxazole et l'oxytétracycline (Prajwal *et al.* , 2017).

Chapitre III :
Les résidus d'antibiotiques

Les agents antimicrobiens sont largement utilisés dans la gestion du bétail laitier à des fins prophylactiques et thérapeutiques. Bien que l'utilisation de ces médicaments ait considérablement amélioré la santé et l'efficacité de la production des animaux producteurs d'aliments (Alomirah *et al.*, 2007), une utilisation incorrecte, une mauvaise administration ou des erreurs commises par les agriculteurs et les vétérinaires dans le respect du délai d'attente pour les animaux traités peuvent entraîner la présence de résidus d'antimicrobiens dans le lait et les produits laitiers (Serraino *et al.*, 2013).

III.1. Notion de résidu d'antibiotique :

Les résidus sont définis comme étant tous principes actifs ou leurs métabolites qui subsistent dans les viandes ou autres denrées alimentaires provenant de l'animal auquel le médicament en question a été administré. Le règlement 470/2009 du Parlement européen et du Conseil définit les résidus comme toute substance pharmacologiquement active, qu'il s'agisse de principes actifs, d'excipients ou de métabolites présents dans les liquides et tissus des animaux après l'administration de médicaments et susceptibles d'être retrouvés dans les denrées alimentaires produites par ces animaux (Mensah *et al.*, 2014).

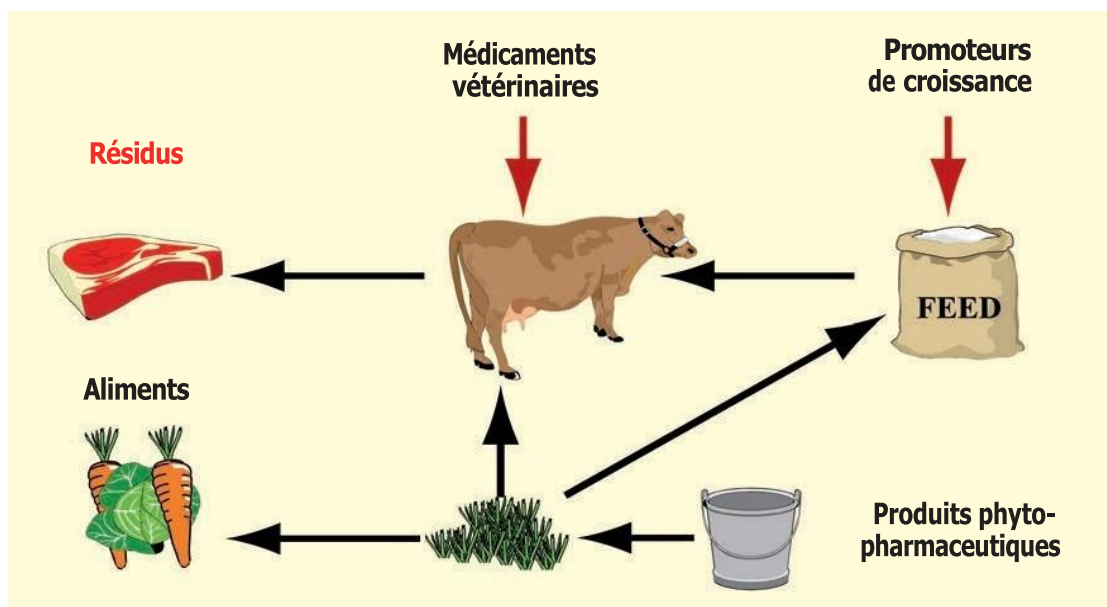


Figure 2 : Processus de formation de résidus dans les aliments (Mensah *et al.*, 2014).

III.2. La limite maximale de résidus :

Le niveau ou la concentration d'un médicament ou d'un produit chimique considéré comme non dangereux et autorisé par les organismes de réglementation dans les denrées alimentaires ou les aliments pour animaux destinés à la consommation animale ou humaine à un moment précis,

appelé LMR. L'unité utilisée pour cette concentration maximale admissible est le milligramme par kilogramme pour les produits solides et le milligramme par litre pour les liquides (Sachi *et al.*, 2019).

La limite maximale de résidus (LMR) est la concentration maximale de résidus résultant de l'utilisation d'un médicament vétérinaire qui peut être légalement autorisée ou reconnue comme acceptable dans ou sur une denrée alimentaire, attribuée à des produits alimentaires individuels. Les LMR sont fixées sur la base de données toxicologiques pertinentes (Asredie et Engdaw, 2015).

Tableau 2: Limites maximales de résidus (LMR) ($\mu\text{g} / \text{kg}$) pour les antibiotiques vétérinaires (Nisha, 2008)

Antibiotique	LMR
Benzyl penicillin	4
Ampicillin	4
Amoxycillin	4
Oxacillin	30
Tetracycline	100
Oxytetracycline	100
Chlortetracycline	100
Streptomycin	200
Neomycin	100
Sulphonamides	100
Trimethoprim	50
Erythromycine	40
Quinolones	75

III.3. Le délai d'attente :

L'utilisation de médicaments pour animaux nécessite actuellement dans les industries laitières le respect primordial du délai d'attente. Il s'agit du temps écoulé entre les dernières doses administrées à l'animal et le moment où le niveau de résidus dans les tissus (muscle, foie, rein, peau et graisse) et les produits (lait, œufs, miel) est inférieur ou égal à la LMR. Tant que le délai d'attente n'est pas écoulé, l'animal ou ses produits ne doivent pas être utilisés pour la consommation humaine (Asredie et Engdaw, 2015).

Le délai d'attente peut varier considérablement en fonction des propriétés chimiques et physiques des médicaments et de la voie d'administration (Sachi *et al.*, 2019).

Le temps d'attente peut également être défini comme l'intervalle entre la dernière administration d'un médicament vétérinaire aux animaux dans des conditions normales d'utilisation et le moment où un animal traité peut être abattu pour la production de denrées alimentaires sûres. Par conséquent, le non-respect du temps d'attente entraîne l'apparition de résidus dans les aliments d'origine animale tels que la viande et le lait, qui sont utilisés pour la consommation humaine (Getahun *et al.*, 2023).

Tableau 3: Le délai d'attente de quelques antibiotiques (Menkem *et al.*, 2019)

Antibiotique	Délai d'attente (jours)
Oxytetracycline	15-35
Erythromycine	2-14
Ampicillin	6-15
Tetracycline	5

III.4. Causes de présence des résidus d'antibiotiques dans le lait :

Les résidus d'antibiotiques sont indésirables dans les produits laitiers pour un certain nombre de raisons. Ils peuvent donner une image négative des produits laitiers aux yeux du public, on s'inquiète des effets délétères possibles des résidus d'antibiotiques sur la santé publique et les résidus peuvent nuire à la fabrication de certains produits laitiers de culture. Les résidus d'antibiotiques pénètrent dans l'approvisionnement en lait au niveau de l'exploitation et les producteurs de lait portent eux-mêmes la responsabilité finale de la vente de lait exempt de résidus, il est important que les producteurs comprennent les facteurs qui conduisent aux résidus

d'antibiotiques dans le lait et la manière dont ces résidus peuvent être évités (McEwen *et al.*, 1991).

- Mauvais dossiers de traitement, mauvaise gestion, difficulté à identifier les animaux traités, manque de conseils sur les périodes de retrait, utilisation d'antimicrobiens en dehors de l'étiquetage, absence de notification de la période de retrait du médicament, accessibilité des antimicrobiens aux profanes, utilisation prolongée ou doses inutiles d'antimicrobiens, absence ou manque d'application de la législation restrictive sur l'utilisation des antimicrobiens, manque de sensibilisation des consommateurs à l'ampleur des dangers pour la santé humaine (Prajwal *et al.*, 2017).
- Les résidus d'antibiotiques se retrouvent dans les aliments principalement à la suite d'un traitement thérapeutique des animaux ou d'une supplémentation de l'alimentation animale (Singh *et al.*, 2014).
- La méconnaissance des délais d'attente ou l'abus délibéré peuvent conduire à des niveaux élevés de résidus de médicaments dans le lait (Singh *et al.*, 2014).
- Le non-respect des délais d'attentes et des échecs dus au personnel embauché (Singh *et al.*, 2014)
- L'utilisation d'eau contaminée par des antibiotiques ou l'élimination inappropriée des déjections animales (Ghimpețeanu *et al.*, 2022).
- Les dosages hors étiquette et l'utilisation de médicaments qui n'ont pas été approuvés pour l'espèce en question peuvent entraîner la présence de résidus indésirables (Asredie et Engdaw, 2015).
- La contamination du lait par des antimicrobiens s'explique principalement par le fait qu'une vache traitée est accidentellement introduite dans le lactoduc.
- L'unité de traite n'est pas nettoyée et désinfectée entre les utilisations.
- L'équipement utilisé pour traire les vaches traitées est manipulé sans précaution et toutes les vaches laitières traitées aux antimicrobiens sont traitées en dernier, mais la conduite de lait n'a pas été détournée du réservoir à lait (Asredie et Engdaw, 2015).
- Des soins sanitaires inadéquats pendant le transport des animaux ou des produits, y compris la contamination croisée des aliments pour animaux avec des médicaments appliqués par inadvertance, le transfert de médicaments de l'environnement et d'un animal à l'autre peuvent

également causer des résidus

- L'utilisation inappropriée, y compris l'utilisation de médicaments en dehors de l'étiquette ou illégaux (Beyene, 2015).
- L'état pathologique d'un animal peut affecter la pharmacocinétique des médicaments administrés, ce qui peut influencer le potentiel de résidus. Cela peut se produire soit lorsque la maladie affecte le système métabolique (et par conséquent le métabolisme du médicament), soit lorsque la présence d'une infection et/ou d'une inflammation entraîne l'accumulation du médicament dans les tissus affectés (Beyene, 2015).
- Mauvaise formation des éleveurs (Sachi *et al.*, 2019).
- L'élimination inappropriée des récipients vides d'antibiotiques dans les locaux de l'exploitation, qui peut contaminer les aliments des animaux. Les animaux peuvent les lécher ou même être exposés accidentellement à des aliments contaminés (Sachi *et al.*, 2019).

III.5. L'impact des résidus d'antibiotiques :

III.5.1. Sur l'organisme humain :

III.5.1.1. Réaction d'hypersensibilité :

Il s'agit d'une réponse à médiation immunitaire à un agent médicamenteux chez un patient sensibilisé et l'allergie médicamenteuse est limitée à une réaction médiée par les IgE. Les médicaments sont des molécules étrangères, mais leur poids moléculaire est généralement trop faible pour être immunogène, et ils agissent comme des haptènes. Les réactions allergiques aux antimicrobiens peuvent inclure l'anaphylaxie, la maladie sérique, la réaction cutanée et les réactions d'hypersensibilité retardée. Ces effets surviennent après que les êtres humains ont consommé des aliments d'origine animale contenant des résidus de médicaments qui ont des effets allergiques des antimicrobiens utilisés comme additifs alimentaires ou en chimiothérapie. La pénicilline et la streptomycine semblent, d'après leur utilisation clinique chez l'homme, être plus susceptibles de produire une hypersensibilité ou une allergénicité que d'autres médicaments actuellement utilisés (Asredie et Engdaw, 2015).

Les β -lactamines, et en particulier la pénicilline et les céphalosporines, provoquent des réactions allergiques légères, telles que des éruptions cutanées et des dermatites allergiques, mais peuvent également conduire à des états anaphylactiques (Kyuchukova, 2020).

III.5.1.2. Effet cancérigène :

Les résidus d'antibiotiques ont des effets cancérigènes potentiels en interagissant avec des éléments cellulaires tels que l'ADN et l'ARN (Sachi *et al.*, 2019). Le Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires a déterminé que le chloramphénicol était génotoxique et pouvait causer le cancer (Prajwal *et al.*, 2017).

III.5.1.3. Effet mutagène :

Le terme mutagène a été utilisé pour décrire les agents chimiques ou physiques qui peuvent provoquer une mutation dans une molécule d'ADN ou endommager le composant génétique d'une cellule ou d'un organisme. Il a été démontré que plusieurs produits chimiques, notamment des agents alcalinisants et des analogues de bases de l'ADN, ont une activité mutagène. On s'inquiète de plus en plus du fait que les médicaments ainsi que les produits chimiques de l'environnement peuvent constituer une menace probable pour la population humaine en provoquant des mutations génétiques ou des ruptures chromosomiques qui pourraient avoir des effets négatifs sur la fertilité humaine (Prajwal *et al.*, 2017).

III.5.1.4. Effet tératogène :

Le terme tératogène s'applique à un médicament ou à un agent chimique qui produit un effet toxique sur l'embryon ou le fœtus pendant une phase critique de la gestation. En conséquence, une malformation congénitale qui affecte l'intégrité structurelle et fonctionnelle de l'organisme est produite (Asredie et Engdaw, 2015). Diverses anomalies congénitales peuvent être observées chez les nouveau-nés en raison d'une exposition à long terme aux résidus d'antibiotiques pendant la période de gestation (Sachi *et al.*, 2019).

III.5.1.5. Perturbation de microbiote intestinal :

Les habitants normaux de l'intestin coexistent avec d'autres et se colonisent pour empêcher les microbes pathogènes de provoquer des maladies. Les résidus d'antibiotiques dans le lait résultant de l'utilisation d'antibiotiques à large spectre peuvent tuer une large gamme de microflore dans l'intestin, y compris les organismes non pathogènes, ce qui peut rendre les micro-organismes pathogènes plus proéminents et perturber le microbiote intestinal normal (Sachi *et al.*, 2019).

III.5.1.6. La résistance aux antibiotiques :

La résistance aux antibiotiques est la capacité d'un micro-organisme à résister aux effets d'un antibiotique. La faible efficacité d'un antibiotique dans le traitement d'une infection peut être

considérée comme une résistance à cet antibiotique. Cette résistance aux antibiotiques est aujourd'hui un problème mondial de santé publique. Les facteurs influençant le développement de la résistance comprennent la concentration du médicament, la durée d'exposition, le type d'organisme, le type d'antimicrobien et l'état immunitaire de l'hôte (Menkem et al., 2019). L'utilisation d'antimicrobiens chez les animaux destinés à l'alimentation peut avoir pour conséquence que des bactéries résistantes aux antimicrobiens atteignent la population humaine par diverses voies. Les bactéries résistantes aux antimicrobiens telles que *E. coli* peuvent coloniser l'intestin des personnes. Les personnes exposées pour des raisons de santé (agriculteurs qui utilisent des aliments contenant des antimicrobiens, travailleurs d'abattoirs, cuisiniers et autres personnes manipulant des aliments) présentent souvent une incidence d'*E. coli* résistante dans leurs excréments supérieurs à celle de la population générale. Bien que de nombreuses bactéries ne soient pas pathogènes, certaines espèces bactériennes présentes dans l'intestin des animaux provoquent des infections zoonotiques chez l'homme, comme les espèces *Salmonella* et *Campylobacter*. Le développement et la propagation de la résistance aux antimicrobiens représentent une menace sérieuse avec des implications potentielles pour la santé publique (Asredie et Engdaw, 2015). Le mécanisme d'acquisition de la résistance est principalement attribué à la sélection de gènes de résistance capables de provoquer la dégradation enzymatique des antibiotiques par les bactéries, la modification de la cible de l'antibiotique, le changement de la perméabilité membranaire et l'établissement de voies métaboliques alternatives. Ces gènes de résistance chez les bactéries peuvent ensuite être transmis à la génération suivante de bactéries par un transfert de gènes vertical (d'une génération à l'autre) ou horizontal (d'une bactérie à l'autre par l'intermédiaire d'un plasmide)(Arsène et al., 2022).

III.5.2. Impact sur l'industrie agroalimentaire :

La présence de résidus d'antibiotiques dans le lait destiné à la fabrication de produits laitiers fermentés peut influencer les processus technologiques, entraînant une diminution de la qualité des produits finaux et, par conséquent, des conséquences économiques pour le secteur laitier. Les problèmes que la présence d'antibiotiques peut causer dans l'élaboration des produits laitiers ont été décrits il y a longtemps et ont été résumés comme des échecs dans la croissance des cultures de départ, dans le caillage du lait, dans la maturation du fromage et dans la production d'acide et d'arôme. Les bactéries lactiques aident les produits laitiers à acquérir leur propre arôme, odeur et texture. De nombreuses bactéries lactiques (BL) sont utilisées comme cultures de départ pour la production de produits laitiers fermentés. En outre, les bactéries lactiques non starter, provenant de la matière première et de l'environnement, contribuent au développement normal des

caractéristiques des produits laitiers. Ainsi, la plupart des problèmes causés par les résidus d'antibiotiques sont dus au fait qu'ils inhibent le développement des BL, légèrement ou complètement, et retardent la production d'acide par ces bactéries. L'abaissement du pH est très important, par exemple, dans le processus de fabrication du fromage, car il augmente l'activité des enzymes et la vitesse de coagulation, ce qui est important surtout pour les fromages à pâte dure et à longue maturation. En outre, un abaissement insuffisant du pH peut entraîner une fermentation précoce, favorisée par les clostridies ou les levures, et des défauts dans les caractéristiques sensorielles du yaourt et du fromage (Virto et al., 2022).

III.5.3. Impact sur l'environnement :

L'utilisation inconsidérée et inappropriée des antibiotiques peut entraîner des concentrations plus élevées d'antibiotiques dans l'environnement, ce que l'on appelle la pollution par les antibiotiques. On estime qu'environ 75 % des antibiotiques ne sont pas absorbés par les animaux, mais excrétés sous forme de déchets. Le traitement de l'aquaculture et l'élimination inappropriée des récipients usagés et des médicaments non utilisés, peuvent entraîner le déversement de résidus d'antibiotiques dans l'eau et dans les sols. Récemment, des résidus d'antibiotiques comme les fluoroquinolones (par exemple, la ciprofloxacine) et les sulfamides (par exemple, le sulfaméthoxazole), qui sont chimiquement stables, sont souvent détectés dans l'environnement, et la résistance à ces antibiotiques est fréquemment signalée. Ces résidus sont considérés comme des polluants car ils perturbent la flore normale des sols et de l'eau, ce qui entraîne la production de bactéries résistantes par pression sélective (Arsène et al., 2022).

III.6. Techniques de détection des résidus d'antibiotiques :

III.6.1. Tests d'inhibition microbiologique :

Les tests d'inhibition microbiologique sont l'une des méthodes analytiques de dépistage les plus utilisées. Le principe de cette technique repose sur une réaction entre les bactéries et les antimicrobiens présents dans les échantillons biologiques. Les tests d'inhibition microbiologique se présentent le plus souvent sous deux formes, à savoir les tests en tube et les tests sur boîte de Pétri

Le test en tube d'un test microbiologique comprend un milieu de croissance inoculé avec une bactérie, complété par un indicateur de pH ou d'oxydoréduction. Ensuite, des échantillons biologiques sont ajoutés au tube et, en l'absence d'antimicrobiens particuliers dans l'échantillon biologique, les bactéries commencent à se développer et à produire de l'acide, ce qui entraîne un

changement de couleur détectable. Inversement, si l'échantillon biologique contient des antimicrobiens qui inhibent la croissance bactérienne, aucun changement de couleur ne se produira dans le tube.

Le test microbiologique sur plaque consiste en une couche de gélose nutritive inoculée avec des bactéries, et les échantillons biologiques sont déposés sur la surface. Si aucun antimicrobien spécifique n'est présent dans l'échantillon biologique, les bactéries commencent à se développer sur toute la plaque. Si un antibiotique spécifique est présent dans l'échantillon biologique (viande ou lait), aucune croissance bactérienne ne se produira sur l'échantillon, ce qui peut être observé dans la zone d'inhibition sans bactéries (Getahun et al., 2023).

III.6.2. Chromatographie liquide à haute performance (HPLC) :

L'HPLC est une technique de séparation qui implique l'injection d'un petit volume d'échantillon liquide dans un tube rempli de fines particules (3 à 5 microns (μm) de diamètre appelées phase stationnaire), où les composants individuels de l'échantillon sont déplacés le long du tube rempli (colonne) avec un liquide (phase mobile) forcé à travers la colonne par une pression élevée délivrée par une pompe. Ces composants sont séparés les uns des autres par le garnissage de la colonne qui implique diverses interactions chimiques et/ou physiques entre leurs molécules et les particules du garnissage. Ces composants séparés sont détectés à la sortie de ce tube (colonne) par un dispositif de passage (détecteur) qui mesure leur quantité. Le résultat de ce détecteur est appelé "chromatogramme liquide" (Kebede et al., 2014).

III.6.3. Les biocapteurs :

Cette méthode dépend de la reconnaissance du résidu antimicrobien cible par un élément biologique appelé biorécepteur, qui convertit l'événement de reconnaissance en un signal mesurable ; cette méthode est simple, rapide, hautement sélective et peu coûteuse. Un biorécepteur peut être un anticorps, une enzyme, une protéine, un acide nucléique ou un organisme vivant (cellules, tissus) ou des organismes entiers. Cette méthode a été appliquée avec succès pour la détection des antimicrobiens dans les aliments d'origine animale. Les échantillons positifs de la première étape de dépistage doivent être confirmés lors de la deuxième étape. Le résultat positif des échantillons positifs ne doit pas dépasser la limite de la LMR. La concentration est exprimée en mg/kg ou mg/L (Atta et al., 2022).

III.6.4. Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC/MS/MS) :

Grâce à la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse, la détermination de

sept classes d'antibiotiques a été possible, soit un total de 30 antibiotiques en moins de 8 min. La préparation d'un échantillon consiste en la pesée de 1 g d'échantillon et est évaporée puis reprise avec 1 mL d'eau ultra pure et utilisée pour l'introduction dans le LC/MS/MS. L'équipement LC/MS/MS est optimisé pour l'identification et la quantification de chaque composé d'intérêt. En principe, un échantillon est extrait avec un mélange de solvants, purifié en passant par une colonne SPE, puis injecté dans le LC/MS/MS. Pour les résidus d'antibiotiques, la méthode d'analyse doit répondre aux critères de performance de la décision n° 2002/657 de la Commission européenne. En général, quel que soit le laboratoire dans lequel les résidus d'antibiotiques sont déterminés par LC/MS/MS, le protocole d'extraction est généralement le même, à savoir l'extraction de l'échantillon avec un solvant organique, la purification par passage dans une colonne SPE, l'injection dans le LC/MS/MS, et les critères de performance doivent être conformes à la décision n° 2002/657 de la Commission européenne (Ghimpețeanu et al., 2022).

III.7. Delvotest :

Il s'agit d'un test classique de détermination des antibiotiques dans le lait qui repose sur le principe même de l'inhibition microbienne. En l'absence d'antibiotique, la suspension bactérienne se développe et on note l'opacité du milieu, ou le changement de couleur dû à l'apparition d'acide dans l'activité de croissance des bactéries. En présence d'un antibiotique, la souche bactérienne ne se développe pas et on observe une zone d'inhibition ou une absence de changement de couleur du milieu. Ce type de test est très sensible aux β -lactamines, mais peut également être utilisé pour les sulfamides et d'autres antimicrobiens. Ce type de test nécessite une incubation de plusieurs heures avant que les résultats puissent être visualisés, c'est pourquoi ce test a été modifié en empruntant les principes du dosage immuno-enzymatique, formant ainsi des complexes anticorps-antibiotiques qui développent une réaction colorée en présence d'une enzyme. Une faible intensité est généralement positive, tandis qu'une forte intensité est considérée comme négative. Ces tests sont plus coûteux que les tests conventionnels avec des inhibiteurs microbiens, mais fournissent un résultat en quelques minutes. L'inconvénient majeur est qu'ils ne détectent que les substances qui réagissent immunologiquement avec le récepteur (Ghimpețeanu et al., 2022).

Matériel et méthodes

IV.1. Objectif :

Notre étude a pour objectif d'évaluer la présence des antibiotiques dans le lait destiné à la transformation (circuit formel) et le lait livré aux crèmeries ou vendu directement à la population (circuit informel).

IV.2. Période et lieux de prélèvement :

L'échantillonnage du lait a été réalisé dans différentes régions de la wilaya de Tizi Ouzou en Algérie (**Annexe 1**), dans la période de Mars jusqu'à Mai 2024.

L'étude a été réalisée sur 35 échantillons du lait prélevés à partir des cuves de stockage (issu de plusieurs vaches de chaque ferme) dans des flacons stériles en verre tout en respectant les règles d'hygiène recommandés. Les échantillons sont ensuite transportés dans des glacières afin de maintenir une basse température (4°C).

IV.3. Cadre de l'étude :

Cette étude a été réalisée au niveau de deux institutions. En premier lieu, nous avons effectué une analyse physicochimique du lait dans un laboratoire d'une industrie laitière «STLD» (Fermier) situé à DRAA BEN KHEDA. Cette analyse a permis d'évaluer les différents paramètres y a compris la matière grasse, protéines, lactose, pH...etc. En deuxième lieu on a effectué une recherche de résidus d'antibiotiques dans le lait au niveau du laboratoire de microbiologie du département des sciences alimentaires de l'université « Mouloud Mameri » à Tizi Ouzou.

IV.4. Matériels et méthode :

Nous avons utilisé divers matériels, ces outils ont été choisis en fonction des besoins spécifiques de notre étude (**Annexe 2**).

IV.4.1. Les tests physico-chimiques des échantillons du lait :

Les analyses physicochimiques ont été faites à l'aide d'un appareil « LACTOSCAN SP » qui permet d'analyser plusieurs paramètres y a compris la densité, MG, protéines, lactose, ESD...etc



Figure 3: Réalisation des analyses physicochimique du lait.

IV.5. Recherche d'antibiotique au niveau du laboratoire de l'université Mouloud Mammeri:

La recherche de résidus d'antibiotiques dans le lait cru a été effectuée selon la méthode officielle européenne de détection de résidus d'antibiotiques dans le lait (décision de la commission 91/180/CEE du 14 février 1991) et qui est appliquée dans la communauté européenne depuis le 1^{er} janvier 2002 (décision européenne 91/180.CEE ; Règlement CE N°1664/2006). Deux tests sont successivement mis en œuvre :

IV.5.1. Test d'acidification

Qui se base sur la mise en évidence d'une éventuelle inhibition de *Géobacillus stearothermophilus* variété *calidolactis* ATCC 10149, en présence d'un indicateur de pH (pourpre de bromocrésol).

IV.5.2. Test de confirmation

Correspond à la réalisation de deux tests de diffusion sur gélose avec les souches suivantes : *Géobacillus stearothermophilus*, *Bacillus subtilis*.

Les modes opératoires et les réactifs sont illustrés dans les **Annexes « 4, 5 et 7 »**.

IV.6. Préparation des suspensions bactériennes et réalisation des tests :

Afin de garantir des résultats fiables, les souches ont été revivifiées, et sont utilisées au bout d'une semaine.

IV.6.1. Le test d'acidification :

Dans notre étude, le test d'acidification a été effectué en utilisant *Geobacillus stearothermophilus* qui présente une très bonne sensibilité particulièrement pour la pénicilline et les tétracyclines. Cette bactérie a été revivifiée dans des tubes contenant de BHIB, puis inoculé dans la gélose MH (Muller Hinton) dans des boîtes de pétri à l'aide d'une anse de platine, et ensemencée en stries pour avoir des souches pures, distinctes et récentes, incubée dans une étuve à 55°C pendant 24h, puis conservée jusqu'au moment d'utilisation (une semaine au max). Une culture de réserve a été conservée dans le glycérol à -10°C, afin d'assurer la conservation de la souche. A chaque fois, on procède à un repiquage à partir de la culture sur MH pour avoir toujours des bactéries récentes.

La solution à ensemencer a été préparée dans le jour d'essai et ne sera pas utiliser une autre fois, le mode opératoire est illustré dans l'**Annexe 3**.



Figure 4: Suspension de *Geobacillus stearothermophilus*

Après incubation des tubes dans l'étuve à 55°C pendant 24h, une coloration jaune du milieu gélosé signifie que ces échantillons du lait sont exempts des substances inhibitrices. Une coloration pourpre ou pourpre partielle signifie que le lait contient des substances inhibitrices. Ces échantillons ont été soumis à un test de diffusion sur gélose (voir le mode opératoire, la réalisation et le résultat dans les **Annexes 5, 6 et 9** respectivement).

IV.6.2. Le test de confirmation (diffusion sur gélose) :

Par contre, le test de confirmation a été réalisé par les souches : *Géobacillus stearothermophilus* afin de détecter la famille des pénicillines et les tétracyclines, et *Bacillus subtilis* qui a pour but de détecter la famille des macrolides et les aminosides. La bactérie *Bacillus subtilis* a été inoculée dans la gélose MH, encensée en stries puis incubée à l'étuve à 37°C (température optimale de croissance) pendant 24h.



Figure 5 : *Bacillus subtilis*

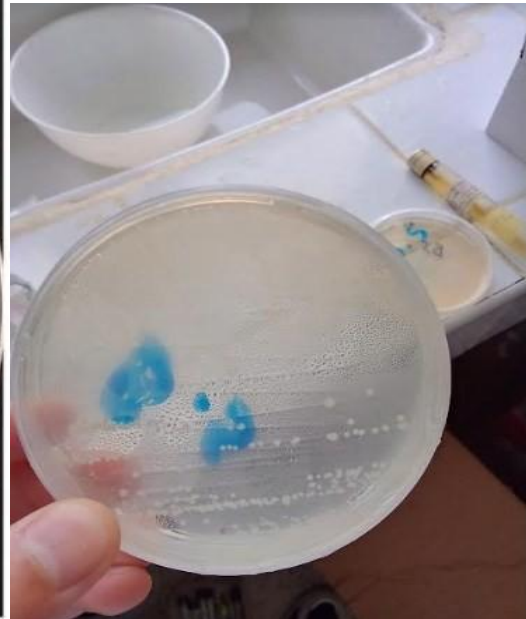


Figure 6: *Géobacillus stearothermophilus*

Les suspensions des souches (cultures jeunes de 18h) ont été préparées en homogénéisant les colonies pures dans de l'eau physiologique (NaCl 9 g/L d'eau), puis ajusté à la densité optique (DO) 0,08-0,1 par évaluation au spectrophotomètre à 625 nm (équivalent au standard McFarland 0.5). La standardisation est importante pour obtenir des résultats reproductibles et comparables, elle assure que la même quantité de bactéries est testée pour chaque antibiotique, permettant une comparaison directe des résultats. Les souches standardisées devraient être utiliser le plus vite possible pour que la standardisation soit efficace. Les boîtes de pétri ont été ensuite inondées par les suspensions bactériennes, la mise en évidence des résidus d'antibiotiques se fait par imprégnation des disques de papier filtre stérile dans le lait à tester puis, ces derniers sont appliqués sur le milieu gélosé avec addition d'un disque de pénicilline G comme témoin. Les boîtes ont été incubées à l'étuve à 55°C et 37°C pour *G. stearothermophilus* et *B. subtilis* respectivement. La présence d'inhibiteurs se manifeste par l'apparition d'une zone translucide au tour du disque de papier filtre d'au moins 2mm de diamètre mesurée à l'aide d'une règle (voir

Matériels et méthodes

le mode opératoire dans l'**Annexe 7**). Le résultat de ce test, et les familles d'antibiotiques recherché sont illustrés dans les **Annexes 8 et 10**.

Résultats et discussions

V.1. Résultats :

Les propriétés et caractéristiques physicochimiques sont des variables importantes pour le contrôle de la qualité du lait. L'importance de l'analyse physico-chimique du lait réside dans la garantie de sa qualité, de sa sécurité et de sa conformité aux normes. Ces analyses évaluent divers paramètres tels que l'acidité, la densité et la teneur en matières grasses afin de garantir que le lait est propre à la consommation et à la transformation (Elhefian, 2017).

Les antimicrobiens sont utilisés dans l'élevage bovin laitier principalement pour traiter ou prévenir les maladies et, dans une moindre mesure, pour augmenter la production de lait ou améliorer l'efficacité de l'alimentation. Toutefois, l'utilisation massive d'antimicrobiens a créé des problèmes potentiels de résidus dans le lait, notamment le risque de réactions allergiques, la résistance aux antibiotiques (Asredie et Engdaw, 2015).

V.1.1. Les analyses physicochimiques :

Tableau 4 : Résultat de l'analyse physicochimique du lait.

Paramètres	Moyenne lait du CF \pm ET	Moyenne lait du CIF \pm ET	Normes (JORA/AFNOR)
pH	6.51 \pm 0.08	6.51 \pm 0.09	6.6-6.8 (AFNOR)
Densité	1029.17 \pm 2.73	1029.25 \pm 2.45	1030-1032 (JORA)
MG g/l	34.95 \pm 11.71	41.85 \pm 8.33	34 au minimum (JORA)
ESD g/l	80.81 \pm 8.65	77.56 \pm 22.57	9.-95 (AFNOR)
Protéines g/l	30.9 \pm 2.82	31.35 \pm 1.67	31.5-35.5 (AFNOR)
Lactose g/l	40.67 \pm 8.31	43.71 \pm 2.95	47-52 (AFNOR)

Moy \pm ET : moyenne \pm écart type

V.1.2. Discussion :

Le lait est considéré comme un aliment important. Il doit être offert aux consommateurs sans additifs chimiques et sans antibiotiques afin de garantir la sécurité alimentaire, et d'éviter des effets dangereux pour la santé. Cela doit s'accompagner de la mise en œuvre de bonnes mesures d'hygiène à tous les niveaux de la chaîne laitière (Salman *et al.*, 2012).

Résultats et Discussions

Dans l'industrie laitière, le pH est souvent la première indication d'une contamination microbiologique, mais il est plus souvent manipulé pour créer et produire toute une gamme de produits laitiers, y compris le fromage (Aydogdu *et al.*, 2023). Le pH est un bon indicateur sur l'état de la fraîcheur du lait (Tir *et al.*, 2015). Les valeurs de pH des échantillons varient de 6,4 à 6,6 avec une moyenne de 6,51 soit pour le lait collecté et non collecté, cette moyenne est supérieure à celle trouvée par Mati *et al* (2011) qui est de 6,49 et inférieure à celle trouvée par Debouz *et al* (2016) qui est 6,62. dix échantillons du lait de CF et quatre du lait de CIF sont conformes avec la norme établie par AFNOR (1986), qui est de 6,6 à 6,8, alors que 21 échantillons (de CF et CIF) ne répondent pas à cette norme. Ces valeurs de pH se rapprochent de celles trouvées par Tir *et al* (2015) qui varient entre 6,3 et 6,75. Selon Mathieu (1998), les variabilités de pH sont liées au climat, au stade de lactation, aux disponibilités alimentaires et à l'état de santé des vaches, mais aussi à la fraîcheur du lait.

La densité du lait étudié est d'une moyenne de 1029,17 pour le lait de CF et 1029,25 pour le lait de CIF, ces valeurs sont inférieures à la norme requise qui se situe entre 1030-1032 (JORA 1993), mais 5 échantillons du lait de CF et 5 du CIF sont conformes à cette norme, tandis que 24 échantillons sont inférieurs à la norme, et un seul échantillon est supérieur (1036,9). Cette moyenne est presque la même trouvée par Tir *et al* (2015) qui est 1029,7, mais aussi elle est inférieure à celle trouvée par Mati *et al* (2011) (1034,5) et supérieure à celle obtenue par Debouz *et al* (2016) et qui est 1028. Selon Debouz *et al* (2016), la densité dépend de la teneur en matière sèche, en matière grasse, de la température et du régime alimentaire de l'animal. Un lait pauvre en matière sèche aura une densité faible (Tir *et al.*, 2015). La densité peut nous indiquer aussi un état de fraude du lait par les producteurs ou les collecteurs.

Un total de 13 échantillons (lait de CF et CIF) présentent une teneur en matière grasse inférieure à la norme prescrite par la loi algérienne, qui limite la teneur à 34g/l au minimum (JORA 1993), tandis que 22 échantillons sont conformes, contrairement à Tir *et al* (2015) qui ont trouvés que tous les échantillons présentent une teneur inférieure à la même norme. L'analyse statistique a donné une moyenne de 34,95 g/l pour le lait de CF et 41,85 g/l pour le lait de CIF, ces valeurs sont inférieures à celle trouvée par Mati *et al* (2011) qui est de 61,9. Selon Tir *et al* (2015), la variabilité de la teneur en matière grasse dépend de la race, l'alimentation, les conditions climatiques et le stade de lactation.

Les teneurs en extrait sec obtenues sont 80,81 g/l (LC) et 77,56 (LNC), ces valeurs sont conformes à la norme prescrite par AFNOR 1986 (9-95 g/l). Ces valeurs sont inférieures à celle trouvées par Tir *et al* (2015) qui est de 87,49 g/l, et supérieures à la valeur trouvée par Mati *et al*

(2011) qui est 10,64 g/l.

La teneur en matière sèche du lait varie en fonction du stade de lactation. Ainsi, elle diminue durant le mois suivant le vêlage (mise bas), puis augmente suite à l'accroissement de taux de matière grasse et azotée (Debouz *et al.*, 2016).

Les taux protéiques moyens du lait de CF et CIF sont de 30,9 et 31,35 g/l respectivement est très proche de la norme AFNOR (31,5-35,5 g/l). La moyenne trouvée est élevée à celle obtenue par Mati *et al* (2011) et qui est 5,38 g/l, mais elle est inférieure à celle de Elhefian (2017) qui est de 42,5 g/l. D'après Debouz *et al* (2016), la concentration des protéines laitières varie selon la saison, le stade de lactation et le nombre de mises en bas.

Les teneurs moyennes en lactose du lait de CF et CIF sont 40,67 g/l et 43,71 g/l respectivement, elles sont non conformes à la norme prescrite par l'AFNOR (47-52). Les valeurs trouvés sont inférieures à celle obtenue par Debouz et al (2016) qui est de 50.47±2.06g/l, et à celle de Elhefian (2017) qui est de 46 g/l.

V.1.3. La recherche des résidus d'antibiotiques :

V.1.3.1. Test d'acidification :

Les résultats du test d'acidification des différents échantillons de lait sont illustrés dans la figure 7.

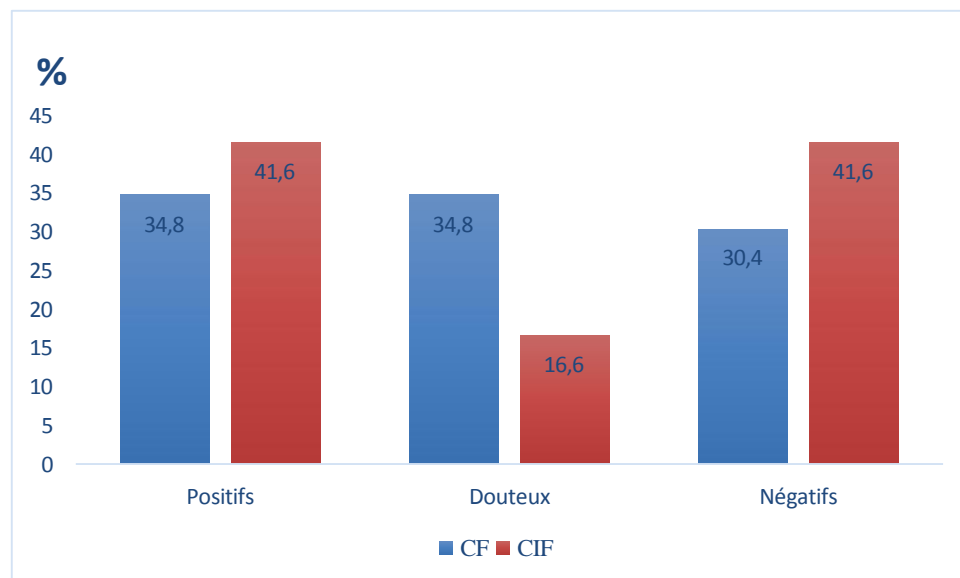


Figure 7: Résultats de l'analyse des échantillons de lait cru (CF et CIF) après le test d'acidification.

Résultats et Discussions

D'après la figure 7, le lait de CIF possède un pourcentage plus élevé que celui de CF en terme des échantillons positifs et négatifs. Alors que le pourcentage des échantillons douteux du lait de CF est plus élevé que celui de CIF.

La figure 8 montre les proportions des échantillons de lait positifs, douteux et négatifs au test d'acidification sur l'ensemble du prélevé.

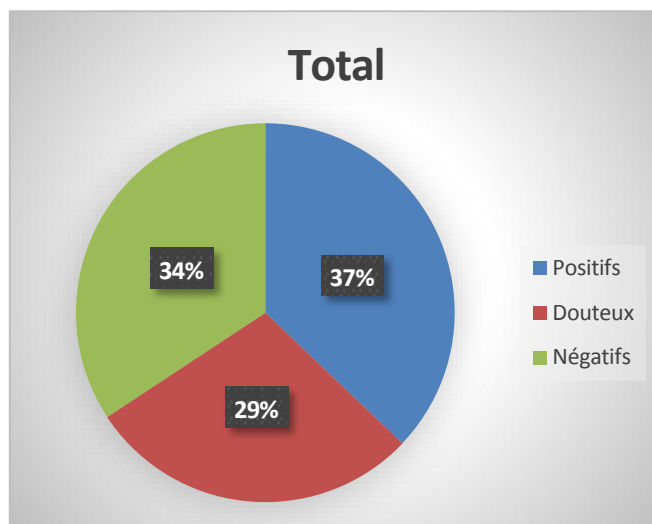


Figure 8: Résultat du test d'acidification du lait cru prélevé.

Le résultat a montré que 37% des échantillons du lait analysé étaient positifs, 29% étaient douteux, ce qui signifie la présence des substances inhibitrices, et 34% étaient négatifs.

V.1.3.2. Test de diffusion sur gélose :

Les échantillons positifs et douteux (23 échantillons) ont été soumis à un test d'inhibition sur gélose MH afin de confirmer la présence des résidus d'antibiotiques.

L'analyse statistique du taux de détection des résidus par les bactéries testées selon le type de lait a été effectuée par le test Khi-carré. Le résultat est mentionné dans le tableau 6.

Tableau 5: Taux de détection des résidus par les bactéries testées.

	B. subtilis			G. Stéarotherophilus		
	Positif (%)	Négatif (%)	P value	Positif (%)	Négatif (%)	P value
Lait de CF	4,3%	95,7%	0,537	47,8%	52,2%	0,121
Lait de CIF	0%	100%		41,7%	58,3%	
Total lait	2,9%	97,1%	-	45,7%	54,3	-

Résultats et Discussions

Le résultat du test de confirmation est présenté dans la figure 9

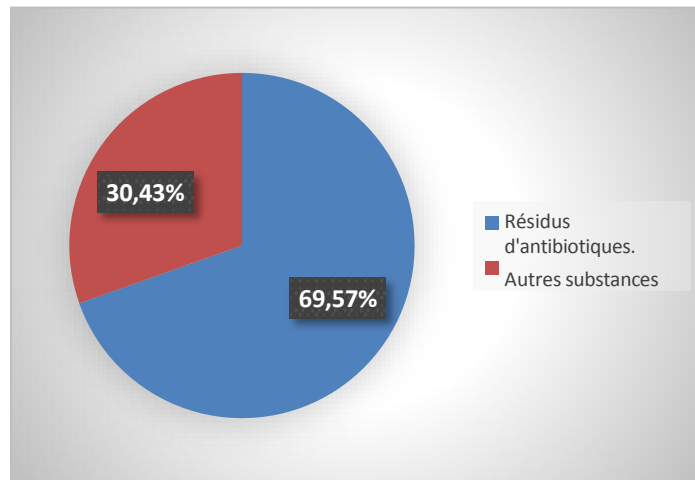


Figure 9: Résultat du test de confirmation

Les pourcentages de détection des résidus d'antibiotiques par les bactéries testées sont illustrés selon le test de confirmation dans la figure 10.

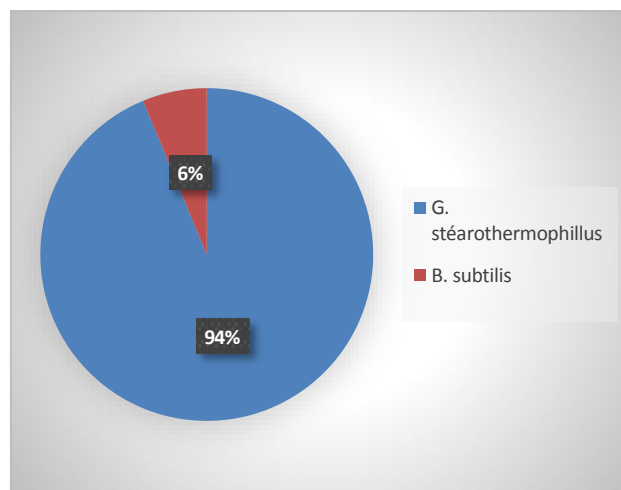


Figure 10: Taux de détection des résidus d'antibiotique par les bactéries *G. stearothermophilus* et *B. subtilis*.selon le test de confirmation

La répartition des échantillons positifs selon l'ensemble du lait prélevé est illustrée dans la figure 11.

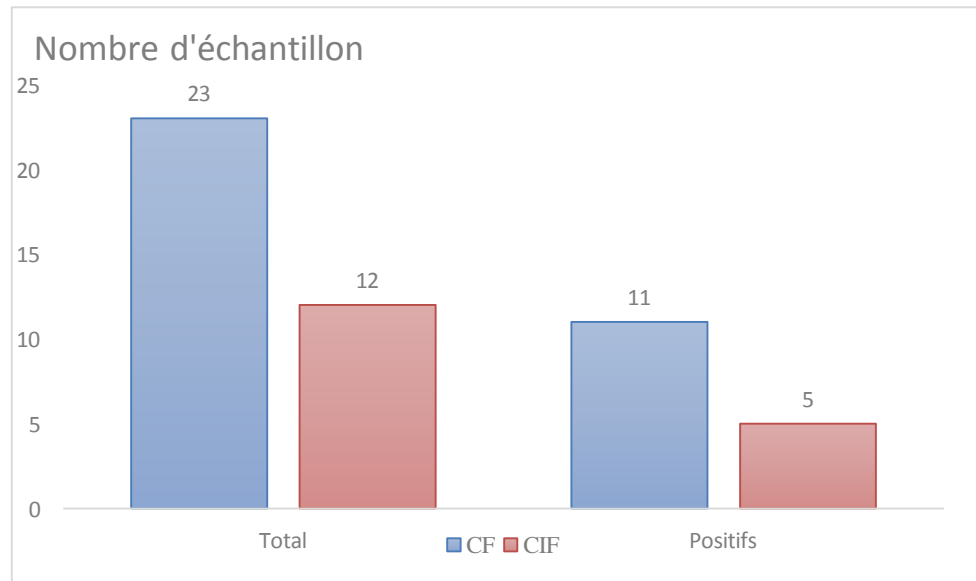


Figure 11: Répartition des échantillons positifs sur l'ensemble du lait prélevé.

11 échantillons sur 23 du lait de CF ont été positifs (contiennent des résidus d'antibiotiques), tandis que dans le lait de CIF, 5 échantillons sur 12 sont avérés positifs.

V.1.4. Discussion des résultats

Les résultats de cette étude ont montré, après le test d'acidification (première étape), la présence de résidus d'antibiotiques dans 13 échantillons (37,14%) sur 35 prélèvements de lait cru examinés dont 34,78% pour le lait de CF et 41,66% pour le lait de CIF. En revanche, le changement de coloration du milieu, du violet au jaune a été observé dans 12 échantillons (34,3%) qui étaient considérées comme négatifs, et 10 échantillons (28,6%) ont été douteux (la couleur était intermédiaire entre le violet et le jaune). Suite à ces résultats, on a procédé à un test de confirmation. Ces valeurs sont différentes de celles trouvées par Titouche *et al* (2013) qui sont de 67,25%, 28,65% et 4,09% respectivement pour des échantillons positifs, négatifs et douteux. De même pour Ouabdesselam *et al* (2020), qui ont indiqué des proportions de 20,51% positifs, 76,49% négatifs et 3% douteux. Shirin *et al* (2014) ont trouvé des valeurs de 30,07%, 66,74% et 3,18% respectivement pour des échantillons positifs, négatifs et douteux. Ces résultats démontrent la large utilisation des pénicillines et des tétracyclines dans le traitement des infections en élevage laitier en Algérie. En particulier pour les mammites par injection d'ions intramammaires.

La méthode d'analyse microbiologique mise en œuvre en utilisant *G.stearothermophilus* comme micro-organisme test est caractérisée par un seuil de détection des antibiotiques le plus proche possible des limites maximales de résidus (LMR) des antibiotiques les plus fréquemment

Résultats et Discussions

utilisés dans le traitement des bovins laitiers. En effet, la sensibilité de la nouvelle technique d'acidification est bien meilleure pour les deux familles d'antibiotiques les plus répandues dans les spécialités intramammaires utilisées en Algérie (bêta-lactames et tétracyclines). En effet, *Geobacillus stearothermophilus* est caractérisé par une sensibilité remarquable aux bêta-lactames, sa croissance est inhibée par une concentration de 5 ppb d'ampicilline (Ouabdesselam *et al.*, 2020).

Toutefois, la plupart des échantillons de lait cru positifs présentaient un pourcentage élevé de contamination par la pénicilline et/ou la tétracycline (93,75%). Inversement, les macrolides et/ou les aminoglycosides n'ont été détectés que dans un seul échantillon (6,25%) qui été du lait de CF. Dans l'étude réalisée par Titouche *et al* (2013), 88.75% des échantillons ont été contaminés par la pénicilline et/ou la tétracycline, 12.5% par les macrolides et/ou les aminoglycosides. D'autre part nos résultats sont similaires à ceux obtenus par Ouabdesselam *et al* (2020), qui sont de 93,62% et 6,38% pour *B. stearothermophilus*, et *B. subtilis* respectivement.

Cette analyse a montré que les pénicillines et les tétracyclines sont les antibiotiques les plus utilisés en élevage laitiers dans la wilaya de Tizi Ouzou (93,75%), ce pourcentage est supérieure à celui obtenus par Titouche *et al* (2013) et qui est de 88,75%. Les macrolides et les aminosides en deuxième place avec un pourcentage de 6,25%, alors que Titouche *et al* (2013) ont trouvés un pourcentage supérieure qui est de 12,5%.

L'étude a révélé que le nombre total des échantillons positifs était de 16 échantillons, soit avec un pourcentage de 45,71%, cette valeur est supérieure à ceux obtenues par Salman et al (2012), Aoues et al (2019) et Arora et Chhabra (2005) qui sont 33,8 %, 38% et 28,89% respectivement, mais inférieure à celles trouvées par Titouche et al (2013) qui est de 46,87%

Nous avons constaté que 6 échantillons contaminés par la pénicilline et/ou la tétracycline ont présentés un plus grand diamètre d'inhibition (plus de 15 ± 1 mm) pour *G. stearothermophilus*, ce qui signifie que cette bactérie est très sensible à la pénicilline et/ou la tétracycline.

Le test de confirmation a révélé que 16 échantillons (69,57%) contiennent vraiment des résidus d'antibiotiques parmi les 23 examinés qui sont présumés positifs ou douteux après le test d'acidification, tandis que les 7 autres échantillons (30,43%) restants pourraient être contaminés par d'autres substances inhibitrices tels que les sulfamides, les désinfectants ...etc.

Ce résultat indique l'utilisation excessive d'antibiotiques dans le traitement des vaches laitières et pourrait être associé à l'absence d'élimination ou d'isolement des vaches laitières traitées aux antibiotiques. Ainsi, le lait contaminé est mélangé au lait non contaminé et avec le lait d'autres

Résultats et Discussions

exploitations lors de la collecte (Bouchoucha et Bouaziz, 2022). Les traitements thermiques, y compris la pasteurisation, n'ont aucune action sur les résidus d'antibiotiques (Bouchoucha et Bouaziz, 2022).

Le pourcentage élevé de contamination du lait par des inhibiteurs tels que les résidus d'antibiotiques peut probablement s'expliquer principalement par des préparations pharmaceutiques intra-mammaires massives et incontrôlées pour le traitement et la prévention des mammites bovines, la contamination par le matériel de traite, ne respectant pas les délais d'attente après le traitement, et ensuite par un ajout volontaire d'inhibiteurs de croissance des germes (antibiotiques, antiseptiques) afin d'arrêter la croissance microbienne et de stabiliser la qualité microbienne du lait (Titouche *et al.*, 2013), l'utilisation prolongée ou les doses inutiles d'antimicrobiens (Prajwal *et al.*, 2017), les dosages hors étiquette et l'utilisation de médicaments qui n'ont pas été approuvés pour l'espèce en question peuvent entraîner la présence de résidus indésirables (Asredie et Engdaw, 2015).

Selon Titouche et al (2013), Outre le risque pour la santé publique (réactions allergiques, influence sur la flore intestinale et risque d'émergence et d'augmentation de souches résistantes aux antibiotiques), les résidus d'antibiotiques représentent un réel problème pour les transformateurs de lait en raison de leur impact négatif sur le processus de fermentation lactique. En effet, les bactéries lactiques comme *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* et *Lactococcus lactis* peuvent jouer un rôle essentiel de starter en acidifiant le lait, entraînant ainsi la précipitation des protéines du lait (caséine), le développement d'arômes liés à l'activité protéolytique et aux souches lactiques lipolytiques et l'inhibition de la croissance des micro-organismes d'altération ou des bactéries potentiellement pathogènes comme les coliformes, *Pseudomonas*, *S. aureus* et *Listeria monocytogenes*. La présence de résidus d'antibiotiques dans le lait cru peut inhiber partiellement ou totalement la croissance des bactéries lactiques impliquées dans l'élaboration de produits laitiers tels que le fromage et le yaourt, entraînant des accidents de fabrication. Les accidents les plus courants sont les défauts de coagulation, et le risque de prolifération incontrôlée des germes gazogènes, insensibles aux antibiotiques, tels que les coliformes, *Bacillus*, *Clostridium* et *Proteus*.

La réglementation européenne précise que le lait cru mis sur le marché, ne doit pas contenir de résidus d'antibiotiques en concentration dépassant la LMR (limite maximale de résidus). En Algérie, le décret n°39 du 02 juillet 2017 fixe les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires et exige l'absence totale de résidus d'antibiotiques dans un millilitre de lait cru (Aoues *et al.*, 2019).

Conclusion générale

Conclusion générale

A l'issu de ce travail, en ce qui concerne les paramètres physicochimiques, la majorité des échantillons du lait analysé ne répondent pas aux normes recommandées, que ce soit pour le pH et le lactose, la densité et la matière grasse, contrairement à l'ESD et le taux protéique qui sont conformes aux normes en vigueur.

Les résultats de cette étude indiquent clairement la forte contamination de nos échantillons du lait cru par des résidus d'antibiotiques, avec un pourcentage de 45,71% (47,82% pour le lait de CF et 41,66% pour le celui de CIF). Cela peut s'expliquer par l'utilisation intensive et abusive de médicaments vétérinaires, des mauvaises pratiques sanitaires, ainsi que par le non-respect du délai entre l'administration de l'antibiotique et la collecte du lait.

L'étude a montré que les bêta-lactames et les tétracyclines sont les familles d'antibiotiques les plus utilisés en élevage bovins dans la région de Tizi Ouzou.

Les résidus d'antibiotiques dans les aliments d'origine animale sont préoccupants en raison des risques toxicologiques pour le consommateur. L'adoption de certaines mesures de sécurité et de lignes directrices peut contribuer à réduire les résidus à des niveaux non toxiques y compris la mise en œuvre des lois de régulation dans les exploitations laitières, Pratiques d'hygiène et de gestion appropriées dans les fermes d'élevage et les unités laitières, identifier et isoler les vaches traités, assurer la qualité de l'eau de boisson pour les animaux pour éviter les infections et réduire l'utilisation d'antibiotiques, Pratiques de gestion des antibiotiques dans l'élevage doivent être conformes aux normes et réglementations locales pour éviter l'abus et le non-respect des délais d'attente, utiliser des systèmes de collecte et de stockage sécurisés pour éviter la contamination croisée des laits, Informer et former les éleveurs et les professionnels de la filière sur les risques liés aux résidus d'antibiotiques et les mesures à prendre pour éviter la contamination...etc.

Parmi les alternatives aux antibiotiques, on peut citer les bactériocines (peptides antimicrobiens) qui sont de petites protéines bioactives produites naturellement par certains micro-organismes vivants, ils peuvent servir de bio-protecteurs contre la détérioration et la contamination par des agents pathogènes, car ils ont démontré une excellente activité antimicrobienne contre les bactéries, et empêchent la prolifération des micro-organismes thermophiles formant des spores. La vaccination aide à prévenir l'évolution des infections en incitant les cellules immunitaires (cellules B, les cellules T) à développer une immunité adaptative en produisant des anticorps spécifiques contre les agents pathogènes. Les

Conclusion générale

anticorps du jaune d'œuf de poule constituent une approche thérapeutique efficace contre plusieurs maladies virales et bactériennes. Les extraits de plantes ou les phytobiotiques sont principalement utilisés dans l'alimentation animale pour leurs diverses activités pharmacologiques, telles que les propriétés antimicrobiennes, anti-inflammatoires et anti oxydantes, la phagothérapie qui utilise des bactériophages comme agents anti-bactériens.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

1. Abdelli Radhia, Sadia, Y., Soumeya, K., & Rafik, B. (2021). ETAT DES LIEUX DE LA FILIERE LAITIERE EN ALGERIE ET PERSPECTIVES DE DEVELOPPEMENT. *Algerian Journal of Arid Environment*, 11, 4-14.
2. Aoues, K., Megateli, S., Tabet, M., Rezki, I., Tefahi, D., & Benrima, A. (2019). DÉTECTION DES RÉSIDUS D'ANTIBIOTIQUES DANS LE LAIT CRU DE VACHE COLLECTE DANS LA RÉGION DE BLIDA (ALGÉRIE). *AGROBIOLOGIA*, 9(1), 1214-1222.
3. Arora, S., & Chhabra, D. (2005). Screening for antimicrobial residues in milk by disc assay. *INDIAN VETERINARY JOURNAL*, 81, 1400-1401.
4. Arsène, M. M. J., Davares, A. K. L., Viktorovna, P. I., Andreevna, S. L., Sarra, S., Khelifi, I., & Sergueïevna, D. M. (2022). The public health issue of antibiotic residues in food and feed : Causes, consequences, and potential solutions. *Veterinary World*, 15(3), 662-671. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2022.662-671>
5. Asredie, T., & Engdaw, T. A. (2015). Antimicrobial Residues in Cow Milk and its Public Health Significance.
6. Atta, A., Atta, S., Nasr, S., & Mouneir, S. (2022). Current perspective on veterinary drug and chemical residues in food of animal origin. *Environmental Science and Pollution Research*, 29. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-18239-y>
7. Aydogdu, T., O'Mahony, J., & McCarthy, N. (2023). pH, the Fundamentals for Milk and Dairy Processing : A Review. *Dairy*, 4, 395-409. <https://doi.org/10.3390/dairy4030026>
8. Anonyme 1. <https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Antibiotique&oldid=212115239>
9. Anonyme 2. <https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Lait&oldid=211138578>
10. Baazize-Ammi, D., Dechicha A., S., Tassist, A., Gharbi, I., Hezil, N., Kebbal, S., Morsli, W., Beldjoudi, S., Saadaoui M., R., & Guetarni, D. (2020). Recherche et quantification des résidus d'antibiotiques dans le muscle du poulet de chair et dans le lait dans la région centre d'Algérie : -EN- Screening and quantification of antibiotic residues in broiler chicken meat and milk in the central region of Algeria -FR- -ES- Detección y cuantificación de residuos de antibióticos en tejido muscular de pollos asaderos y en leche de la región central de Argelia. *Revue Scientifique et Technique de l'OIE*, 38(3), 863-877.

Références bibliographiques

<https://doi.org/10.20506/rst.38.3.3031>

11. Bayou, K., & Haile, N. (2017). Review on antibiotic residues in food of animal origin : Economic and public health impacts. *Applied Journal of Hygiene*, 6(1), 1-8.

12. Belitz, H.-D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2008). *Milk and Dairy Products* (p. 498-545). https://doi.org/10.1007/978-3-540-69934-7_11

13. Beyene, T. (2015). Veterinary Drug Residues in Food-animal Products : Its Risk Factors and Potential Effects on Public Health. *Journal of Veterinary Science & Technology*, 07(01). <https://doi.org/10.4172/2157-7579.1000285>

14. Bouchoucha, B., & Bouaziz, O. (2022). Beta-lactam and Tetracycline Antibiotic Residues in Cow Milk in the Constantine region, Algeria. *Veterinarska Stanica*. https://www.academia.edu/60200473/%CE%B2eta_lactam_and_Tetracycline_Antibiotic_Residues_in_Cow_Milk_in_the_Constantine_region_Algeria

15. Debouz, Geurgeur L, Oudjana H, & Hadj SEYD A. (2016). Etude comparative de la qualité physico-chimique et microbiologique du lait de vache et du lait camelin dans la wilaya de Ghardaïa. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1455.9120>

16. Elhefian, E. (2017). Physicochemical Characteristics of Various Milk Samples. *Nova Journal of Medical and Biological Sciences*, 6, 1-3. <https://doi.org/10.20286/nova-jmbs-060201>

17. Ferrah, A. (2000, novembre 11). L'élevage bovin laitier en Algérie : Problématique, questions et hypothèses pour la recherche.

18. Getahun, M., Abebe, R. B., Sendekie, A. K., Woldeyohanis, A. E., & Kasahun, A. E. (2023). Evaluation of Antibiotics Residues in Milk and Meat Using Different Analytical Methods. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2023, e4380261.

<https://doi.org/10.1155/2023/4380261>

19. Ghimpețeanu, O. M., Pogurschi, E. N., Popa, D. C., Dragomir, N., Drăgotoiu, T., Mihai, O. D., & Petcu, C. D. (2022). Antibiotic Use in Livestock and Residues in Food—A Public Health Threat : A Review. *Foods*, 11(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/foods11101430>

Références bibliographiques

20. Gómez-Cortés, P., Juárez, M., & De La Fuente, M. A. (2018). Milk fatty acids and potential health benefits : An updated vision. *Trends in Food Science & Technology*, 81, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.08.014>
21. Kebede, G., Zenebe, T., Disassa, H., & Tolosa, T. (2014). Review on Detection of Antimicrobial Residues in Raw Bulk Milk in Dairy Farms. <https://doi.org/10.5829>
22. Mati, A., Yabrir, B., & Zennia, S. (2011, octobre 4). CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE DU LAIT CRU OVIN COLLECTE LOCALEMENT EN MILIEU STEPPIQUE. INFLUENCE DE L'ETAGE BIOCLIMATIQUE.
23. Mensah, S., Aboh, A., Salifou, S., Mensah, G., Sanders, P., Abiola, F., & Koudande, D. (2014). Risques dus aux résidus d'antibiotiques détectés dans le lait de vache produit dans le Centre Bénin. *Journal of Applied Biosciences*, 80. <https://doi.org/10.4314/jab.v80i1.9>
24. Mensah, S., Koudande, D., Sanders, P., Laurentie, M., Mensah, G., & Abiola, F. (2014). Antibiotic residues and foods of animal origin in Africa : Public health risks. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 33, 975-986.
25. Nisha A R. (2008). Antibiotic Residues—A Global Health Hazard. *Veterinary World*, 1, 375-377. <https://doi.org/10.5455/vetworld.2008.375-377>
26. Noblet, B. (2012). Le lait : Produits, composition et consommation en France. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 47(5), 242-249. <https://doi.org/10.1016/j.cnd.2012.04.001>
27. OUABDESSELAM, L., Zoubir, B., & Berbar, A. (2020). Contribution to the Identification of Antibiotics Residues in Raw Bovine Milk in Algeria : Région of Blida. *European Journal of Medical Sciences*, 10, 1-4. <https://doi.org/10.21601/ejbms/9314>
28. Prajwal, S., Vasudevan, V. N., Sathu, T., Irshad, A., Nayankumar, S. R., & Pame, K. (2017). Antibiotic residues in food animals : Causes and health effects. *The Pharma Innovation Journal*, 6(12), 01-04.
29. Salman, A., Hind A. ElNasri, & Intisar A.M. Osman. (2012). DETECTION OF ANTIBIOTIC RESIDUES IN MILK USING DELVOTEST KIT AND THE DISC ASSAY METHODS IN KHARTOUM STATE, SUDAN. 3(2), 3-15.

Références bibliographiques

30. Serge, B., Samandoulougou, S., Mahmady, T., Daniel, I., Gertrude, B. T., Hadiza, B.-I., Bouda, S., Traore, A., & Barro, N. (2015). Détection biologique des résidus d'antibiotiques dans le lait et produits laitiers de vache consommés à Ouagadougou, Burkina Faso. *Journal of Applied Biosciences*, 87, 8105-8112. <https://doi.org/10.4314/jab.v87i1.11>
31. Shirin, F., Amir Rahimirad, Roya Seyedkhoe, Jafar Asadzadeh, & Mahmoud Bahmani. (2014). Determination of antibiotic residues in the pasteurized milk produced in. <https://doi.org/10.12980>
32. Tir, E., Bounoua, S., Messaouda, H., & Nassira, B. (2015). Etude De La Qualité Physico-Chimique Et Microbiologique De Laites Crus De Vache Dans Deux Fermes De La Wilaya De Tissemsilt « Algérie ». *مجلة الواحات للبحوث والدراسات*. <https://doi.org/10.54246/1548-008-002-030>
33. Titouche, Y., Hakem, A., Houali, K., Yabrir, B., Malki, O., Chergui, A., Safia, C., Yahiaoui, S., Labiad, M., Ghenim, H., Bounar-Kechih, S., Chirilă, F., Nadăș, G., & Fit, N. (2013). Detection of Antibiotics Residues in Raw milk Produced in Freha Area (Tizi-Ouzou), Algeria.

Annexes

Annexe 01 :

Région	Nombre d'échantillons
Boghni	9
Illoula	2
Illilten	5
Makouda	3
Azzefoune	5
Boumerdes	5
Freha	6

Annexe 02 :

1. Matériels utilisés :

Matériels utilisés	
Echantillon du lait	Eau physiologique stérile
Tubes à essai stérile	Seringue
Lactoscan	Eau distillée
Becher	Pinces
Pipettes pasteur	Autoclave
Disques de papiers filtre stériles	Bain marie
Spectrophotomètre	Ecouvillons
Lanse	Bec bunsen
Papier absorbant	Fioles gaugés
Etuve	Portoirs
Micropipettes	Embouts
Flacons stériles en verre	Pied à coulisse

Milieu de culture :

- Gélose : Muller Hinton
- Bouillon : BHIB

Annexes

Annexe 03 : Préparation de la solution à ensemercer :

- Mettre une partie des spores de *B. stearothermophilus* dans un tube contenant de l'eau physiologique stérile.
- Faire fondre le milieu gélosé (Muller Hinton) puis le refroidir à 55°C.
- Rajouter une partie de la suspension des spores fraîches à cinq parties de milieu gélosé dans un tube.
- Mélanger soigneusement.
- Transférer rapidement avant la solidification, 0,3 ml du milieu ensemençé dans les tube contenant les échantillons du lait à analyser.

Annexe 04 :

- L'eau utilisé doit être distillée, et l'eau physiologique doit être stérile.
- Le milieu gélosé est Muller Hinton, préalablement fondu à 100°C et refroidi à 55°C.

Composition de la solution de triméthoprime :

Triméthoprime	5 mg
Ethanol 96%	5 ml
Eau distillé	1000ml

Mélange nutritif :

On fait dissoudre le mélange nutritif et l'indicateur dans l'eau distillée est stériliser par filtrage (diamètre de filtration = 0,45 microns).

Extrait de levure	3 mg
Glucose	20 mg
Amidon soluble	32 mg
Pourpre de bromocrésol	01 g
Eau distillée	200 ml

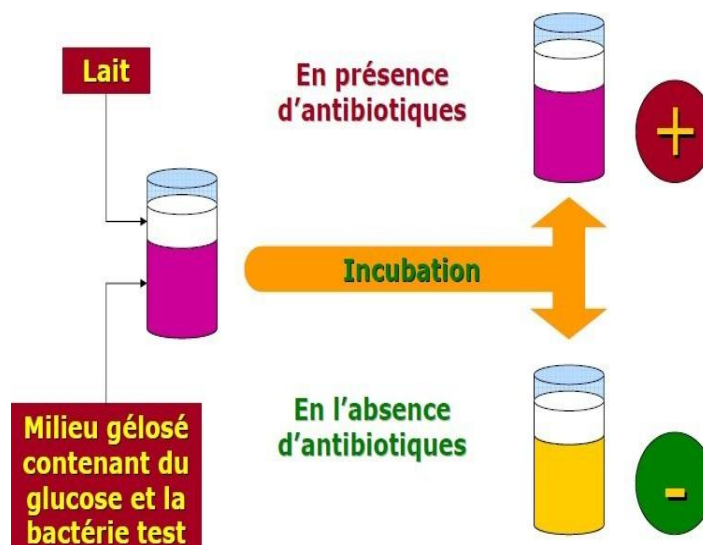
Solution de pénicilline :

Dans notre cas, on a utilisé un disque de pénicilline G.

Annexe 5 : Mode opératoire :

- Introduire 2 ml de lait dans un tube à essai stérile sans mouiller les parois.
- Placer les échantillons du lait à analyser dans un bain d'eau réglé à 80°C pendant 10 minutes.
- Après identification de chaque tube, enlever le bouchon puis placer sur un portoir le nombre requis pour l'examen des échantillons et des témoins.
- Ajouter 50 μ l du mélange nutritif dans chaque tube.
- Ajouter 300 μ l de la solution àensemencer.
- Ajouter 300 de solution de triméthoprime
- Introduire un disque de pénicilline G.
- Fermer les tubes, les mettre dans un portoir puis les incuber dans une étuve à 55°C pendant au moins 4 heures.
- Les échantillons dont la couleur est pourpre et douteuse seront mis à un test de confirmation.

Annexe 6 : La réalisation du test d'acidification



Annexe 7 : Mode opératoire de l'épreuve de confirmation :

- Faire fondre le milieu gélosé MH, puis le refroidir à 55°C.
- Couler dans les boîtes de pétri le milieu gélosé, laisser refroidir.
- Inonder les boîtes par des spores fraîches de *G. stearothermophilus* et *B. subtilis* qui doit être standardiser, pour obtenir une densité appropriée de colonies avoisinant 10

Annexes

- Imprégner les disques du papier filtre par le lait à tester à l'aide d'une pince, puis ajouter un disque de pénicilline G comme témoin.
- Incuber les boîtes de pétri selon la température d'incubation de l'organisme test (55°C et 37°C pour *G. stearothermophilus* et *B. subtilis* respectivement).
- Après 24h d'incubation, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés grâce au pied à coulisse.

Annexe 8 :

Microorganisme test	Famille	Antibiotique recherché
<i>G. stearothermophilus</i>	Pénicillines	Pénicilline G
	Tétracyclines	Tétracyclines
<i>B. subtilis</i>	Macrolides Aminosides	Spiramycine
		Erythromycine
		Streptomycine

Annexe 9 : la répartition des échantillons du lait selon le test d'acidification.



Figure : résultats de test d'acidification (Echantillons positif)



Figure : résultat de test d'acidification (Echantillon négatif)



Figure : résultats de test d'acidification (Echantillons douteux)

Annexes

Type du lait	Echantillon	Pourpre	Jaune	Douteux
Lait collecté	Illilten 01		-	
	Illilten 02	+		
	Illilten 03		-	
	Illilten 04			+
	Illoula 01		-	
	Illoula 02		-	
	Bmrds 01		-	
	Bmrds 02	+		
	Bmrds 03			+
	Bmrds 04			+
	Bmrds 05		-	
	Freha 01			+
	Freha 02	+		
	Freha 03		-	
	Freha 04	+		
	Freha 05			+
	Freha 06	+		
	Makouda 01	+		
	Makouda 02	+		
	Makouda 03			+
	Azzefoun 01			+
	Azzefoun 02			+
	Azzefoun 03	+		
Lait non collecté	Boghni 01	+		
	Boghni 02			+
	Boghni 03	+		
	Boghni 04	+		
	Boghni 05		-	
	Boghni 06		-	
	Boghni 07		-	
	Boghni 08		-	
	Boghni 09		-	

	Azzefoun 04	+		
	Azzefoun 05	+		
	Illilten 05			+

Annexe 10 : La répartition des échantillons positifs du lait selon le test de diffusion.

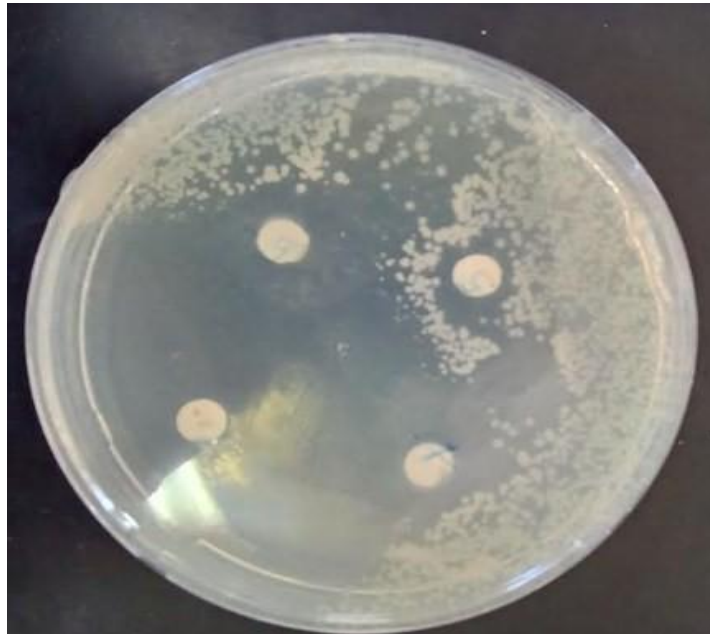


Figure : Résultats de test de confirmation obtenus en utilisant la bactérie *Geobacillus stearothermophilus*

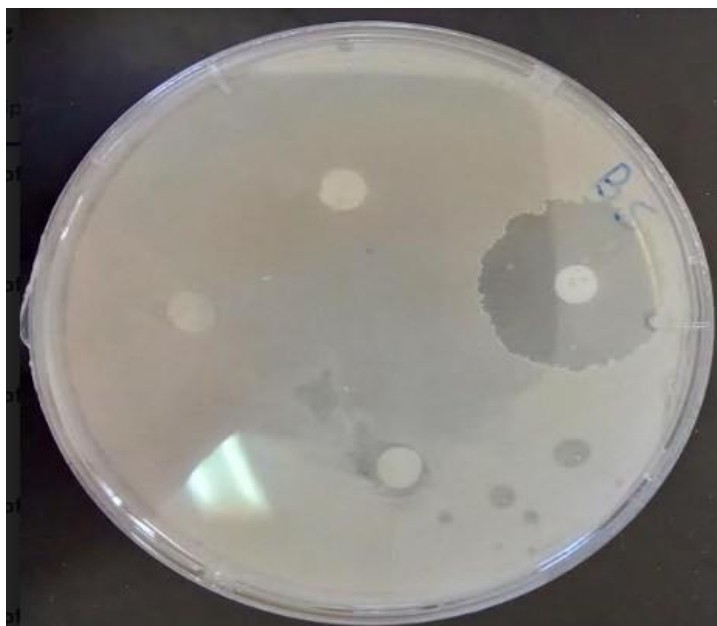


Figure : Résultats de test de confirmation en utilisant *Bacillus subtilis*.

Annexes

Type lait	du Echantillon	Diamètre de la zone d'inhibition
LC	Azzefoun 01	12 mm
	Azzefoun 02	14 mm
	Azzefoun 03	28 mm
	Bmrds 02	14 mm
	Freha 02	12 mm
	Freha 04	8 mm
	Freha 06	10 mm
	Illilten 02	12 mm
	Makouda 01	20 mm
	Makouda 02	18 mm
Makouda 03	12 mm	
LNC	Boghni 01	10 mm
	Boghni 04	8 mm
	Azzefoun 04	14 mm
	Azzefoun 05	12 mm
	Illilten 05	8 mm

Annexe 11: Analyses physicochimiques du lait

Type	Echantillon	MG	Pr	PH	densité	ESD	Lactose
Lait collecté	Illilten01	23.3g/l	27,6	6,5	1028,99	77,4	38,8
	Illilten02	37.2g/l	29,9	6,4	1027,82	77,6	42,2
	Illilten03	59.9g/l	25,4	6,4	1021,24	65,1	35,4
	Illilten04	43.8g/l	30	6,6	1027,23	77,4	4,24
	Illoula01	19.4g/l	32,5	6,6	1031,9	84,3	46,1
	Illoula02	33.4g/l	30,9	6,5	1029,13	80,1	43,8
	BMRDS01	35.1g/l	31,6	6,4	1029,58	79,9	43,5
	BMRDS02	31.2g/l	30,6	6,5	1028,83	77,1	41,9
	BMRDS03	34.2g/l	32,6	6,4	1030,61	82,4	44,9
	BMRDS04	34.6g/l	31,2	6,4	1029,24	78,9	42,9
	BMRDS05	33g/l	31,3	6,6	1029,42	79	43
	Freha01	27,5g/l	32,5	6,6	1031,1	82,2	44,8
	Freha02	30,6g/l	32,1	6,6	1030,42	81,1	44,2
	Freha03	34,9g/l	32,9	6,6	1030,9	83,4	45,4
	Freha04	35,8g/l	31,4	6,6	1029,35	79,4	43,2
	Freha05	33,1g/l	30,7	6,6	1028,84	77,5	42,2
	Freha06	11,5g/l	28,7	6,6	1029,56	76,8	40,4
	AZFN01	37,7g/l	31,5	6,4	1029,1	10,5	42,5
	AZFN02	60,9g/l	40,6	6,5	1036,9	10,5	41
	AZFN03	27,1g/l	28,8	6,4	1027,4	73,3	41,3
Makouda01	37,5g/l	30,8	6,5	1029,27	82,7	43,5	
Makouda02	37	29,9	6,6	1028,68	80,2	42,2	
Makouda03	42,5	27,2	6,6	1025,43	72,9	38,1	
Lait non collecté	BGH01	22.2g/l	33,3	6,6	1032,34	85,7	46,9
	BGH02	34.5g/l	32,1	6,6	1030,36	83,2	45,5
	BGH03	36.5g/l	31,6	6,6	1029,69	81,9	44,7
	BGH04	29.2g/l	32,7	6,4	1031,43	84,8	46,4
	BGH05	35.7g/l	32,8	6,4	1031,05	85,3	46,5
	BGH06	29.9g/l	33,2	6,5	1031,96	86,4	47,3
	BGH07	45,3g/l	29,9	6,5	1027,26	77,4	42,2

Annexes

BGH08	30,6g/l	30,7	6,4	1029,29	10,5	43,4
BGH09	50,2g/l	27,5	6,6	1024,42	10,5	38,7
Illilten05	46.5g/l	30	6,4	1024,66	71,2	42,4
AZFN04	27.1g/l	28,8	6,4	1027,4	80,1	39,5
AZFN05	34.7g/l	31,3	6,5	1029,4	79,3	41,1