



N° d'ordre :

N° de série :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE D'EL-OUED
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Licence Académique

Filière : Biochimie

Spécialité : Toxicologie

THEME

**Contribution à l'étude bibliographique sur les effets
toxiques des résidus des antibiotiques dans le lait**

Dirigé par : Mme HADEF Leila

Présenté par :

-BARAIKA Hania

-BOUGHEZALA Maroua

-DACI Sara

Année universitaire 2013/2014

Remerciement

Nous remercions Allah de m'avoir donné la force et le courage pour pouvoir réaliser ce modeste travail.

Nous tenons à remercier chaleureusement notre promoteur Madame HADEF LEILA qui a bien voulu nous encadrer durant ce mémoire de fin d'études, et qui a donné les conseils et l'orientation.

Nous remercions vivement monsieur Bouzana Sofiane, qui nous a participé et a contrôlé et a donné les informations à notre mémoire.

Nous remercions vivement monsieur AYADI Abd Aljalile, qui nous a fait l'honneur de participer à notre mémoire et il est donné de plus nous marchons dans notre mémoire les informations très importantes.

Nous tenons à remercier Mr ADAIKA El Bachir, médecin vétérinaire pour son aide et ses conseils.

Nous tenons à remercier Chikha Mokhtare professeur à lycée de El-Oued pour son aide et donne ses conseils.

Nous remercions tous ceux qui ont participé de près ou loin à la réalisation de ce mémoire.

Enfin, nous donnons un grand merci à nos parents et toute notre famille.

Liste des abréviations

L'abréviation	Signification
AFSSA	Agence Française pour la Sécurité Sanitaire des Aliments
AMM	Autorisation de Mise sur Marché
CEE	Communauté Economique Européenne
CMI	Concentration Minimal Inhibitrice
CNEVA	Centre National d'Etudes Vétérinaires et Alimentaires
CNILL	Centre National Interprofessionnel de L'économie Laitière
DHF	Dihydrofolate
DHP	Dihydropiéroate
DJA	Dose Journalier Acceptable
DSE	Dose Sans Effets
EMA	Agence Européenne de Evaluation du Médicament
EPC	Exopolysaccharides
FAO	Food et Agriculture Organisation
FDA	Food et Drug Administration
FS	Facteur de Sécurité
HPLC	Chromatographie Liquide Haute Performance
LMR	Limite Maximale de Résidus
LMRS	Fixation de Limite Maximale de Résidus
NOAEC	Non Observable Adverse Effect Concentration
NOEL	Non Observed Effect Level
OMS	Organisation International de la Santé
PG	Peptidoglycane
PLP	Protéines Liant les Pénicilline
SCLR	Seife Concentration based on Linear Regression

Liste des abréviations

SCPM	Safe Concentration Per Milking
THF	Tétrahydrofolate
TMP	Triméthoprim
TTSC	Time Tu Seife Concentration

Liste des figures

Numéro	figure	Page
Figure I	Composition de la matière grasse du lait	6
Figure II	Structure d'une sub-micelle caséique	7
Figure III	Étapes essentielles de transformation du lait en fromage	15
Figure IV	Diagramme général de fabrication des yaourts et des laits fermentés	19
Figure V	Mode d'action des antibiotiques	24
Figure VI	Phases de la pharmacocinétique (ADME)	27
Figure VII	Photo éclaircis le risque allergique sur l'homme	40
Figure VIII	les principaux étapes des Delvotest	51
Figure IX	Schéma principe de réaction du β - STAR	52
Figure X	Interprétation des resultants du β -STAR	52
Figure XI	Schéma de principe du PENZYM TEST	54
Figure XII	Schéma de principe d'ELISA	55
Figure XIII	lecture du Snap test	56
Figure XIV	principe de Charm test II	57

Figure XV	Interprétation des résultats de Copan milk test	57
Figure XVI	Diagramme simplifié de la production du yaourt	Annexes
Figure XVII	Les concentration des résidus du quelques antibiotique dans le lait	Annexes
Figure XVIII	Obtention de produits laitiers fermentés et conséquences de la présence de résidus D'antibiotiques	Annexes

Liste des tableaux

Numéro	Tableau	Page
Tableau I	Composition moyenne du lait entier	4
Tableau II	Composition moyenne en % du lait de vache, femme, brebis et chèvre	5
Tableau III	Classification des protéines	8
Tableau IV	Composition minérale du lait de vache	9
Tableau V	Composition vitaminique moyenne du lait cru	10
Tableau VI	Caractéristiques des principaux enzymes du lait	11
Tableau VII	Classification des différents types de fromages et micro-organismes utilisés dans leur fabrication	15
Tableau VIII	Composition recommandée et optionnelle des ferments du yaourt	17
Tableau IX	principales familles d'antibiotiques et leurs spectres d'activité	22
Tableau X	Durée de subsistance de certains antibiotiques dans le lait	34
Tableau XI	Valeurs des LMR de quelques anti-infectieux dans le lait	38
Tableau XII	évolution des méthodes de détection dans de temps	47
Tableau XIII	Les avantages et désavantages quelques tests dépistage	59
Tableau XIV	Cultures starters des fromages	Annexes

Tableau XV	Dates de découverte de quelques molécules d'antibiotiques naturelles	Annexes
-------------------	---	----------------

SOMMAIRE

Introduction générale	
Chapitre I : GENERALITE SUR LE LAIT	
I.1. Définition	03
I.2. Composition du lait.....	03
I-2-1-Eau.....	05
I- 2-2-Matière grasse05
I-2-3-Protéines.....	.06
I.2.3.1-Caséines.....	.07
I.2.3.2.Protéines du lactosérum.....	07
I-2-4-Lactose.....	09
I-2-5-Minéraux.....	09
I-2-6-Vitamines	10
I-2-7-Enzymes.....	10
I.3-Valeur alimentaire du lait.....	11
I.3.1-Le lait, excellente source de protéines et de calcium.....	12
I.3.1.1-Le lait, source de protéines.....	12
I.3.1.2- Le lait source de calcium.....	12
I.5- Importance de la consommation du lait dans le monde.....	13
I.4- La consommation du lait en Algérien.....	13
I.6- Un produit laitier.....	14
I.7.1-Les fromages.....	14
I.7.2-Le yaourt.....	17
Chapitre II : LES ANTIBIOTIQUES EN MEDECINE VETERINAIRE	
II .2. Définition d'un antibiotiques.....	20
II.1. Historique des principaux antibiotiques.....	20
II .1.1. La pénicilline.....	20
II .1.2. Le chloramphénicol.....	20
II .1.3. Les Tétracyclines.....	21
II .1.4. Le Sulfamides.....	21
II .1.5. Les céphalosporines.....	21

II .1.6. Les aminoglycosides.....	21
II .1.7. Les macrolides.....	21
II .3. Les principales familles d'antibiotiques et leurs spectres d'activité.....	22
II .4. Classification des antibiotiques selon leur mode d'action.....	23
II.4.1 Antibiotiques actifs sur la paroi bactérienne.....	24
II.4.1.1. Fosfomycine.....	24
II.4.1.2-Bêta-lactamines.....	25
II.4.1-2.1-Pénétration des β -lactamines dans les bactéries.....	25
II.4.2 Antibiotiques actifs sur la membrane bactérienne.....	25
II.4.2.1-Les β -lactames.....	25
II.4.2.2-Polymixines.....	25
II.4.3 Antibiotiques actifs sur la synthèse protéique	25
II.4.3.1-Les macrolides.....	25
II.4.3.2-Les aminosides	25
II.4.4.Antibiotiques actifs sur le métabolisme des acides nucléiques et de leurs precurseurs.....	26
II.4.4.1-Blocage de l'ARN polymérase.....	26
II.4.4.1.1- La Rifamycine.....	26
II.4.4.2 Action sur l'ADN.....	26
II.4.4.2.1.des quinolones.....	26
II.4.4.2.2.Les nitrofuranes.....	26
II.4.4.2.3-Les 5 nitroimidazoles.....	26
II.4.5-Antibiotiques inhibiteurs de La synthèse de l'acide folique.....	27
II.4.5.1 les diaminopyridines.....	27
II.4.5.2 Sulfamides.....	27
II.5-Pharmacocinetique des antibiotiques.....	27
II.5.1 Étapes de pharmacocinétique des antibiotique.....	28
II.5.1.1.Absorption et bio-disponibilité.....	28
II.5.1.1.a- La voie orale.....	28

II.5.1.1.b-La voie parentérale.....	28
II.5.1.2. Distribution.....	29
II.5.1.3. Biotransformations / Elimination.....	29
II.6. Les buts de l'utilisation des antibiotiques en médecine vétérinaire	30
II.6.1. Utilisation des antibiotiques à titre curatif/ préventif	30
II.6.1.1. Utilisation à titre thérapeutique curatif.....	30
II.6.1.2. Utilisation en antibio-prévention.....	30
II.6.2. Utilisation des antibiotiques comme additifs alimentaires.....	31
CHAPITRE III : LES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES DANS LE LAIT	
III.1.1. Définition des résidus.....	32
III.1.2. Origine des résidus.....	32
III.1. 3. Facteurs de persistance des résidus.....	32
III.1.4. Délai d'attente et la limite maximale des résidus.....	33
III.1.4.1. Temps d'attente	33
III.1.4.1.1.Définition le délai d'attente	33
III.1.4.1.2. Fixation du temps d'attente.....	34
III.1.4.1.3.Méthodes de calcul du temps d'attente dans le lait.....	34
III.1.4.1.3.1 le.s méthodes simples de calcul.....	35
III.1.4.1.3.2. les méthodes européennes de calcul.....	35
III.1.4.1.3.3.la méthode dénommée « Time to Safe concentration (TTSC)»	35
III.1.4.1.3.4.la méthode dénommée « Safe Concentration based on Linear Regression (SCLR) ».....	35
III.1.4.1.3.5.la méthode dénommée « Safe Concentration per Milking (SCPM)	36
III.1.4.2. La limite maximale de résidus (LMR).....	36
III.1.4.2.1.Définition la limite maximale de résidus(LMR).....	36
III.1.4.2.2.Fixation de Limites Maximales de Résidus (LMRS) selon FAO sont.....	36
III.1.4.2.2.1.Dose Sans Effet (DES).....	36
III.1.4.2.2.1.a.Dose Sans Effet (DSE) Toxique.....	36
III.1.4.2.2.1.b.Dose Sans Effet (DSE) Microbiologique.....	36
III.1.4.2.2.2.Dose Journalière Admissible (DJA).....	37
III.1.5.Réglementation sur les résidus des médicaments vétérinaires.....	37

III.1.6.La législation européenne.....	38
III.1.7. Conséquences négatives de l'utilisation des antibiotiques chez les animaux	39
III.2.Les effets toxiques liés à la présence des résidus d'antibiotiques.....	39
III.2.1. Risques attribués à la présence d'antibiotiques dans le lait.....	39
III.2.1.1. Le risque allergique	39
III.2.1.2.Modifications de la flore digestive du consommateur.....	.40
III.2.1.3.Risques toxiques.....	.41
III.2.1.4.Risques d'antibiorésistance.....	41
III.2.2.Risque de transmission indirecte des gènes de résistance de l'animal à l'homme.....	.42
III.2.3. Le risque bactériologique.....	43
III.2.4.Risques engendrés par la présence d'antibiotiques dans le lait pour l'industrie laitière.....	45
III.2.4.1.Les effets sur la technologie.....	45
III.2.4.2.Risques économiques.....	.46
CHAPITRE IV : LES MÉTHODES DE DÉTECTION DES RÉSIDUS D'ANTIBIOTIQUES	
IV.1.Historique et évolution des méthodes de détection dans le temps.....	47
IV.2-Méthodes de dépistage.....	48
IV.2.1 La méthode d'acidification.....	48
IV.2.2-Delvotest49
IV.2.3.β-Star.....	51
IV.2.4.Le test ECLIPSE.....	53
IV.2.5.Penzym test.....	53
IV.2.6.Tests Eisa.....	54
IV.2.7. Snap Test.....	55
IV.2.8. Charm Test.....	56
IV.2.9.Copan Milk Test.....	57
IV.2.10.Valio T101.....	58
IV.2.11.La Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC).....	58
IV.3 Les avantages et désavantages des différents tests dépistage.....	59

Conclusion
Références bibliographies
Annexes
Résumé et mot clé

INTRODUCTION

Un lait destiné à la consommation humaine se doit par conséquent d'être exempt de tout type de contamination et tout particulièrement médicamenteuse. Malheureusement, l'usage croissant et souvent irraisonné de produits antibiotiques se solde très souvent par la présence de leurs résidus dans le lait produit par l'animal traité. La présence de résidus d'antibiotiques dans le lait peut parfois constituer un danger pour le consommateur en déclenchant dans de rares cas accidents allergiques (**Dewdney J M L .et al., 1991**), toxiques (**Perry K J D. et al., 1967., Pawelczak .et al., 2002**) ou encore en favorisant l'émergence d'une microflore multi-résistante; mais également et, surtout être à l'origine de perturbations importantes des processus de fermentation et de maturation des produits laitiers de large consommation tels que yaourts, fromages et autres laits fermentés (**Wright ., Harold., 1960., Mitchell. et al., 1998**).

En Algérie, les informations relatives à l'importance de la contamination du lait cru par les résidus d'antibiotiques restent extrêmement limitées. Aussi, l'objectif de cette présente travail a été d'évoquer tout d'abord de données bibliographiques essentielles sur l'importance du lait et sa consommation, les antibiotiques et ses utilisations en médecine vétérinaire , les risques liées à la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait cru dans notre pays, et enfin nous avons terminé par les différentes méthodes utilisées pour la détection de ces résidus.

CHAPITRE I

GENERALITE SUR LE LAIT

I.1. Définition

Le lait était défini en 1908 au cours du congrès international de la répression des fraudes Genève comme étant « Le produit intégral de la traite totale et ininterrompu d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée (**Pougheon S. et Goursaud J., 2001**).

Le lait est le produit de sécrétion des glandes mammaires des mammifères, comme la vache, la chèvre, la chamelle et la brebis, destiné à l'alimentation du jeune animal (Carole L., 2002), c'est-à-dire qu'il est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante), il doit être recueilli proprement et ne pas contenir du colostrum (**Lazak M., Mâamar G., 1978.,Larpen J P.,1997., Debry G.et al ., 2006**).

I.2. Composition du lait

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

Les laits sont les seuls aliments naturels complets qui existent, chacun d'eux étant adapté à la race qu'il permet de développer (**Mittaine J., 1980**).

Le lait est une source importante de protéines de très bonne qualité riches en acides aminés essentiels, tout particulièrement en lysine qui est par excellence l'acide aminé de la croissance. Ses lipides, caractérisés par rapport aux autres corps gras alimentaires par une forte proportion d'acides gras à chaîne courte, sont beaucoup plus riches en acides gras saturés qu'en acides gras insaturés. Ils véhiculent par ailleurs des quantités appréciables de cholestérol et de vitamine A ainsi que de faibles quantités de vitamine D et E (**Favier J C., 1985., Cayot G., Lorient D., 1998**).

Les principaux constituants du lait par ordre croissant selon (**Pougheon S.,Goursaud G., 2001**) sont:

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

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

La composition moyenne du lait entier est représentée dans le tableau 1: le lait est constitué de quatre phases.

* Une émulsion de matières grasses ou phase grasse constituée de globules gras et de vitamines liposolubles A, D.

*Une phase colloïdale qui est une suspension de caséines sous forme de micelle.

*Une phase aqueuse qui contient les constituants solubles du lait (protéines solubles lactose, vitamines B et C, sels minéraux, azote non protéique) .

* Une phase gazeuse composée d'O₂, d'azote et de CO₂ dissous qui représentent environ 5% volume du lait (Fredot E., 2006). La Composition moyenne du lait entier est illustrée dans le premier tableau.

Tableau I : Composition moyenne du lait entier

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

(Fredot E., 2006)

Le tableau 2 indique la composition moyenne en % pour différentes espèces.

Tableau II : Composition moyenne en % du lait de vache, femme, brebis et chèvre

Composants	Vache	femme	Brebis	Chèvre
Protéines	3.4	1.0	2.9	5.5
Caséines	2.8	0.4	2.5	4.6
Lipides	3.7	3.8	4.5	7.4
Lactose	4.6	7.0	4.1	4.8
Minéraux	0.7	0.2	0.8	1.0

(Jensen R., 1995 ., Michel A ., Wattiaux Ph D ., 1998)

I.2.1.Eau

L'eau est le constituant le plus important du lait, en proportion. La présence d'un dipôle et de doublets d'électrons libres lui confère un caractère polaire. Ce caractère polaire lui permet de former une solution vraie avec les substances polaires telles que les glucides, les minéraux et une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles du sérum. Puisque les matières grasses possèdent un caractère non polaire (ou hydrophobe), elles ne pourront se dissoudre et formeront une émulsion du type huile dans l'eau. Il en est de même pour les micelles de caséines qui formeront une suspension colloïdale puisqu'elles sont solides (Mathieu J., 1999 ., Amiot J .et al., 2002).

I.2.2.Matière grasse

Rapportent que la matière grasse est présente dans le lait sous forme de globules gras de diamètre de 0.1 à 10µm et est essentiellement constitué de triglycérides (98%). La matière grasse du lait de vache représente à elle seule la moitié de l'apport énergétique du lait. Elle est constituée de 65% d'acides gras saturés et de 35% d'acides gras insaturés. Elle renferme :

- *une très grande variété d'acides gras (150 différents).
- * une proportion élevée d'acides gras à chaînes courtes, assimilés plus rapidement que les acides gras à longues chaînes.
- * une teneur élevée en acide oléique (C18 :1) et palmitique (C16 :0).
- * une teneur moyenne en acide stéarique (C18 :0) (Jeantet R. et al., 2008).

La figure 1 présente un globule gras du lait. La membrane est constituée de phospholipides, de lipoprotéines, de cérébrosides, de protéines, d'acides nucléiques, d'enzymes et d'oligoéléments (métaux) et d'eau (Bylund G., 1995).

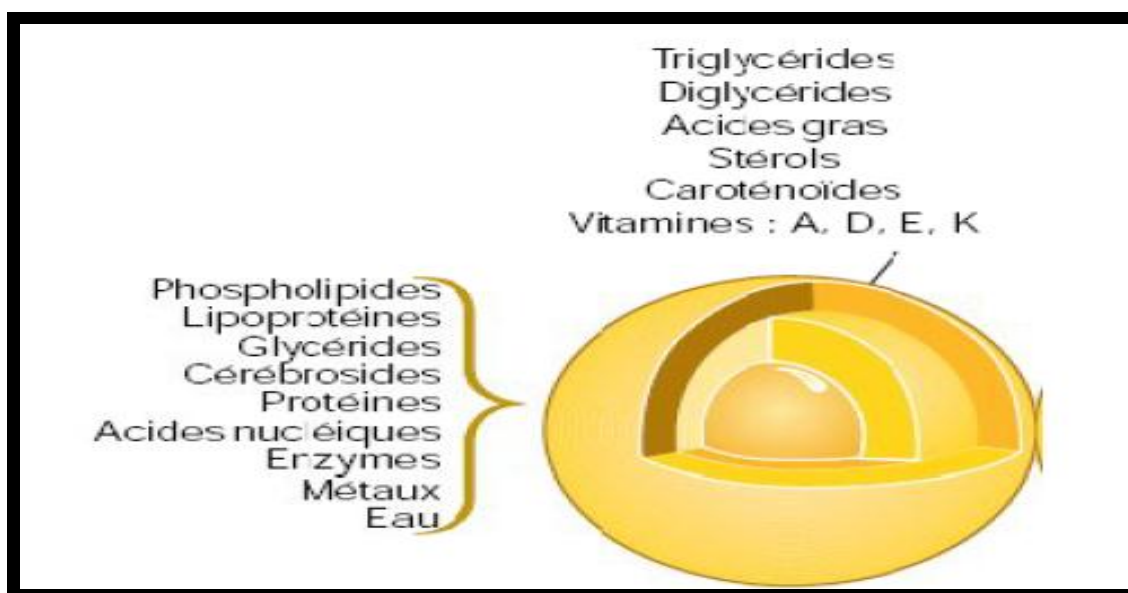


Figure I: Composition de la matière grasse du lait (Bylund G., 1995., Amiot J. et al., 2002).

Les phospholipides représentent moins de 1% de la matière grasse, sont plutôt riches en acides gras insaturés. Le lait de vache est pauvre en acides gras essentiels (acide linoléique C18 :2 et acide linoléique C18 :3) par rapport au lait de femme (1.6% contre 8.5% en moyenne) (Jeantet R. et al., 2008).

La matière grasse du lait est produite principalement à partir des acides gras volatils (acides acétique et butyrique). Le premier est formé principalement à partir des glucides pariétaux des fourrages (cellulose) et le second à partir des glucides rapidement fermentescibles (sucre de betterave). Une partie de la matière grasse du lait provient de la mobilisation des réserves lipidiques de la vache (jusqu'à 60 kg). Sous certaines conditions, des graisses alimentaires peuvent également contribuer à la formation de la matière grasse du lait (Luquet F M., 1985., Chiliard Y., 1987., Stoll W., 2003).

I.2.3. Protéines

Le lait de vache contient 3.2 à 3.5% de protéines réparties en deux fractions distinctes :

*Les caséines qui précipitent à pH 4.6, représentent 80% des protéines totales,

*Les protéines sériques solubles à pH 4.6, représentent 20% des protéines totales. (Jeantet R. et al., 2008).

I.2.3.1. Caséines

La caséine est un polypeptide complexe, résultant de la polycondensation de différents aminoacides, dont les principaux sont la leucine, la proline, l'acide glutamique et la sérine. Le caséinate de calcium, de masse molaire qui peut atteindre 56000 g mol⁻¹, forme une dispersion colloïdale dans le lait. Les micelles protéiques ont un diamètre de l'ordre de 0,1 µm (Figure 2) (Jean C., Dijon C., 1993). La caséine native a la composition suivante : protéine 94%, calcium 3%, phosphore 2.2%, acide citrique 0.5% et magnésium 0.1% (Adrian J. et al., 2004).

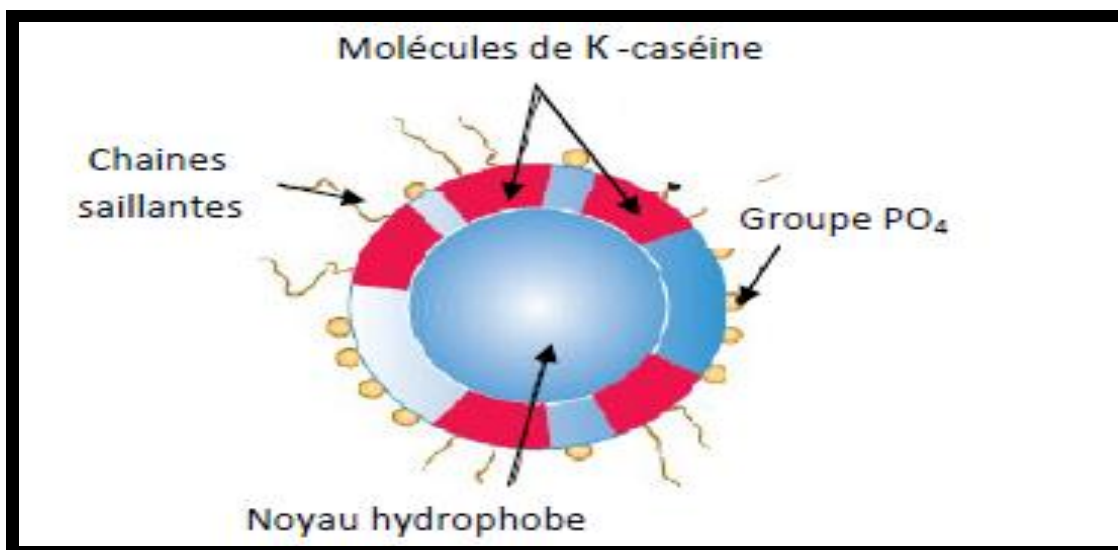


Figure II: Structure d'une sub-micelle caséique (Bylund G., 1995).

I.2.3.2. Protéines du lactosérum

Les protéines du lactosérum représentent 15 à 28% des protéines du lait de vache et 17% des matières azotées (Debry G., 2001). Les protéines du lactosérum sont des protéines d'excellente valeur nutritionnelle, riches en acides aminés soufrés, en lysine et tryptophane. Elles ont de remarquables propriétés fonctionnelles mais sont sensibles à la dénaturation thermique (Thapon J L., 2005).

➤ L'α-lactalbumine

L'α-lactalbumine est une protéine de 123 acides aminés comportant trois variantes génétiques (A, B, C). Métalloprotéine (elle possède un atome de calcium par mole) du type globulaire (structure tertiaire quasi sphérique). Elle présente environ 22% des protéines du sérum (Vignola C L., 2002).

➤ **La β -lactoglobuline**

La β -lactoglobuline est la plus importante des protéines du sérum puisqu'elle en représente environ 55%. Son point isoélectrique est 5.1 la β -lactoglobuline est une protéine de 162 acides aminés comportant 7 variantes génétiques (A, B, C, D, E, F, G). Lors du chauffage la fixation d'une molécule de caséine K et d'une β -lactoglobuline se fasse également par un pont disulfure (Debry G., 2001).

➤ **La sérum-albumine**

Représente environ 7% des protéines du sérum. Elle est constituée de 582 résidus d'acides aminés. Comptant un seul variant génétique A est identique au sérum albumine sanguine (Vignola C L., 2002).

➤ **Les immunoglobulines**

Ce sont des glycoprotéines de haut poids moléculaire responsable de l'immunité. On distingue trois grandes classes d'immunoglobulines: IgA, IgG, IgM. Elles sont très abondantes dans le colostrum. Les immunoglobulines sont les protéines du lactosérum les plus sensibles à la dénaturation thermique (Thapon J L., 2005).

➤ **Protéases-peptones**

Elles forment la fraction protéique soluble après chauffage du lait acidifié à pH 4.6 vers 95°C pendant 20 à 30 minutes. C'est un groupe hétérogène issu de la protéolyse par la plasmine de la caséine β (Debry G., 2001).

Tableau III: Classification des protéines

Noms	% protéines	Nombre d'AA
Caséines	75-85	
Caséine αS1	39-46	199
Caséine αS2	8-11	207
Caséine	25-35	209
Caséine k	8-15	169
Caséine g	3-7	
Protéines du lactosérum	15-22	
β-Lactoglobuline	7-12	162
α-Lactalbumine	2-5	123

Sérum-albumine	0.7-1.3	582
Immunoglobulines (G1, G2, A, M)	1.9-3.3	-
Protéoses-peptones	2-4	-

(Brunner J., 1981., Pougheon S., 2001).

I.2.4.Lactose

Evoquant que le lait contient des glucides essentiellement représentés par le lactose, son constituant le plus abondant après l'eau. Sa molécule C₁₂ H₂₂ O₁₁, est constituée d'un résidu galactose uni à un résidu glucose. Le lactose est synthétisé dans les cellules des acini à partir du glucose sanguin. Celui-ci est en grande partie produit par le foie (Mathieu J., 1999). Le lactose est quasiment le seul glucide du lait de vache et représente 99% des glucides du lait de monogastriques. Sa teneur est très stable entre 48 et 50 g/l dans le lait de vache. Cette teneur présente de faibles variations dans le sens inverse des variations du taux butyreux. Le lactose est un sucre spécifique du lait (Hoden P., Coulon H., 1991).

I.2.5.Minéraux

Le lait contient des quantités importantes de différents minéraux. Les principaux minéraux sont calcium, magnésium, sodium et potassium pour les cations et phosphate, chlorure et citrate pour les anions (Gaucheron F., 2004). La composition minérale du lait est représentée dans le tableau 4.

Tableau IV : Composition minérale du lait de vache.

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

(Jeantet R. et al., 2007).

I.2.6. Vitamines

Les vitamines sont des substances biologiquement indispensables à la vie puisqu'elles participent comme cofacteurs dans les réactions enzymatiques et dans les échanges à l'échelle des membranes cellulaires. L'organisme humain n'est pas capable de les synthétiser (Tableau 5) (Vignola C L., 2002). On distingue d'une part les vitamines hydrosolubles (vitamine du groupe B et vitamine C) en quantité constantes, et d'autre part les vitamines liposolubles (A, D, E et K) (Veisseyre R., 1975., Watier B., Lecruss J., 1993., Coulon B. et al., 2003., Jeantet R. et al., 2008).

Tableau V : Composition vitaminique moyenne du lait cru

Vitamines	Teneur moyenne
Vitamines liposolubles	
Vitamine A (+carotènes)	40µg/100ml
Vitamine D	2.4µg/100ml
Vitamine E	100µg/100ml
Vitamine K	5µg/100ml
Vitamine hydrosolubles	
Vitamine C (acide ascorbique)	2mg/100ml
Vitamine B1 (thiamine)	45µg/100ml
Vitamine B2 (riboflavine)	175µg/100ml
Vitamine B6 (pyridoxine)	50µg/100ml
Vitamine B12 cyanocobalamine)	0.45µg/100ml
Niacine et niacinamide	90µg/100ml
Acide pantothénique	350µg/100ml
Acide folique	5.5µg/100ml
Vitamine H (biotine)	3.5µg/100ml

(Amiot J. et al., 2002)

I.2.7. Enzymes

Les enzymes sont des substances organiques de nature protidique, produites par des cellules ou des organismes vivants, agissant comme catalyseurs dans les réactions biochimiques. Environ 60 enzymes principales ont été répertoriées dans le lait dont 20 sont des constituants natifs. Une grande partie se retrouve dans la membrane des globules gras

mais le lait contient de nombreuses cellules (leucocytes, bactéries) qui élaborent des enzymes: la distinction entre éléments natifs et éléments extérieurs n'est donc pas facile (Goursaud J., 1985., Linden G., 1987., Pougheon S., 2001). Les caractéristiques des principaux enzymes du lait sont illustrées dans le tableau 6.

Tableau VI : Caractéristiques des principaux enzymes du lait

Groupe d'enzyme	Classes d'enzymes	pH	Température(°C)	Substrats
Hydrolases	Estérases			
	Lipases	8.5	37	Triglycérides
	Phosphatase alcaline	9-10	37	Esters phosphoriques
	Phosphatase acide	4.0-5.2	37	Esters phosphoriques
	Protéases			
	Lysozyme	7.5	37	Parois cellulaire
	Plasmine	8	37	microbienne Caséines
Déshydrogénases ou Oxydases	Sulphydrile oxydase	7	37	Protéines, peptides
	Xanthine oxydase	8.3	37	Bases puriques
Oxygénases	Lactoperoxydase	6.8	20	Composés
	Catalase	7	20	réducteurs+H ₂ O ₂ H ₂ O ₂

(Vignola CL., 2002)

I.3.Valeur alimentaire du lait

Le lait de vache est un aliment complet pour l'enfant au début de son existence. Le lait d'un animal laitier est un excellent aliment pour l'adulte de la même espèce ou d'autres espèces ; mais ne peut ; couvrir entièrement les besoins, avec les quantités normalement ingérés (Alais C., 1983).

Le lait est à peu près le seul aliment qui puisse répondre de façon équilibrée à la plupart des besoins nutritionnels de l'homme. Pour un enfant de 5 ans par exemple, un demi-litre de lait peut couvrir quotidiennement environ :

- 25% des besoins caloriques
- 40 % des besoins protéiques
- 70 % des besoins en calcium et en vitamines B₂
- 30% des besoins en vitamines A et en vitamines B₁ (Alais C., 1983).

I.3.1. Le lait, excellente source de protéines et de calcium

I.3.1.1. Le lait, source de protéines

Les protéines du lait ont la même composition que les protéines totales de l'œuf (protéines de référence), sauf en ce qui concerne le taux de méthionine et de cystine, sa caséine et, à plus forte, le complexe protidique du lait contiennent en bonne proportion tous les acides aminés indispensables à la croissance et à l'entretien sensiblement plus bas. Le lait peut donc remplacer la viande, le poisson et les œufs selon les équivalences suivantes :

1/4 de litre de lait = 35g de fromage pâte ferme = 50g net de viande = 50g net de poisson = 1 œuf 1/3 (de 50g). En effet, les acides aminés soufrés sont les facteurs limitants du lait (Konte M., 1999).

I.3.1.2. Le lait source de calcium

Le lait et les fromages sont, en pratique, la principale source de calcium. Avec des rations insuffisantes en lait et en fromage, il est impossible d'équilibrer une alimentation sur ce point.

En effet, le calcium ne se rencontre ailleurs en quantité notable que dans les légumes et les fruits. En apport de calcium on a les équivalences suivantes: 1/4 de litre de lait = 850g de choux = 1kg d'oranges.

Diminuer le lait obligerait à consommer des quantités énormes de végétaux. En outre, il faudrait souligner que le calcium du lait est :

1- mieux assimilé que celui de toute autre source, car le lait contient d'autres éléments favorables à cette assimilation (présence de protéines, de graisses et un peu d'acide lactique provenant de la transformation du lactose).

2- mieux utilisé dans l'organisme car le lait apporte en même temps du phosphore en bonne proportion et un peu de vitamine D (Konte M., 1999).

I.4. Importance de la consommation du lait dans le monde

Le lait est un produit consommé dans le monde entier. La production mondiale totale de lait cru était estimée à 655 millions de tonnes en 2007, dont 551 millions de tonnes de lait de vache. Les principaux pays producteurs de lait cru sont l'Inde (17 %), les États-Unis (15 %), la Chine (7 %), la Fédération de Russie (6 %), le Pakistan (5 %), l'Allemagne (5 %), le Brésil (5 %) et la France (4 %). La part du Canada est relativement petite. Sa production est estimée à 7,9 millions de tonnes, ce qui représente environ 1,5 % de la production mondiale.

Le lait peut être transformé en différents produits tels que le fromage, le beurre et le lait de consommation. Ce dernier figure au sommet de la liste des produits laitiers transformés à l'échelle mondiale .

L'industrie de la transformation du lait se caractérise par une concentration à l'échelle mondiale résultant de fusions, d'acquisitions et de formations d'alliances stratégiques. Les plus grandes entreprises mondiales sont Nestlé (Suisse), Lactalis (France), Danone (France), Dean Foods (États-Unis), Arla Foods (Danemark) et Fonterra (Nouvelle-Zélande) . L'entreprise canadienne Saputo, ayant son siège social au Québec, se classait au 15e rang des transformateurs laitiers mondiaux en 2007. Ce classement est basé sur le chiffre d'affaires provenant de la vente des produits laitiers (QUEBEC., 2009).

I.5. La consommation du lait en Algérie

Produit de base dans le modèle de consommation algérien, le lait occupe une place importante dans la ration alimentaire de chacun, quel que soit son revenu .Très riche en nutriments, le lait peut suppléer à d'autres produits coûteux, tels que la viande .En effet, un gramme de protéines à partir du lait, coûte huit fois moins cher que la même quantité à partir de la viande. En termes énergétiques, une calorie obtenue à partir de la viande, est vingt fois plus coûteuse qu'à partir du lait (Amellal R., 1995).

La consommation de lait a bondi, de 950 millions de litres en 1970, à 3700 millions de litres en 1985, pour redescendre à 3380 millions actuellement, c'est à dire que la consommation par habitant et par an, passe de 90 à 170, puis revient à 115 litres (Bourbouze A., 2001). Ce chiffre qui dépasse les recommandations de l'OMS (90 litres/an), est supérieur à ceux enregistrés pour la Tunisie (87 l /habitant /an) et pour le Maroc (50 l /habitant/an) mais, reste cependant très éloigné des moyennes des pays industrialisés, dont la France (400l/habitant/an) (Boumghar M Y., 2000).

Cette forte consommation est favorisée par la politique de prix pratiquée par l'état algérien, qui encourage la consommation par rapport à la production. Conjugée avec une

démographie extrêmement importante, cette politique a conduit à une augmentation de la demande, dont le surplus est naturellement compensé par les importations (**Mezani H., 2000., Bourbouze A. et al., 1989**).

En réalité, la subvention de ces produits, décidée par l'Etat dans le cadre d'une politique sociale au profit des catégories à faibles revenus, n'a pas été nécessairement profitable à ces derniers, et ce pour trois raisons au moins (**Amellal R., 1995**) :

1-En raison du faible pouvoir d'achat de ces catégories, les quantités de lait consommées par eux, ne sont pas forcément, beaucoup plus importantes que celles consommées par les couches sociales aisées; ce qui n'exclut pas que ce soient ces dernières, qui aient profité du soutien de l'Etat.

2-Une grande partie des quantités de lait distribuées, notamment de lait en poudre instantané, est captée par les fabricants privés pour un usage industriel, ce qui leur permet d'accroître leur marge de profit.

3-Une part non négligeable de lait instantané, payée en devises fortes, est transférée frauduleusement par-delà les frontières, pour être écoulee au niveau des pays limitrophes (**Mohamed Cherif A E., 2005**).

I.6. Les produits laitiers

Les produits obtenus à la suite d'un traitement quelconque du lait, qui peuvent contenir des additifs alimentaires et autres ingrédients fonctionnellement nécessaires au traitement (**Dubost M., 2006**).

I.6.1. Les fromages

Le but de l'industrie fromagère est de transformer le lait en un produit d'utilisation prolongée et de goût différent grâce à diverses actions microbiennes et enzymatiques (**Hui Y H., 1992. , Leroy F ., Devuyst L., 2004**). La coagulation du lait et l'égouttage du caillé obtenu, représentent, en effet, une sorte de concentration, qui constitue un moyen de conservation auquel il faut ajouter l'acidification provoquée par la fermentation lactique, qui s'oppose à l'envahissement du fromage par les bactéries de putréfaction (**Parente E ., Cogan T M., 2004., Iyer R. et al., 2009., Keohane J. et al., 2009., Yildiz F., 2010**). Ce double principe de dessiccation et d'acidification va se retrouver, plus ou moins prononcé dans la préparation de tous les fromages (**Leroy F ., Devuyst L., 2004**). La transformation du lait en fromage comporte quatre étapes essentielles (Figure 3). Dans le cas d'un fromage frais, la fabrication est terminée après l'égouttage (**Parente E., Cogan T.M., 2004 ., Yildiz F., 2010**).

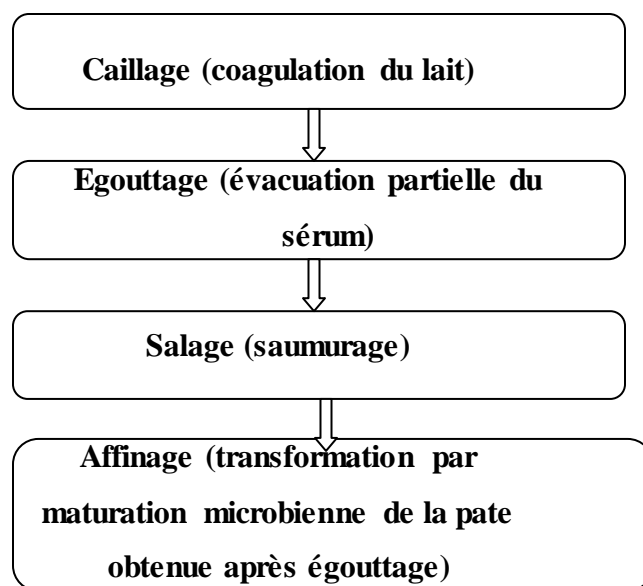


Figure III: Étapes essentielles de transformation du lait en fromage (Parente E., Cogan T M., 2004)

Il existe environ 4000 variétés de fromages dans le monde, toutes élaborées en quatre étapes selon un même procédé. Les interventions particulières que l'on effectue à certaines étapes déterminent telle ou telle variété. Par conséquent, on a pu classer les fromages en un nombre restreint de catégories. Il y a eu plusieurs classifications parmi lesquelles celle de est la plus appropriée, tant elle est simple et pratique (Yildiz F., 2010). Cette classification repose sur des différences technologiques qui déterminent les catégories de fromages décrites dans le Tableau 7.

Tableau VII: Classification des différents types de fromages et micro-organismes utilisés dans leur fabrication

Type de fromage	Description	Micro-organismes utilisés
Fromages à pâte fraîche	Fromages peu égouttés qui n'ont pas été affinés, il y'a juste coagulation des protéines du lait sous l'effet des ferments lactiques (acidification).	<i>Lactococcus lactis</i> , <i>Lactococcus lactis cremoris</i> , <i>Lactococcus actis diacetylactis</i> .
Fromages à pâte ferme	Constitués d'une pâte compacte, renfermant un peu moins d'eau que les fromages frais, mais contenant plus de sels minéraux dont les sels	<i>Lactococcus lactis cremoris</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , levures, moisissures diverses.

	<p>de calcium notamment. Dans cette catégorie, on distingue :</p> <ul style="list-style-type: none"> - les fromages à pâte ferme non cuite (Edam, Saint-Paulin, etc.) - les fromages à pâte ferme cuite (Gruyère, Conti, etc.) 	
Fromages à pâte molle	Fromages ayant subi un affinage relativement prolongé (protéolyse et lipolyse intenses par la flore de surface) après une fermentation lactique (ex. Camembert).	<i>Lactococcus lactis</i> , <i>Lactococcus lactis cremoris</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Brevibacterium linens</i> , <i>Geotrichum candidum</i> , <i>Penicillium camemberti</i> , levures.
Fromages à pâte persillée	Fromages affinés, à moisissures interne (ex. Roquefort). Il y a développement interne de <i>Penicillium roqueforti</i> grâce à l'action de <i>leuconostoc</i> et des levures qui produisent une ouverture et une petite quantité d'éthanol.	<i>Lactococcus lactis</i> , <i>Lactococcus lactis cremoris</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Penicillium roqueforti</i> , levures.
Fromages fondus	Constitués d'un mélange de fromage(s), de beurre, de crème et de lait, pasteurisé (95°C) ou stérilisé (125°C). Appelés aussi <i>fromages remaniés</i> , ils sont de nombreux types dont certains sont obtenus après récupération des fragments de fromages à pâte ferme tel que le Gruyère et qui présentent certains défauts. En réalité, il s'agit plus d'une dissolution suivie d'une dispersion de protéines dans l'eau que d'une fonte qui, correspond au sens physico-chimique du terme, à	Pas d'ajout de ferments Lactiques

	la désintégration d'une structure solide cristalline par l'apport d'énergie thermique ou l'exercice d'une pression.	
--	---	--

(Chamba J F .et al ., 2004 .,Yildiz F.et al., 2010 .,Branger A.et al.,2012)

Les ferments du fromage sont constitués essentiellement par des Lactocoques, Leuconostocs, Lactobacilles et Streptocoques. Les cultures *starter* comprennent également des propionibactéries, brevibactéries et des espèces de moisissure *Penicillium*. Ces derniers organismes sont utilisés en conjonction avec des bactéries lactiques pour donner au fromage des caractéristiques particulières. Les cultures *starters* utilisés dans la fermentation des différents fromages sont résumées dans le Tableau 14(annexes) (Yildiz F., 2010).

I.6.2. Le yaourt

Le yaourt est un lait fermenté obtenu exclusivement par la coagulation du lait sous l'action de deux bactéries : *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* (Michaylova M .et al., 2007., Delorme C., 2008., Devuyst L., Tsakalidou E., 2008., Iyer R. et al., 2009., Quiberoni A. et al., 2010) (Tableau 8). Ces bactéries doivent être vivantes dans le produit et leur nombre doit dépasser dix millions par gramme de yaourt à la date limite de conservation (Hols P. et al., 2005., Pfeiler E A., Klaenhammer T R., 2007., Champagne C P .et al., 2009).

Tableau VIII: Composition recommandée et optionnelle des ferments du yaourt

Composition standard recommandée par la FDA	Ferments additionnels du yaourt
<p><i>Streptococcus salivarius</i> ssp. <i>thermophilus</i> (St.) <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> (Lb.)</p>	<p><i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactobacillus jugurti</i> <i>Lactobacillus lactis</i> <i>Bifidobacterium longum</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Bifidobacterium infantis</i></p>

(Hui Y H ., 1992).

La principale préoccupation des industriels est d'obtenir régulièrement un produit de bonne qualité. Cet objectif implique:

- Un ajustement de la qualité du lait utilisé.
- La connaissance des propriétés des cultures bactériennes employées.
- La maîtrise des différentes étapes de la fabrication du yaourt.

En effet, ces trois paramètres affectent le déroulement normal de la fermentation du yaourt. Les propriétés fermentaires aromatiques et épaississantes des bactéries lactiques du yaourt confèrent au produit final ses caractéristiques organoleptiques. Les résultats de recherche ont montré que la production d'acide et la production d'acétaldéhyde de la culture mixte de *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* sont beaucoup plus importantes que celles des cultures pures, on peut également observer un effet synergique marqué sur la consistance et la viscosité du produit lorsqu'on emploie des cultures épaississantes bonnes productrices d'exopolysaccharides (EPS)(Hui Y H., 1993 ., Ravin V .et al ., 2006., Yıldız F., 2010).

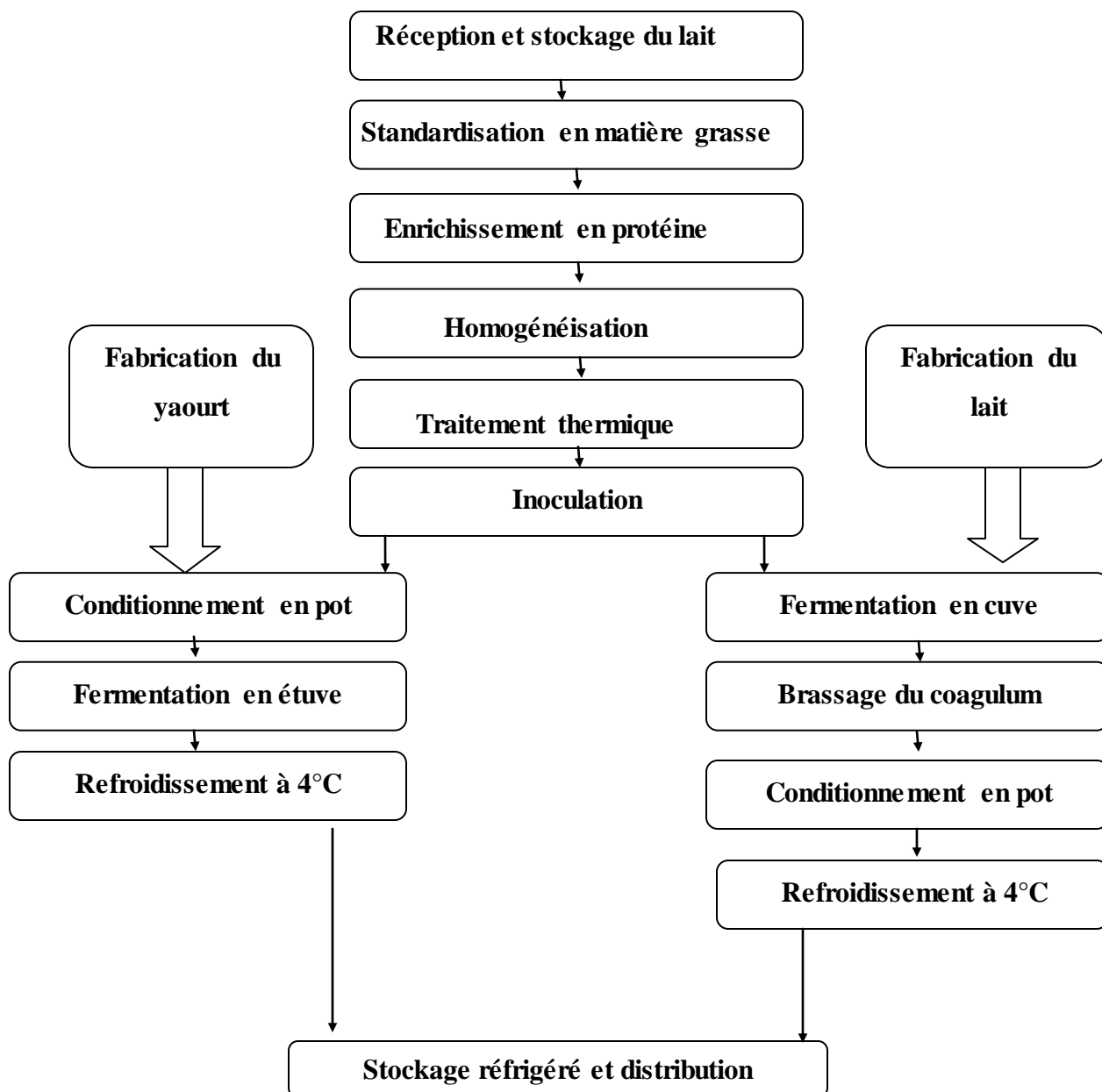


Figure IV: Diagramme général de fabrication des yaourts et des laits fermentés (Béal C., Sodini I., 2012).

CHAPITRE II

LES ANTIBIOTIQUES EN MÉDECINE VÉTÉRINAIRE

II.1. Définition d'un antibiotique

Les antibiotiques sont des substances élaborées par des micro-organismes, ou des substances synthétiques, qui sont bactériostatiques ou bactéricides à dose faible. Leurs cibles d'activité sont des structures moléculaires spécifiquement bactériennes. Elles ont donc une toxicité sélective pour les cellules procaryotes et une toxicité faible pour les cellules eucaryotes (Avril J L .et al ., 2002., Filali maltouf A.,2014). Les antibiotiques se définissent actuellement comme des molécules antibactériennes synthétiques ou naturelles (d'origine biologique) capables d'inhiber la croissance des bactéries ou les détruire (Helali A., 1999). Ils ont une toxicité sélective ; ils sont toxiques pour les bactéries mais pas pour l'organisme (Merad M ., Merad R., 2001 .,Gogny M., Puyt J D. et al., 2001 .,Morin E .et al., 2005 .,Gauthier E., 2006).

II.2. Historique des principaux antibiotiques**II.2.1. La pénicilline**

En 1928, le docteur Alexander Fleming a constaté que les boîtes de Pétri, où il faisait pousser des staphylocoques, ont été envahies par des colonies cotonneuses d'un blanc verdâtre , *Penicillium notatum* (Bergogne Bérézin E ., Dellamonica P., 1999). Alors qu'il doit désinfecter ces boîtes contaminées, Fleming s'aperçoit qu'autour des colonies de moisissure, il existe une zone circulaire dans laquelle le staphylocoque n'a pas poussé. Il émet l'hypothèse qu'une substance sécrétée par le champignon en est responsable et lui donne le nom de pénicilline (Milhaud G .et al., 1982., Doucet J F., 1998). C'est en 1939, que Howard Walter Florey et Ernest Boris Chain, réussirent à isoler l'agent actif de la pénicilline (Doucet J F., 1998), ils ont fait des essais thérapeutiques sur l'animal, puis sur l'homme (Milhaud G .et al., 1982).

II.2.2. Le chloramphénicol

Le chloramphénicol fut découvert en 1947 à partir de *Streptomyces venezuelae*. Il fut préparé en 1948 par synthèse. Seul l'isomère D thréo est actif. C'est un solide cristallisé, blanchâtre, de saveur très amère, très peu soluble dans l'eau, liposoluble, soluble dans l'éthanol et le propylène glycol. On utilise en thérapeutique soit le chloramphénicol lui-même, soit deux esters de sa fonction alcool primaire: le palmitate et l'hémisuccinate de sodium.

Ceux-ci sont inactifs sur les microbes et doivent donc être hydrolysés avant d'agir. Largement utilisé en médecine humaine dans les années qui suivirent sa découverte en raison de la nature de son spectre et de son excellente diffusion dans l'organisme, il est actuellement réservé, compte-tenu des troubles hématologiques et des inductions de résistance qu'il peut provoquer, au traitement des infections du système nerveux central (méningites à *Hemophilus influenzae* des enfants), au traitement des abcès profonds provoqués par des germes anaérobies, et au traitement des salmonelloses en particulier de la fièvre typhoïde (**Milhaud G. et al., 1982., Powell D A., Nahata M C., 1982).**

II .2.3. Les Tétracyclines

En 1948, Duggar isole la chlortétracycline et en 1949, Kane, Finlay et Sabin, isolaient l'oxytétracycline à partir de *Streptomyces rimosus* (**Bergogne Bérézin E. et Dellamonica P., 1999**). En 1952, Woodward a donné la structure tétracyclique et la fabrication de Tétracyclines semi-synthétique a été faite en 1957 (**Ben Youssef S(b), 2013**).

II .2.4. Le Sulfamides

En 1936 les sulfamides sont préparés dont Domagk montre qu'un colorant utilisé en teinturerie guérit des souris infectées par des streptocoques et soigne la fièvre puerpérale (**Adam F., Drouillard I., 2003**).

II .2.5. Les céphalosporines

En 1945, G. Brotzu isolait une souche de *Cephalosporium acremonium* à partir d'un réseau d'égouts, cette moisissure produit une substance qui inhibe la croissance de nombreuses espèces bactériennes (**Bergogne Bérézin E., Dellamonica P., 1999**).

II .2.6. Les aminoglycosides

En 1943, Schatz et Waksman isolaient une souche de *Streptomyces griseus* et mettaient en évidence son activité antimicrobienne en 1944 (**Bergogne Bérézin E. et Dellamonica P., 1999**).

II .2.7. Les macrolides

En 1952, Mac Guire isolait l'érythromycine à partir de *Streptomyce erythraeus* (**Bergogne Bérézin E., Dellamonica P., 1999**).

II .3. Les principales familles d'antibiotiques et leurs spectres d'activité

Le tableau 9 représente les principales familles d'antibiotiques ainsi que leurs spectres d'activité.

Tableau IX : principales familles d'antibiotiques et leurs spectres d'activité.

Familles D'ATB	ATB correspondant	spectres d'activité
Bêtalactamines	<p>Les pénicillines Pénicilline G Ampicillines Amoxicilline Carbénicilline Cloxacilline Dicloxacilline Oxacilline Pipéracilline Nafcilline</p> <p>Les céphalosporines Première génération Céfalexine Cefalonium Céfapirine Céfalotine Céfazoline Céfadroxil Céfradine</p> <p>Deuxième génération Céfuroxime Céfoxitine</p> <p>Troisième génération Ceftiofur Céfopérazone Céfotiam Ceftazidime Céfépime</p> <p>Quatrième génération Cefquinome</p>	<p>Actives contre cocci Gram + et Gram – ainsi que les bacille Gram+</p> <p>Actives contres les Gram +</p> <p>Spectre intermédiaire Active contre les Gram -</p>
Aminosides	Streptomycine Néomycine Apramycine Amikacine Gentamicine Kanamycine Netilmicine Ribostamycine Spectinomycine Tobramycine Framycétine	Actives contre les bacilles à Gram -

	Paramomycine	
Phénicolés	Chloramphénicol Thiamphénicol Florfénicol	Spectre large
Tétracyclines	Oxytétracycline Chlortétracycline Doxycycline Minocycline Déméthylchlortétracycline	Spectre large
Macrolides	Érythromycine Lincomycine Spiramycine Tylosine Josamycine Oléandomycine Tilmicosine Tulathromycine	Actives contre les coques Gram + et Gram – et bacille gram+ Actifs sur les mycoplasmes
Glycopeptides	Vancomycine Teicoplanine	Active contre les bactéries à Gram +
Polypeptides	Colistine Colistiméthate Polymyxine B Bacitracine Tyrothricine	Active contre les bacilles Gram -
Sulfamides	Sulfaméthizol Sulfathiazol Sulfadimidinesulfadimérazine Sulfaméthoxazole Sulfadiazine Sulfadiméthoxine Sulfaméthoxypridazine	Spectre large
Quinolones	Acide oxolinique Ciproflaxine Fluméquine Enrofloxacin Danofloxacin Ibafloxacin Marbofloxacin Difloxacin	Spectre large

(Perlemuter L .et al., 2000 ., Yala D .et al.,2001., Allain P a, b, c, 2006 .,Toutain P L., 2012)

II .4. Classification des antibiotiques selon leur mode d'action

L'activité antibactérienne des diverses substances antibiotiques est en relation avec leurs mécanismes d'action, généralement spécifique, sur les bactéries (Gogny M .et al., 1999). Les connaissances actuelles peuvent laisser dire que les antibiotiques sont essentiellement des inhibiteurs de diverses réactions de synthèse bactériennes. On distingue:

- Les antibiotiques inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane (Bêta-lactamines).
- Les antibiotiques actifs sur les enveloppes membranaires (Polymyxine E ou colistine)
- Les antibiotiques inhibiteurs des synthèses protéiques (Aminosides, Macrolides, Tétracyclines).
- Les antibiotiques inhibiteurs des acides nucléiques (quinolones).
- Les antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des folates (Sulfamides, Triméthoprime, associations TMP-Sulfamides (Duval J.,1989 ., Adam Y .et al., 1992., Messai A., 2006).

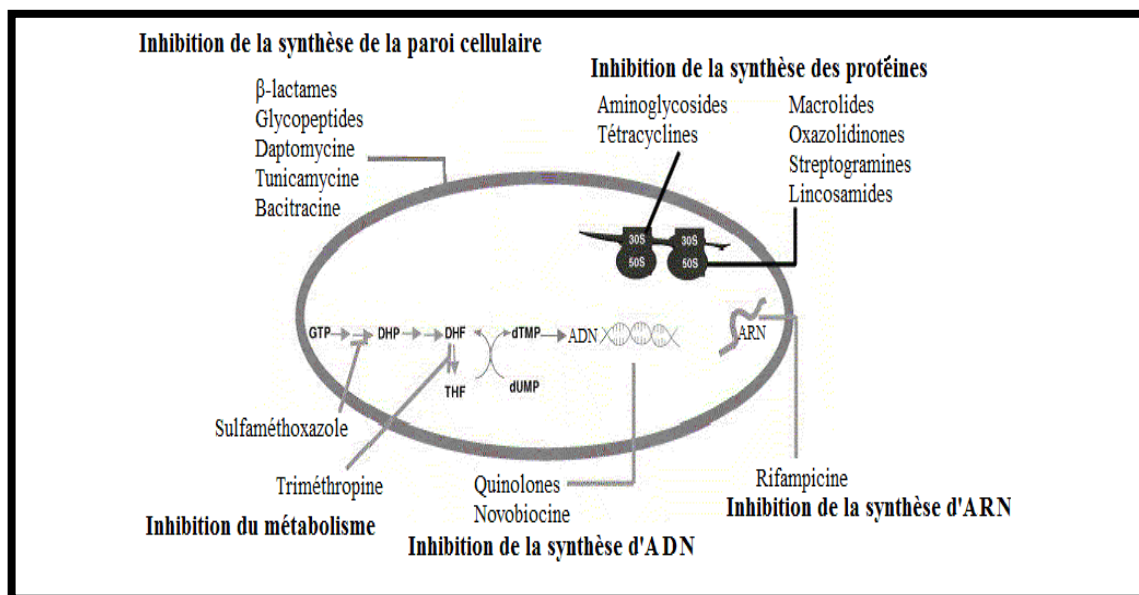


Figure V: Mode d'action des antibiotiques (Singh S B. , Barrett J F., 2006 .,Elodie G., 2010).

Légende: DHP : dihydroptéroate ; DHF : dihydrofolate ; THF : tétrahydrofolate

II.4.1 Antibiotiques actifs sur la paroi bactérienne (Le peptidoglycane)

Le peptidoglycane (PG) est un polymère qui constitue un réseau tridimensionnel entourant complètement la bactérie. Il constitue un caractère original et constant du monde bactérien.

II.4.1.1. Fosfomycine

La fosfomycine (ou phosphomycine) inhibe la conversion de l'UDP-N acétylglucosamine en acide UDP-N-acétylmuramique en se liant par une liaison covalente à un résidu cystéine de la pyruvyltransférase. (Cattoir V.,2006 .,Rabaud C ., May T., 2007 .,Filali maltouf A.,2014)

II.4.1.2-Bêta-lactamines

II.4.1.2.1-Pénétration des β -lactamines dans les bactéries

Les β -lactamines sont des acides relativement forts et franchissent parfois difficilement les membranes bactériennes. Pour les bactéries à Gram négatif il existe une « membrane externe », située à l'extérieur du peptidoglycane et la pénétration est conditionnée par des protéines « les porines » dont l'assemblage délimite les pores ou point de pénétration (Moulin M .et al., 2002).

II.4.2 Antibiotiques actifs sur la membrane bactérienne

II.4.2.1-Les β -lactames

Ne doivent pas pénétrer à proprement parler dans la bactérie, mais bien rejoindre leur cible au niveau de la face interne de la paroi (espace périplasmique). Cet accès est direct pour les Gram (+). Par contre, les β -lactames doivent emprunter les passages ménagés par les porines au niveau de la membrane externe des Gram (-) pour rejoindre l'espace périplasmique (Le Minor L., Veron M., 1989 ., Yala D .et al., 2001).

II.4.2.2-Polymixines

Ils possèdent une charge positive et agissent comme des agents tensio-actifs. Ils agissent sur la membrane cellulaire en se fixant sur les phospholipides d'où rupture de la barrière osmotique (Yala D .et al., 2001 ., Francois J .et al ., 2003., Cattoir V., 2006).

II.4.3 Antibiotiques actifs sur la synthèse protéique

II.4.3.1-Les macrolides

Les macrolides agissent en inhibant la synthèse protéique bactérienne. Ils se fixent sur l'unité 50 S du ribosome et bloquent ainsi la réunion du dernier stade de la synthèse. Ils sont bactériostatiques (Leclercq R., 2006) .

II.4.3.2-Les aminosides

Ils perturbent la synthèse des protéines au niveau de la fraction 30S du ribosome entraînant la destruction bactérienne. Ils sont bactéricides. (Martel JL .et al., 1994 ., Bryskier A., 1999 ., Marty N., 2000 ., Yala D .et al., 2001., Eric S., 2008., Toumi A., 2008., Changeur N .et al., 2009).

II.4.4-Antibiotiques actifs sur le métabolisme des acides nucléiques et de leurs précurseurs

II.4.4.1-Blocage de l'ARN polymérase

II.4.4.1.1- La Rifamycine

La Cette enzyme comporte 5 sous unités: 2sous-unités α établissant le contact avec les facteurs de transcriptions de l'ADN, une sous-unité β' liant l'ADN, une sous-unité β constituant le site actif proprement-dit et un facteur σ n'intervenant que dans l'initiation de la transcription. Larifampicine se lie par des interactions hydrophobes au niveau de son "anse" à la sousunité β , empêchant la transcription de l'ADN en ARNm et entraînant ainsi une réduction de la synthèse protéique(Le minor L ., Veron M., 1989 ., Francois J .et al ., 2003 ., Hennel C K.,2006).

II.4.4.2 Action sur l'ADN

II.4.4.2.1.des quinolones

Le mécanisme d'action de cette classe pharmacologique consiste en une inhibition de l'ADN gyrase, topoisomérase II bactérienne composée de deux sous-unités A et deux sous-unités B et de la topoisomérase IV. Ces enzymes sont essentielles à la réplication et à la transcription de l'ADN bactérien; l'inhibition par les quinolones du complexe ADN bactérien - enzymes empêche le «surenroulement» de l'ADN, le relâchement de l'ADN «surenroulé» et entraîne la séparation de la double chaîne hélicoïdale de l'ADN. Les quinolones sont spécifiques à l'ADN bactérien et exercent une activité bactéricide pendant la phase de multiplication et de repos des bactéries (Bryskier A.,1999 ., Larouche G., 2001).

II.4.4.2.1.Les nitrofuranes

Les nitrofuranes agissent en perturbant la réplication de l'ADN, directement sur l'ADN provoquant diverses lésions(coupures et substitution de bases)(Yala D .et al., 2001).

II.4.4.2.3-Les 5 nitroimidazoles

Ils agissent en inhibant la synthèse des acides nucléiques entraînant la mort rapide de la bactérie. Les 5 nitroimidazoléssont bactéricides.(Yala D .et al., 2001).

II.4.5-Antibiotiques inhibiteurs de La synthèse de l'acide folique

II.4.5.1 les diaminopyridines

Bloquent la biosynthèse des acides foliques, en empêchant la réduction de l'acide dihydrofolique. Inhibent la dihydrofolate réductase, enzyme chargée de la réduction de l'acide dihydrofolique en acide tétrahydrofolique (Adam F., Drouillard I., 2003., Ben Youssef S(d), 2013).

II.4.5.2 Sulfamides

Ils agissent sur la synthèse de l'acide folique, un cofacteur de la synthèse des bases puriques et pyrimidiques à incorporer dans les acides nucléiques (Goldstein F., 2006., Elodie G., 2010).

II.5-Pharmacocinétique des antibiotiques

La pharmacocinétique décrit les 4 phases du devenir d'une molécule dans un organisme qui sont l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion. La distribution, le métabolisme et l'excrétion d'une molécule dépendent de ses propriétés physico-chimiques et de son interaction avec l'organisme (Afssa., 2006., Zeghilet N., 2009). Les quatre phases sont résumées dans figure 6.

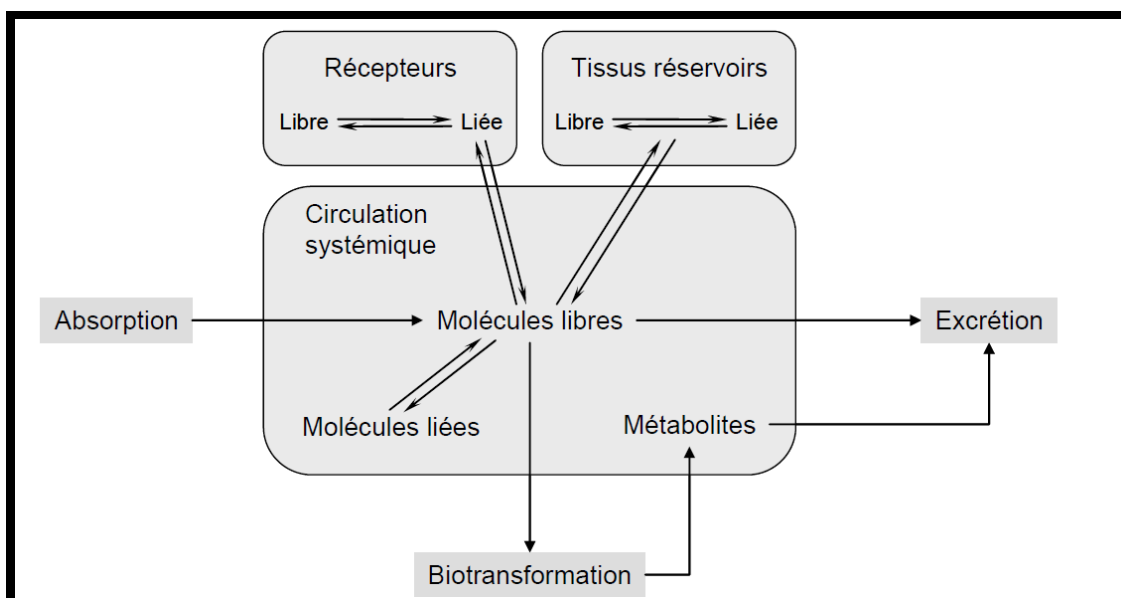


Figure VI : Phases de la pharmacocinétique (Debackere M., 1995)

II.5.1 Étapes de pharmacocinétique des antibiotique

II.5.1.1. Absorption et bio-disponibilité

Afin de pouvoir gagner les organes et les tissus où aura lieu l'action pharmacologique, le médicament doit, dans un premier temps, être absorbé, c'est-à-dire pénétrer dans la circulation générale. Le recours se fait souvent à deux principales voies (**Brugere H., 1992** ,**Fontaine M ., Cadore J I., 1995**) :

II.5.1.1.a. La voie orale

C'est la voie d'administration la plus rapide pour traiter un grand nombre d'animaux. Chez les oiseaux, l'absorption des médicaments comme des produits de la digestion s'effectue principalement dans le jabot et l'intestin. Par voie orale, l'absorption est fonction de la capacité de l'antibiotique de traverser la muqueuse digestive, ainsi que de sa stabilité dans la lumière. La stabilité, donc la biodisponibilité, de certains antibiotiques administrés par voie orale peut être affectée dans diverses situations :

- Inactivation « pénicilline G, érythromycine » et *précipitation* « chlortétracycline », du fait de la forte acidité du proventricule .
- Chélation « tétracyclines » par les ions divalents (Ca⁺⁺, Mg⁺⁺).

Le médicament peut être administré sous deux formes :

- **Dilué dans l'eau de boisson**, ce qui facilite son absorption. Une substance donnée ne peut être absorbée que si elle est dissoute. Aussi, sous cette forme l'absorption est homogène car indépendante de l'état de réplétion du jabot. Les pics de concentration plasmatiques sont atteints généralement en 1.5 à 5 heures après ingestion.
- **Incorporé dans l'aliment**, du fait de l'irrégularité de l'activité motrice du jabot, l'absorption est fortement moins homogène que lorsque le médicament est dilué dans l'eau. L'atteinte des pics plasmatiques est souvent retardée (**Brugere H., 1992** ,**Fontaine M ., Cadore J I., 1995**).

II.5.1.1.b-La voie parentérale

Représentée essentiellement par les injections par voie sous-cutanée et intramusculaire, cette voie permet l'utilisation, avec plus d'efficacité (doses exactes, action rapide), de produits très actifs ne traversant pas la paroi intestinale (colistine, aminosides). Cependant, elle est souvent difficile à mettre en œuvre. L'injection des produits pharmaceutiques doit se faire dans les muscles pectoraux et non pas dans les cuisses. L'élimination est plus rapide après dépôt dans les régions postérieures car l'irrigation de celles-ci est assurée par des vaisseaux

participant à l'irrigation rénale un produit directement éliminé par le rein qui serait injecté dans la cuisse sera éliminé avant qu'il soit distribué à l'ensemble de l'organisme. Comparés à leur taille, les volumes injectés aux oiseaux sont généralement excessifs : 1 ml injecté à une poule équivaut à 250 ml injectés au même point à une vache. Même avec des produits faiblement irritants, de graves lésions peuvent apparaître aux points d'injections (tétracyclines, sulfamides) (**Brugere H., 1992 ., Fontaine M ., Cadoré J L., 1995**).

II.5.1.2. Distribution

Les concentrations sanguines atteintes varient en fonction, des doses prescrites, de la voie d'administration, du rythme des prises ou des injections et de la rapidité d'élimination. Le taux de liaison aux protéines plasmatiques conditionne la durée d'action des médicaments administrés (**Duval J ., Soussy C J., 1990 ., Fontaine M ., Cadoré J L., 1995**). Certains antibiotiques possèdent une très forte affinité pour certains tissus dans lesquels les concentrations atteignables sont souvent supérieures aux concentrations plasmatiques (affinité des macrolides aux tissus pulmonaire). D'autres, au contraire, ont une diffusion très difficile dans certains tissus (liquide synovial, humeur aqueuse) (**Villemin P. et al., 1984 ., Duval J ., Soussy C J., 1990 ., Fontaine M ., Cadoré J L., 1995**). Des concentrations en antibiotiques, généralement élevées, sont enregistrées souvent :

- Dans les organes richement vascularisés (poumons, foie, reins, cerveau et cœur), en particulier pour les substances à fixation tissulaire (macrolides, tétracyclines) .
- Dans les tissus où siège une inflammation aiguë, sous l'effet de l'hyperhémie, mais aucun obstacle ne doit s'opposer à la diffusion (fibrine, pus, nécrose) (**Duval J ., Soussy C J., 1990 ., Fontaine M ., Cadoré J L., 1995**).

II.5.1.3. Biotransformations / Elimination

L'activité métabolique générale chez les oiseaux est plus intense que chez les mammifères. Entre mammifères et oiseaux, l'importance quantitative de certaines réactions métaboliques et le lieu de leur déroulement font la seule différence. L'activité des réactions de biotransformation varient en fonction de l'âge (l'élimination est plus rapide chez les jeunes sujets) et de l'état sanitaire des oiseaux (insuffisance hépatique, cachexie,..). Les stressés perturbent également cette activité (**Villemin P. et al., 1984 ., Brugere H., 1992**).

L'élimination rénale constitue de loin la principale voie d'élimination des composés chimiques ou de leurs métabolites. Les médicaments à forte fixation protéique (sulfamides-retards, doxycycline) ont une durée d'action plus longue car, la forme liée aux protéines ne

filtre pas et reste dans le liquide circulant. La voie biliaire intervient d'une manière secondaire, et certains composés (Fluméquine, amoxicilline) ont un cycle entéro-hépatique (Fontaine M., Cadoré J L., 1995).

II.6. Les buts de l'utilisation des antibiotiques en médecine vétérinaire

Les antibiotiques sont utilisés chez les animaux pour le traitement et la prévention des maladies bactériennes ainsi qu'à titre de facteur de croissance, depuis une cinquantaine d'années. Ce dernier usage est interdit en agriculture biologique. Les antibiotiques sont administrés aux animaux par différentes voies : sous forme d'injection, par voie orale dans l'eau ou la nourriture, par voie cutanée ou par des injections intra-mammaires ou intra-utérines. Toutes ces voies entraînent le transfert de résidus dans les aliments d'origine animale comme le lait, d'où l'instauration de délais d'attente obligatoires. Chez les animaux destinés à l'alimentation, les antibiotiques les plus couramment utilisés peuvent être regroupés en cinq classes :

- *Les bêta-lactamines (ex. : la pénicilline et la céphalosporine).
- *Les tétracyclines (ex. : l'oxytétracycline, la tétracycline et la chlortétracycline).
- *Les aminoglycosides (ex. : la streptomycine et la gentamicine).
- *Les macrolides (ex. : l'érythromycine).
- * Sulfamides (ex. : la sulfaméthazine) (Elsa B., 2010).

II.6. 1.Utilisation des antibiotiques à titre curatif/ préventif

II.6.1.1. Utilisation à titre thérapeutique curatif

Les antibiotiques peuvent être utilisés à titre thérapeutique curatif. L'objectif est d'obtenir la guérison des animaux cliniquement malades et d'éviter la mortalité (Zanditenas M., 1999). Le traitement a aussi pour effet de réduire la souffrance et de restaurer la production (lait, viande). Il réduit l'excrétion bactérienne, permettant dans certains cas d'obtenir une guérison bactériologique et, lors d'infection zoonotique, il peut éviter la contamination humaine (Stoltz R. et al., 2008).

II.6.1.2. Utilisation en antibio-prévention

Les antibiotiques peuvent être administrés à des périodes critiques de la vie, sur des animaux soumis à une pression de contamination régulière et bien connue. Dans ces conditions, on parle d'antibio-prévention car le traitement permet d'éviter totalement l'expression clinique. Cette modalité d'utilisation des antibiotiques est adaptée à une situation

sanitaire donnée et doit être provisoire et ponctuelle. L'antibio-prophylaxie est également utilisée lors d'opérations chirurgicales pour prévenir les infections bactériennes (par exemple, lors d'une césarienne) (Stoltz R .et al ., 2008).

II.6.2. Utilisation des antibiotiques comme additifs alimentaires

Les antibiotiques sont également utilisés comme facteurs de croissance afin d'améliorer la productivité des élevages (Boultif L., 2009). Dans son avis du 28 mai 1999, le comité scientifique directeur de la direction générale de la commission européenne, a déclaré que l'utilisation en tant que facteurs de croissance d'antimicrobiens appartenant aux catégories utilisées en médecine humaine et animale, ou susceptibles de l'être devrait être réduite le plus vite possible et à terme proscrite. Dans un deuxième avis, adopté en mai 2001, ce comité directeur soulignait que ce processus d'élimination devait être planifié et coordonné .

Le règlement N° 1831/2003 du 22/11/2003 de la commission européenne prévoyait la suppression définitive de l'usage des antibiotiques comme additifs en alimentation animale à la fin de l'année 2005 et c'est en 2006 que l'usage d'antibiotiques en tant qu'additifs en vue d'améliorer la croissance et les performances des animaux était banni dans l'union européenne (Guillemot M D .et al ., 2006).

CHAPITRE III**LES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES DANS LE LAIT**

Le lait provenant d'animaux ayant été traités par des médicaments à usage vétérinaire pouvant être transmis au lait ne devrait pas être utilisé à moins que le délai de retrait spécifié pour le médicament en question ait été respecté. Il est établi que l'utilisation inappropriée de médicaments vétérinaires entraîne la présence de résidus potentiellement nocifs dans le lait et les produits laitiers et compromettre la salubrité du lait destiné à la fabrication de produits de culture (Prescott J F., Baggot J D., 1993., Taylor DJ., 1999).

III.1.1. Définition des résidus

Selon le Règlement (CEE) N° 2377/90, on entend par résidus de médicament vétérinaires « toute substance pharmaco logiquement 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 à ces animaux ». Ce sont donc les traces des 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 (Ben Youssef S(a) ., 2013).

La définition de résidus est codifiée dans une directive européenne (DIRECTIVE/85181 CEE, 1981). Dans cette Directive, les résidus sont définis comme étant « tous les 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 (Stoltz R., 2008).

Les résidus d'antibiotiques sont des substances issues de la dégradation des antibiotiques. Éliminés essentiellement dans les matières fécales et l'urine des vaches, ils peuvent se retrouver en très faible quantité dans le lait des vaches sous traitement (Akoda K., 2004).

III.1.2. Origine des résidus

Les résidus sont des substances pouvant apparaître dans les denrées alimentaires par suite de l'utilisation de médicaments vétérinaires ou de produits phytosanitaires. Il s'agit de traces indésirables de médicaments ou de produits phytopharmaceutiques ou de dérivés de ceux-ci dans le produit final (Niyibizi B ., 2012).

III.1. 3. Facteurs de persistance des résidus

La forme galénique du médicament joue un rôle capital dans l'absorption et la distribution du principe actif dans l'organisme.

La forme chimique exacte du composé intervient dans son absorption et sa distribution :

- Les sels les plus couramment utilisés sont plus hydrosolubles que les composés parentaux dont ils dérivent.

- La mise en suspension huileuse ralentit l'absorption : la pénicilline sodique ou potassique mise en suspension huileuse présente une résorption prolongée à partir du site d'injection intramusculaire pendant environ 18 heures. Sous forme de pénicilline procaine, la même pénicilline en suspension huileuse présente une résorption prolongée sur 24 heures au minimum (**Enriquez B J., Boulouis H J., 1990**).

- Les esters sont en général lipophiles. C'est le cas par exemple des esters de macrolides (triacétyl d'oléandomycine).

La forme physique et les excipients jouent un rôle dans la diffusion du ou des principes actifs. De nombreux constituants utilisés dans les spécialités pharmaceutiques, interviennent dans la diffusion (**Fiscus Mougel F., 1993**) :

- Les véhicules : les solutions aqueuses ont une diffusion plus aisée que les solutions huileuses. Il y a également des variations entre les différents véhicules huileux : une huile végétale constituée d'acides gras a un effet retard moindre qu'une huile minérale (huile de paraffine ou de vaseline) à base d'hydrocarbures. L'augmentation de la viscosité retarde la diffusion (pommades). Dans ces derniers cas, l'effet retard est recherché.

- Les adsorbants agissent en maintenant le principe actif sur le site d'administration.

- Les tensioactifs ont pour rôle de stabiliser deux phases non miscibles et interviennent aussi dans les émulsions ou les solutions micellaires.

(**Châtaigner B., Stevens A., 2005**).

III.1.4. Délai d'attente et la limite maximale des résidus

Pour faire face aux problèmes posés par les résidus de médicaments vétérinaires, la législation actuelle a conduit, en élevage de rente, depuis le 1er janvier 1997, à la définition des Limites Maximales de Résidus -LMR- pour chaque produit vétérinaire (**Chalus Dancla E., 2003**).

III.1.4.1. Temps d'attente

III.1.4.1.1. Définition le délai d'attente

Période de temps entre la dernière administration du médicament et la commercialisation des produits. (**Sander P., 2005**).

Le délai d'attente est le temps entre la dernière administration de la spécialité à des animaux sous les conditions normales d'emploi et la production de denrées alimentaires issues de ces animaux, (Dehaumont P., Moulin G., 2005).

Tableau X : Durée de subsistance de certains antibiotiques dans le lait

Antibiotique	Durée de subsistance (jours)
Administration par voie intra mammaire	
- Pénicilline (solution aqueuse)	2
- Pénicilline (pommade)	4
- Pénicilline (préparation-retard)	6
- Chlortétracycline	6
- Oxytétracycline	5
- Chloramphénicol	3
- Streptomycine	4
Administration par voie intramusculaire	
Pénicilline	1
Tylosine	3

(Japsen A.,1962)

III.1.4.1.2. Fixation du temps d'attente

Pour fixer le temps d'attente d'une substance, il faut dans ce cas étudier son métabolisme pour connaître les lieux d'accumulation et les voies d'excrétion du composé de départ et de ses métabolites et étudier leur décroissance en fonction du temps. Ce ci nécessite une première investigation avec des molécules marquées, puis de nombreux travaux complémentaires pour identifier les métabolites et mettre au point des méthodes non radioactives pour les doser. Les différents temps d'attente proposés devront assurer qu'il n'y a pas de résidus mesurables dans les productions de l'animal vivant (lait, oeufs) ou dans les denrées alimentaires obtenues après l'abattage (Milhaud G., 1978).

III.1.4.1.3. Méthodes de calcul du temps d'attente dans le lait

Le calcul du temps d'attente est fondé sur le principe que dans 95 pour cent des groupes d'animaux traités, 95 pour cent des individus produisent un lait avec un concentration inférieure à la limite maximale des résidus (LMR), cependant le risque d'avoir une concentration dans le lait supérieure à la LMR n'est pas nulle mais reste sans danger pour le

consommateur (Sachot D., Puyt J D., 2001., Fabre J M., Lepoutre D., 2002., Laurentie M., Sanders P., 2002).

III.1.4.1.3.1 les méthodes simples de calcul

C'est la méthode traditionnelle où les animaux sont abattus à différentes dates après la dernière administration effectuée selon un schéma prévu dans la demande de l'AMM (Autorisation de Mise sur le Marché). Les résidus sont dosés dans les différents tissus, la date d'abattage la plus proche pour laquelle toutes les concentrations résiduelles sont inférieures aux limites maximales des résidus, additionnée d'une marge de sécurité (souvent de l'ordre de 30 pour cent), détermine le temps d'attente. Ce principe simple présente cependant des limites car il est peu reproductible (l'augmentation du nombre d'animaux allonge le temps d'attente) (Sachot D., Puyt J D., 2001).

III.1.4.1.3.2. les méthodes européennes de calcul

Largement inspirées des pratiques de l'agence américaine Food and Drug Administration (FDA), le principe de détermination statistique des temps d'attente repose sur l'hypothèse que les quantités de résidus dans les tissus décroissent à vitesse constante. En utilisant la formule suivante : $C_t = CO e^{-kt}$. C_t étant la concentration résiduelle au temps t , CO étant la concentration résiduelle virtuelle au temps $t = 0$ et k étant la constante de la vitesse d'élimination (Sachot D., Puyt J D., 2001).

Trois méthodes principales pour le calcul statistique du temps d'attente peuvent être distinguées :

III.1.4.1.3.3. la méthode dénommée « Time to Safe concentration (TTSC) »

Consiste à calculer les limites de tolérance du nombre de traites, c'est la méthode recommandée par l'Agence Européenne de l'Evaluation du Médicament (EMA) et généralement utilisée par les industriels (Sachot D., Puyt J D., 2001., Laurentie M., Sanders P., 2002).

III.1.4.1.3.4. la méthode dénommée « Safe Concentration based on Linear Regression (SCLR) »

Qui dérive de la méthode utilisée par la FDA (Food and Drug Administration) (Laurentie M., Sanders P., 2002).

III.1.4.1.3.5. la méthode dénommée « Safe Concentration per Milking (SCPM)

Fondée sur la détermination de la limite de tolérance pour chaque point de traite (Sachot D., Puyt JD., 2001., Laurentie M., Sanders P., 2002).

III.1.4.2. La limite maximal de résidues (LMR)**III.1.4.2.1. Définition la limite maximale de résidus (LMR)**

La limite maximale de résidus (LMR) est la concentration maximale en résidus, résultant de l'utilisation d'un médicament vétérinaire (exprimée en mg/Kg ou en ug/Kg de poids vif), que la Communauté Européenne considère sans risque sanitaire pour le consommateur et qui ne doit pas être dépassée dans ou sur les denrées alimentaires (Laurentie M., Sanders P., 2002., Dehaumont P., Moulin G., 2005).

III.1.4.2.2. Fixation de Limites Maximales de Résidus (LMRS) selon FAO sont

Les limites maximales de résidus sont les concentrations en résidus à ne pas dépasser dans les denrées alimentaires d'origine animale ou végétale pour éviter tout risque pour le consommateur du fait de la présence de ces résidus. (Ben Youssef S(a), 2013).

III.1.4.2.2.1. Dose Sans Effet (DES)

No Observe d Effect Level (NOEL)

a-.DSE Toxique

b-.DSE Microbiologique (Ben Youssef S(a), 2013).

III.1.4.2.2.1.a. Dose Sans Effet (DSE) Toxique

NOEL $\mu\text{g}/\text{kg}$ de poids corporel de l'animal/ jour.

*Dose la plus élevée d'une substance qui ne provoque pas de modifications distinctes de celles observées chez des animaux témoins

*Modification = Effet toxique. (Ben Youssef S(a), 2013).

III.1.4.2.2.1.b. Dose Sans Effet (DSE) Microbiologique (NOAEC)

*Concentration sans effet observé (No observable adverse effect concentration)

*Fixation de Limites Maximales de Résidus (LMRS)

*Appréciation des modifications éventuelles de la flore digestive humaine, principalement celle du colon. (Ben Youssef S(a), 2013).

III.1.4.2.2.2.Dose Journalière Admissible (DJA)

Quantité de résidus, exprimée mg/kg/jour de poids corporel de l'homme, qui peut être ingérée quotidiennement, pendant toute la vie, sans risque d'effet appréciable sur sa santé.

DJA = DES / FS (Facteur de sécurité) 100-1000

*Fonction de la nature et/ou de la gravité des effets défavorables considérés

* DJA (poids moyen d'un homme 60 Kg) (**Ben Youssef S(a),2013**).

III.1.5.Réglementation sur les résidus des médicaments vétérinaires

Au plan international, pour maîtriser les risques liés aux résidus et protéger les consommateurs, une commission mixte FAO/OMS, le Codex Alimentarius, a été créée en 1963 et est chargée d'élaborer des normes alimentaires, des directives et d'autres textes tels que les codes d'usage(**Bizet J., 2000 ,FAO.,2001**) Cette commission fixe les limites, maximales de résidus (LMR) pour chaque produit (tableau 11). Dans les pays du Nord, les normes du Codex Alimentarius ont été mises en application et même rendues plus strictes dans certains cas. La création de l'espace économique commun des pays européens a conduit à un processus d'harmonisation de la législation en matière de médicaments vétérinaires et de résidus avec la mise en place de l'Agence Européenne pour l'Evaluation des Médicaments et l'application du règlement CEE n02377/90 du 26 juin 1990. Ce règlement fixe 'les LMR appliquées dans les pays de la Communauté européenne. Les mêmes types de règlements sont appliquées aux Etats-Unis et au Canada et tout produit importé dans ces espaces doit respecter ces normes. Au niveau Africain, le Botsw'ana est l'un des pionniers en matière de législation sur les résidus. L'Afrique du Sud, le Maroc et la Zambie ont entrepris une démarche de mise à niveau pour les exigences de la communauté Economique Européenne. Pour le Maroc par exemple, son objectif est d'avoir des produits compétitifs sur le marché européen (**IMAO., 1998**) Au Sénégal, à notre connaissance, en dehors des initiatives prises par certains exportateurs dans le simple but de satisfaire à l'éligibilité de leurs produits sur le marché d'exportation, il n'y a pas de réglementation en matière de résidus de médicaments vétérinaires et des autres substances chimiques. Ce vide juridique expose le consommateur sénégalais à des risques éventuels que peuvent engendrer ces résidus.

Tableau XI : Valeurs des LMR de quelques anti-infectieux dans le lait.

Médicaments vétérinaires	LMR dans le lait (en I-Ig/l)
Benzylpénicilline	4
Oxytétracycline	100
Sulfamides	100
Ampicilline	4
Pénicilline G	4
Oxacilline	30
Cloxacilline	30
Dicloxacilline	30
Dihydrostreptomycine	0.125
Streptomycine	0.125
Chloramphénicol	0

(FAO/OMS.,1996 .,CNEVA.,1999.,Godkin M ., Rodenburg J.,2003.,AFSSA .,2003).

III.1.6.La législation européenne

- Règlement (CEE) n°2377/90 du Conseil établissant une procédure communautaire pour la fixation des limites maximales de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale
- Décision 91/180/CEE de la Commission arrêtant certaines méthodes d'analyse et de test du lait cru et du lait traité thermiquement
- Directive 92/46/CEE du Conseil arrêtant les règles sanitaires pour la production et la mise sur le marché de lait cru, de lait traité thermiquement et de produits à base de lait.
- Directive 96/23/Règlement (CEE) n°2377/90 du Conseil établissant une procédure communautaire pour la fixation des limites maximales de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale

Annexe I : LMR définitives

Annexe II : pas de LMR nécessaires

Annexe III : LMR provisoires

Annexe IV : pas de LMR possibles, donc interdits (Romne J M., 2007).

III.1.7. Conséquences négatives de l'utilisation des antibiotiques chez les animaux

Les conséquences négatives de l'utilisation des antibiotiques chez les animaux sont :

- présence de résidus dans les produits alimentaires d'origine animale (si les d-contamination de l'environnement (excrétion des antibiotiques par les fèces, urines...), ces conséquences sont surtout dues aux mauvaises pratiques :
- produits du marché noir.
- administration sans prescription vétérinaire.
- non respect des doses et des délais d'attente avant l'abattage (Klotins K., 2006).

Il existe des différences notables sur ces points entre les différents antibiotiques. Ainsi pour réduire l'incidence de ces résidus, sont conseillées sous forme de « liste positive», l'utilisation sélective de molécules et de certaines formes d'administration (Châtaigner B ., Stevens A .,2005).

III.2. Les effets toxiques liés à la présence des résidus d'antibiotiques

L'antibiotique destiné à l'animal est un médicament au même titre que celui destiné à l'homme; les deux sont soumis à une AMM, Autorisation de Mise sur Marché, mais le médicament vétérinaire a une exigence supplémentaire ; la fixation d'un temps d'attente. En effet, l'utilisation d'antibiotique pourrait amener à une présence anormale de résidus dans les denrées d'origine animale (Follet G., 2007 ., Boultif L., 2009). Il faut toutefois distinguer la notion d'inhibiteurs qui correspond à un problème technologique et la notion de résidus qui correspond à un problème de santé publique (Fabre JM .et al., 2000). Les résidus d'antibiotiques dans le lait peuvent causer des problèmes à deux niveaux:

- Hygiénique : toxicité des résidus pour le consommateur.
- Technologique : entrave la transformation industrielle du lait.

III.2.1. Risques attribués à la présence d'antibiotiques dans le lait

Les risques attribués à la présence d'antibiotiques dans le lait peuvent être classés en trois catégories

III.2.1.1. Le risque allergique

Les résidus antibiotiques utilisés en thérapeutique animale sont parfois incriminés en allergologie humaine. Les antibiotiques le plus souvent incriminés sont les pénicillines, suivis des sulfamides et, dans une moindre mesure les tétracyclines ou la spiramycine. Cette liste repose sur les molécules utilisées en médecine humaine impliquées dans la majorité des cas

d'allergie médicamenteuse. En l'absence de données relatives aux accidents allergiques liés aux résidus antibiotiques dans les denrées alimentaires, il paraît vraisemblable de considérer que leur implication dans les allergies suit une classification similaire (Form G.,2003). Pour qu'une allergie se déclare, il faut que l'organisme ait été en contact au moins deux fois avec l'allergène. Un premier contact sensibilisant, généralement asymptomatique, permettant à l'organisme de reconnaître l'allergène, et un deuxième contact déclenchant qui va provoquer la crise allergique, et ce pour des doses d'allergène même très inférieures à celles ayant provoqué la sensibilisation (Form G.,2003.,Gaudin P.,1999). Les résidus d'antibiotiques présents dans le lait ne peuvent intervenir qu'en tant qu'éléments déclenchants, compte tenu des faibles quantités incriminées et également du fait que la voie digestive est nettement moins allergisante qu'un contact cutané ou respiratoire. Ce risque apparaît donc beaucoup plus théorique que réel : quelques cas seulement d'allergies à la pénicilline, suite à la consommation de produits laitiers, ont été déclarés dans le monde en plusieurs décennies (Federicci Mathieu C.,2007). Cependant, devant la difficulté d'éliminer formellement tout contact antérieur avec un antibiotique (crise allergique alors qu'a priori aucun contact antérieur n'a eu lieu), il convient de rester prudent (Wal JM., 1979., Dewdney JM .et al., 1991., Dayan A D.,1993., Form G., 2003)



Figure VII : Photo éclaircis le risque allergique sur l'homme.(Baaziz S.,Ben Ghodbane H.,2009)

III.2.1.2.Modifications de la flore digestive du consommateur

Les nitrofuranes sont soupçonnés de foetotoxicité. Certains sulfamides sont foetotoxiques à forte dose. Ces molécules passent dans le lait maternel, et sont toxiques pour les nourissons de moins d'un mois. Les autres effets potentiellement dus aux résidus sont d'ordre toxicologiques et pharmacologiques. On note entre autre une modification de la flore intestinale humaine. Ainsi certaines molécules comme le chloramphénicol, sont interdites en Europe sur les animaux de rente, en raison du risque potentiel d'apparition d'effet

secondaires tels que des formes idiosyncratiques d'anémie aplasique chez l'homme. Cet effet secondaire a été mis en évidence non seulement lors de traitements systémiques mais aussi lors d'application locale et même lors d'exposition professionnelle (Page SW., 1991). Des études in vivo sur des modèles animaux visant à évaluer les effets de doses thérapeutiques et de résidus de tétracycline sur la flore intestinale humaine ont mis en évidence les modifications engendrées sur la flore intestinale. Il y a effectivement eu une sélection de bactéries résistantes à la tétracycline, ainsi qu'un effet sur les populations fécales aérobies et anaérobies, sans compter les modifications de certains paramètres métaboliques de la microflore. Par contre, la barrière contre les salmonelles exogènes a été maintenue (Perrin Guyomard A. et al., 2001, Broutin C. et al., 2005).

III.2.1.3. Risques toxiques

Qui, par définition, est provoqué par le médicament lui-même ou l'un de ses métabolites lors d'un contact unique. Les manifestations de cette toxicité dépendent de la dose administrée et de la voie d'administration. Ce risque est inexistant en ce qui concerne les résidus d'antibiotiques dans le lait car les quantités retrouvées dans le lait sont toujours trop faibles (Labie Ch., 1981, Gaudin P., 1999). Il faut, cependant, faire une exception pour le chloramphénicol, car la littérature médicale comprend quelques rares observations d'accidents d'anémie grave par aplasie médullaire, à la suite de traitements médicaux par de faibles doses de cet antibiotique, pendant un temps bref (Labie Ch., 1981). Toutefois, depuis l'interdiction en 1994 du chloramphénicol chez les animaux producteurs de denrées alimentaires, ce risque est désormais exclu (Boultif L., 2009).

III.2.1.4. Risques d'antibiorésistance

Au cours des deux dernières décennies, les agents pathogènes résistants aux antibiotiques sont devenus un sérieux problème de santé publique. Une des raisons de l'augmentation de cette résistance pourrait résider dans l'utilisation préventive et thérapeutique d'antibiotiques en production animale car les médicaments vétérinaires contiennent en partie les mêmes matières actives qu'en médecine humaine (Boultif L., 2009). Les bactéries résistantes sont potentiellement transmissibles à l'homme via les denrées alimentaires (Chataigner B., Stevens A., 2005). L'apparition de cette résistance peut être liée à des mauvaises pratiques thérapeutiques (posologie inadaptée, fréquence d'administration, non respect de la prescription...)(Chataigner B., Stevens A., 2005, Fabre JM. et al., 2006) ou à l'utilisation

des antibiotiques comme facteurs de croissance, favorisant ainsi le développement rapide du phénomène de la résistance bactérienne aux antibiotiques (**Boultif L., 2009**).

Il est important de préciser que la problématique de l'antibiorésistance doit être différenciée de celle des résidus d'antibiotiques. Ceux-ci peuvent avoir des répercussions sur la santé des consommateurs (allergies,...etc.) mais ne sont pas en cause dans le développement de l'antibiorésistance. Par ailleurs, il faut souligner que ce ne sont pas les animaux où les humains qui deviennent résistants aux antibiotiques mais bien les bactéries qui les affectent (**Follet G., 2007.,Boultif L., 2009**).

III.2.2.Risque de transmission indirecte des gènes de résistance de l'animal à l'homme

Il est bien admis aujourd'hui que l'usage des antibiotiques est le facteur de risque le plus important qui conduit à la sélection et au développement, aussi bien chez l'animal que chez l'homme, de souches bactériennes résistantes et que le taux de développement de ces résistances est étroitement associé à la quantité d'antibiotiques utilisés(**Kruse H.,1999 .,Martel J L.,Vandaele E.,1999 .,Weneger H C. et al., 1999**).C'est ce processus d'apparition de résistances qui a jalonné la découverte de nouveaux antibiotiques et leur introduction en thérapeutique. Ce processus gênant du point de vue thérapeutique a pendant longtemps été pallié par l'apparition de nouveaux principes actifs. Mais la question des résistances a connu un regain d'intérêt dès l'instant où l'apparition de souches multirésistantes de bactéries pathogènes pour l'homme a pris une certaine ampleur épidémiologique. Dès lors, la recherche des causes d'apparition des résistances affectant les bactéries humaines a conduit à sortir du cadre du milieu hospitalier ou du cabinet de ville pour les rechercher dans les autres domaines d'utilisation d'antibiotiques, en particulier le domaine de l'élevage et de la thérapeutique vétérinaire. Concernant les zoonoses, les bactéries pathogènes et parfois résistantes chez l'animal infectent l'homme. Le problème principal est celui des salmonelles dont le monde animal constitue le principal réservoir. L'utilisation d'antibiotiques en médecine vétérinaire exerce indéniablement une pression de sélection favorable aux souches résistantes(**Martel J L ., Vandaele E.,1999**) (Celles-ci peuvent alors infecter l'homme, soit directement, soit par l'environnement, soit par des aliments d'origine animale. En l'état actuel des connaissances, la transmission des bactéries résistantes constitue même la seule option possible pour la transmission de résistances par mutation. Cependant, il existe une autre possibilité qui est l'échange de plasmides entre une bactérie d'origine animale et un germe pathogène ou commensal de l'homme. Il s'agit là d'un type de transmission indirecte de l'animal à l'homme, non plus des bactéries mais des gènes de résistance. Dans ce cas

théorique, des facteurs de résistance pourraient circuler via une ou plusieurs bactéries et les écosystèmes entre les animaux et l'homme. En fait, un certain nombre d'études a déjà révélé le fait qu'une résistance créée chez l'animal peut se retrouver dans des bactéries humaines. Ainsi, une étude norvégienne, menée en 1993, a démontré la transmission de plasmides de multirésistances entre des bactéries pathogènes de diverses origines dans des microenvironnements naturels simulés. Après avoir déposé des bactéries animales *E. coli* de porc ou *E. coli* de mammite bovine et des bactéries animales de salmonidés sur des objets d'usage courant (planches à découper, serviette de toilette), on a suivi leurs gènes de résistance par des méthodes de biologie moléculaire (Polymerase Chain Reaction) lesquels ont bien été retrouvés chez les bactéries *E. coli* affectant l'homme. Ceci montre que le transfert de résistances appartient à l'environnement, quelle que soit l'appartenance systématique de l'espèce bactérienne en cause. Ainsi, l'usage d'antibiotiques dans une niche écologique donnée et le développement de résistances qui peut lui être associée peut influencer l'apparition de résistances bactériennes dans d'autres niches écologiques (**Kruse H., 1999**).

Finalement, en théorie, toutes les utilisations d'antibiotiques peuvent donc être mises en cause dans l'apparition d'antibiorésistances et leur possible transmission à l'homme. Dès lors, l'usage des antibiotiques, aussi bien à titre curatif que préventif, pour les mammites n'y échappe pas. Cependant, le risque d'apparition de bactéries antibiorésistantes suite à un traitement antibiotique par voie intramammaire semble quasi nul. En effet, la mamelle, normalement stérile, est dépourvue de flore résidente laquelle permettrait de pérenniser des facteurs de résistance (**Martel J L., Vandaele E., 1999**).

III.2.3. Le risque bactériologique

Lié à la consommation de denrées alimentaires contenant des résidus d'antibiotiques peut être attribué à deux phénomènes : la modification de la flore digestive pouvant entraîner des troubles et une symptomatologie indésirables, et la sélection chez l'homme de souches de germes pathogènes résistantes à ces antibiotiques. La microflore intestinale est un écosystème complexe où cohabitent différentes espèces bactériennes selon un équilibre biologique. Chez l'homme, cet équilibre est constitué par une flore anaérobie stricte (clostridies, *Eubacterium*, etc.) dite dominante laquelle, de par sa propre croissance régule et limite le développement du reste de la flore (lactobacilles, entérobactéries, etc.) dite subdominante. La perturbation de cet équilibre entraîne inévitablement des désordres plus ou moins graves. La présence d'un antibiotique dans le milieu intestinal peut conduire à une modification de la composition de la

flore : un antibiotique particulièrement actif contre les germes anaérobies et les gram + va détruire une partie importante de la flore digestive. Le vide ainsi créé pourra être rempli par d'autres micro-organismes qui pourront alors proliférer et devenir pathogènes. Ces micro-organismes peuvent être soit des germes de la flore subdominante (*E. coli...*), soit des germes en transit (*Candida albicans*, *Salmonella sp. ...*) (**Form G., 2003**). Ce même phénomène peut aussi entraîner la sélection et le développement de germes résistants : une bactérie présente initialement dans l'écosystème digestif et plus ou moins résistante vis-à-vis de l'antibiotique, de passage dans le tube digestif, pourra se multiplier et occuper les niches écologiques laissées vacantes par les autres bactéries sensibles éliminées par l'antibiotique. Enfin, l'antibiotique parvenu dans le système digestif de l'homme pourrait exercer une pression de sélection : l'exposition soutenue à des concentrations sub-inhibitrices d'antibiotiques pourra sélectionner des bactéries résistantes. En général, les concentrations inférieures à la concentration minimale inhibitrice (CMI) tendent à être plus sélective pour faciliter l'émergence de la résistance. De fait, les concentrations sub-inhibitrices diminuent la vitesse de croissance de la population sensible qui se maintient à un taux élevé dans l'écosystème. Cette taille de population multipliée par le taux de mutation entraîne l'accroissement du risque d'émergence de mutants résistants lesquels pourront se développer d'autant plus vite que leur vitesse de croissance en présence d'antibiotiques est supérieure à celle de la population sensible. Cependant, cette différence de croissance ne sera favorable à la sous-population résistante que si la durée de l'exposition à l'antibiotique est longue ce qui n'est pas le cas lors d'ingestion occasionnelle et à faible dose de résidus d'antibiotiques (**Labie Ch., 1981**). Finalement, d'après Martel et Vandaele (**Martel JL., Vandaele E., 1999**), il faut exclure la possibilité de sélectionner des résistances directement chez l'homme par la consommation de denrées animales qui contiendraient des résidus d'antibiotiques en quantités inférieures ou égales aux limites maximales de résidus (LMR). Enfin, on peut considérer qu'il n'y a pas de risque de modification de la flore du tube digestif si la concentration en antibiotique reste inférieure à la CMI du germe le plus sensible du tube digestif. A titre d'exemple, on sait qu'une dose de 2mg/jour d'oxytétracycline, comparable à celle que l'on peut ingérer avec des aliments contenant des résidus, ne modifie en rien la microflore fécale, ni dans sa composition ni dans son profil de résistance à la tétracycline. A 20 mg/jour, les entérobactéries sensibles disparaissent mais la flore dominante n'est pas affectée dans sa composition. A 2g/jour la flore anaérobie dominante est fortement perturbée, les entérobactéries résistantes et les levures se développent. Les concentrations en antibiotiques, très faibles quand ils sont à l'état de résidus, diminuent encore par dilution dans le chyle

digestif ce qui suggère qu'il faut modérer très fortement le risque théorique de toxicité indirecte d'éventuels résidus inhibiteurs dans les denrées alimentaires d'origine animale même s'il ne faut pas sous-estimer la fragilité de l'écosystème intestinal de certaines catégories d'individus (enfants, personnes âgées, convalescents, immunodéprimés) (Form G.,2003).

III.2.4.Risques engendrés par la présence d'antibiotiques dans le lait pour l'industrie laitière

III.2.4.1.Les effet sur la technologie

Pour les industries laitières, les résidus antimicrobiens ont des conséquences néfastes au niveau technique pour la transformation du lait en produits laitiers, notamment pour la fabrication de fromages et de beurres. Elles résultent essentiellement de l'inhibition totale ou partielle des phénomènes fermentaires d'origine bactérienne peut être résumé dans le figure15(Labie Ch.,1981).Ainsi, toutes les étapes de la transformation du lait en fromage peuvent être perturbées : il y a défaut de coagulation du lait et le caillé ressort de mauvaise qualité, une insuffisance de l'égouttage et le rendement de fabrication est diminué ; il y a une mauvaise maturation du fromage (consistance, couleur, odeur, goût modifiés) ainsi qu'une prolifération anarchique des bactéries coliformes insensibles aux antibiotiques et dont la multiplication n'est plus inhibée par les ferments lactiques. Concernant la fabrication du beurre, il y a une mauvaise acidification, une diminution du développement des germes d'arôme d'où pertes de goût et d'arôme, ainsi qu'une diminution du rendement de fabrication. Pour ces productions, les manifestations dues aux inhibiteurs sont diverses mais toutes ciblées sur les phénomènes liés aux bactéries et ferments lactiques. Ces conséquences technologiques dépendent essentiellement de la dose résiduelle d'inhibiteurs dans le lait collecté et la sensibilité des germes lactiques utilisés aux antibiotiques (Labie Ch., 1981 ,Gaudin P.,1999 ,Gurin A.,2003).On comprend dès lors que les résidus inhibiteurs soient une préoccupation constante des industriels de la filière laitière, la dépréciation qualitative et quantitative qu'ils provoquent constituant un véritable fléau(Form G.,2003):

- 200 à 400 mL de lait d'une vache sous traitement à base de pénicillines peuvent rendre plus de 1000 litres de lait inaptes à la transformation .
- le contenu de certaines seringues intramammaires de tarissement, à base de cloxacilline (les plus utilisées), peut contaminer 50 000 litres de lait (au seuil des LMR). Même si ces accidents semblent devenir moins fréquents depuis quelques années, grâce à une diminution de sensibilité aux antibiotiques des souches de bactéries lactiques, leur incidence économique

reste telle (mauvaise qualité des produits finis, difficultés à l'exportation) qu'ils justifient le refus des industries laitières de traiter des laits contenant de tels résidus d'antibiotiques (Labie Ch., 1981., Zeil J M., 1988., Abiola F et al., 1999).

III.2.4.2. Risques économiques

Les pertes subies, chaque année, par les industries laitières sont estimées à des centaines de millions de dinar algérienne (Labie Ch., 1981). A cause de la présence de résidus inhibiteurs dans le lait, c'est environ 0,5% de la production annuelle nationale qui est perdue, impropre à la transformation et à la consommation d'après source Ministère de Santé. En laiterie, une citerne contaminée par des résidus d'antibiotiques (soit jusqu'à 25 000 litres de lait) entraîne un manque à gagner correspondant à environ 11 450 DJ, soit la valeur des produits finis (environ 0,46 DJ, par litre de lait transformé, compte tenu du paiement du lait, des frais de collecte et de transformation). Le lait impropre est alors dirigé vers les industries qui en font un usage non alimentaire, vendu environ 0,15 DJ par litre : la laiterie perd donc 7750 DJ par citerne contaminée. Depuis le 1er janvier 2003, cette pénalité est ramenée à 10 DJ pour 1000 litres de lait pour les producteurs adhérents à la Charte des Bonnes Pratiques en Elevage Laitier. Certes, des alternatives existent. Différentes méthodes permettent d'assainir le lait en éliminant les résidus:

- Le traitement thermique : le chauffage du lait permet d'éliminer une partie des résidus, mais tous les antibiotiques n'ont pas la même thermolabilité et ils ne sont pas tous détruits par les procédés de diminution de charge microbienne mis en oeuvre dans les industries laitières (pasteurisation, stérilisation). Des paramètres plus élevés augmenteraient fortement le prix de revient et modifieraient les propriétés technologiques du lait.
- Le traitement enzymatique : l'utilisation de pénicillinases a été envisagée, mais elle est très coûteuse et n'est efficace que sur les résidus de pénicillines.
- L'utilisation de bactéries sélectionnées pour leur antibiorésistance : l'augmentation de la résistance d'une bactérie à un antibiotique donné, ou à une autre famille d'antibiotiques donnée, s'accompagne inévitablement de la détérioration d'autres de ses qualités, par ailleurs, cette méthode ne supprime pas le risque de santé publique posé par les inhibiteurs. Finalement, ces techniques sont onéreuses, pas toujours très fiables, et de ce fait sont rarement mises en oeuvre par les industries laitières (Form G., 2003).

CHAPITRE IV

LES MÉTHODES DE DÉTECTION DES RÉSIDUS D'ANTIBIOTIQUES

IV.1. Historique et évolution des méthodes de détection dans le temps

L'utilisation des tests de détection des inhibiteurs est très ancienne, les premiers tests ont été utilisés quelques années après l'apparition des antibiotiques (**Brouillet P., 2002**).

Dés 1952, le premier test de détection des inhibiteurs dans le lait était mis au point, ils étaient fondés sur l'inhibition du développement de différentes souches de bactéries (**Fabre J M .et al, 2002**), selon ce dernier, deux voies de recherche ont été explorées :

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

L'année 2011 a été marquée par plusieurs évolutions de la méthode officielle d'analyse des résidus d'antibiotiques. Elles s'inscrivent dans la démarche de révision périodique des méthodes d'analyses supervisées par le Ministère de l'Agriculture en matière de sécurité sanitaire des aliments. Plusieurs tests sont combinés dans la méthode officielle pour répondre à la réglementation européenne. Ils ont été validés par les autorités compétentes (**Anonyme A., 2012**).

Mais 2013 a été changée de méthode, Cette évolution s'inscrit dans la démarche de révision périodique des méthodes d'analyses supervisées par le Ministère de l'Agriculture en matière de sécurité sanitaire des aliments. Après une étude technique menée par le CNIEL en 2012/2013 sur plusieurs tests du marché, un nouveau schéma de détection a été décidé et validé par les autorités compétente (**Anonyme B., 2013**).

Le tableau 12 montre l'évolution des méthodes de détection dans le temps.

Tableau XII : évolution des méthodes de détection dans de temps

Année	Événements
1952	Développement d'un test de recherche des inhibiteurs dans le lait : <i>Bacillus subtilis</i>
1961	Développement du Br Test utilisant <i>Bacillus stearothermophilus</i>
1975	Développement du Delvotest SP utilisant <i>Bacillus stearothermophilus</i>

1978	Développement du Penzym - test enzymatique
1991	Proposition d'une méthode de détection utilisant <i>Bacillus stearothermophilus</i> décision (91/180/CEE)
1994	Passage à la méthode de diffusion en tube
1997	Premier monitoring
2000	Texte relatif aux performances analytiques des méthodes mises en oeuvre (Draft SANCO/1085/2000)
2000	Uniformisation : Delvotest MCS sur toutes les livraisons
2004	Abandon de la lecture visuelle au profit de la lecture réflectométrique
2005	Utilisation du Copan Milk Test
2007	Modification de la méthode de confirmation - introduction des tests Rapides

(Romnée J M., 2007)

IV.2-Méthodes de dépistage

Le dépistage est effectué au moyen d'une méthode d'analyse qui donne une indication forte de la présence d'un résidu dans un échantillon (Maghuin Rogister G., 2005). Ainsi, les tests de dépistage ont pour objectifs de détecter un maximum de substances différentes à un seuil proche ou inférieur à la limite maximale des résidus. Ils doivent aussi permettre de faire rapidement des analyses sur un grand nombre d'échantillons afin de retenir qu'un faible nombre d'échantillon suspects à soumettre à une méthode de confirmation. Ces tests microbiologiques présentent l'intérêt d'avoir un spectre large, néanmoins ils présentent des inconvénients tels que le manque de sensibilité à certains antibiotiques et l'éventuelle sensibilité à des inhibiteurs naturels (Fabre J M .et al., 2002). Parmi ces tests, la méthode de référence est la méthode des 4 boîtes, on peut citer aussi les tests microbiologiques sous forme de kits qui sont basés sur la croissance ou l'inhibition d'une culture bactérienne : le Premi®Test et Delvotest® (Verhnes R., Vandaele E., 2002., Scippo M L., Maghuin Rogister G., 2006 ., Patrick E., Didier O., 2006 ., Patrick E., 2011).

IV.2.1 La méthode d'acidification

C'est une méthode d'acidification au *Streptococcus thermophilus*, suivie de la confirmation par la méthode de diffusion sur gélose au *Bacillus stearothermophilus*. Le test officiel français d'acidification est un test de dépistage pour l'ensemble des résidus d'antibiotiques capables d'inhiber le développement de *Streptococcus thermophilus* dans le lait (Gaudin V., 2005).

Principe

L'échantillon de lait est préalablement chauffé afin de réduire au maximum sa flore microbienne et de détruire les inhibiteurs naturels. Il est ensuiteensemencé avec une souche de *Streptococcus thermophilus* sensible aux antibiotiques et, en présence du triméthoprime, aux sulfamides ; l'addition d'extrait de levure permet d'accélérer la croissance de l'organisme-test. Après incubation de la culture, la production d'acide par les germes (qui transforment le lactose en acide lactique), révélée par un indicateur de pH et mise en évidence par changement de couleur d'un indicateur ajouté au milieu, est comparée à celle d'une culture témoin préparée à partir de lait exempt d'antibiotiques. En présence d'antibiotiques ou de sulfamides, la production d'acide de l'organismetest est ralentie ou complètement inhibée (Tainturier D., 1981., Gaunin V.,2005) donc il n'y a pas de production d'acide dans l'échantillon, ce qui ne fera pas coaguler le lait et l'indicateur de pH ne changera pas de couleur (Brouillet P., 1994) de ce fait les résultats sont exprimés selon Brouillet P (1994) et Tainturier D (1981) de la manière suivante :

- résultat positif, lorsque l'échantillon de lait à examiner présente une coloration bleue.
- résultat négatif, lorsque l'échantillon de lait à examiner présente une coloration jaune.
- résultat douteux, lorsque le lait présente une coloration intermédiaire entre celle du témoin positif et celle du témoin négatif.

Seuls les résultats positifs ou douteux sont alors soumis à la confirmation par les tests de diffusion sur gélose faisant intervenir trois germes différents : *Bacillus steatermophilus*, *Bacillus subtilus* et *Bacillus megaterium*. Les trois tests reposent sur le même principe : un disque de papier filtre imprégné de lait à tester est déposé à la surface d'une gélose ensemencée. Les éventuels résidus diffusent concentriquement dans la gélose autour du disque, ce qui donne, après incubation, une zone dans laquelle le développement du germe a été inhibé ,si le diamètre de cette zone d'inhibition est supérieur à 10 mm, le résultat est considéré comme positif (Brouillet P., 1994.,Abidi K., 2004).

IV.2.2-Delvotest

Delvotest® est un test à large spectre de détection des résidus d'antibiotiques dans le lait qui offre la possibilité de vérifier la présence dans le lait d'une multitude de substances antimicrobiennes différentes. C'est le test le plus utilisé, et plusieurs versions sont proposées. C'est un test biologique simple, standardisé, fondé sur la multiplication d'un germe : *Bacillus steatermophilus var. calidolactis* (Reybroeck W., 2004), très utilisé par les laiteries, offre un

large spectre de détection et une bonne sensibilité vis-à-vis des pénicillines qui représentent le plus grand risque technologique (Romnee J M .et al., 1998).

Principe

Le Delvotest® T est basé sur l'inhibition de la croissance du *Bacillus stearothermophilus*, bactérie très sensible à de nombreux antibiotiques et aux sulfamides. De plus, ce test propose une détection améliorée des tétracyclines, par rapport aux précédents tests appelés Delvotest® SP ou SP NT (également appelé MCS). Des spores standardisées sont incluses dans de la gélose additionnée de nutriments sélectionnés(Althaus RLTA .et al ., 2003 .,Valérie G., 2013).

Méthode

Le Delvotest® T est d'une utilisation simple. Le lait est déposé dans des tubes contenant de la gélose au sein de laquelle se trouvent ensemencées les spores de *Bacillus stearothermophilus*. Ensuite, il faut incuber le tube pendant environ 3 heures à 64°C et vérifier la couleur (Valérie G.,2013)

Le Delvotest est réalisée par plusieurs étapes sont suivant observes le figure 8:

1: Préparation

Couper le nombre d'ampoules « nécessaires avec une paire de ciseaux. Faire attention de ne pas endommager la protection des ampoules inutilisées.

2: Enlever la protection sur l'ampoule

Identifier chaque ampoule par un numéro d'échantillon.

3: Prendre un échantillon de lait

Mettre un embout sur la seringue. Appuyer sur le piston complètement et plonger complètement dans le lait. Laisser remonter le piston.

4: Inoculation

Vider la seringue dans l'ampoule correspondante en relâchant doucement le piston. Utiliser un embout de pipette neuf pour chaque échantillon.

5: Incubation

Vérifier la température de l'incubateur (ou du bain-marie) (64°C ±2°C). Mettre les ampoules dans l'incubateur. Programmer le chronomètre sur 3 heures ou utiliser la lecture à partir du témoin.

6: Résultats

Après 3 heures, enlever les échantillons de l'incubateur. Lire la couleur au 2/3 inférieur de l'ampoule après le temps d'incubation requis(Kukurova I.,Hozova B.,2003 .,Valérie G.,2013).

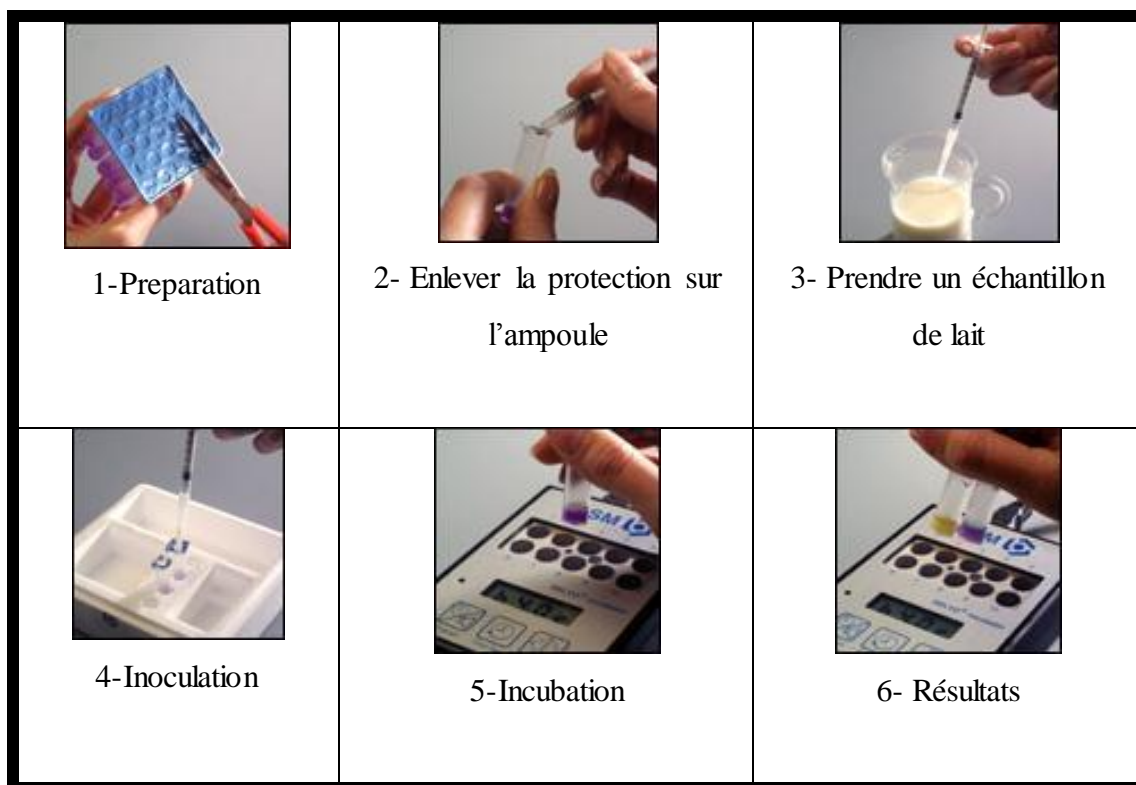


Figure VIII: les principaux étapes des Delvotest(Valérie G.,2013)

IV.2.3.β-Star

C'est un test rapide, simple d'emploi, du type Récepteur Assay. Le test est basé sur l'emploi d'un récepteur spécifique lié à des particules d'or (Moretain J P., 2000., Maghuin Rogister JM .et al.,2001., Brouillet P.,2002., Reybroeck W.,2004., Gaudin V., 2005., Scippo M L., Maghuin Rogister J M., 2006). Il permet la détection rapide, dans le lait, des résidus de pénicillines et de céphalosporines (Moretain J P., 2000., Gaudin V., 2005).

Principe

Lors de la première étape d'incubation, les antibiotiques beta-lactamines, s'ils sont présents, se lient au récepteur. Pendant la seconde étape d'incubation, le lait migre sur un support immunochromatographique (membrane fixée à une bandelette) qui comporte deux bandes de capture (Brouillet P., 2002., Reybroeck W., 2004). La première bande retient tous les récepteurs qui n'ont pas lié d'antibiotiques pendant la première étape, faisant apparaître une coloration rouge intense qui traduit une absence de résidus. En cas de présence de beta-lactamines en excès, les complexes récepteurs-antibiotiques formés ne peuvent pas se lier et aucune coloration n'apparaît. La deuxième bande, basée sur la fixation d'un anticorps, sert de

référence et fait apparaître dans tous les essais une coloration rouge d'égale intensité (Maghuin Rogister J M .et al ., 2001), le principe des réactions du β -STAR est résumé sur la figure 9.

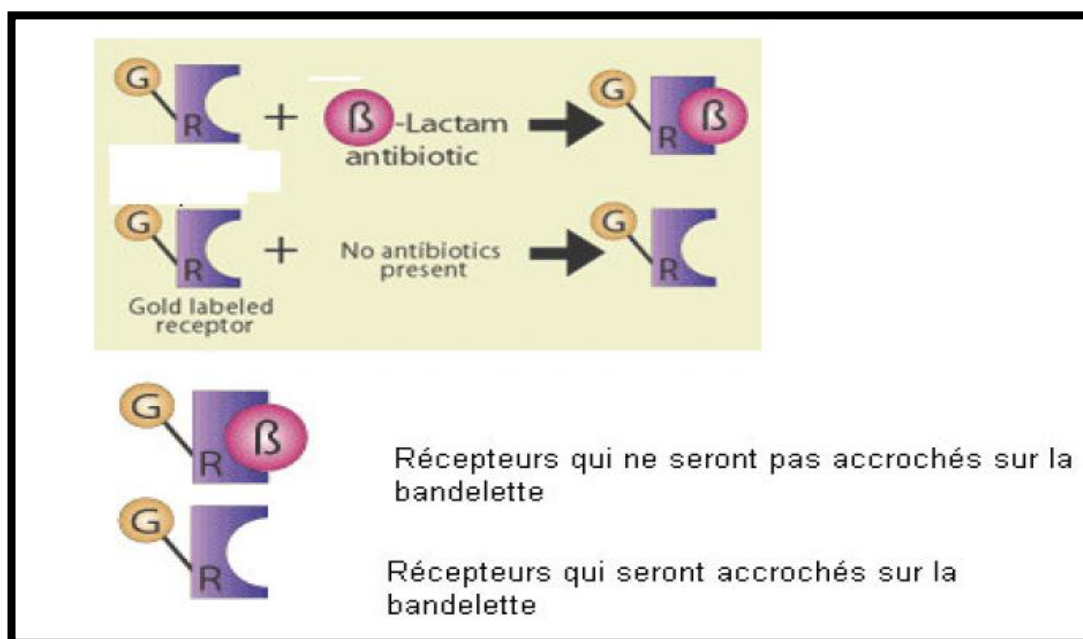


Figure IX : Schéma principe de réaction du β - STAR (Gaudin V., 2005)

Le résultat est exprimé en comparant l'intensité des deux bandes, si le lait est négatif la bande-test se colore en rouge plus intense que la bande-témoin, s'il est positif la bande-test est totalement absente (Reybroeck W., 2004 ., Scippo M L ., Maghuin Rogister J M., 2006) comme le montre la figure 10.

Le β -STAR étant un test qualitatif, voire semi-quantitatif (Maghuin Rogister JM .et al., 2001).

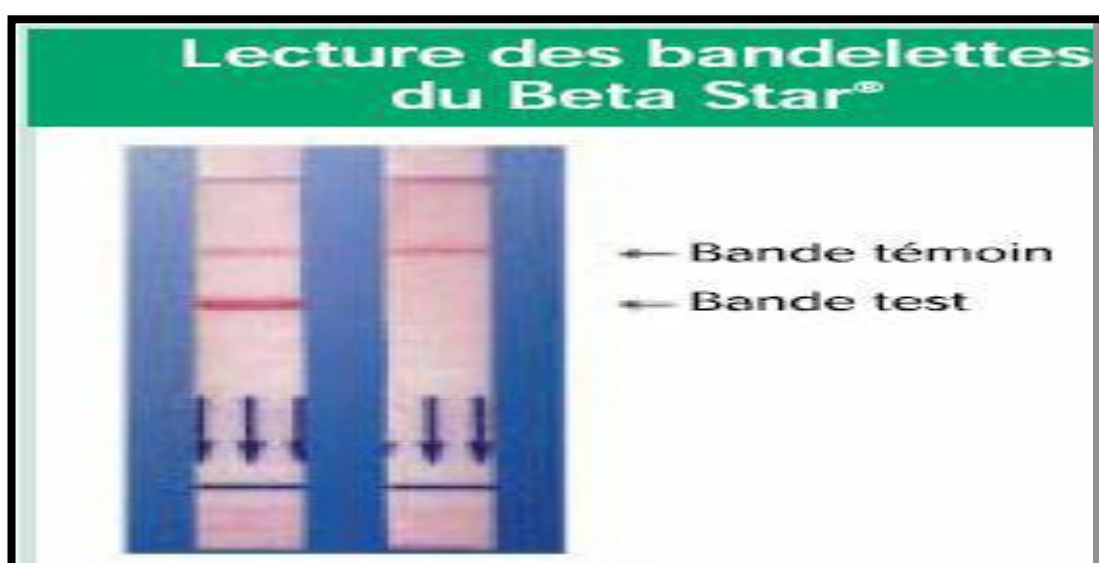


Figure X: interprétation des résultats du β -STAR (Reybroeck W., 2004)

V.2.4. Le test Eclipse

pour la détection qualitative d'inhibiteurs dans le lait cru de chèvre permet de vérifier que la dose d'antibiotiques ne soit pas supérieure aux limites maximales de résidus permises (LMR) (**Brunet Lilco J.,2004**).

Principe de la méthode

ECLIPSE 100 est basé sur l'inhibition de la croissance de la bactérie *Bacillus stearothermophilus var. calidolactis* par la présence d'antibiotiques dans l'échantillon de lait. L'essai consiste à déposer un volume déterminé d'échantillon de lait dans chaque puits de la microplaque. Ces puits contiennent un milieu de culture spécifique avec des spores de *B. stearothermophilus var. calidolactis* et un indicateur acide base. Lors de l'incubation à 65°C, les spores germent et se multiplient en acidifiant le milieu pendant leur croissance et en provoquant le changement de couleur de l'indicateur, du bleu violet au jaune verdâtre. Si l'échantillon de lait contient une concentration d'antibiotiques ou de sulfamides supérieur à la limite de détection du test, la croissance du microorganisme est inhibée et de même la production d'acide, empêchant ainsi le changement de couleur de l'indicateur, le puits gardant la couleur bleu violet(**Brunet Lilco J.,2004**).

IV.2.5. Penzym test

Le Penzym est un test qualitatif, facile d'emploi, très rapide et spécifique des antibiotiques de la famille des bêtalactames et se base sur une réaction enzymatique et colorimétrique (**Brouillet P., 1994**).

principe du Penzym test

L'enzyme (DD carboxypeptidase) ajouté dans l'échantillon, réagit lors de l'incubation avec les antibiotiques pour former un complexe stable. L'excès d'enzyme libre toujours présent dans l'extrait le lait hydrolyse un substrat de type R-D-Ala-DAla. La D-Ala ainsi formée est oxydée en acide pyruvique par une D-amino-acide oxydase avec formation simultanée d'eau oxygénée. Cette dernière est utilisée pour oxyder, sous l'action d'une peroxydase, un indicateur organique redox non coloré (l'o-dianisidine) qui évoluera en un composé de couleur rose orange (**Maghuin Rogister J M .et al., 2001**). La figure (11) montre le principe de base du Penzym test (**Brouillet P., 1994.,Moretain J P., 2000 .,Brouillet P., 2002 .,Abidi K., 2004**).

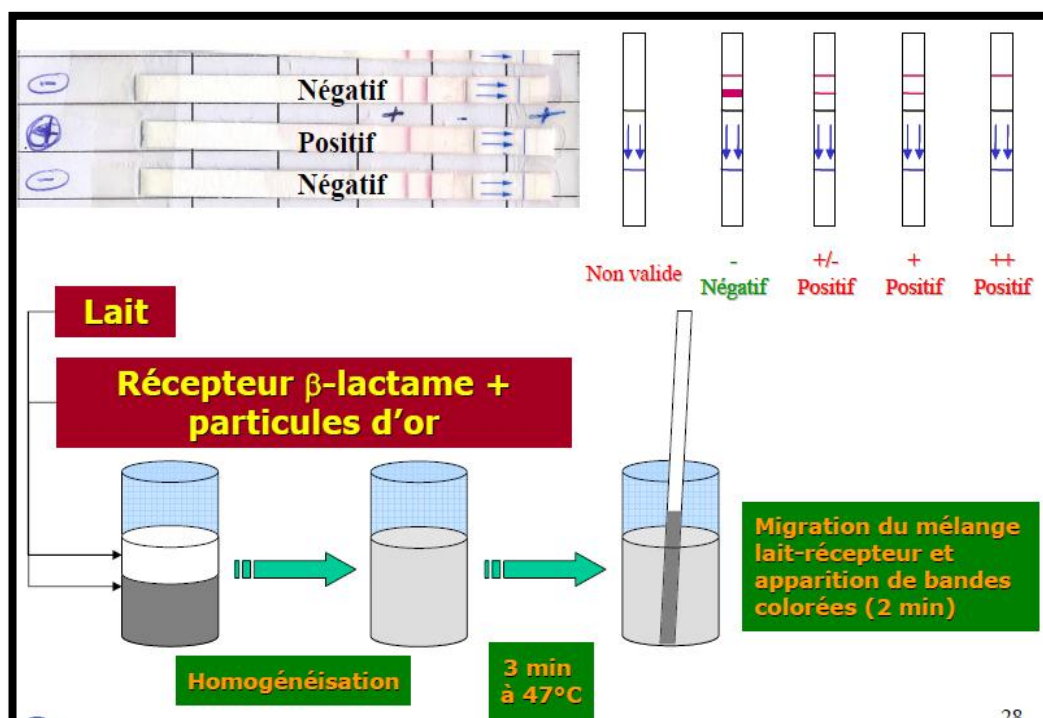


Figure XI : Schéma de principe du PENZYME TEST (Romnee J M., 2007).

En résumé :

Lait + antibiotique + enzyme (DD-carboxypeptidase) \longrightarrow {AB-Enzyme} donne un complexe stable.

Enzyme en excès + substrat (R-D-Ala-D-Ala) \longrightarrow D-Ala hydrolysée

D-Ala + D-amino acide oxydase \longrightarrow acide pyruvique + H₂O₂

H₂O₂ + o-dianisidine + peroxydase \longrightarrow indicateur organique redox Selon Maghuin-Rogister et al (2001) et Moretain (2000), si la couleur finale est :

- rose orange \longrightarrow l'échantillon est négatif

- orange \longrightarrow l'échantillon est douteux

- jaune \longrightarrow l'échantillon est positif (Brouillet P., 1994., Moretain J P., 2000 ., Brouillet P., 2002 ., Abidi K., 2004).

IV.2.6. Tests Elisa

Le test ELISA, quand à lui, se base sur le même principe que le RIA mise à part le fait que le marquage est enzymatique au lieu d'être radioactif. Les tests ELISA disponibles dans le commerce sont entre autres: le LacTek β-lactam, le Cite Probe et le Delvotest. Les résultats finaux obtenus sont basés sur un changement de couleur (Maghuin Rogister J M .et al., 2001., WHO., 2013).

La figure (12) montre le principe de base de l'ELISA.

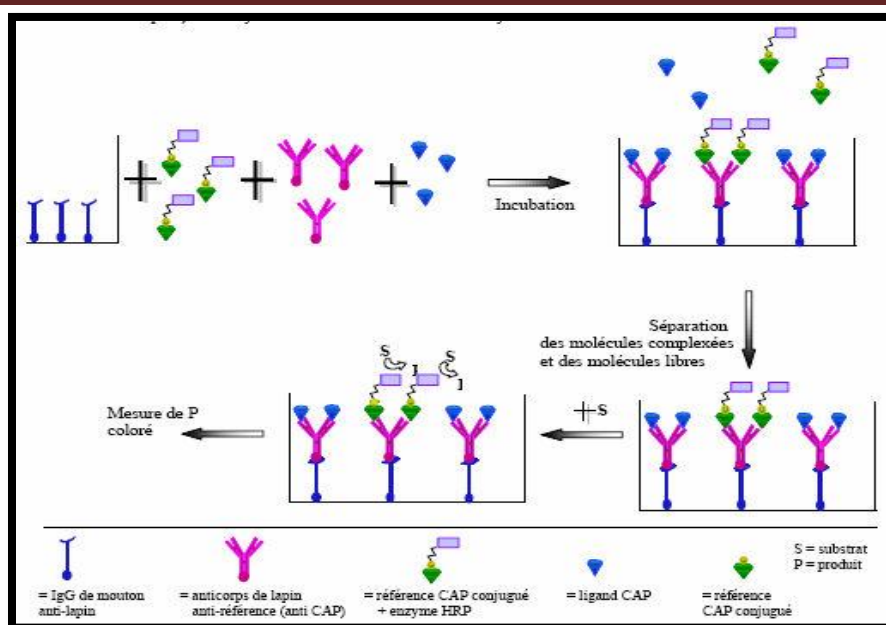


Figure XII : Schéma de principe d'ELISA (Maguin Rogister J M. et al., 2001)

IV.2.7 Snap Test

Il utilise une méthode immuno-enzymatique, les récepteurs peuvent se lier soit à l'antibiotique contenu dans le lait, soit aux antibiotiques fixés à la surface du test. Chaque kit individuel prêt à l'emploi comprend une pipette pour le prélèvement du lait, un tube à essai contenant une pastille réactif (récepteur), un dispositif snap « encliquetable » et un bloc chauffant pouvant contenir de deux à six tests (Boultife L., 2009).

Principe

Le lait et le récepteur sont mis en contact pendant 5 min à 45 °C et sont ensuite versés dans le puit de l'échantillon du dispositif Snap. Le liquide migre ensuite sur le cercle d'activation bleu qui se décolore. Pendant cette migration, les récepteurs encore libres se lient aux antibiotiques fixés au niveau de la tache échantillon. La lecture est réalisée après 4 min soit visuellement soit à l'aide d'un lecteur automatique en comparant la tache témoin et la tache échantillon (Moretain J P., 2000., Brouillet P., 2002., Reybroeck W., 2004) comme le résume la figure 13.

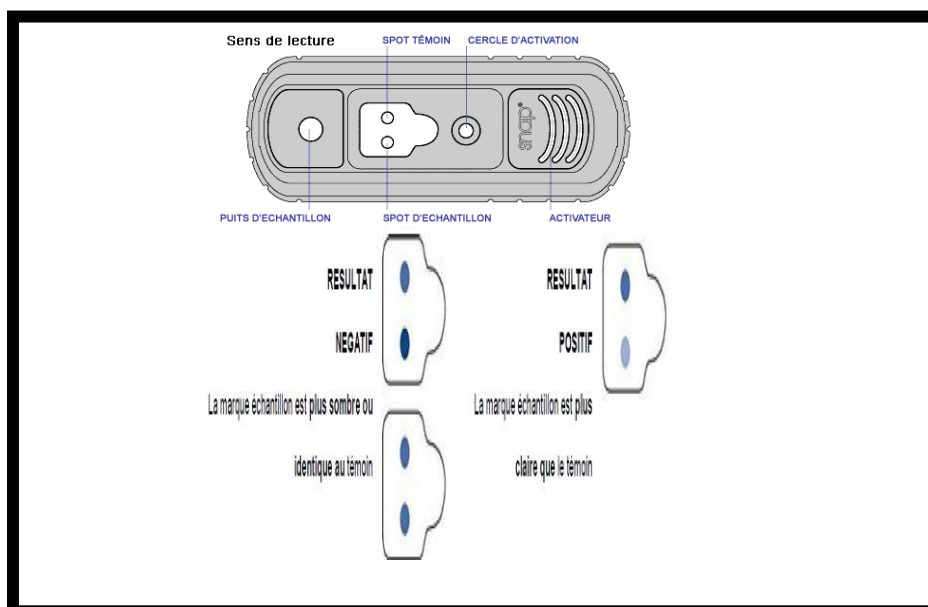


Figure XIII : lecture du Snap test (Reybroeck W., 2004)

IV.2.8 Charm Test

Il permet la détection de nombreux antibiotiques (pénicilline, tétracycline, macrolides, sulfamides, aminoglycosides...) par une réaction d'immunocompétition entre la molécule à rechercher et une molécule marquée au C14 ou H3 (Moretain J P., 2000., Brouille R., 2002). C'est un test de compétition mesuré par radioactivité (propriétés de scintillement du lait contaminé) qui permet une identification précise et un dosage, qui peut être calé sur les seuils des limites maximales des résidus. Il nécessite un investissement important mais permet d'identifier l'inhibiteur présent (Brouillet P., 2002., Verhnes R., 2002).

Principe

Le principe est simple, on met en contact une culture de bactéries (récepteur) avec un antibiotique marqué qui se fixe sur le site spécifique des bactéries. Si le même antibiotique est présent dans le lait à tester il y'a compétition et une partie des molécules marquées ne se fixe pas. Après centrifugation et filtration, on effectue le dosage avec un compteur de particules, par comparaison avec un témoin négatif (Brouillet P., 2002) ce qui est illustré sur la figure 14.

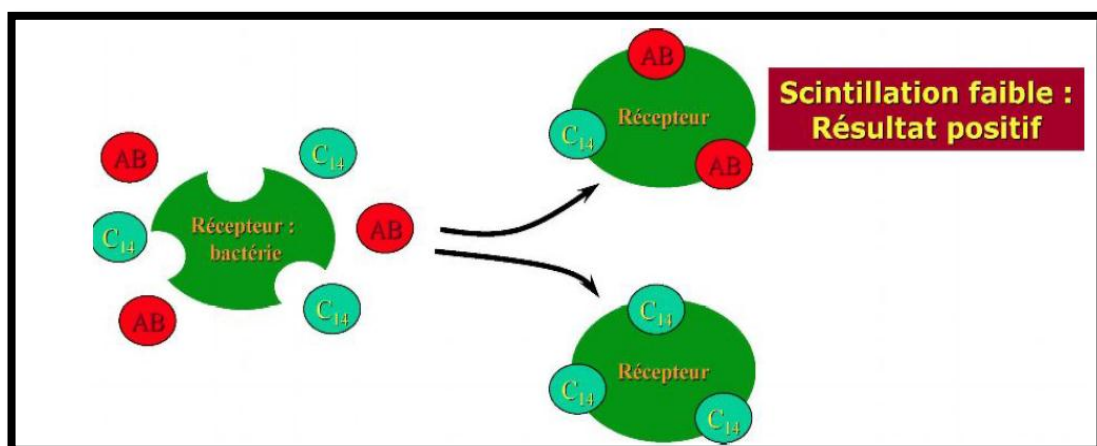


Figure XIV: principe de Charm test II (Verhnes R., 2002)

IV.2.9. Copan Milk Test

Le Copan milk est un test microbiologique, très proche de Delvotest, il utilise aussi *Bacillus steaterophilus var. calidolactis*, nécessite la même durée et la même température d'incubation, le même réactif coloré mais il est prêt à l'emploi, son milieu gélosé contient tous les ingrédients pour la réaction (Brouillet P., 2002).

Principe

0.1 ml de lait à tester est introduit dans une ampoule à l'aide d'une pipette à embout jetable, l'ampoule est fermée au moyen d'un ruban adhésif et placée pendant trois heures à 64 plus au moins 0.5°C dans un petit incubateur, il y a virage au jaune du milieu s'il y'a absence de substances antibiotiques alors que le milieu reste violet en présence de cette dernière comme le montre la figure 15. Le Copan milk test présente un haut degré de sensibilité permettant ainsi la détection d'un large spectre d'antibiotiques (Reybroeck W., 2004).

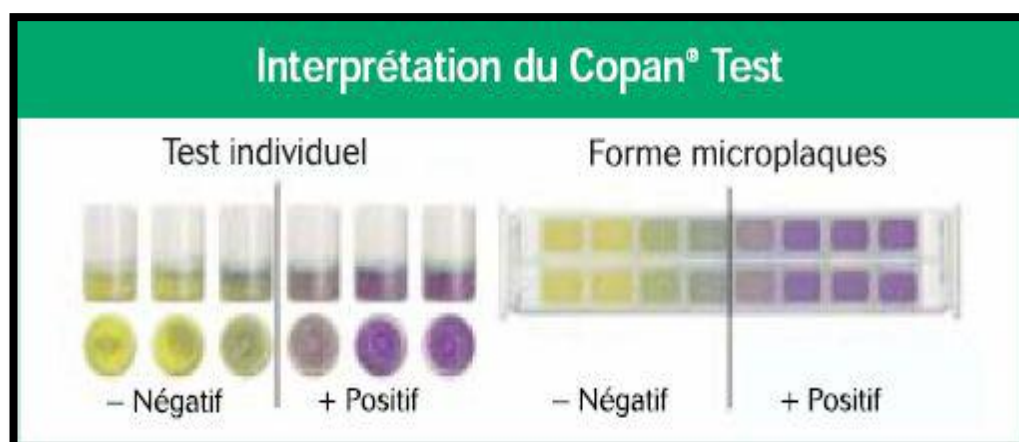


Figure XV: interprétation des résultats de Copan milk test (Reybroeck W., 2004)

IV.2.10. Valio T101

Il présente le même principe que Delvotest mais utilise *Streptococcus thermophilus* (bactérie mise en oeuvre dans la fabrication du yaourt et dans les tests d'inhibition de l'ancienne méthode officielle). Le révélateur d'acidification est aussi un réactif coloré. La sensibilité du test avait l'avantage d'être très voisine de celle de Delvotest (**Moretain J P., 2000 ., Brouillet P., 2002**) mais il est plus long dans son opération, ce qui en limite davantage l'intérêt (**Verhnes R ., Vandaele E., 2002**).

IV.2.11. La Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC)

Une analyse HPLC permet la séparation de composés en solution élués à travers une colonne chromatographique à l'aide d'une phase mobile liquide, elle-même percolée grâce à une pression élevée. Il existe une réelle interaction triple entre l'analyte, la phase stationnaire et la phase mobile basée sur l'affinité physicochimique entre les trois (**Marcoz N., 2003**).

Principe

La phase mobile parcourt un tube appelé colonne, cette colonne peut contenir des granulés poreux (colonne remplie) ou être recouverte à l'intérieur d'un film mince (colonne capillaire). Dans les deux cas, la colonne est appelée phase stationnaire (**Anonyme C., 2006**).

Le mélange à séparer est injecté à l'entrée de la colonne où il se dilue dans la phase mobile qui l'entraîne à travers la colonne ,ce mélange doit être poussé à haute pression afin d'assurer un débit constant dans la colonne et y éviter toute perte de charges (**Anonyme D., 2007**).

Si la phase stationnaire a été bien choisie, les constituants du mélange appelés généralement les solutés, sont inégalement retenus lors de la traversée de la colonne (**Boultif L.,2009**)

De ce phénomène appelé rétention il résulte que les constituants du mélange injectés se déplacent tous moins vite que la phase mobile et que leurs vitesses de déplacement sont différentes. Ils sont ainsi élués de la colonne les uns après les autres et donc séparés .Chaque soluté est donc soumis à une force de rétention (exercée par la phase stationnaire) et une force de mobilité (due à la phase mobile)(**Anonyme E., 2006.,Panaiva L., 2006**).

Un détecteur placé à la sortie de la colonne couplé à un enregistreur permet d'obtenir un tracé appelé chromatogramme, en effet, il dirige sur un enregistreur un signal constant appelé ligne de base en présence du fluide porteur seul ; au passage de chaque soluté séparé, il conduit dans le temps à l'enregistrement d'un pic (**Boultif L., 2009**).

Dans des conditions chromatographiques données, le "temps de rétention" (temps au bout duquel un composé est élué de la colonne et détecté), caractérise qualitativement une

substance. L'amplitude de ces pics, ou encore l'aire limitée par ces pics et la prolongation de la ligne de base permet de mesurer la concentration de chaque soluté dans le mélange injecté.

Le principe est donc d'exploiter les interactions entre les solutés et les deux phases (mobile et stationnaire) pour séparer ces solutés en fonction de leurs affinités et ainsi de les identifier et ou de les doser (Panaiva L., 2006).

La chromatographie liquide haute performance classique fait intervenir des mécanismes d'échange soluté, phase mobile et phase stationnaire, basés sur les coefficients de partage ou d'adsorption selon la nature des phases en présence (Marcoz N., 2003., Anonyme D., 2007).

IV.3. Les avantages et désavantages des différents tests dépistage

Les différents tests de dépistage présentent des avantages et désavantages variés qui sont représentés dans le tableau 13.

Tableau XIII : Les avantages et désavantages quelques tests dépistage

Modes de détection	Déférents tests	Avantages	Désavantages
Microbiologique	*Delvotest *Copan Milk Test *Valio T101	-Simples -Nécessitent peu d'équipement. -Nécessitent un volume réduit d'échantillon. -Présentent un large spectre de detection - Relativement sensibles. -Relativement rapides . - Peu couteux. Possibilité d'avoir une information sur le groupe -Possibilité d'automatisation - Bien adaptés pour les	-Lecture de la coloration parfois subjective -Interférences possibles -Trop lents pour être utilisés l'entrée d'usine - Non spécifiques - Non quantitatifs -Certaines substances peu ou pas décelées -La sensibilité depend des conditions de Pa souche test

		tests de screening	
Rapide	<ul style="list-style-type: none"> *Beta star *Penzym *Charm test 	<ul style="list-style-type: none"> -Spécifiques -Sensibles Applicables sur différentes matrices -Semi-quantitatifs -Résultats d'analyse rapidement obtenus - Bien adaptés pour être utilisés a l'entrée d'usine 	<ul style="list-style-type: none"> -Coût -Manipulations plus importantes que les tests microbiologiques -Spécificité -Sensibilité -Réactions croisées (résultats faux positifs) -Effets de matrice possibles (nature de l'échantillon) -Anticorps pas toujours disponibles

(Romnee JM.,2007)

CONCLUSION

Le lait est un partenaire important de notre alimentation quotidienne, il joue un grand rôle dans le régime alimentaire de la population de notre pays et représente une source importante des éléments minéraux, glucides, protéines et lipides.

Néanmoins L'utilisation des antibiotiques dans les élevages laitiers périurbains est une pratique courante et inévitable, la présence des résidus de ces antibiotiques dans le lait risque de nuire à la santé du consommateur, et peut nuire au processus de transformation de lait qui devrait constituer une préoccupation constante des industriels de la filière laitière en Algérie, de par la dépréciation qualitative et quantitative de la production laitière qu'ils induisent. Par conséquent, la mise en place d'un système de contrôle régulier pour ne pas dire systématique du lait destiné à la transformation devient dès lors nécessaire pour cette filière, et afin d'éviter ou de réduire les conséquences néfastes sur la santé publique il convient de :

- respecter la prescription du vétérinaire (délai d'attente ; voie d'administration) par les éleveurs .
- Surveiller les filières d'approvisionnement en médicaments vétérinaires et réglementer les conditions d'utilisation des antibiotiques par les pouvoirs publics.
- réduire le besoin d'antibiotiques en appliquant les bonnes pratiques d'élevage et le renforcement des programmes de vaccination et les conditions d'hygiène. de cette manière, l'utilisation des antibiotiques peut être limitée à des fins thérapeutiques seuls.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

1. Abjean J P.,(1997).

Planar chromatography for the multiclass, multirésidue screening of chloramphenicol, nitrofurans, and sulfonamide residues in pork and beef. *JAOAC Int.*, 1997, 80, 737-40.

2. Abiola F A., Biaou C. et Faure P.,(1999).

Bon usage du médicament vétérinaire et résidus médicamenteux dans les aliments. (125-128) In: Quatrième séminaire sur les médicaments vétérinaires en Afrique. Dakar, EISMV, 6 - 10 décembre 1999.- Paris: IUE.- 153p

3. Abidi K., (2004).

Résidus d'antibiotiques dans le lait de boisson, Thèse : Médecine vétérinaire École nationale de médecine vétérinaire de Sidi Thabet, Tunisie, p. 6-2

4. Adam Y., Boudet-Dalbin R., Brion J. D., Buxeraud J., Castel J. et al.,(1992).

- Traité de chimie thérapeutique. Volume 2 : Médicaments antibiotiques. Editions : Médicales Internationales.

5. Adam F., Drouillard I.,(2003).

Sulfamides et associations. *Encycl Méd Chir, Maladies infectieuses*, 8-004-A-10, 2003 : 9 p.

6. Adrian J., Potus J. et Frangne R., (2004).

La science alimentaire de A à Z, 2ème édition, Tec et Doc, Lavoisier : 79 (477 pages).

7. AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments) ,(2003).

Méthode de dosage multi-résidus de 7 pénicillines dans le lait entier par chromatographie liquide haute performance avec détecteur UV multilongueur d'onde.- Paris -Fougères: AFSSA.- 26p

8. AFSSA.,(2006).

Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine. 214p.

9. AIEMV (Association Interprofessionnelle d'Etude du Médicament Vétérinaire), (2006).

Marché 2005 France. Chiffres Clefs. In: Syndicat de l'Industrie du Médicament Vétérinaire et Réactifs. *Site du Syndicat de l'Industrie du Médicament Vétérinaire et Réactifs*. [en-ligne], dernière mise à jour 2 juin 2006. Paris (Fr) : SIMV
[<http://www.simv.org/Chiffres/Chiffres2005.htm>] (consultée le 7 septembre 2006).

10. Akoda K., (2004).

Transfert, adaptation et validation de méthodes Simples de détection des résidus D'oxytetracycline et de sulfamides dans le lait. Mémoire, EADA. De Dakar, 27p.

11. Alais C., (1983).

Science du lait principe de technique laitière .4^{ème} édition SEBAIC :327-502.

12. Althaus rt A., Montero A., Balasch S., Molina M P., (2003).

Detection limits of antimicrobials in ewe milk by Delvotest photometric measurements. Journal of Dairy Science. 86:457-463.

13. Allain P (a) ., (2006)

Antibiotiques agissant sur la membrane plasmique : colistine Extrait du livre "Les médicaments" 3^{ème} édition ,<http://www.pharmacorama.com/Rubriques/Output> ,Date de consultation le 16/11/2007.

14. Allain P (b) ., (2006).

Antibiotiques agissant sur la paroi des microbes ,Extrait du livre "Les médicaments" 3^{ème} édition ,<http://www.pharmacorama.com/Rubriques/Output>,Date de consultation le 16/11/2007.

15. Allain P (c) ., (2006).

Bêta-lactamines, pénicillines et céphalosporines, Extrait du livre "Les médicaments" 3^{ème} édition, <http://www.pharmacorama.com/Rubriques/Output>, Date de consultation le 16/11/2007.

16. Amellal R., (1995).

La filière lait en Algérie : entre l'objectif de la sécurité alimentaire et la réalité de la dépendance. CIHEAM - Options Méditerranéennes, Série B, 14 :230-238

17. Amiot J., Fournier S., Lebeuf Y., Paquin P., Simpson R et Turgeon H., (2002).

Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait In VIGNOLA C.L, Science et technologie du lait – Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, ISBN:3-25-29 (600 pages).

18. Anonyme A., (2012).

Détection des antibiotiques -Note d'information aux laiteries ,Cniel :Centre nationale interprofessionnel de l'économie laitière. Février 2012.4p.

19. Anonyme B., (2013).

Détection des résidus d' antibiotiques--Note d'information aux producteurs ,Cniel :Centre nationale interprofessionnel de l'économie laitière. Octobre 2013.4p

20. Anonyme C., (2006).

La chromatographie

Cours : Chimie physique expérimentale, université Paris Diderot UFR de Chimie
<http://www.chimie7.jussieu.fr/spip/IMG/pdf/Cours-L2-Spectro-Chap4a-3.pdf>, Date de consultation le 08/12/2007.

21. Anonyme D., (2007).

La chromatographie liquide haute performance,

http://www.culture.gouv.fr/culture/conservation/fr/methodes/chrom_08.htm , Date de consultation le 05/02/2008

22. Anonyme E., (2006).

La chromatographie liquide haute performance, Cours de chimie organique, minérale et structurale, Académie de Nancy, Metz ,<http://www.ac-nancymetz.fr/enseign/Physique/HPLC.htm>

23. Avril J L., Fauchère J L.,(2002).

Bactériologie générale et médicale. Ed Ellipses. P : 141.

24.Baaziz S.,Ben Ghodbane H.,(2009).

Le maladie transmise par le lait, Université Badji Mokhtare Annaba, Biologie (ecotoxicologie)2009.Categorie Biologie et Médecine .38p.

25.Bergogne Bérézin E ., Dellamonica P ., (1999).

Antibiothérapie en pratique clinique ,Édition MASSON, p. 2-13.

26.Béal C., Sodini I., (2012).

Fabrication des yaourts et des laits fermentés, Techniques de l'Ingénieur f6315, Paris- France, 16p.

27. Ben Youssef S(a),,(2013).

Résidus d'antibiotiques dans les DAOA et résistances bactériennes ,Société Scientifique Tunisienne de Médecine Vétérinaire Aviaire Hammamet 16 mars 2013.50p.

28. Ben Youssef S(b),,(2013).

Les Tetracyclines .

Société Scientifique Tunisienne de Médecine Vétérinaire Aviaire Hammamet 2013.64p.

29. Ben Youssef S(c),,(2013).

Médicaments anti-infectieux en médecine vétérinaire.

Société Scientifique Tunisienne de Médecine Vétérinaire Aviaire Hammamet 16 mars 2013.140p.

30. Ben Youssef S(d),,(2013).

Les Diaminopyrimidines

Société Scientifique Tunisienne de Médecine Vétérinaire Aviaire Hammamet 2013.30p

31. Ben Youssef S(e), (2013).

Société Scientifique Tunisienne de Médecine Vétérinaire Aviaire Hammamet 2013.116p.

32. Bizet J., (2000).

Sécurité alimentaire : le Codex Alimentarius. Rapport d'information 450 (1999-2000)-
Délégation du SENAT pour l'Union Européenne. 7p

33. Bourbouse A., Chouchen A., Eddebbagh A., Pluinage J., Yakhf H., (1989).

Analyse comparée de l'effet des politiques laitières sur les structures de production et de collecte dans les pays du Maghreb. In: Le lait dans la région méditerranéenne. Options Méditerranéennes, Série A, Séminaires méditerranéens, n°6, 247-258.

34. Boumghar M Y., (2000).

La filière lait en Algérie: une production largement insuffisante. Agroligne, n°3, 8-9.

35. Bourbouze A., (2001).

Le développement des filières lait au Maghreb ; Algérie, Maroc, Tunisie: Trois images, trois stratégies différentes. Agroligne, n°14, 9-19.

36. Boultif L., (2009).

Thème :Optimisation Des Paramètres De Détection Et De Quantification Des Résidus D'antibiotiques Dans Le Lait Par Chromatographie Liquide Haute Performance (Hplc)
Mém :Présenté Pour L'obtention Du Diplôme de Magister En Médecine Vétérinaire.
Département Des Sciences Vétérinaires EL KHROUB ,196p.

37. Boutonnier J L., (2012).

Fabrication du fromage fondu, Techniques de l'Ingénieur, f6310, Paris-France, 14 p.

38. Brunner J., (1981).

Cow milk proteins: twenty five years of progress. J dairy Sci, 1981,64 : 1038-1054. In
POUGHEON S.,2001 Contribution a l'étude des variations de la composition du lait et ses

conséquences en technologie laitière thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse, France: 31(102 pages).

39. Brugere H., (1992).

Pharmacologie chez les oiseaux. Manuel de pathologie aviaire, édition : Jeanne Brugere-Picoux et Amer Silim, 355-361.

40. Brouillet P.,(1994).

Maîtrise de la présence d'inhibiteurs dans le lait. Revue : recueil de médecine vétérinaire, n° 170, Juin-Juillet 1994, p. 443-454.

41. Brouillet. P (2002)

Résidus de médicaments dans le lait et tests de détection Revue : Bulletin des GVT n°15. Mai-Juin 2002, p. 25-41.

42. Broutin C .et al .,(2005).

Maîtrise de la qualité dans la transformation laitière, Guide de bonnes pratiques d'hygiène, Groupe de recherche et d'échanges technologiques, 94 p

43. Bryskier A (a), (1999).

Fluoroquinolones (II). Usage en thérapeutique et tolérance. Encycl Méd Chir, Maladies infectieuses, 8-004-B-11, 1999 :14 p.

44. Bryskier A(b), (1999).

Antibiotiques agents antibactériens et antifongiques. Ed Ellipses. P: 747.

45. Brunet Lilco J.,(2004).

Méthodes officielles de détection Des résidus dans lait de chèvre. Centre de Ressource et Documentation caprie. L'égide n°36 Sept 2004. p2.

46. Branger A.,(2012).

Fabrication de produits alimentaires par fermentation : l'ingénierie, f3501, Paris-France, p. 17.

47. Bylund G., (1995).

Dairy processing handbook – Tetra pak processing systems AB S-221 86 ,Lund ,Sweden :18-23-381 (136 p).

48. Cayot G., Lorient D., (1998).

Structure et techno- fonction des protéines du lait Cd: Tech et Doc, Lavoisier. Paris : 3-22.

49. Carole L., (2002).

Science et technologie du lait ,transformation du lait ,349-354.

50. Cattoir V., (2006).

Chloramphénicol, fosfomycine, acide fusidique et polymixines. In : AntibioGramme Courvalain.P, Leclercq.R, Bingen.E .2ème édition, 2006 :P349-364

51. Chilliard Y., (1987).

La lipolyse du lait dans (le lait matière première de l'industrie laitière), CIPIL, Paris. CIRAD-FAO. France : 244-249.

52. Chaslus Dancla E., (2003).

Utilisation d'antibiotiques en élevage, résistance bactérienne et incidence en santé humaine. PolycoPié. Faculté de médecine de Tours, Maîtrise de Sciences Biologiques et Médicales. 2003, 41p.

53. Chamba J F., Irlinger F., (2004).

Secondary and adjunct cultures. In *Cheese, Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol. 1 General Aspects, P. F. Fox, P. McSweeney, T. M. Cogan, and T. P. Guinee, p. 191 206. London, UK : Elsevier Structure et techno- fonction des protéines du lait Cd: Tech et Doc, Lavoisier. Paris : 3-22.

54. Châtaigner B., Stevens A., (2005).

Investigation sur la présence de résidus d'antibiotiques dans les viandes commercialisées a Dakar (Institut Pasteur de Dakar), page 3–7, 51. <http://www.redev.info/Doc/Polagri/III-Pol-Agri>

securite-alimentaire/III-3-Dev local/Enquete_residus_AB_Senegal.pdf (Consulter le 20-11-2007).

55. Chatellet M C ., (2007).

Modalités d'utilisation des antibiotiques en élevage bovin : enquête en Anjou, page 9-90. Thèse de docteur vétérinaire, École nationale vétérinaire d'ALFORT.

56. Champagne C P., Gagnon D ., Gelais D. et Vuilleumard J C., (2009).

Interactions between *Lactococcus lactis* and *Streptococcus thermophilus* strains in Cheddar cheese processing conditions, *International Dairy Journal* 19:669–674.

57. Changeur N., Marlène Ch., (2009).

Pharmacologie des aminosides (aminoglycosides). P: 3.

58. Chilliard Y., (1987).

La lipolyse du lait dans (le lait matière première de l'industrie laitière) , CIPIL , Paris . CIRAD-FAO . France :244 -249.

59. CNEVA (Centre National d'Études Vétérinaires et Alimentaires), (1999).

Méthode de dépistage par chromatographie planaire de résidus de sulfamides dans le lait cru de bovins.- Paris-Fougère: CNEVA.- 5p

60. Coulon J B., Rock E., Noël Y., (2003).

Caractéristiques nutritionnelles des produits laitiers et variation selon leur origine. INRA Prod. Anim : 275-278.

61. Dayan A D., (1993).

Allergy to antimicrobial residues in food : assessment of the risk to man . *Veterinary Microbiology*, 1993, 35, (3-4), p213-226.

62. Dewdney J M L., Maes J P., Raynaud F., Blanc J P., Scheid T., Jackson S., Lens and C., Verschuere., (1991).

"Risk assessment of antibiotic residues of -lactams and macrolides in food products with regard to their immuno-allergic potential". Food and Chemical Toxicology 29, pp 477-483.

63. Debry G., (2001).

Lait, nutrition et santé, Tec et Doc, Paris : 21 (566 pages).

64. Dehaumont P., Moulin G., (2005).

Evol ut ion du marché des médicaments vétérinaires et de leur encadrement ,réglementai re : conséquences sur leur di sponibili té. Bullet in del 'Académie Vétérinai re de France, 2005, 158, n°2, 125-136.

65. De Vuyst L., Tsakalidou E., (2008).

Streptococcus macedonicus, a multi-functional and promising species for dairy fermentations. *Int. Dairy J.* 18:476-485.

66. Delorme C., (2008).

Safety assessment of dairy microorganisms: *Streptococcus thermophilus*. *International Journal of Food Microbiology*, 126:274–277

67. Doucet J F.,(1998).

Traduction de l'introduction de la première publication de Fleming sur la pénicilline
Édition Landbruksforlaget, Oslo, 1998, p. 80-82.

68. Duval J., (1989).

Classification et mécanisme d'action des agents antibactériens. Page : 273-296. Bactériologie médicale, édition : Leminor Léon et Véron Michel.

69. Duval J., Soussy CJ., (1990).

Antibiothérapie. Masson, 4ème édition.

70. Dubost M., (2006).

La nutrition –Montreal cheneiere Education 2006 p253 -270.

71. Elodie G., (2010).

Thèse présentée pour l'obtention du grade de -Docteur de l'université de Corse -Mention : Biochimie Biologie moléculaire .Université de Corse-pasquale paoli .Ecole doctorale environnement et société UMR CNRS 6134 SPE .Faculté des Sciences et Techniques.148p.

72. Enriquez B J., Boulouis H J., (1990).

Pharmacocinétique des anti-infectieux Rec. Méd. Vét. , 1990, 166, (3), p205-223.

73. Enjalbert F., (2003).

Alimentation de la vache laitière : les contraintes nutritionnelles autour du vêlage. Le point vétérinaire, n°236, 40-44.

74. Favier J., (1985).

Composition du lait de vache – Lait de consommation ,[http://www.horizon .documentation .fr](http://www.horizon.documentation.fr).

75. FAO/OMS (Food and Agriculture Organization of the United Nations/ Organisation Mondiale de la Santé) ,(1996).

Résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments. 3 (2); 89p

76. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) ,,2001

Initiatives récentes en matière de sécurité sanitaire et de qualité des aliments prises sous l'égide de la FAO. Rome, 28 mai - 1er juin 2001.- 5p

77. Fabre J M., Gardey L., Lherbette L., De Boisseson M., Berthelot X., (2000).

Détection des résidus de céfalexine dans le lait en cas d'allongement de la durée du traitement par voie intramammaire Revue de médecine vétérinaire, n°151, p. 965-968.

78. Fabre J., Joyes D., (2000) .

Résidus dans le lait : observation des inhibiteurs bien utiliser les médicaments proceedings : lait, qualité et santé, p 10-12

79. Fabre J M., Lepoutre D ., (2002).

Changement de méthode de détection des inhibiteurs : les conséquences pour les vétérinaires et les éleveurs Revue : Bulletin des GVT, n°15. Avril-Mai-Juin 2002, p. 33-34.

80. Fredot E ., (2006).

Connaissance des aliments – Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique , Tec et Doc , Lavoisier :25 (397 p).

81. Federicci Mathieu C., (2007).

Résidus dans le lait et sécurité alimentaire : quels risques ? quels moyens de maîtrise ? *Bull. Group. Tech. Vét.*, 2000, 7, 99-102.

82. Fiscus Mougel F., (1993).

Les résidus d'antibiotiques à usage vétérinaire dans le lait et la viande . Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université Claude Bernard , Lyon, 1993, n°53, 84p

83. Filali maltouf A., (2014).

Module de Génétique et Biologie Moléculaire – M21 .Elément 2: Biologie Moléculaire. Filière SVI - S6 Module de Génétique et Biologie Moléculaire – M21 Elément 2: Biologie Moléculaire . Laboratoire de Microbiologie et Biologie Moleculaire. Université Mohamed V-Agdal. Faculté des Sciences B.P 1014-Rebat- Maroc. 83 p.

84. Fontaine M., Cadoré J L., (1995).

Vade-mecum du vétérinaire. Vigot, 16ème édition.

85 .Form G., (2003).

Les résidus inhibiteurs dans le lait – Evolution des méthodes de détections – Facteurs de risque en région Rhône-Alpes. Thèse de doctorat vétérinaire. Université Claude-Bernard-Lyon I, 102 pp.

86. Follet G .,(2007).

Utilisation des antibiotiques chez l'animal : Problèmes et Actions Rencontres Parlementaires "Santé - Société - Entreprise" Assemblée Nationale du 12 novembre 2007 en France.

87. Francois J., Chomar M., Weber M., Gerard A.,(2003).

De l'antibiogramme à la prescription. BIOMERIEUX, 2ème édition, 2003 : p8-p22 .

88.Franworth E., Mainville I.,(2010).

Les produits laitiers fermentés et leur potentiel thérapeutique , Centre de recherche et de développement sur les aliments ,Saint – Hyacinthe .[http://www.dos .tansf.edwa.pdf](http://www.dos.tansf.edwa.pdf).

89. Gaudin P., (1999).

Origines et conséquences des substances dites inhibitrices dans la filière lait – étude au niveau d'un groupe laitier-. *Thèse Méd. Vét., Nantes*, 1999.

90.Gaucher F., (2004).

Minéraux et produits laitiers, Tec et Doc, Lavoisier:783 (922 pages).

91. Gaudin V., Maris P., Fuselier R., Ribouchon J L., Cadieu N., Rault A.,(2004).

Validation of a microbial method: The STAR protocol, a five-plate test, for the screening of antibiotic residues in milk. *Food addit.contam.*, 2004, 21, 422-423.

92. Gaudin V., (2005).

Dossier de reconduction de la validation AFNOR du test Beta-star. Valérie GAUDIN – AFSSA Fougères 15 Juin 2005. <http://www.afnor-validation.org/rapports-synthese/> pdf. Date de consultation le 24/02/2008.

93. Gauthier E .,(2006).

Les antibiotiques : l'envers du miracle, page 1-3.

<http://agora.qc.ca/mot.nsf/Dossiers/Antibiotique>. (Consulter le 03-02-2008).

94. Goursaud J.,(1985).

Coagulation enzymatique du lait. In : biotechnologie, 1 vol Lavoisier édition, Paris : 301-339

95. Gogny M., Puyt J D. et Pellerin J L.,(1999).

Classification des principes actifs. L'arsenal thérapeutique vétérinaire. (161-192) In: Dictionnaire des Médicaments Vétérinaires et des produits de Santé Animale: diagnostic; diététique, hygiène, petit matériel.- Maisons Alfort: Editions du Point Vétérinaire.- 1659p

96. Gogny M., Puyt J D., Pellerin J L .,(2001).

Classification des principes actifs. L'arsenal thérapeutique vétérinaire, page 165- 168. Editions le point vétérinaire 2001.

97. Godkin M ., Rodenburg J.,(2003).

Utilisation des médicaments vétérinaires à la ferme ,Fiche technique,Ontario :Ministère de l'agriculture et de l'alimentation division agriculture et affaires rurales ,9p.

98. Goldstein F.,(2006).

Sulfamides et triméthoprime, In : AntibioGramme Courvalain.P, Leclercq.R, BINGEN.E ,2ème édition, 2006 : P341-348

99. Guerin A.,(2003).

Mise en place d'une démarche de rationalisation du traitement des mammites des vaches laitières. Description des pratiques des éleveurs et des vétérinaires à la mise en place de l'action GTV partenaire en région Rhône-alpes. *Thèse Méd. Vét., Nantes, 2003*

100. Guillemot M D. et al .,(2006).

Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine .Document AFSSA (Agence Française de la Sécurité Sanitaire des Aliments), p. 49- 55.

101. Helali A .,(1999).

Pharmacologie fondamentale et clinique à l'usage des étudiants en médecine Édition ENG, p. 135

102.Hennel C K ., (2006).

Pharmacovigilance vétérinaire : application aux médicaments anti-bactériens, antiinflammatoires et antiparasitaires disponibles en médecine équine .Thèse de Doctorat vétérinaire, année 2006, faculté de médecine de Créteil, p. 83-99.

103.Hoden P., Coulon H., (1991).

Composition chimique du lait, [http:// www.2.vet.lyon.fr](http://www.2.vet.lyon.fr).

104.Hols P., Hancy F., Fontaine L., Grossiord B., Prozzi D. et Leblond-Bourget N., (2005).

New insights in the molecular biology and physiology of *Streptococcus thermophilus* revealed by comparative genomics. *FEMS Microbiology Reviews*, 29:435–463..

105. Hui Y H.,(1992).

Dairy Science and Technology Handbook, Wiley-VCH Verlag GmbH Edition, 1150 p.

106. IFAH Europe (International Federation for Animal Health),.(2006).

Facts and Figures about the European Animal Health Industry. In: Syndicat de l'Industrie du Médicament Vétérinaire et Réactifs. *Site du Syndicat de l'Industrie du Médicament Vétérinaire et Réactifs*. [en-ligne], Octobre 2005. Paris (Fr) : SIMV [<http://www.simv.org/Publications/FactsFigures- Octobre2005.pdf>] (consultée le 7 septembre 2006).

107. IMAO .,(1998).

Résidus de nitrofuranes dans la viande de poulet et les oeufs. Thèse: Méd. Vét. : Rabat, IAV.- 98p.

108.Iyer R., Tomar T R., Maheswari T U. et Singh R.,(2009).

Streptococcus thermophilus strains: Multifunctional lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 20:133–141.

109. Jepsen A., (1962).

Les résidus de désinfectants et d'antibiotiques dans le lait. Professeur de Bactériologie vétérinaire et d'Hygiène alimentaire. Collège Royal d'Agriculture et de Médecine vétérinaire finnoise. Thèse n° 462.

110. Jean C., Dijon C., (1993).

Au fil du lait, ISBN 2-86621-172-3.

111. Jensen R., (1995).

Handbook of milk composition – General description of milks, Academic Press, Inc (1995 p).

112. Jeantet R., Croguennec T., Mahaut M., Schuck P. et Brule G., (2008).

Les produits laitiers, 2ème édition, Tec et Doc, Lavoisier: 1-3-13-14-17 (185 pages).

113. Keohane J., Ryan K. et Shanahan F., (2009).

Lactobacillus in the gastrointestinal tract. In: Ljungh A., Wadstrom T. (Eds), Lactobacillus Molecular Biology: From Genomics to probiotics. Caister Academic Press, Norfolk, p169-189.

114. Klotins K., (2006).

Utilisation des antibiotiques comme stimulateurs de croissance: controverse et solutions.

<http://www.omafra.gov.on.ca/french/livestock/animalcare/amr/facts/05-042.htm> (Consulter le 12-11-2007).

115. Kont M., (1999).

Le lait et les produits laitiers développement de système de production. Intensive en Afrique de l'ouest ISRA/UPV-LNERV/février 1999, p25 pdf.

116. Kruse H., (1999).

Indirect transfer of antibiotic resistance genes to man. *Acta vet. scand.*, 1999, Suppl. 92, 59-65.

117. Kukurova I., Hozova B.,(2003).

Interactions of antimicrobials in milk and their detection by the disk diffusion method and Delvotest sp. Journal of AOAC International. 86:529-533

118.Lazak M., Maamar G.,(1978).

Contrôle de la qualité du lait commercialisé par les crémiers de Constantine : étude physico-chimique et pollution chimique Mémoire d'ingénieur d'état en industrie alimentaire, Constantine, p. 2-3.

119.Larpent J P.,(1997).

Microbiologie alimentaire ,techniques de laboratoire (TEC et Doc)1073.

120. Labie Ch.,(1981).

Dispositions législatives destinées à éviter la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait. *Rec. Méd. Vét.*, 1981, **157** (2), 161-167.

121. Larouche G., (2001).

Les quinolones : des années soixante à aujourd'hui. Pharmacothérapie théorique. Pharmacothérapie théorique. *Pharmactuel*.34(2) :40.

122. Laurentie M., Sanders P.,(2002).

Résidus de médicaments vétérinaires et temps d'attente dans le lait
Revue : Bulletin GVT, n°15, Avril-Mai-Juin 2002, p. 51-55.

123. Lechat P., Bisseliches F., Chardeau P., Dechy H., Juillet Y., Laugier Y., Mazzola Ch., Sterin P., Warnet A., Weber S.,(1975).

Classification des antibiotiques-Édition MASSON, 2ème édition, p. 98-99.

124. Le Minor L., Veron M.,(1989).

Bactériologie Médicale, 1989, Flammarion : 1107 p.

125. Leroy F., Devuyst L., (2004).

Lactic acid bacteria as formational cultures for the fermentation industry, *trends food science and technology* 15:67-78.

126. Leclercq R., (2006).

Macrolides-lincosamides-streptogramines, In : *Antibiogramme Courvalain P., Leclercq R., Bingen E.* 2^{ème} édition, 2006 :P299-324.

127. Linden G., (1987).

Le lait matière primaire de l'industrie laitière. CIPIL, Paris : 112-131.

128. Luquet F M., (1985).

Lait et produits laitiers (vaches, brebis, chèvre) tome1 : les laits de la mamelle à la laiterie. *Technique et documentation Lavoisier* : 261.

129. Martel J L et al., (1994).

La résistance aux antimicrobiens :ED, J. Espinases, SFB Paris, 1994 :76-85.

130. Mathieu J(a), (1998).

Initiation à la physico-chimie du lait. *Tec et Doc* : 110.

131. Mathieu J(b), (1998)

Initiation à la physicochimie du lait, guides technologiques des industries agroalimentaires Édition Lavoisier Tec&doc, p. 178-192.

132. Mathieu J., (1999).

Initiation à la physicochimie du lait, *Tec et Doc, Lavoisier, Paris*: 3-190 (220 pages).

133. Martel J L, Vandaele E., (1999).

Epidémiologie de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes chez les bovins. *Point Vét.*, 1999, 30 (198), 15-22.

134. Marty N.,(2000).

Mode d'action des principaux antibiotiques utilisés chez le brûlé. Brûlures. Vol 1. Ed. Carr. Méd.

135. Maghuin Rogister G., Janosi A., Helbo V., Van Peteghem C., Sanders E., Van Eeckhout E., Cornelis M. et Jouret M .,(2001).

Stratégie intégrée d'analyse qualitative et quantitative des résidus de substances antimicrobiennes dans les denrées alimentaires. Services scientifiques du premier Ministre Affaires scientifiques, techniques et culturelles (SSTC) France. Rapport Final SSTC, p. 13-58.

136. Maillard R.,(2002).

L'âge d'or des antibiotiques : la légende du siècle...passé. In : LAFONT J-P., MARTEL J-L., MAILLARD R. *et al.* *Antibiothérapie bovine. Acquis et consensus.* Pfizer. Maisons-Alfort : les Editions du Point vétérinaire, 2002, 37-46p.

137. Marcoz N .,(2003).

Étude de stabilité des solutions injectable d'amiodarone, Mémoire pour le travail de diplôme d'analyse pharmaceutique, université de Genève, p. 10-11.

138. Maghuin Rogister G., (2005).

Résidus et contaminants des denrées alimentaires : 25 ans de progrès dans leur analyse. Revue annal de médecine vétérinaire, n°149, p. 183-187.

139. Mezani H.,(2000).

Le lait: Une politique dévastatrice. Agroligne n°3, 10-11.

140. Merad M., Merad R .,(2001).

Toxicité des antibiotiques .Revue médecine du Maghreb 2001, n°91, p. 17.

141. Milhaud G .,(1978).

L'utilisation rationnelle des médicaments vétérinaires et le temps d'attente, page 177-185. Rec.Méd.Vét., 1978, 154 (2) ,177-185. École vétérinaire d'ALFORT (France).

142. Mittaine J.,(1980).

Les lait autre que le lait de vache , http://whqlibdoc.who.int/monograph/who_mono .

143. Milhault G., Pinault L., Person J M., Bodin G., Puyt J D., Enriquez B. et Euzeby J .,(1982).

Les antibiotiques .École nationale vétérinaire d'Al Fort et de Nantes, p. 2-135.

144. Michel A., Wattiaux Ph D., (1998).

Mammite ; la maladie et sa transmission. L'Institut Babcock pour la Recherche et le Développement International du Secteur Laitier. Essentiels Laitiers Université du Wisconsin à Madison : 5p.

145. Michaylova M., Minkova S., Kimura K., Sasaki T. et Isawa K.,(2007).

Isolation and characterization of *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* from plants in Bulgaria. *FEMS Microbiology Letters*, 269:160–169.

146. Moretain. J P .,(2000).

La recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait, Proceedings lait, qualité et santé, p. 19-22.

147. Moulin M., Coquerel A., (2002).

Pharmacologie. Ed Masson.P : 1165.

148. Morin R., Uhland C., Lévesque G .,(2005).

L'utilisation des antibiotiques en pisciculture au Québec, page 6. L'AQUICOLE Vol. 9 no3.

149. Mohamed Cherif A E., (2005).

Suivi sanitaire et zootechniques au niveau d'élevages des vaches laitières ,Thèse magister, DSV,Mantouri Constantine,150p.

150. Page S W.,(1991).

Chloramphenicol. 1. Hazards of use and the current regulatory environment *Australian Veterinary Journal*, 1991, 68, (1 p).

151. Parente ., Cogan T M., (2004).

Starter cultures : general aspect In: Fox, P F., McSweeney P L H., Cogan T M et Guinee T P (Eds) ,cheese : Chemistry ,Physics and Microbiology ,Vol. I Chapman and Hall ,London ,p123-148.

152. Patrick E., Didier O., (2006).

Résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires "De l'étable à la table..."
Service de Protection de la Consommation ,22 quai Ernest Ansermet, 1211 Genève-4p31.

153. Panaiva L ., (2006).

Techniques chromatographiques orientées sur les matériaux composites ,Conférence Eurocopter,
1^{er} Juin 2006, Marseille, France

154. Patrick E., (2011).

Contrôle des résidus de médicaments vétérinaires dans les denrées alimentaires .Chimiste cantonal Journée de formation TVL – AVSA 14 avril 2011 Lucerne .

155. Patrick E., (2011).

Contrôle des résidus de médicaments vétérinaires dans les denrées alimentaires. Direction générale de la santé –DARES ,Service de la consommation et des affaires vétérinaires (SCAV),p31.

156. Perry K., Toney J D. et Leblanc A L., (1967).

"Effect of nitrofurantoin on the human fetus". Texas Reports on Biology and Medicine 25, pp 270-272.

157. Perlemuter L. et al ., (2000).

Pharmacologie : nouveau cahier de l'infirmière .Édition MASSON, p. 63.

158. Perrin Guyomard A., Cottin S., Corpet D E., Boisseau J., Poul J M., (2001).

Evaluation of residual and therapeutic doses of tetracycline in the human-flora associated .(HFA) mice model .*Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2001, 34, (2), p125-136.

159. Pfeiler E A., Klaenhammer T R.,(2007).

The genomics of lactic acid bacteria, *Trends in Microbiology*, 15(12):546-553.

160.Powell D A ., Nahata M C.,(1982).

Chloramphenicol, new perspectives on an old drug ,*drug intell clin pharm* 16,295-300.

161.Pougheon S., Goursoud J.,(2001).

Le lait caractéristiques physicochimiques. In DEBRYG., lait nutrition et sante ,Tec et Doc ,Paris :6 (566 p).

162.Pougheon S.,(2001).

Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et conséquences en technologie laitière . These doctorat d'état ,université Paul sebatier de toulouse ,France.

163. Poyart C., (2006).

Tétracyclines. In : AntibioGramme Courvalain.P, Leclercq.R, Bingen.E ,2ème édition, 2006 : P325-334

164.Prescott J F .,Baggot J D., (1993).

Antimicrobial therapy in veterinary medicine. 2nd ed.. 564-565. Ames, IA : Iowa State University Press.

165. Québec., (2009).

Transformation Alimentaire Québec ,un reseau à la portée des entreprises, fabrication Du lait de consommation,p9. www.mapaq.gouv.qc.ca Juin 2009.

166. Quiberoni A., Moineau S., Rousseau G M., Reinheimer J. et Ackermann H W., (2010).

Streptococcus thermophilus bacteriophages. *International Dairy Journal*, 20:657-664.

167. Rabaud C ., May T., (2007).

Glycopeptides. *Encycl Méd Chir , Maladies infectieuses*, 8-004-L-10, 2007 : 7 p.

168.Reybroeck W .,(2004).

Résidus d'antibiotiques dans le lait : Utilisation des kits de dépistage des inhibiteurs ,Revue : le Point Vétérinaire, n° 242, Janvier-Février 2004, p. 52-57.

169.Romnee J M., Raskin P., Istasse L., Laloux J., Guyot A ., (1998).

Incidence des facteurs alimentaires sur l'obtention de résultats faux positifs lors de la détection des antibiotiques dans le lait par la méthode Delvotest SP ,Revue : Lait, n°79. Inra/Elsevier, Paris, p. 341-346.

170. Romnee J M(a),,(2007).

Le contrôle des antibiotiques dans le lait de ferme : hier et aujourd'hui, page 3-63. Journée d'étude –11 mai 2007, Belgique. http://www.afsca.be/labos/vorming/doc07/2007-05-11_controle_antibiotiques_lait_de_ferme_fr.pdf (Consulter le 20-03-2008).

171.Romnee J M(b), (2007).

Le contrôle des antibiotiques à la ferme : hier et aujourd'hui Laboratoire national de référence, lait et produits laitiers .Journée d'étude le 7 mai 2007, AFSCA.

172. Sanders P., (1999).

Traitements thérapeutiques et antibiorésistance. *Point Vét.*, 1999, 30 (198), 23-30.

173. Sachot D ., Puyt J D .,(2001).

Les différents calculs du temps d'attente ,Revue : le point vétérinaire, n° 212, Janvier-Février 2001. p 48-51.

174. Sachot D ., Puyt J D .,(2001).

Résidus médicamenteux. Les différents calculs du temps d'attente, page 2-5. Point Vétérinaire / N°212 2 2 / Janvier-Février 2001 /. Editions le point vétérinaire 2001.

175.Sanders P .,(2005).

L'antibiorésistance en médecine vétérinaire : enjeux de santé publique et de santé animale
Revue : Bulletin de l'académie vétérinaire de France, tome 158, n°2, p. 139-140.

176.Scippo M L., Maghuin Rogister G .,(2006).

Résidus et contaminants des denrées alimentaires : 25 ans de progrès dans leur analyse. Méthodes biologiques de dépistage, page 125-129. Ann. Méd. Vét., 2006, 150.

177.Settami L., Moschetti G., (2010).

Non-starter lactic acid bacteria used to improve cheese quality and provide health benefits, *Food Microbiology*, 27:691-697.

178.Singh S B., Barrett J F .,(2006).

Empirical antibacterial drug discovery .foundation in natural products. *Biochem. Pharmacol.* **71**: 1006-1015.

179.Stoll W., (2003).

Vaches laitières -L'alimentation influence la composition du lait , vol 9 , [http:// www.db-admin.ch/ fr/ publication en / docs/ 2612.pdf](http://www.db-admin.ch/fr/publication/en/docs/2612.pdf).

180. Stoltz B., Behenna D., Stockdill J., (2008).

The Biology and Chemistry of the Zoanthamine Alkaloids. *Angew. Chem. Int. Ed.* 47 : 2365

181.Tainturier D .,(1981).

Instructions pour la détection des antibiotiques et des sulfamides dans les laits livrés par les producteurs, Document du Centre National De Coordination Des Études Et Recherches Sur La Nutrition Et L'alimentation (C.N.E.R.N.A), p. 2-7.

182.Toumi A., (2008).

Service des maladies Infectieuses,CHU Fattouma Bourguiba –Manistir .le 28.11.2008.p80.

183.Toutain P L., (2012).

Les Antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire.ecol Nationale vétérinaire,39p.

184. Taylor DJ., (1999).

The pros and cons of antimicrobial use in animal husbandry. *Baillière's Clinical Infectious Diseases* 5, 269-287.

185. Thapon J L.,(2005).

Science et technologie du lait , Agrocampus –Rennes , France :14(77 p).

186. Valérie G., (2013).

Rapport de synthèse des études préliminaire et collaborative pour le Delvotest R T (DSM, Pays-Bas) dans le cadre de la marque NF Validation Codes d'étude : 11.DS .Anses Laboratoire de Fougères B.P.90203 - 35302 FOUGERES Cédex La Haute-Marche - JAVENE - 35133 FOUGERES (France) p 77.

187. Veisseyre R.,(1975).

Technologie du lait. Constitution récolte traitement et transformation du lait 3ème édition Maison Rustique. Paris : 714.

188. Verhnes R., Vandaele E.,(2002).

Détection rapide des inhibiteurs dans le lait. *Point Vét.*, 2002, **33** (227), 16-17.

189. Villemin P., Brugere H. et Brugere Picoux J., (1984).

Le traitement des infections respiratoires des volailles, *Recueil de la Médecine Vétérinaire*, 160 (11), 1117-1128.

190. Vignola C L.,(2002).

Science et technologie du lait –Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, ISBN: 29-34 (600 pages).

191. Wal J M., (1979).

"Evolution of the concept of residues in the products of animals raised with the use of antibiotics". *Annales de la Nutrition et de l'Alimentation* 33, pp 325-341.

192. Watier B., Lecruss J., (1993).

Des vitamines nutritionnelles et cliniques CEIV. Paris : 24

193. Weneger H C., Aarestrup F M., Gerner-Smidt P., Bager F., (1999).

Transfer of antibiotic resistant bacteria from animals to man. *Acta vet. scand.*, 1999, Suppl. 92,51-57.

194. Wright W W., Harold L C., (1960).

"Antibiotic residues in milk after parenteral and oral administration in cows". *Journal of American Veterinary Medical Association* 137, pp 525-533.

195. WHO (World Health Organization), (2013).

Laboratory Procedures ,Serological detection of avian influenza A(H7N9) infection by microneutralisation assay 23 May 2013 ,China. [http://www.gisrs-who-hq @WHO .INT](http://www.gisrs-who-hq@WHO.INT) .

196. Yala D., Merad A S., Mohamedi D., Ouar Korich M N., (2001).

Classification et mode d'action des antibiotiques ,Revue : médecine du Maghreb 2001, n°91.

197. Yaldiz F., (2010).

Developpement and manufacture of yougurt and other dairy products ,CRC Press Taylor et Francis Group, USA,435p

198. Zanditenas M., (1999).

L'usage des antibiotiques par les vétérinaires praticiens : enjeu sanitaire et socioéconomique, conséquences pour la santé publique et évolution prévisible de la profession vétérinaire. Thèse de Doctorat vétérinaire. Créteil, n°88, 124p

199. Zeil J M., (1988).

Contribution à l'étude de l'incidence des résidus du thiabendazole sur les technologies fromagères. Thèse: Méd. Vét. : Lyon.

200.Zeghilet N .,(2009).

Theme :Optimisation des paramètres de détection Et de quantification des résidus D'antibiotiques dans la viande blanche par Chromatographie liquide haute Performance (HPLC) .Mém : Présenté pour l'obtention du diplôme de Magister en médecine vétérinaire. Departement Des Sciences Veterinaire. 181p.

ANNEXES

Annexe : 01

Tableau XIV: Cultures starters des fromages

Fromage	Ferment lactique ajouté
Cheddar, Colby	Lactococcus lactis ssp. lactis, Lactococcus lactis ssp. cremoris, Leuconostoc mesenteroïdes ssp. cremoris
Swiss	Streptococcus salivarius ssp. thermophilus, Lactobacillus helveticus ou Lactobacillus delbrückii ssp. bulgaricus, Lactobacillus delbrückii ssp. lactis et Propionibacterium.
Parmesan, Romano	Streptococcus salivarius ssp. thermophilus, Lactobacillus helveticus ou Lactobacillus delbrückii ssp. bulgaricus, Lactobacillus delbrückii ssp. lactis
Mozzarella, Provolone	Streptococcus salivarius ssp. thermophilus, Lactobacillus helveticus ou Lactobacillus delbrückii ssp. bulgaricus
Blue, Roquefort, Stilton	Streptococcus salivarius ssp. thermophilus, Lactococcus lactis ssp. lactis, Lactococcus lactis ssp. cremoris, Lactococcus lactis var. diacetylactis, Penicillium roqueforti
Gorgonzola	Streptococcus salivarius ssp. thermophilus, Lactobacillus delbrückii ssp. bulgaricus, Penicillium roqueforti, Lactococcus lactis biovar. diacetylactis ou les levures.
Brick, Limburger	Mixture de culture de Lactococcus et Streptococcus salivarius ssp. thermophilus. Smear ou brevibacterium linens et levures.
Muenster, Gouda, Edam	Lactococcus lactis ssp. lactis, Lactococcus lactis ssp. cremoris avec Leuconostoc mesenteroïdes ssp. cremoris ou les cultures aromatiques de Leuconostoc mesenteroïdes cremoris et Lactococcus lactis var. diacetylactis
<i>Cream cheese</i>	Lactococcus lactis ssp. lactis, Lactococcus lactis ssp. cremoris, avec Leuconostoc mesenteroïdes ssp. cremoris ou les cultures aromatiques de Leuconostoc mesenteroïdes cremoris et Lactococcus lactis var. diacetylactis.
<i>Cottage cheese</i>	Lactococcus lactis ssp. lactis et Lactococcus lactis ssp.

cremoris.

(Hui Y.H ., 1992)

Annexe :02

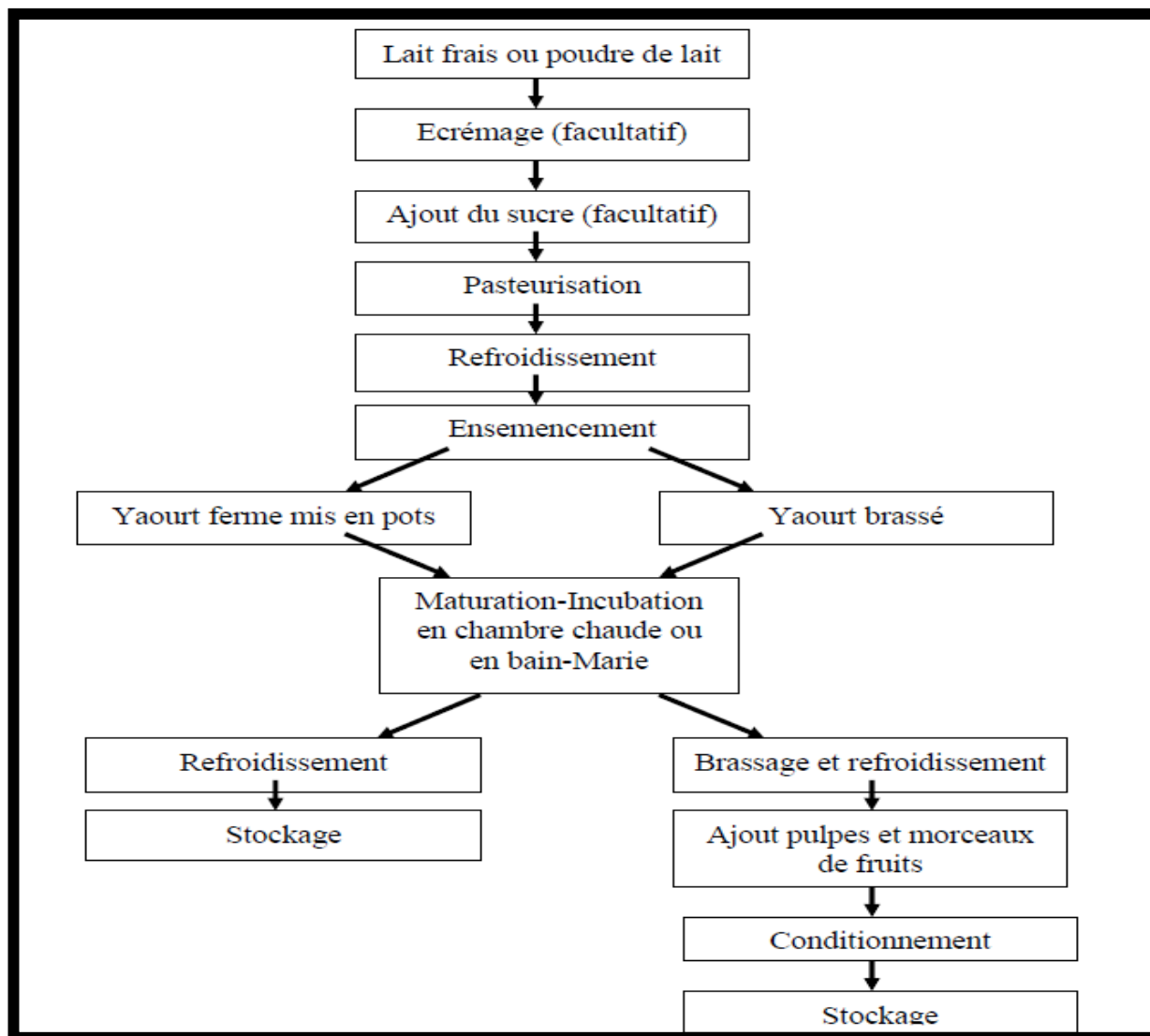


Figure XVI: Diagramme simplifié de la production du yaourt (Yıldız F., 2010)

Les deux principaux types de yaourt sont le *yaourt brassé* et le *yaourt ferme*. Les Figures 16 montrent les différentes étapes de production des yaourts et laits fermentés et des deux types de yaourt respectivement.

Annexe :03

Tableau XV: Dates de découverte de quelques molécules d'antibiotiques naturelles

Micro-organisme	Famille	Molécule	Date de découverte
Penicillium	Pénicillines	Pénicilline	1929
Streptomyces	Aminoglycosides	Streptomycine	1944
		Néomycine	1949
		Kanamycine	1957
		Tobramycine	1967
		Amikacine	1975
	Tétracyclines	Chlorotétracycline	1948
		Oxytétracycline	1949
Quinolones	Acidenalidixique	1962	
Céphalosporum	Macrolides	Chloramphénicol	1946
	Phénicolés	Erythromycine	1952
	Céphalosporines	Céphalotine	1954

(Maillard R., 2002 ;Chatellet M.C., 2007, Zeiguilet. N., 2009).

Annexe :04

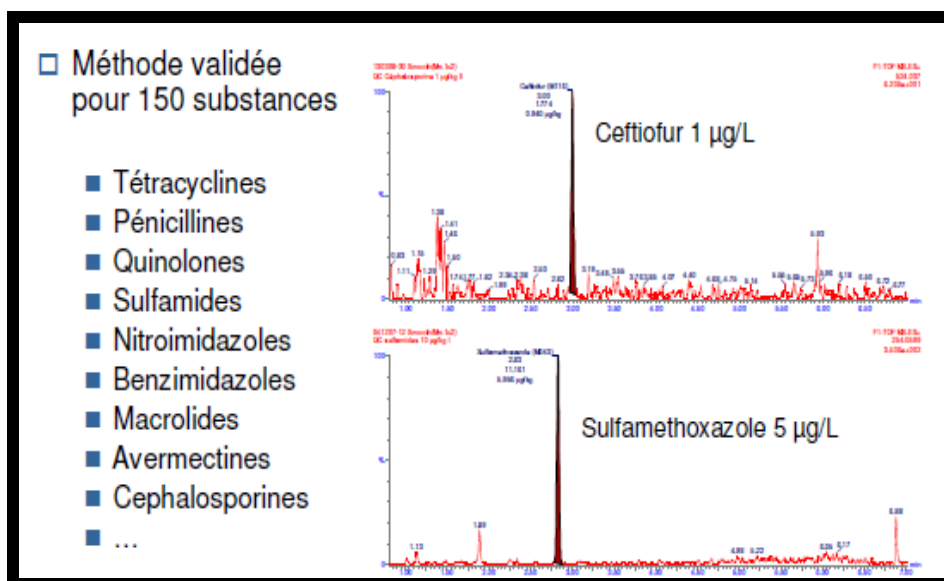


Figure XVII : Les concentration des résidus du quelques antibiotique dans le lait(Patrick E.,2011)

Annexe : 05

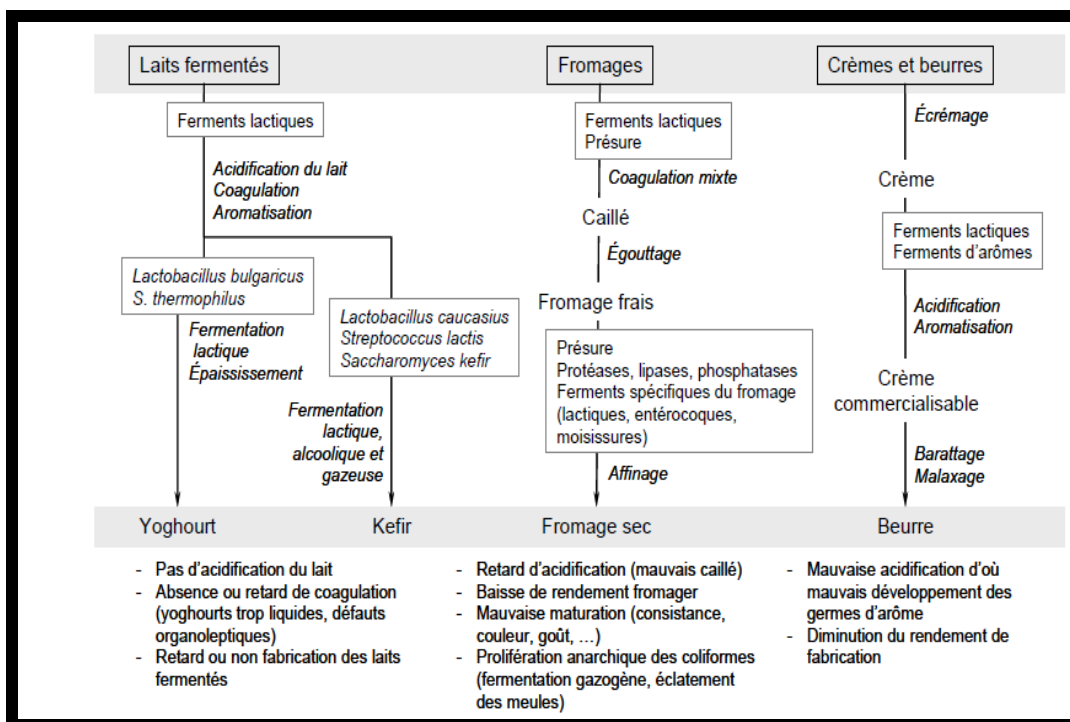


Figure XVIII : Obtention de produits laitiers fermentés et conséquences de la présence de résidus D'antibiotiques (Form G., 2003)

Résumé

Ce travail a été réalisé dans le but de l'étude des risques liés à la présence des résidus des antibiotiques dans le lait ainsi que de déterminer les différentes méthodes utilisés pour la détection et la quantification de ces résidus. Notre étude montre que la présence de ces derniers dans le lait peut causer des problèmes à deux niveaux :

- hygiénique et sanitaire représenté par l'antibioresistances, les problèmes d'allergies et la toxicité des résidus pour le consommateur.

- technologique, les résidus entravent la transformation industrielle du lait.

De ce fait, le recours à des méthodes de détection et d'identification précise des molécules antibiotiques présentes dans le lait est nécessaire afin de garantir la maîtrise de la qualité du lait produit d'un point de vue sanitaire et commercial, parmi ces méthode on trouve les méthodes microbiologiques qui ont permis le développement de kits rapides de détection (Delvotest®, Copán Test®, Charm Farm Test®...) plus adaptés au contrôle laitier de masse et l'HPLC permet outre une identification précise de la molécule en cause, une quantification fine de celle-ci.

Mots clés : lait, antibiotiques, résidus, LMR, temps d'attente, toxicité, problèmes technologique, méthodes microbiologiques, l'HPL.

المخلص :

هذا العمل يهدف إلى دراسة الأخطار المتعلقة بوجود بقايا المضادات الحيوية في الحليب و كذا تحديد مختلف الوسائل المستعملة في كشف و تكميم هذه البقايا .

دراستنا هذه بينت أن وجود هذه البقايا في الحليب قد تسبب مشاكل على مستويين :

- على المستوى الصحي , وتتمثل في المقاومة البكتيرية , مشاكل الحساسية , السمية و كذا سمية هذه البقايا على المستهلك .

- المستوى الصناعي , هذه البقايا تساهم أيضا في عرقلة التسويقي .

لهذا تم اللجوء إلى عدة تقنيات من اجل الكشف والتعريف الدقيق لجزيئات المضادات الحيوية في الحليب ضروري لضمان جودة الحليب المنتج على المستوى الصحي و التحويل والإنتاج الصناعي .

من بين هذه التقنيات نجد تقنية الميكروبيولوجيا التي تسمح بتطوير وسائل سريعة للكشف (Delvotest® ,

Copan Test®, Charm Farm Test®) تتلائم مع مراقبة كميات كبيرة من الحليب , و كروماتوغرافيا سائلة عالية التركيز عالية الفعالية التي تسمح بتعريف وتكميم للجزيئة المسببة.

الكلمات المفتاحية : الحليب , المضادات , بقايا , الحد الأقصى للبقايا , زمن الانتظار , السمية , مشاكل ميكروبيولوجية , كروماتوغرافيا السائلة عالية التركيز .