



*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*وزارة التعليم العالي و البحث العلمي*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
*جامعة خميس مليانة*  
*Université Khemis Miliana*  
*Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre*  
*Département de:Biologie.*



*Mémoire de fin d'étude*  
*En vue de l'obtention d'un diplôme de Master en*  
*Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie*  
*Spécialité:physiologie cellulaire et physiopathologie .*

*Thème :*

*Appréciation de la qualité bactériologique et  
recherche de résidus antibiotique dans un lait  
cru pasteurise par la laiterie d'Arib.*



*Présenté par :*

*M<sup>elle</sup> : Abdellah Mahdjoubi wafa*

*M<sup>elle</sup> : Salhi Nora*

*Soutenu le: 27 Juin 2018, Devant le jury:*

*Président : Mme Didouh. N*

*MCB Université khemis miliana*

*Encadreur : Mr Zennati. A*

*DEV Université Khemis miliana*

*Examinatrice : Mme Aiza. A*

*MAB Université Khemis miliana*

*Examinatrice : Mme Bensehila. S*

*MAB Université Khemis miliana*

*Année universitaire : 2017/2018*

## **REMERCIEMENTS**

On tient à remercier tout d'abord le « **DIEU** » pour la puissance et la santé qui nous ont été utiles tout au long de notre parcours, et aux êtres les plus chers au monde « **nos parents** » pour tous les efforts et sacrifice qu'ils ont entrepris afin de nous voire réussir.

On tient à remercier, Monsieur **Zennati Ahmed** . d'avoir été notre promoteur pour les consignes et la grande volonté qu'il n'a pas cessé de nous témoigner durant notre travail.

Mes vifs remerciements sont adressés à tous les membres de jury : Nous exprimons toute notre gratitude aux membres de jury :

**Mme Didouh Nassima** pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le jury, et de vous remercier pour tout ce que vous avez apporté tout au long de nos études.

**Mme Aiza Asmaa** pour avoir accepté d'examiner ce travail.

**Mme Bensehila Sarah** pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos plus vifs remerciements s'adressent au l'équipe de laboratoire de la laiterie d'ARIB qui nous a beaucoup aidés : **Mme Sara**, **M<sup>elle</sup> Latifa** .

Nous remercions aussi la société **AMCOVAT** d'avoir nous aider avec leurs outils de test des antibiotiques.

On remercie enfin tous ceux qui nous ont aidées de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.



# DEDICACE

*Grace à Dieu tout clément et miséricordieux, Qui ma tracé la route, et ma donné le pouvoir et le courage de continuer jusqu'à la fin.*

*Avec l'aide de bon dieux, tout puissant, j'ai pu achever ce modeste travail que je dédie à :*

*A mes parents : Merci d'avoir fait de moi ce que je suis,*

*Je vous aime.*

*A mes frères : Houcine, Mohamed Amine, Abd el rahim.*

*A mes sœurs : Lamia, Fatima zohra, yasmine*

*A mes amies : Asma, Fatima, Ilhem, Khadidja, Nesrine, Hajer, Hania.*

*et à tous mes amis ( es) sans exception*

*A mon cher binôme et toute sa famille*

*Tous mes enseignants, mes collègues et à tous qui a donné part dans l'élaboration de ce travail*

*A mes collègues de la promotion master 2 Physiologie Cellulaire et Pysiopathologie*

*Merci.*

*wafa*



# DEDICACE

*Avec un énorme plaisir, un coeur ouvert et une immense joie, que je  
dédie ce modeste travail à :*

*Mes très chers parents à qui je prie le dieu de leurs accorder santé et  
longue vie.*

*Mes frères : Mohamed, Moussa, Daoudi.*

*Mes soeurs : Fatima, Houria, Safiya, Hakima, Zohra, Radhia*

*A mon cher binôme et toute sa famille.*

*Mes amis : Ilhem, Khadidja, Nesrin, Hajer, Sara, Souria et*

*à tous mes amis ( es) sans exception*

*Tous mes enseignants, mes collègues et à tous qui a donné part dans l'élaboration de ce  
travail.*

*Mes frères et soeurs de la promotion 2018, surtout Master 2 Physiologie Cellulaire et  
Pysiopathologie.*

*Nora*



## Liste des figures

|  |    |
|--|----|
| <b>Figure N°01 :</b> Diagramme de la fabrication du lait au niveau de la laiterie Arib.....  | 8  |
| <b>Figure N°02 :</b> Sites d'action des antibiotiques.....   | 16 |
| <b>Figure N°03 :</b> Test IDEXX SNAP duo ST plus pour la détection des $\beta$ -lactames, des Tétracyclines et des céphalexin..... | 20 |
| <b>Figure N°04 :</b> Organigramme de la laiterie ARIB .....  | 22 |
| <b>Figure N°05 :</b> Technique de préparation des dilutions successives.....   | 24 |
| <b>Figure N°06 :</b> Ensemencement des boites de pétri par le milieu PCA.....  | 26 |
| <b>Figure N°07:</b> Ensemencement des boites de pétri par gélose VRBL.....   | 27 |
| <b>Figure N°08 :</b> Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i> par le milieu d'enrichissement liquide (Giolitti Cantoni).....      | 28 |
| <b>Figure N°09 :</b> Recherche des <i>Clostridium sulfito réducteurs</i> par le milieu viande foie.....                            | 30 |
| <b>Figure N°10:</b> La détection des résidus d'antibiotiques par le teste SNAP duo ST Plus dans le lait cru .....                  | 34 |
| <b>Figure N°11 :</b> Lecture des résultats sur le teste pour les $\beta$ -lactames, les Tétracyclines et les Céphalexin.....       | 35 |
| <b>Figure N°12 :</b> Aspect des colonies des bactéries mésophiles sur le milieu PCA.....   | 37 |
| <b>Figure N°13 :</b> L'absence des coliformes totaux sur le milieu VRBL.....   | 38 |
| <b>Figure N°14 :</b> L'absence des coliformes fécaux sur le milieu VRBL.....   | 38 |
| <b>Figure N°15 :</b> L'absence des <i>Staphylococcus aureus</i> sur le milieu d'enrichissement liquide (Giolitti Cantoni).....     | 39 |
| <b>Figure N°16 :</b> L'absence des <i>Clostridium sulfito-réducteurs</i> sur le gélose viande foie.....                            | 40 |
| <b>Figure N°17 :</b> L'absence des <i>salmonelle</i> sur le milieu Hektoen.....  | 41 |
| <b>Figure N°18 :</b> Résultat de la recherche d'antibiotique dans le lait cru.....   | 42 |
| <b>Figure N°19 :</b> Différentes résultats du test d'ATB.....  | 43 |

|   |       |
|---|-------|
| <b>Figure N° 20:</b> Histogramme de fréquence des résultats négatifs et douteux pour chacune des communes.....          | 44    |
| <b>Figure N°21 :</b> L'échantillonnage de lait.....   | Annex |
| <b>Figure N°22 :</b> Les dilutions décimales préparées dans les Analyses Microbiologique .....                          | Annex |
| <b>Figure N°23 :</b> Schéma représentatif du dénombrement des GAMT.....   | Annex |
| <b>Figure N°24 :</b> Schéma représentatif du dénombrement des coliformes.....   | Annex |
| <b>Figure N°25 :</b> Schéma représentatif du dénombrement des Staphylococcus aureus.....                                | Annex |
| <b>Figure N°26 :</b> Schéma représentatif du dénombrement des Clostridium sulfito-réducteurs .....                      | Annex |
| <b>Figure N°27 :</b> Schéma représentatif du dénombrement des sallmonnelles .....                                       | Annex |
| <b>Figure N°28 :</b> Les normes microbiologiques selon le journal officiel ( <b>J.O.R.A N° 69 du 27-10-1993</b> ) ..... | Annex |

## Liste des tableaux

|   |              |
|---|--------------|
| <b>Tableau N°01</b> : Constantes physico-chimique du lait.....  | 4            |
| <b>Tableau N°02</b> : Composition générale du lait de vache.....  | 4            |
| <b>Tableau N°03</b> : Flore indigène du lait cru.....   | 9            |
| <b>Tableau N°04</b> : flore de contamination de lait cru.....   | 11           |
| <b>Tableau N°05</b> : Les antibiotiques bactéricides et les antibiotiques bactériostatiques.....                      | 15           |
| <b>Tableau N°06</b> : Critères bactériologiques du lait cru pasteurisé.....   | 36           |
| <b>Tableau N°07</b> : Dénombrement de la flore totale dans les différents échantillons de lait analysés (UFC/ml)..... | 37           |
| <b>Tableau N°08</b> : Tableau récapitulatif des résultats bactériologiques.....                                       | 41           |
| <b>Tableau N°09</b> : fréquences des résultats positif et négatifs /commune.....                                      | 43           |
| <b>Tableau N°10</b> : Résultat de la recherche des Antibiotiques dans le lait cru .....                               | <b>Annex</b> |
| <b>Tableau N°11</b> : Liste des éleveurs et des collecteurs de lait cru.....  | <b>Annex</b> |
| <b>Tableau N°12</b> : Limites Maximales des résidus (LMR) des principaux antibiotiques exprimées en ppm .....         | <b>Annex</b> |

## Liste des abréviations

**%** : pour cent

**ATB** : Antibiotique

**Cniel** : Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière

**C.t** : Coliforme totaux.

**C.f** : Coliforme fécaux

**°C** : degré Celsius.

**°D** : degré dornic.

**ETP** : Entreprise

**Ech** : Echantillon

**FAO** : Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.

**FTAM** : Flore Totale **Aérobic** **Mésophile**.

**FAO** : Food and Agriculture Organization.

**GC** : Giolitti Cantoni

**SO**: Organisation Internationale de Normalisation.

**ISO**: Organisation Internationale de Normalisation

**JO** : Journal Officiel de la République Algérien.

**KJ** : kilo Joule

**Kcal** : Kilocalorie

**Kg** : kilogramme

**mg**: milligramme.

**ml** : millilitre

**Mn** : minute.

**NPP** : Nombre le Plus Probable

**NPN** : Azote Non Protéique



**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.

**O.R.L.A.C** : Office Régional Laitière Algérie Centre.

**pH** : potentiel d'hydrogène

**PCA** : Plat Count Agar

**PPb** : parties par billion

**SFB** : Bouillon au Sélénite cystéine de Fer.

**SS** : Salmonella Shigella

**UI** : Unité International.

**µg** : Microgramme.

**UFC/ml** : Unité Formant de Colonie par millilitre.

**U.I** : Unité Internationale.

**VF** : Viande de Foie.

**VRBL** : Violet Red Bile Lactose agar

## Résumé

Afin d'éviter les risques liés à la santé publique et les risques d'ordre technologique, le lait cru collecté qui arrive à la laiterie Arribs subit un contrôle immédiat concernant la recherche de résidus d'antibiotiques : les  $\beta$ -lactames les Tétracyclines et les céphalexin par la méthode rapide IDEXX SNAP duo ST.

Nous avons analysé 113 échantillons de lait cru, où les résultats de l'analyse des échantillons indiquent la présence de résidus antibiotiques du groupe de la tétracycline de 10%, et bêta-lactame de 53%, et il n'y a pas de résultats positifs des antibiotiques Cefalxin. Ceci est la preuve du non-respect de la dose nécessaire, car l'augmentation de cette dernière est à l'origine de l'allongement de la durée d'élimination du médicament, en raison du manque de communication entre l'éleveur et le vétérinaire.

Le lait cru de vache est ensuite soumis à un traitement thermique (la pasteurisation) pendant 20 secondes à une température avoisinant 80°C suivi d'un refroidissement rapide de 4 à 6°C pour éviter l'acidification du lait et autres altérations.

Pour une bonne maîtrise de la qualité hygiénique de ce lait, nous avons réalisé l'analyse bactériologique de cinq échantillons de lait cru pasteurisé fabriqué au niveau de la laiterie Arribs, . Il s'agit de la recherche et du dénombrement par les méthodes bactériologiques classiques. Les résultats obtenus sont comparés aux critères rapportés par le JO algérien du 27 Mai 1998. La présence de bactéries aérobie mésophiles avec une moyenne ne dépassant pas la norme recommandée par le J.O d'Algérie. . Nous avons également noté L'absence de coliformes fécaux de coliforme totaux , de *Staphylococcus*, de *Clostridium* sulfito-réducteurs et de *Salmonella*.

Les résultats obtenus sont satisfaisants ce qui reflète une bonne qualité hygiénique du lait cru pasteurisé produit au niveau de la laiterie Arribs.

**Mots clés :** lait cru, résidus d'antibiotiques, analyse bactériologique, pasteurisation.

## ملخص

لتجنب المخاطر على الصحة العامة و المخاطر التكنولوجية ، الحليب الخام الذي تم جمعة في ملبنة عريب يخضع للكشف الفوري لبقايا المضادات الحيوية : التتراسيكلين، بيتا لاكتام، و سيفالكسين. بطريقة سريعة .

قمنا بتحليل 113 عينة للحليب الخام ، حيث نتائج تحليل العينات تشير الى وجود بقايا المضادات الحيوية من مجموعة التتراسيكلين بنسبة 10% ، و بيتا لاكتام بنسبة 53% ، و لا يوجد اي نتائج ايجابية لمضادات الحيوية سيفالكسين. و هذا دليل على عدم الامتثال للجرعة اللازمة، لان زيادة هذه الاخيرة هي سبب في اطالة مدة القضاء على الدواء، ناجما عن نقص التواصل بين المربي و طبيب البيطري .

يتعرض الحليب الخام بعدها الى المعالجة الحرارية (البسترة) لمدة 20 ثانية عند درجة حرارة حوالي 80 درجة مئوية يليها التبريد السريع من 4 الى 6 درجات مئوية لمنع تخمض الحليب و تغيرات أخرى.

لمراقبة جيدة للجودة الصحية لهذا الحليب، قمنا بالتحليل البكتريولوجي لخمس عينات من الحليب المبستر الخام في ملبنة عريب. و يتمثل في البحث و التعداد بالطرق البكتريولوجية القديمة. النتائج المحصل عليها تمت مقارنتها مع المعايير التي أبلغت عنها الجريدة الرسمية الجزائرية في 27 ماي 1998، و جود البكتيريا الهوائية متوسطة الحرارة بمتوسط لا يتجاوز المعيار الموصى به من طرف الجريدة الرسمية، و بالنسبة للمسببات الامراض الرئيسية نلاحظ الغياب التام لكلوستريديا الحد من السلفيت، المكورات العنقودية الذهبية، القولونيات البرازية و القولونيات الكلبية و السالمونيلا.

النتائج المحصل عليها مرضية تعكس نوعية صحية جيدة و فعالية المعالجة الحرارية للحليب الخام المنتج في ملبنة عريب.

**الكلمات المفتاحية :** الحليب الخام، بقايا المضادات الحيوية، تحليل البكتريولوجي، البسترة.

## **Abstract**

To avoid risks to public health and the risks of technological, raw milk collected happens to the dairy Arribs undergoes immediate control for the detection of residues of antibiotics :  $\beta$ -lactamine ,Tetracycline and cefalexin by Quick IDEXX SNAP duo ST plus method.

We analyzed 113 samples of raw milk, where the results of the analysis of samples indicate the presence of antibiotic residues from the group of tetracycline by 10%, and beta-lactam by 53%, and there is no positive results of antibiotics Cefalxin . This is evidence of non-compliance with the necessary dose, because the increase in the latter is a reason to prolong the duration of the elimination of medication, due to lack of communication between the breeder and the veterinarian .

The raw milk is then subjected to a heat treatment (pasteurization) for 20 seconds at a temperature of around 80 ° C followed by rapid cooling of 4 to 6 ° C to prevent acidification of milk and other alterations.

For a good control of the hygienic quality of the milk, we realized the bacteriological analysis of five samples of pasteurized raw milk produced at the dairy Arribs. It is the search and enumeration by conventional bacteriological methods, The results are compared to the criteria reported by the Algerian OJ of 27 May 1998, Presence of mesophilic bacteria With an average not exceeding the recommended standard by the Algerian OJ . We also noted The absence of fecal coliforms, total coliform , Staphylococcus, sulfite-reducing Clostridium and Salmonella.

Thus, the overall results are satisfactory reflecting good sanitary quality of pasteurized raw milk produced at the dairy Arribs.

**Keywords :** raw milk, antibiotic residues, bacteriological analysis, pasteurization.

# *Table des matières*

## Table des matières

|   |   |
|---|---|
| Remerciements   |   |
| Dédicace  |   |
| Liste des abréviations  |   |
| Liste des figures   |   |
| Liste des tableaux  |   |
| Résumé  |   |
| Abstract  |   |
| ملخص  |   |
| <b>Introduction</b> .....   | 1 |
| <b>Partie bibliographique</b>   |   |
| <b>Chapitre I : Généralités sur le lait et son traitement</b>           |   |
| <b>I.1 Définitions du lait</b> .....                                    | 3 |
| <b>I.2 Propriétés physico-chimique du lait cru</b> .....                | 3 |
| <b>I.3 Composition de lait cru de vache</b> .....                       | 4 |
| I.3.1 La matière grasses.....   | 4 |
| I.3.2 les glucides.....   | 4 |
| I.3.3. les protéines.....   | 5 |
| I.3.4. L'eau.....   | 5 |
| I.3.5. Les vitamines.....   | 5 |
| I.3.6. Les minéraux du lait.....  | 5 |
| I.3.7. Les enzymes.....   | 5 |
| <b>I.4. Valeur alimentaire et nutritionnelle du lait de vache</b> ..... | 6 |
| <b>I.5. Pasteurisation du lait cru</b> .....                            | 6 |
| I.5.1 Définition et objectifs.....                                      | 6 |
| I.5.2. Les procédé de la pasteurisation.....                            | 6 |

|   |          |
|---|----------|
| I.5.3. Paramètre de pasteurisation.....                                   | 7        |
| <b>I.6. Pasteurisation du lait cru au niveau de la laiterie Arib.....</b> | <b>7</b> |

## **Chapitre II : La microbiologie de lait cru**

|   |          |
|---|----------|
| <b>II.1 les flores microbiennes de lait .....</b> | <b>9</b> |
| II.1.1 La flore originelle ou indigène .....      | 9        |
| II.1.2. La flore de contamination .....           | 10       |
| II.1.2.1. La flore d'altération.....              | 12       |
| II.1.2.2. La flore pathogène .....                | 13       |

## **Chapitre III : Les résidus d'antibiotiques**

|   |           |
|---|-----------|
| <b>III.1. Définition .....</b>  | <b>15</b> |
| <b>III.2. Mode d'action .....</b>   | <b>15</b> |
| <b>III.3. Les mammites .....</b>  | <b>16</b> |
| III.3.1. Les mammites cliniques .....   | 17        |
| III.3.2. Les mammites subcliniques .....  | 17        |
| <b>III.4. Exemples d'antibiotiques utilisés dans le traitement des mammites .....</b>         | <b>17</b> |
| <b>III.5. Les problèmes liés à la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait .....</b> | <b>18</b> |
| III.5.1. Risques pour la santé publique .....   | 18        |
| III.5.2. Risques d'ordre technologique .....  | 18        |
| <b>III.6. Méthodes de détection des antibiotiques .....</b>                                   | <b>19</b> |
| III.6.1. Méthodes de criblage .....   | 19        |
| III.6.2. Méthodes de confirmation .....   | 19        |
| <b>III.7. La recherche des antibiotiques au niveau de la laiterie Arib .....</b>              | <b>20</b> |
| <b>III.8. Législation Algérienne .....</b>  | <b>20</b> |

## **Etude expérimentale**

|   |    |
|---|----|
| LA Présentation de la laiterie de Aribe ..... | 21 |
|---|----|

### **Matériel et méthodes**

|   |           |
|---|-----------|
| <b>I. Analyse bactériologique du lait cru pasteurisé .....</b>                          | <b>23</b> |
| <b>I.1. L'échantillonnage .....</b>   | <b>23</b> |
| <b>I.2. Techniques de prélèvement .....</b>   | <b>23</b> |
| <b>I.3. Technique des dilutions .....</b>   | <b>24</b> |
| <b>I.4. Les milieux de culture .....</b>  | <b>25</b> |
| <b>I.5. Recherche et dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM) .....</b> | <b>25</b> |
| <b>I.6. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux .....</b>             | <b>26</b> |
| <b>I.7. Recherche des <i>Staphylococcus aureus</i> .....</b>                            | <b>27</b> |
| <b>I.8. Recherche des <i>Clostridium sulfito- réducteurs</i> .....</b>                  | <b>28</b> |
| <b>I.9. Recherche et dénombrement des <i>Salmonelles</i> .....</b>                      | <b>29</b> |
| <b>II. Recherche des antibiotiques .....</b>  | <b>31</b> |
| II.1. L'échantillonnage .....   | 31        |
| II.2. Mode opératoire .....   | 31        |
| II.3. Lecture et expression des résultats par le teste SNAP duo ST Plus .....           | 33        |

### **Résultats et discussion**

|   |           |
|---|-----------|
| <b>I. Résultats des analyses microbiologiques de lait cru pasteurisé .....</b>  | <b>34</b> |
| <b>I.1 Résultat de recherche des GAMT .....</b>                                 | <b>34</b> |
| <b>I.2 Résultat de recherche des Coliformes .....</b>                           | <b>36</b> |
| <b>I.2.1 Résultat de recherche des Coliformes Totaux .....</b>                  | <b>36</b> |
| <b>I.2.2 Résultat de recherche des Coliformes fécaux .....</b>                  | <b>36</b> |
| <b>I.3 Résultat de recherche des <i>Staphylococcus aureus</i> .....</b>         | <b>37</b> |
| <b>I.4 Résultat de recherche des <i>Clostridium sulfito-réducteur</i> .....</b> | <b>38</b> |
| <b>I.5. Résultat de recherche des <i>salmonelle</i> .....</b>                   | <b>38</b> |



|  |    |
|--|----|
| <b>II. Recherche des antibiotiques</b> ..... | 40 |
| <b>II.1. Expression des résultats</b> .....  | 40 |
| <b>Conclusion et Perspectives</b> .....      | 44 |

# *Introduction*

### *Introduction*

Le lait et les produits laitiers, du fait de leurs qualités nutritionnelles, organoleptiques et spécifiques ; sont recommandés à tous les âges correspondants à leurs besoins différents, leur teneur élevée en calcium, source excellente de protéines de haute valeur biologique et de vitamines (Vignola, 2002).

Le lait est un substrat très riche fournissant à l'homme et aux jeunes mammifères un aliment presque complet (Larpen, 1997). Pour cela les industries agroalimentaires du lait utilisent des techniques de reconstitution et de recombinaison pour mettre en oeuvre un lait proche du lait cru, qui est le lait pasteurisé.

C'est pourquoi des organismes internationaux comme la **F.A.O**, l'**O.M.S**... se sont intéressés à ce produit et ses dérivés. Depuis toujours, le lait sert à nourrir les nourrissons et les enfants particulièrement. Il rentre aussi dans l'alimentation des femmes enceintes et des malades, parce qu'il est universellement reconnu comme étant un aliment complet et facile à digérer.

Le lait d'une vache en bonne santé ne contient pas de micro-organismes nuisibles lorsqu'il sort de la mamelle, mais laissé à l'air libre, ce liquide nutritif et très convoité constitue un milieu des plus propices au développement de micro-organismes.

Une bonne qualité bactériologique d'un lait n'implique pas uniquement l'absence de germes pathogènes, mais aussi l'absence de toute substance inhibitrice telle que les résidus d'antibiotiques susceptibles de poser des problèmes très généraux.

Ceux-ci peuvent donner au lait une couleur et un goût anormaux et surtout détruire les bactéries responsables des fermentations lactiques, ce qui empêche la transformation du lait en produits laitiers ; il s'agit d'un problème technologique majeur.

De plus, ces résidus d'antibiotiques peuvent constituer un danger pour le consommateur : en effet, de faibles quantités d'antibiotiques tels que la pénicilline entraînent des troubles graves chez les personnes allergiques au produit. 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 la vache traitée.

L'objectif de notre étude concerne d'une part, la recherche de résidus d'antibiotiques au niveau du lait cru réceptionné à la laiterie ARRIBS et d'autre part, l'analyse bactériologique du même lait après son traitement par le procédé de pasteurisation.

La recherche des résidus d'antibiotiques se fait par la méthode rapide IDEXX SNAP duo ST plus qui permet la détection des résidus des Bêta-lactames, des Tétracyclines et des céphalexine en seulement six minutes dans le lait cru à la réception.

L'analyse bactériologique consiste en la recherche et le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile, des coliformes totaux, des coliformes fécaux, des *Staphylococcus aureus*, des *Clostridium sulfito-réducteurs* et des *Salmonelles* par les méthodes bactériologiques de recherche et de dénombrement classiques.

# *Partie bibliographie*

# *Chapitre I*

## I. Généralités sur le lait et son traitement

### I.1 Définitions du lait :

Le lait a été défini en 1908, au cours du Congrès International de la Répression des fraudes à Genève comme étant :

« Le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum» (Larpen, 1997).

Selon le journal officiel de la république démocratique algérienne, la dénomination « Lait » est réservée exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale, obtenue par une ou plusieurs traites sans aucune addition ou soustraction et n'ayant pas été soumis à un traitement thermique (J.O.R.A, 1993).

Selon Deforges et al. en (1999), le lait cru est un lait non chauffé au-delà de 40°C ni soumis à un traitement non thermique d'effet équivalent notamment du point de vue de la réduction de la concentration en micro-organismes.

Le lait pasteurisé est un lait soumis à un traitement thermique aboutissant à la destruction de la presque totalité de la microflore banale, et la totalité de la flore pathogène, sans toutefois affecter la structure physico-chimique du lait, sa constitution, son équilibre chimique, ses enzymes et ses vitamines (J.O.R.A, 1993).

### I.2 propriétés physico-chimique

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

Du fait de sa composition physico-chimique, le lait est un excellent substrat pour la croissance microbienne (Bourgeois et al.,1996). il a des constantes physico-chimique spécifiques résumées dans le tableau n°1.

**Tableau N°01** : Constantes physico-chimique du lait (Bourgeois et al,1996).

| Constante                  | Valeurs          |
|----------------------------|------------------|
| PH(20°)                    | 6,5-6,7          |
| Acidité titrable           | 15-18°D          |
| Densité                    | 1,028 à 1,036    |
| Température de congélation | 0,51°C à -0,55°C |

### I.3 la composition de lait cru de vache :

Le lait est un mélange liquide de nombreuses substances dont certain tel le lactose et les caséines n'appartiennent qu'à lui (Mathieu, 1998). En effet, le lait est un produit complexe dont la composition en glucides, protéines, sels minéraux est remarquablement équilibré, par contre, il présente un déficit en fer assimilable, et contient peu de vitamine C (Alais et Linden, 1997).

**Tableau N°02**: Composition générale du lait de vache(Vignola, 2002).

| Constituants majeurs  | Variations limites (%) | Valeur moyenne (%) |
|-----------------------|------------------------|--------------------|
| <b>Eau</b>            | 85,5 – 89,5            | 87,5               |
| <b>Matière grasse</b> | 2,4 – 5,5              | 3,7                |
| <b>Protéines</b>      | 2,9 – 5,0              | 3,2                |
| <b>Glucides</b>       | 3,6 – 5,5              | 4,6                |
| <b>Minéraux</b>       | 0,7 – 0,9              | 0,8                |

**I.3.1. La matière grasse** : elle se compose principalement de triglycérides, de phospholipides et d'une fraction insaponifiable constituée en grande partie de cholestérol et de  $\beta$ -carotène (Vignola,2002).

**I.3.2. Les glucide** : le lactose, principal glucide du lait, a surtout un rôle énergétique et représente environ 30% de la valeur calorique du lait, il joue un rôle important dans les produits laitiers en tant que substrat de fermentation pour les bactéries lactique qui l'hydrolysent en glucose et galactose (Vignola, 2002).



**I.3.3. Les protéine :** le lait de vache contient 3,2 à 3,5% des protéines réparties en deux fractions distinctes : les protéines sériques solubles à pH 4,6 représentent 20% des protéine totales, les caséines dont le pH isoélectrique global est proche de 4,7 représentent 80% des protéines (Jeantet et al., 2007).

**I.3.4. L'eau :** la phase non grasse du lait de vache est constituée majoritairement d'eau (87% de la composition globale) dans laquelle sont dispersés ou solubilisés du lactose (4,8 à 5% de la composition globale), des protéines (3,2 à 3,5%) et de l'azote non protéique (NPN) constitué d'urée, d'acides aminés et de peptides qui représentent environ 5% de la fraction azotée du lait et aussi d'ions inorganiques (calcium, phosphate, chlorure...), d'acides organiques (citrate dans le lait frais) et de vitamines hydrosolubles (Jeantet et al., 2007).

**I.3.5. Les vitamines :** sont des substances biologiquement indispensable a la vie. On répartit les vitamines en deux classes selon leur solubilité: les vitamines hydrosolubles du groupe B, la vitamine C de la phase aqueuse du lait et les vitamines liposolubles (vitamine A, D,E et K) associées a la matière grasse (Vignola, 2002).

**I.3.6. Les minéraux du lait :** bien que mineure dans la composition des laits, la fraction minérale est très importante tant d'un point de vue structural que nutritionnel et technologique. ces éléments minéraux sont: le calcium, le magnésium, le phosphate inorganique, les sodium, le potassium, et les chlorures(Jeantet et al.,2007).

**I.3.7. Les enzymes :** sont définis comme 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 constituant natifs, une grande partie se retrouve dans la membrane des globules gras mais le lait contient de nombreuses cellules (leucocytes, bactéries) qui élaborent des enzyme (Vignola, 2002) , Il s'agit de : l' $\alpha$ -amylase, de la lipase, de la peroxydase, de la phosphatase alcaline, de la phosphatase acide, de la xanthine oxydase et du lysozyme (adrian et al., 1995).

#### I.4. Valeur alimentaire et nutritionnelle du lait de vache

Le lait est un substrat très fournissant à l'homme et aux jeunes mammifères un aliment presque complet car carencé en fer et acides aminés soufrés (méthionine, cytosine).

Il contient des protéines riches en résidus d'acides aminés essentiels et des minéraux d'intérêt nutritionnel (Jeantet et al., 2008) qui sont présents à des concentrations tout à fait satisfaisantes pour la croissance et la multiplication cellulaire (Bougeois et al., 1996).

Le potentiel énergétique d'un litre de lait est de 2720 KJ (Jeantet et al., 2008).

#### I.5. La Pasteurisation du lait cru

##### I.5.1 Définition et objectifs:

Plusieurs définitions ont été données à cet effet par divers auteurs qui s'accordent tous à mettre l'accent sur l'assainissement correct du lait par la chaleur tout en se souciant de préserver la haute valeur nutritive du lait. Pasteuriser le lait, c'est détruire en lui, par l'emploi convenable de la chaleur, la presque totalité de la flore banale, la totalité de la flore pathogène, tout en s'efforçant de ne toucher qu'au minimum à sa structure physique, à ses équilibres chimiques et à ses éléments biochimiques. (Ould Mustapha et al., 2012).

##### I.5.2. Les procédés de la pasteurisation:

La pasteurisation est un procédé consistant à chauffer du lait cru pendant quelques minutes ou secondes à une température la plus basse possible, entre 63 et 95° C, puis à le refroidir à 4°C de manière à détruire les germes nocifs qui pourraient être présents dans le lait, et réduire le nombre de microorganismes nullement dangereux pour la santé. (Ould Mustapha et al., 2012). Pour que le lait soit pasteurisé, il doit être soumis :

- . Soit à une température de 63° C pendant une durée de 30 minutes à basse température cette pasteurisation est presque abandonnée
- . Soit à une température de 85° C pendant une durée de 15-20 secondes (HTST/température moyenne)
- . Soit encore instantanément à une température de 95° C HTST/ haute température. (**arrêté; 1993**). Ce type de pasteurisation haute température courte durée, est très répandu ces dernières années, où les deux préoccupations de sécurité

alimentaire et le désir de prolonger la durée de conservation du lait liquide ont incité de nombreux transformateurs de produits laitier à augmenter la pasteurisation à des températures au-dessus des conditions minimales spécifiées par le décret A du lait pasteurisé (72°C pour 15s). (Ranieri et al., 2009).

### **I.5.3. Paramètre de pasteurisation:**

Les appareils les plus souvent utilisés pour la pasteurisation du lait sont les échangeurs de chaleur à plaques .

Selon Lalande et al 1979, le pasteurisateur, comprend quatre « zones thermiques » :

- La zone de récupération de chaleur dans laquelle le lait ,froid entrant est réchauffé par le lait pasteurisé en cours de refroidissement.
- La zone de chauffage dans laquelle le lait préchauffé est porté à sa température de pasteurisation au moyen d'énergie calorifique fournie par un courant d'eau chaude.
- La zone de chambrage où le lait est maintenu à sa température de pasteurisation pendant une durée fixée par le rapport entre le volume du chambreur et le débit de lait.
- La zone de réfrigération où le lait prérefroidi est amené à sa température de stockage (4° C environ) au moyen d'énergie frigorifique fournie par un courant d'eau glacée.

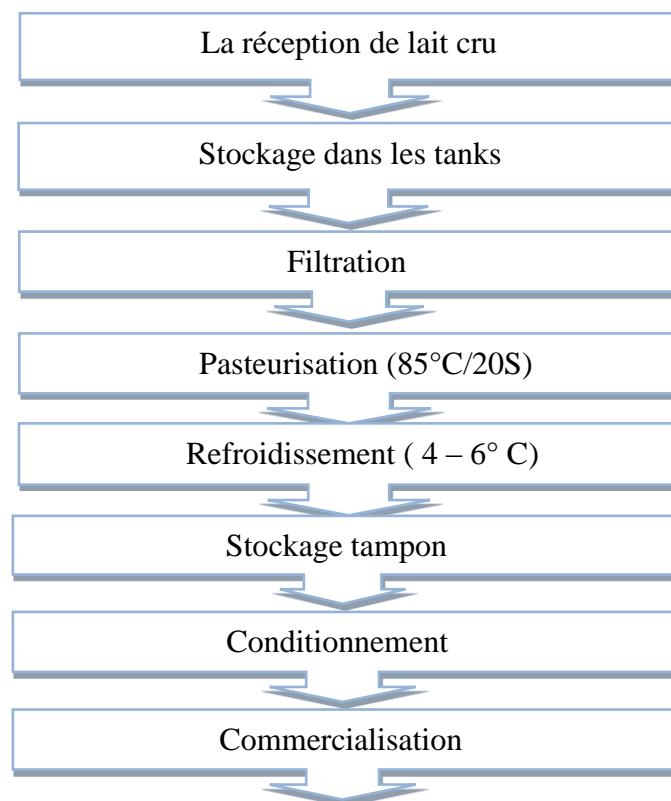
### **I.6. Pasteurisation du lait cru au niveau de la laiterie Arib**

A la laiterie Arib, on distingue les étapes suivantes dans la fabrication du lait cru pasteurisé :

- La réception du lait cru : le lait arrive à la lusine en vrac dans des camion-citernes. La réception du lait se fait au niveau du quai de réception ou se trouvent des pompes, des circuits et un compteur volumétrique. Le lait subit un contrôle immédiat de lacidité et aussi un contrôle de la présence d'antibiotiques avant être accepté.
- La filtration : il faut d'abord débarrasser le lait de toutes les impuretés, les corps étrangers qui peuvent s'y trouver accidentellement (poils, insectes, impuretés végétales...).

- La pasteurisation : le lait subit une pasteurisation pendant 15- 20 secondes, elle est réalisée a l'aide d'un pasteurisateur à plaques ou à tubes, qui fait chauffer le lait jusqu'à 85°C suivi d'un réchauffement rapide à 4 à 6°C pour éviter l'acidification de lait.
- Le refroidissement : le lait est refroidi à 4 - 6 °C dans des réfrigérateurs jusqu'au moment de son utilisation. Ce refroidissement ralentit la croissance des microorganismes et la vitesse des changements biochimiques des aliments frais ou transformés.
- Le stockage : le lait pasteurisé refroidi passe dans des tanks de stockage puis dans des conditionneuses automatiques.
- Le conditionnement : consiste à la mise du lait dans des sachets d'un litre.
- La commercialisation : les sachets de lait entier pasteurisé sont distribués dans des camions frigorifiques dans différentes régions .

La production de lait de vache pasteurisé au niveau de la laiterie Arib se fait selon le diagramme suivant :



**Figure N°1.** Diagramme de la fabrication du lait au niveau de la laiterie Arib.



# *Chapitre II*

## II. La microbiologie de lait

### II.1. Les flores microbiennes de lait

On répartit les microorganismes du lait, selon leur importance, en deux grandes classes : La flore indigène ou originelle et la flore contaminant. Cette dernière est subdivisée en deux sous classe : la flore d'altération et la flore pathogène (Vignola, 2002).

#### II.1.1. La flore originelle ou indigène

Le lait contient relativement peu de microorganisme quand il est sécrété partir de la mamelle d'un animal en bonne santé. Il devrait contenir moins de 5000UFC (unités formant colonies) (Vignola, 2002).

A sa sortie du pis, il est pratiquement stérile et est protégé par des substances inhibitrices appelées lacténines mais leur action est de très courte duré environ 1 heure (Guiraud, .2003).

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

Le tableau N°3 regroupe les principaux microorganismes originels du lait avec leurs proportions relatives.

**Tableau N°3. flore indigène du lait cru (Vignola, 2002).**

| Microorganismes              | Pourcentage(%) |
|------------------------------|----------------|
| Micrococcus sp               | 30-90          |
| Lactobacillus                | 10-30          |
| streptococcus ou lactococcus | <10            |
| Gram négatifs                | <10            |

- Les micrococcus :

Sont des coques Gram+, immobiles, asporulés, groupés généralement en amas, irréguliers, catalase+, aérobies. Ils sont souvent thermophiles mais ne survivent pas à la pasteurisation (Guiraud, 1998),

- Les lactobacillus :

Sont des bâtonnets droits ou incurvés isolés en chaînettes, en général immobiles (Larpen, 1997). Gram+, pléomorphes, asporogènes, oxydase et catalase-. Ces bactéries ont des exigences nutritionnelles complexes, leur croissance est bonne dans un milieu à pH 4,5 à 6,4 mais s'arrête à pH 4,0 à 3,6 (Bourgeois et Larpen, 1996).

- Les streptocoques

Sont des cocci Gram+, aérobies ou anaérobies facultatifs, saprophytes en général, immobiles. Le métabolisme est de type respiratoire ou fermentaire avec production d'acide sans gaz à partir du glucose (Larpen, 1997). L'appellation « streptocoque » regroupe des genres très fréquents dans l'industrie alimentaire comme contaminants et surtout comme agents de fermentation lactique (Guiraudet Rosec, 2004).

### **II.1.2. La flore de contamination**

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



Tableau N°04 : Flore de contamination de lait cru (Vignola, 2002).

| Les germes   | Source de contamination                      |
|--|--|
| - Coliformes<br>- Entérocoques<br>- clostridium<br>- Entérobactéries pathogènes<br>( <i>salmonella</i> , <i>Shigella</i> ) | Fèces et téguments de l'animal               |
| - Flore lactique<br>- Microcoque<br>- Lactobacilles<br>- Pseudomonas   | Équipements de traite et de stockage du lait |
| - Flore banale variée<br>- Lactobacilles<br>- Clostridium butyriques   | Litière et aliments                          |
| - Staphylocoques dans le cas de traite manuelle.   | Manipulateurs                                |
| - Pseudomonas<br>- Bactérie sporulées  | Air et eau                                   |
| - Streptomyces<br>- Bactéries sporulées<br>- Spores fongiques<br>- listéria  | Sol  |

Parmi ces microorganismes, il en est d'inoffensifs, d'autres de dangereux du point de vue sanitaire, d'autres enfin sont capables d'entraîner la détérioration du lait (Bourgeois et al., 1996). On cite parmi eux :

- *Shigella* :

Les *Shigella* sont des entérobactéries bacilles à Gram négatifs, aéro-anaérobies ou anaérobies facultatifs, oxydase-, adaptées à l'homme, agents d'une maladie diarrhéique aiguë (Delarras, 2007). Elles sont génotypiquement très voisines des *Escherichiae*, leur principal

réservoir est l'homme ; elles ne font pas partie de la flore intestinale normale, on ne les trouve que chez les malades, les convalescents et les porteurs sains (Guiraud et Rosec, 2004).

Toujours pathogènes, elles sont surtout transmises par l'eau et par les aliments crus de pH neutre, la dose infectante peut être très faible : 10 à 100 bactéries (Guiraud, 1998).

- *Listeria* :

Sont des bâtonnets courts et réguliers, à extrémité arrondie isolés ou en chaînettes Gram+ parfois Gram-, mobiles, anaérobies facultatifs, provoquent la listériose humaine (Delarras, 2007). Ce sont des germes peu exigeants et très résistants, psychrophiles

(croissance de 0 - 1 à 45°C), halophiles et relativement thermorésistants c'est-à-dire pouvant échapper à la pasteurisation (Guiraud et Rosec, 2004).

- *Clostridium* :

Sont des bacilles à Gram+, sporulés, immobiles, cultivant en anaérobiose (Larpen, 1997). les cultures âgées peuvent apparaître Gram -. Ils se multiplient facilement sur les milieux ordinaires, en général mésophiles, très répandus dans la nature, en particulier dans le sol ; ils contaminent de nombreux produits : eau, lait, viande, poisson, conserves alimentaires... (Guiraud et Rosec, 2004).

### II.1.2.1 La flore d'altération

Incluse dans la flore contaminante, la flore d'altération causera des défauts sensoriels de goût, d'arôme, d'apparence et réduira la vie du produit laitier (Vignola, 2002). Nombreuses sont les espèces bactériennes du lait cru capables de dégrader le lactose, les protéines ou les lipides de cette matière première.

La flore dominante est constituée de trois groupes microbiens : les bactéries coliformes (*E coli* et *Hafnia alvei*), les *Pseudomonas* du groupe fluorescent psychrotrophe et les streptocoques lactiques (Jacquet et Veisseyre, 1987).

- les coliformes :

En microbiologie alimentaire, on appelle coliformes les entérobactéries fermentant le lactose avec production de gaz à 30C, cependant, lorsqu'ils sont en nombre très élevé, les coliformes peuvent provoquer des intoxications alimentaires. le dénombrement des coliformes a longtemps été considéré comme un indice de contamination fécale. comme les

entérobactéries totales, ils constituent un bon indicateur de qualité hygiénique pendant ou après la transformation (Guiraud et Rosec, 2004).

Leur présence est cependant un bon indice de mauvaise condition hygiénique pendant ou après la transformation de l'aliment (Bonney et *al.*, 2002).

- les *Pseudomonas*

Ce sont des bâtonnets de 0,5 à 1 µm de diamètre, aérobies stricts, mobiles avec flagelle, mésophiles, oxydase et catalase positifs, espèce ubiquitaire et multi-résistante à la plupart des antibiotiques. Souvent psychrotrophes et souvent responsables d'altération de nombreux produits, ces bactéries peuvent être dénombrées dans les matières premières et les produits finis (Larpen, 1997).

### II.1.2.2 Flore pathogène :

Comme la flore d'altération, la flore pathogène est incluse dans la flore contaminante du lait. La présence des germes pathogènes dans le lait peut avoir trois sources : l'animal, l'environnement et l'homme (Vignola, 2002).

Parmi les bactéries pathogènes qui peuvent être retrouvées dans le lait cru, certaines y sont habituellement à un très faible niveau et ont peu de chance de se développer (*Brucella*, *Campylobacter foetus* et *Salmonella*).

D'autres sont à un niveau appréciable et, malheureusement, peuvent se multiplier, c'est le cas des bactéries mésophiles, telles qu'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, ou l'espèce psychrotrophe *Yersinia enterocolitica* (Jacquet et Veisseyre, 1987).

- *Brucella*

Ce sont de petits coccobacilles à Gram négatifs, immobiles, aérobies à oxydase positif, toutes les espèces sont pathogènes, donnant une maladie animale qui est transmissible à l'homme. Il s'agit de la brucellose ou fièvre de Malte, qui peut être chronique ou aiguë. Les *Brucella* peuvent être transmises par les aliments carnés et le lait cru (Guiraud, 1998).

---

- Campylobacter

Sont des bacilles fins à Gram négatifs, incurvés en forme de virgule, mobiles par flagelles polaires, généralement microaérophiles, oxydase+, toutes les espèces mésophiles se développent à 37°C (Delarras, 2007).

- Salmonella :

Sont des entérobactéries lactose-. La contamination des produits alimentaires peut être originelle (animaux malades) ou provenir de manipulateurs malades ou porteurs sains de germes.

Les salmonelles étant des bactéries dangereuses responsables d'un grand nombre des troubles d'origine alimentaire, elles ne doivent pas être présentes dans un aliment, toutes les variétés d'aliments sont susceptibles d'être contaminées, mais on retrouve les *Salmonella* dans les produits d'origine animale surtout le lait, les oeufs et la viande (Guiraud, 1998).

Ces gastro-entérites ou salmonelloses se manifestent par des diarrhées, vomissements et de la fièvre qui apparaissent 8 à 10 heures après l'ingestion d'un aliment contaminé (Delarras, 2007).

- Les staphylocoques :

Les staphylocoques sont des cocci à Gram+ anaérobies facultatifs de 0,1 à 1µm de diamètre, usuellement associés par paires ou en forme de grappes de raisins, avec un métabolisme à la fois respiratoire et fermentaire, ubiquitaire présents dans l'air, le sol et les eaux. Ils colonisent l'homme et les animaux et font partie de leur flore commensale de la peau et des muqueuses (Bousseboua, 2005).

- Escherichia coli :

C'est une entérobactérie lactose+, gazogène, réalisant une fermentation d'acide mixte, elle produit de l'indole (Guiraud, 1998). C'est l'hôte normal de l'intestin de l'homme et des animaux à sang chaud, c'est un coliforme fécal, germe indicateur de contamination fécale dans les aliments (Delarras, 2007).

Les souches d'*Escherichia coli* sont responsables d'infections chez l'homme : les enterotoxinogènes, les enteroinvasives, les enterohémorragiques et les enteropathogènes (Delarras, 2007).



# *Chapitre III*

### III. Les résidus d'antibiotiques

#### III.1. Définition :

Les antibiotiques se définissent comme des molécules antibactériennes synthétiques ou naturelles capables d'inhiber la croissance des bactéries ou les détruire (Helali, 1999).

les résidus sont des substances d'origine naturelle, semi-synthétique ou synthétique douées d'une activité antibactérienne (Singleton, 2005). Pouvant bloquer le développement ou la multiplication de certains microbes (Boudier et Luquet, 1981).

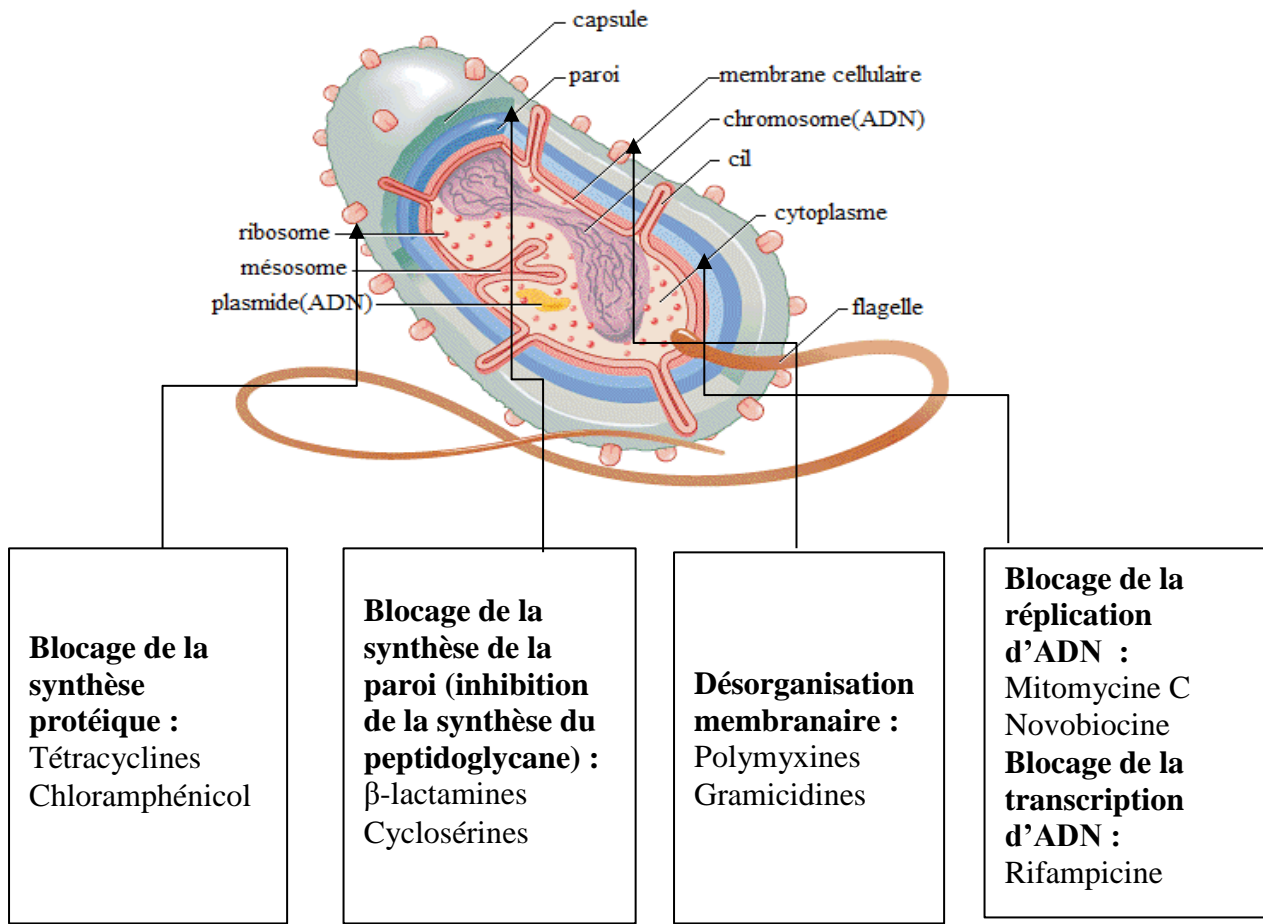
Les antibiotiques peuvent être soit bactéricides : détruisent ou tuent les bactéries ou bactériostatiques : inhibent la croissance bactérienne (Madigan et Martinko, 2007).

**Tableau N°5.** les antibiotiques bactéricides et les antibiotiques bactériostatiques (Joffin et Leyral, 2006).

| <b>Bactéricides</b> | <b>Bactériostatiques</b>   |
|---------------------|----------------------------|
| B-lactamine         | Phénicolés                 |
| Vancomycine         | Tétracyclines              |
| Polypeptides        | Macrolides et lincosamides |
| Aminosides          | Acide fusidique            |
| Streptogramines     | Sulfamides                 |
| Quinolones          | Rifampicines               |
| 5-Nitro-imidazolés  | Synergistines              |

#### III.2. Mode d'action

Les différentes molécules d'une même famille partagent le même site d'action sur la paroi bactérienne (synthèse du peptidoglycane), au niveau des synthèses protéiques ou des répliquions de l'ADN (Joffin et Leyral, 2006).



**Figure N°2.** Sites d'action des antibiotiques (Joffin et Leyral, 2006).

### III.3. Les mammites

Les mammites ou mastites sont des inflammations de la glande mammaire. Elles peuvent être causées par divers microorganismes et surviennent chez toutes les espèces domestiques. Les mammites peuvent être dangereuses pour l'homme qui consomme du lait contaminé ou contenant des antibiotiques (Hunter et *al.*, 2006).

Il convient de bien distinguer les mammites cliniques, aiguës ou chroniques, qui posent un problème médical, et les mammites subcliniques, les plus fréquentes, qui posent un problème économique grave, en raison de leurs répercussions sur la production laitière et l'industrie fromagère (Fontaine, 1992).



### III.3.1. Les mammites cliniques

Les mammites cliniques sont caractérisées par la présence de symptômes fonctionnels représentés surtout par des modifications macroscopiquement visibles de la quantité, de la qualité et de l'aspect du lait, de symptômes locaux inflammatoires observés au niveau de la mamelle : douleur, chaleur, tuméfaction, etc. et de symptômes généraux comme l'hyperthermie, l'anorexie, l'arumination (Hulsen et Lam, 2007).

### III.3.2. Les mammites subcliniques

Elle ne présente aucun des signes précédemment évoqués : l'état général est parfaitement normal, la mamelle cliniquement saine et le lait ne présente aucune modification macroscopique. Par contre, l'examen cytologique du lait met en évidence une augmentation parfois considérable du nombre de polynucléaires. Ce type de mammite résulte de l'évolution de foyers infectieux au sein du parenchyme, créés par des germes dont l'organisme n'arrive pas à se débarrasser. Elle peut évoluer pendant très longtemps parfois sur plusieurs lactations et aboutir à une fibrose plus ou moins importante des quartiers atteints (Hulsen et Lam, 2007).

### III.4. Exemples d'antibiotiques utilisés dans le traitement des mammites

Les mammites chez la vache sont une dominante pathologique en élevage laitier. Le vétérinaire à souvent recours aux antibiotiques pour ses traitements. Les spécialités antibiotiques constituent ainsi la base du traitement (Bendali *et al.*, 2008).

Les antibiotiques les plus couramment utilisés dans le traitement des mammites sont :

- la pénicilline qui reste l'antibiotique de choix pour la mammite, à une posologie suffisante (200 000 U.I de pénicillinate de procaïne par injection et par quartier) pour les streptocoques (Fontaine, 1992).
- on utilise également les Tétracyclines (Auréomycine et Terramycine), la Streptomycine et les Macrolides (la Spiramycine, l'Erythromycine). Ces derniers sont très actifs sur les staphylocoques et moyennement sur les anaérobies ( Fontaine, 1992).
- pour les Gram positifs : en dehors de la Pénicilline, ou en association (aminosides, colistine...). Les tétracyclines sont également très utilisées (Airieau *et al.*, 2000).

- pour les Gram négatifs : en dehors de la Streptomycine, la Kanamycine, les macrolides et les quinolones, sont efficaces (Airieau *et al.*, 2000).

### III.5. Les problèmes liés à la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait

Les problèmes liés à la présence des résidus d'antibiotiques sont d'ordre sanitaire et technologique.

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 *et al.*, 2002).

#### III.5.1. Risques pour la santé publique

Différents risques pour la santé publique sont enregistrés :

- la toxicité fonctionnelle : Certains scientifiques évoquent alors une possible toxicité hépatique . Elle est donc dans l'ensemble extrêmement limitée, le cas de toxicité potentielle fréquemment cité est celui du chloramphénicol, qui a été responsable d'anémies aplasiques chez l'homme (Fabre *et al.*, 2006).

- la réaction allergique : Les réactions allergique ont été observée chez des personnes déjà sensibilisées, Ces réactions sont généralement légères comme une irruption cutanée, des symptômes respiratoires tels que l'asthme et les dermatites (Jeon *et al*, 2008).

- l'influence sur la flore intestinale : les antibiotiques influencent la flore intestinale de deux manières : en modifiant sa composition par une inhibition sélective de composants déterminés et en favorisant ou en sélectionnant des microorganismes résistants (Moll et Moll, 2002).

#### III.5.2. Risques d'ordre technologique

Les résidus d'antibiotiques peuvent aussi empêcher le développement des bactéries lactiques, qui interviennent dans les fabrications de produits laitiers et celui des streptocoques lactiques surtout qui sont très sensibles aux antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire. Des doses de pénicilline variant de 20 à 150 U.I par litre de lait sont suffisantes pour perturber une fabrication. Il faut souligner le fait que la pénicilline est très résistante à la chaleur, elle n'est

pas inactivée au cours de la pasteurisation du lait ; elle n'est même pas complètement détruite à l'autoclave (Alais, 1974).

Les résidus sont ainsi responsables de grandes pertes financières qui se répercutent tout le long de la filière laitière. Exemple : un seul traitement intramammaire peut rendre inutilisable plus de 100 000 litres de lait (Fabre *et al.*, 2006).

### III.6. Méthodes de détection des antibiotiques

Selon Vignola, 2002, on peut répartir les méthodes de détection des antibiotiques en :

#### III.6.1. Méthodes de criblage

Elles se basent sur l'inhibition des souches indicatrices par les antibiotiques présents dans le lait. Il s'agit de trois microorganismes à savoir : *Bacillus stearothermophilus*, *Streptococcus thermophilus* et *Bacillus subtilis*. Parmi les tests développés, on cite la méthode de diffusion sur gélose (5 heures), le test « Farm Charm Test », l'ATPmétrie, « Lumac Rapide Test » (30 minutes) et l'Arta microtest (5 heures).

#### III.6.2. Méthodes de confirmation

Elles se basent sur la mise en évidence de l'interaction entre certains groupes d'antibiotiques et les récepteurs spécifiques ; le test le plus courant est le Farm Charm Test. Ce test permet la détection des  $\beta$ -lactames en quelques minutes.

La compagnie Charm a également développé un test radio-immunologique, utilisant des anticorps spécifiques aux récepteurs des antibiotiques. Ce test extrêmement rapide (10 minutes) permet de détecter de très faibles concentrations d'antibiotiques. Récemment, d'autres méthodes immunologiques ainsi que le test ELISA, ont permis de détecter rapidement (15 minutes) les  $\beta$ -lactames. Le test Penzyme (est un test enzymatique colorimétrique très rapide) permet la détection de  $\beta$ -lactames en 20 minutes. Quelque soit le test utilisé, il y a lieu de confirmer les résultats positifs par des techniques généralement spécifiques. Parmi ces tests, il y a les techniques de chromatographie en couche mince, développées essentiellement pour la détection des  $\beta$ -lactames.

### III.7. La recherche des antibiotiques au niveau de la laiterie Arib

Parce que l'utilisation des Tétracyclines et des  $\beta$ -lactames pour la gestion de la mammite dans les troupeaux laitiers a augmenté dans certaines régions, la nécessité d'un seul test pour détecter simultanément les trois groupes d'antibiotiques a également augmenté.

C'est pourquoi on utilise à la laiterie Arib, une méthode rapide : IDEXX SNAP duo ST plus à cause de sa capacité à tester les trois principaux groupes d'antibiotiques les  $\beta$ -lactames, les Tétracyclines et les céfalexine en seulement six minutes.

- Les  $\beta$ -lactames : un des groupes d'antibiotiques les plus importants, historiquement et médicalement, est le groupe d'antibiotiques à cycle  $\beta$ -lactame, qui compte des composés importants comme les Pénicillines, les Céphalosporines et les Céphamycines (Madigan et Martinko, 2006). Les bêta-lactames agissent en perturbant la synthèse de l'enveloppe cellulaire dans les cellules en croissance (Singleton, 2005).

- Les Tétracyclines : étaient les premiers antibiotiques à large spectre, inhibant presque toutes les bactéries Gram positifs et Gram négatifs (Madigan et Martinko, 2006). Ils perturbent la synthèse des protéines en se liant aux ribosomes (Singleton, 2005).



**Figure N°3 .** Test IDEXX SNAP duo ST plus pour la détection des  $\beta$ -lactames, des Tétracyclines et des céfalexine ([www. Idexx.com](http://www.Idexx.com)).

### III.8. Législation Algérienne

La législation Algérienne dans sa définition du lait, dans l'article 6 de l'arrêté interministériel ( le Ministère de l'Economie, le Ministère de l'Agriculture et le Ministère de la Santé et de la Population) du 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation, mentionne le fait qu'un lait propre à la consommation humaine ne doit pas contenir des résidus d'antibiotiques mais ne précise pas explicitement les limites maximales de résidus ( Annexe N°12).



# *Partie expérimentale*

*Matériel et  
méthodes*

## **LA PRESENTATION DE LA LAITERIE DE ARIBE**

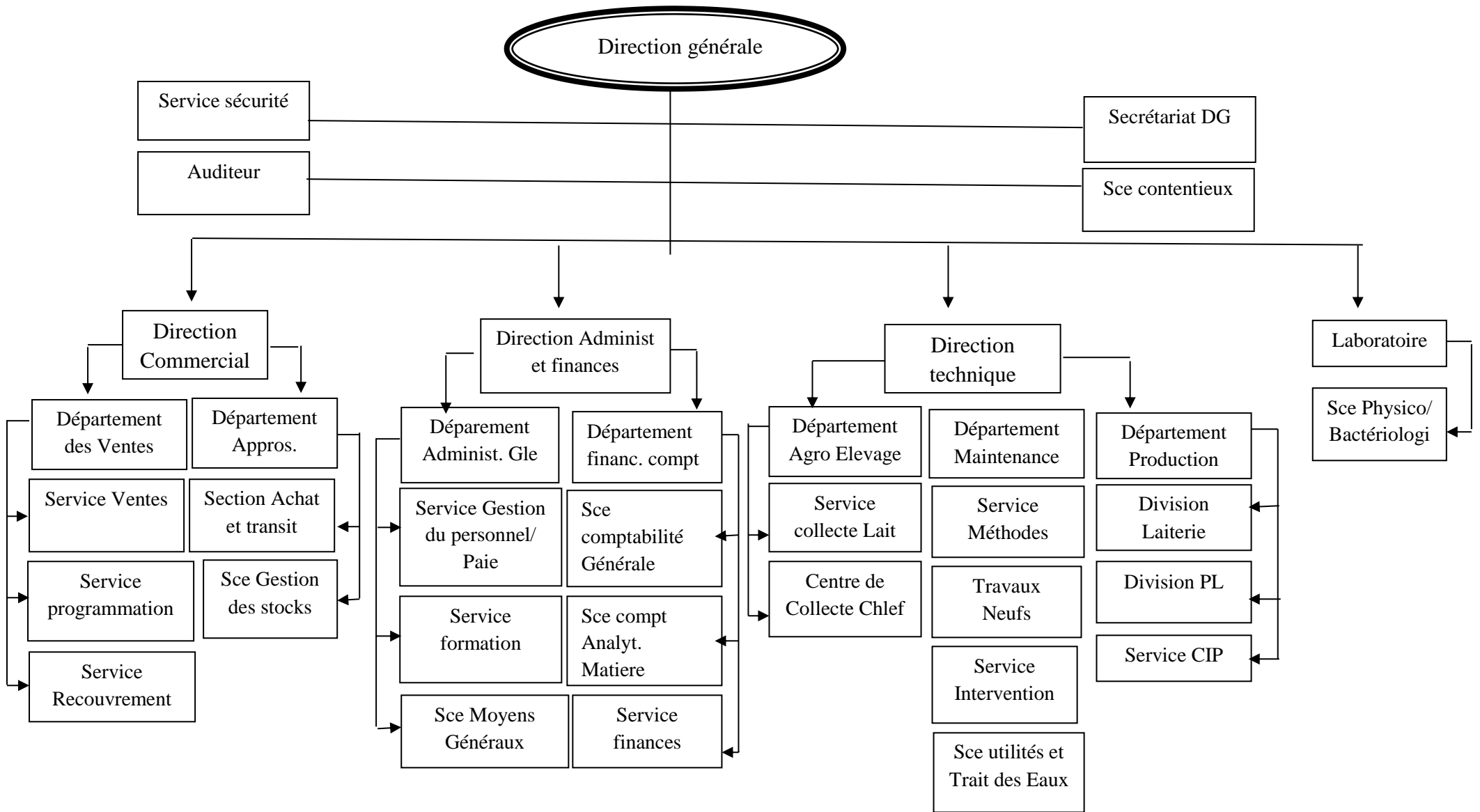
La laiterie de arib est située à 11km au nord est du chef lieu de la wilaya de ain-defla, elle est opérationnel depuis sa réalisation par les société italienne intercoop, sordi en 1989,elle sétalé sur une superficie de 11 hectares .

Depuis le 19 septembre 1997, l'unité de arib ex ORLAC est devenue une filiale avec effectif de 306 travailleurs qui assurant la production et la distribution du lait et ses dérivés courant ainsi plusieurs wilaya tes à voisinant.

La laiterie produit une gamme importante de produit à savoir :

1. du lait recombine pasteurise conditionne.
2. du lait acidifie fermenté conditionne.
3. du yaourt crème.
4. de crème dessert.
5. lait de vache pasteurise conditionne.





**Figure N°4 :** Organigramme de la laiterie ARIB

## **I. Analyse bactériologique du lait pasteurisé**

L'analyse bactériologique du lait est une étape importante qui vise d'une part à contrôler les caractères organoleptiques et sensoriels du lait, donc d'allonger sa durée de vie et d'autre part, à prévenir les cas d'empoisonnement alimentaire liés à leur transmission au consommateur.

Sur le plan microbiologique, nous avons effectué le dénombrement et la recherche des microorganismes susceptibles d'évoluer dans le lait et qui sont cités dans l'Arrêté Interministériel (Ministère de l'Economie, Ministère de l'Agriculture et Ministère de la Santé et de la Population) du 27 mai 1998 du Journal Officiel Algérien relatif aux spécifications de certaines denrées alimentaires.

Les germes dont la recherche est exigée par le Journal Officiel Algérien sont :

- La flore totale aérobie mésophile (FTAM).
- Les coliformes totaux.
- Les coliformes fécaux.
- les *Staphylococcus aureus*.
- Les *Clostridium sulfito- réducteurs*
- Les *Salmonella sp.*

### **I.1. L'échantillonnage :**

Cinq échantillons (E1, E2, E3, E4, E5) ont été prélevés successivement les 4, 7, 11, 14, 18 mars 2018 et analysés au niveau de la laiterie Arrib , dont l'objectif est de rechercher la propreté hygiénique et microbiologique de lait cru pasteurisé, la deuxième partie a été réalisée au niveau de laboratoire de Dr Zibouche. pour la recherche des germes de salmonella dans le lait cru pasteurisé.

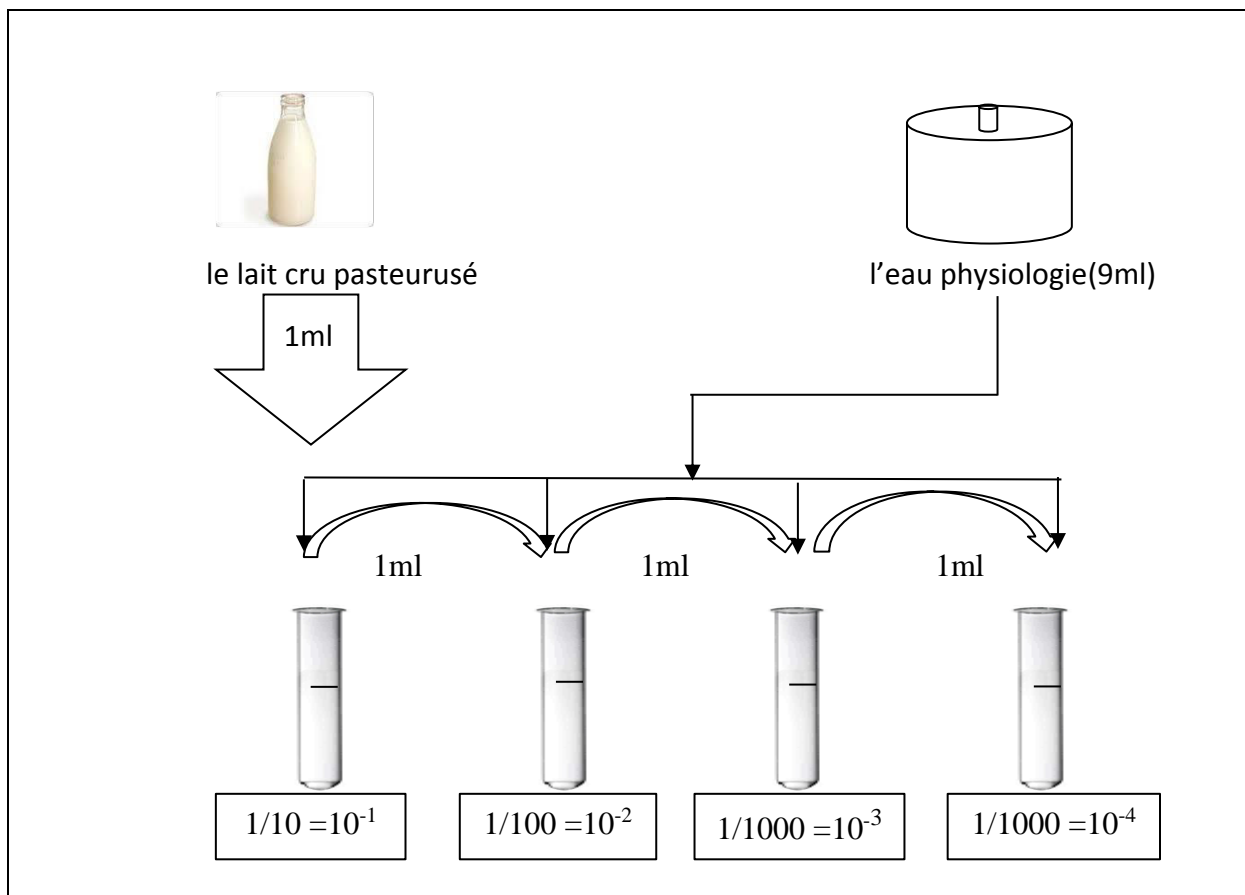
### **I.2. Techniques de prélèvement :**

Les prélèvements pour analyses microbiologiques doivent s'effectuer aseptiquement à partir du robinet disposé à la partie inférieure de la citerne de la collecte iso thermique, dans un flacon stérile. Le robinet est flambé au préalable, les prélèvements sont aussitôt refroidis dans un réfrigérateur, jusqu'au moment de l'analyse avec un délai n'excédant pas plus de 3 heures (voir l'annexe N°3).

### I.3. Technique des dilutions

Les dilutions décimales sont réalisées pour les milieux qui sont très riches en microorganismes. Pour faciliter le dénombrement (J.O.R N° 70 du 7 novembre 2004), on utilise un diluant : l'eau physiologie comme suit (Voir l'annexe N°4) :

Une dilution au 1/10 est obtenue en transférant aseptiquement 1 ml de lait à l'aide d'une pipette de 1 ml stérile dans 9 ml de diluant. Une dilution au 1/100 est obtenue en transférant 1 ml de la dilution au 1/10 à l'aide d'une nouvelle pipette de 1 ml stérile dans un second tube de diluant. Procéder de manière identique pour les dilutions suivantes. Mélanger soigneusement chacune des dilutions au moment de leur préparation et avant les ensemencements.



**Figure N°5 :** Technique de préparation des dilutions successives.

#### I.4. Les milieux de culture

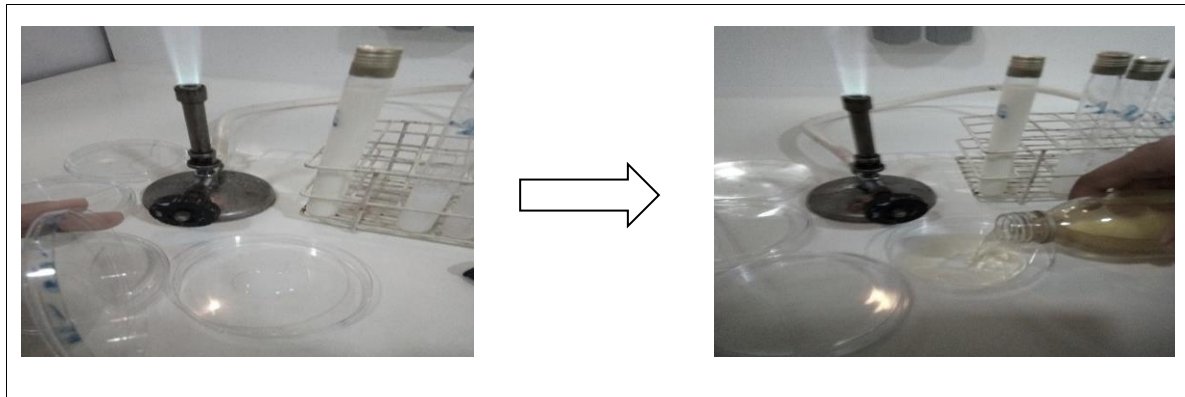
- Milieu plate count agar (PCA) : est utilisé pour la recherche et le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile .
- Milieu gelose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre(VRBL) : est utilisé pour la recherche et le dénombrement des coliformes totaux et fécaux.
- Milieu de Giolliti et Cantonii (GC) : milieu sélectif utilisé pour la recherche et le dénombrement des *Staphylococcus aureus*.
- Milieu viande-foie (VF) : utilisé pour le dénombrement des *Clostridium sulfito-réducteurs*.
- Milieu Hektoen : utilisé pour le dénombrement des Salmonelles.

#### I.5. Recherche et dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM):

La flore totale aérobie mésophile est constituée d'un ensemble de microorganismes variés correspondant aux germes banals de contamination (Guiraud et Rosec., 2004), capables de se multiplier en présence d'oxygène à une température située entre 25 et 40°C (Bonnefoy et *al.*, 2002).

##### ▪ Mode opératoire :

- Le milieu de culture PCA est préparé en le mettant dans un bain-marie, ensuite il est refroidi à 45°C devant un bec Bunsen et sur une paillasse bien stérile.
- Introduire à l'aide d'une pipette pasteur 20 gouttes (1ml) de chaque dilution ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ) dans des boîtes de pétri.
- Verser par la suite la gélose PCA (sa composition est donnée en annexe) maintenue en surfusion puis effectuer des mouvements circulaires et de va- et – vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose utilisée, laisser solidifier sur paillasse.



**Figure N°6** : Ensemencement des boîtes de pétri par le milieu PCA.

▪ **Incubation :**

- Les boîtes sont incubées à 30°C pendant 24 à 72h.

▪ **Lecture :**

- Après l'incubation, Les colonies des GAMT se présentent sous forme lenticulaire en masse. toutes les colonies sont dénombrées sur les boîtes qui contiennent de 15 à 300 colonies.

▪ **Expression des résultats :**

Le dénombrement s'agit de compter toutes les colonies ayant poussé sur les boîtes en tenant compte les facteurs suivants :

- Ne dénombrer que les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies .
- Multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution .
- Faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions.

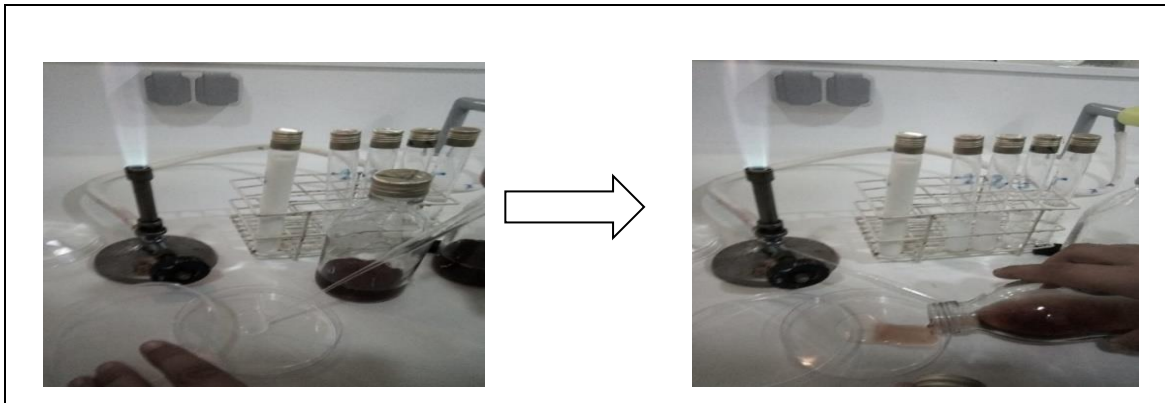
### **I.6. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux**

Les coliformes sont des micro-organismes d'altération. Leur présence indique une faute hygiénique relevant soit d'une mauvaise qualité du lait utilisé, soit de la malpropreté du matériel de fabrication (Larpen, 1997).

▪ **Mode opératoire :**

- Introduire à l'aide d'une pipette pasteur 1ml de chaque dilution ( $10^{-1}$  ,  $10^{-2}$ ) dans une boîte de pétri vide .
- Couler 15 ml de gélose VRBL (sa composition est donnée en annexe) et mélanger l'inoculum avec le milieu,

- Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de (8) pour bien mélanger la gélose à l'inoculum .
- Laisser solidifier les boîtes sur la paillasse, puis couler à nouveau environ 5 ml de la même gélose ; cette double couche a un rôle protecteur contre les diverses contaminations.
- Cette opération doit être effectuée en double pour chaque dilution car :
  - la première série de boîtes sera incubée à 37°C et sera réservée à la recherche des coliformes totaux.
  - la deuxième série de boîtes sera incubée à 44° C et sera réservée à la recherche des coliformes fécaux.



**Figure N°7 :** Ensemencement des boîtes de pétri par gélose VRBL

▪ **Incubation :**

- Coliformes totaux : Placer la boîte de Pétri retournée dans une étuve à 37°C pendant 24 heures.
- Coliformes fécaux : Placer la boîte de Pétri retournée dans une étuve à 44° C pendant 24 heures.

▪ **Lecture :**

Les colonies des coliformes totaux et fécaux apparaissent en masse sous forme de petites colonies de couleur rouge foncé et de 0,5 mm de diamètre.

▪ **Expression des résultats :**

Le dénombrement s'agit de compter toutes les colonies ayant poussé sur les boîtes en tenant compte les facteurs suivants :

- ne dénombrer que les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies ;
- multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution ;
- faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions.

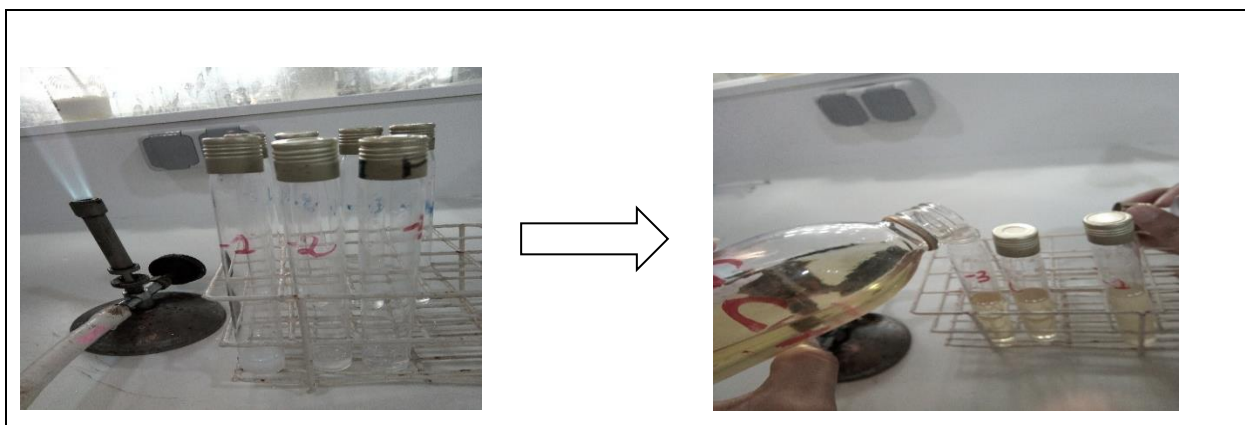
### I.7. Recherche des *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* est un microorganisme formant des colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques, en surface d'un milieu de culture sélectif et donnant une réaction fortement positive à la coagulase (Bonnefoy et *al.*, 2002).

*Staphylococcus aureus* est le germe le plus pathogène, sa présence dans les aliments constitue un risque pour la santé humaine parce que certaines souches sont capables de produire des entérotoxines à 10°C et 48°C dont l'ingestion provoque une intoxication (Leyral, Vierling, 2007).

#### ▪ Mode opératoire :

- Au moment de l'emploi, ouvrir aseptiquement le flacon contenant le milieu de Giolliti Cantonii (sa composition est donnée en annexe) pour y ajouter 15 ml d'une solution de téleurite de potassium.
- Mélanger soigneusement. Le milieu est alors prêt à l'emploi.
- A partir des dilutions décimales ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ), porter aseptiquement 1 ml par dilution dans un tube à vis stérile.
- Ajouter par la suite environ 15 ml du milieu d'enrichissement comme l'indique le schéma. Bien mélanger le milieu et l'inoculum.



**Figure N°8:** Recherche de *Staphylococcus aureus* par le milieu d'enrichissement liquide (Giolliti Cantoni)

**▪ Incubation :**

L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures.

**▪ Lecture :**

- Seront considérés comme positifs, les tubes ayant virés au noir.
- pour s'assurer qu'il s'agit bien d'un développement de *Staphylococcus aureus*, ces tubes feront l'objet d'un isolement sur gélose Chapman préalablement fondue, coulée en boîtes de Pétri et bien séchées.
- les boîtes de Chapman ainsiensemencées seront incubées à leur tour à 37°C pendant 24 à 48 heures.
- Après ce délai, repérer les colonies suspectes à savoir les colonies de taille moyenne, lisses, brillantes, pigmentées en jaune et pourvues d'une catalase et d'une coagulase.

**▪ Expression des résultats :**

- Si à la dilution  $10^{-3}$ , le tube a noirci au bout de 24 heures d'incubation, mais à l'isolement sur Chapman, il n'y a pas de colonies caractéristiques ce tube est considéré comme négatif.
- Si par contre à la dilution  $10^{-1}$ , le tube a noirci au bout de 24 heures d'incubation et à l'isolement, il y a des colonies caractéristiques, il faut tenir compte de la dilution en question, car le nombre réel de *Staphylococcus aureus* correspond à l'inverse de la dilution. dans ce cas, il y a donc 10 *Staphylococcus aureus* par gramme ou millilitre de produit à analyser.

**I.8. Recherche des *Clostridium* sulfite-réducteurs :**

Les *Clostridium* sulfite-réducteurs correspondent à la famille des Clostridiaceae. Ce sont des bacilles, Gram positif, catalase négative, anaérobies stricts, ils se multiplient facilement sur les milieux ordinaires, ils sont capables de sporuler, la forme et la position de la spore ont une importance taxonomique (Guiraud et Rosec, 2004).

**▪ Mode opératoire :**

- Au moment de l'emploi faire fondre un flacon de gélose viande foie (sa composition est donnée en annexe), le refroidir dans un bain d'eau à 45 puis ajouter une ampoule d'Alun de fer et une ampoule de sulfite de sodium. Mélanger soigneusement et aseptiquement.
- Le milieu est ainsi prêt à l'emploi, mais il faut le maintenir dans une étuve à 45 jusqu'à l'utilisation.



- A partir de ces dilutions ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ), porter aseptiquement 1ml de chaque dilution en double dans deux tube a vis stériles.

Les tubes contenant les dilutions  $10^{-1}$  et  $10^{-2}$  seront soumis :

- D'abord à un chauffage à 80 °C pendant 8 à 10 min.

- Puis à un refroidissement immédiat sous d'eau de robinet, dans le but d'éliminer les formes végétatives et de garder uniquement les formes sporulées.

- Puis ajouter environ 15ml de gélose viande foie prêt à l'emploi dans chaque tube.

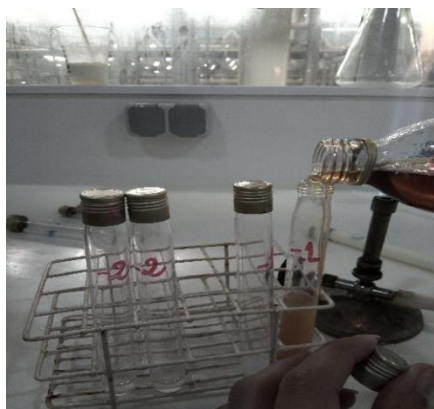
- Laisser sur la paillasse pendant 30 min.



A. Chauffage dans le bain marie pdt 10 mn



B. Refroidissement pour le choc thermique



C. Enrichissement dans le milieu VF



D. Laisser sur la paillasse pendant 30 min

**Figure N°9** : Recherche des *Clostridium* sulfite réducteurs par le milieu viande foie.

**▪ Incubation :**

Ces tubes seront ainsi incubés à 37 pendant 48 heures

**▪ Lecteur :**

Les *Clostridium* sulfite-réducteurs apparaissent sous forme de colonies noires, la première lecture doit se faire impérativement à 16 h, car, d'une part ces colonies sont envahissantes auquel cas on se trouverait en face d'un tube complètement noir rendant alors l'interprétation difficile voire impossible et l'analyse est à refaire. D'autre part, il faut absolument repérer toute colonie noire ayant poussée en masse et d'un diamètre supérieur à 0,5mm..

**▪ Expression des résultats :**

- trouver la moyenne arithmétique des colonies pour chaque dilution .
- multiplier les nombres trouvés par l'inverse de la dilution correspondante .
- faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies des deux dilutions .

**I.9. Recherche et dénombrement des Salmonelles:**

Les salmonelles sont des bactéries à Gram négatif, de type aérobie-anaérobies facultatifs appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* et possédant toutes leurs caractéristiques biochimiques (Petransxiene et Lapied, 1981).

**▪ But :**

La recherche des salmonelles permet de savoir si le produit est propre à consommer ou non, car les salmonelles sont responsables de gastro-entérites, de toxiinfections alimentaires, des fièvre typhoïde et paratyphoïde ( Leveau et bouix,1993).

**▪ Mode opératoire :**

La recherche de salmonella, à partir des aliments, nécessite quatre étapes obligatoires qui sont le pré-enrichissement, l'enrichissement et l'isolement.

**▪ Le pré-enrichissement :**

- Mettre 1ml de produit à analyser dans un flacon de 9 ml TSE et bien homogénéiser.
- Incuber à 37 °C pendant 24 h.

- **Enrichissement :**

- 1 ml du mélange de pré-enrichissement est ensemencé dans un tube de bouillon au sélénite (SFB).( sa composition est donnée en annexe)
- Il est incubé à 37°C pendant 24h.

- **Isolement :**

Ensemencer en stries une boîte de Petri contenant le milieu Hektoen ( sa composition est donnée en annexe) à partir de la solution d'enrichissement et incubé à 37°C/24h.

- **Lecture :**

Les Salmonelles se présentent sous forme des colonies bleues vertes au centre noir sur gélose Hektoen.

## II. Recherche des antibiotiques

Les antibiotiques ou les substances inhibitrices se retrouvant dans le lait, inhibent la croissance des bactéries lactiques utilisées comme ferments en retardant et en empêchant le développement des ferments.

Par ailleurs, les antibiotiques peuvent dans les produits laitiers créer des problèmes de santé très graves pour le consommateur de lait et de produits laitiers. C'est pourquoi, les industries laitières recherchent leur présence par différentes techniques.

A la laiterie Arrib, la recherche des antibiotiques est un test fait à la réception du lait cru, avant son acceptation par une méthode rapide appelée SNAP duo ST Plus.

Le test SNAP duo ST Plus est un test immun-enzymatique utilisant une protéine réceptrice conjuguée spécifique. cette méthode permet de détecter les résidus de Béta lactamine et de tétracycline et céphalexine dans un mélange de laits crus de vache, à des quantités inférieures ou égales aux LMR ( limites maximum de résidus).

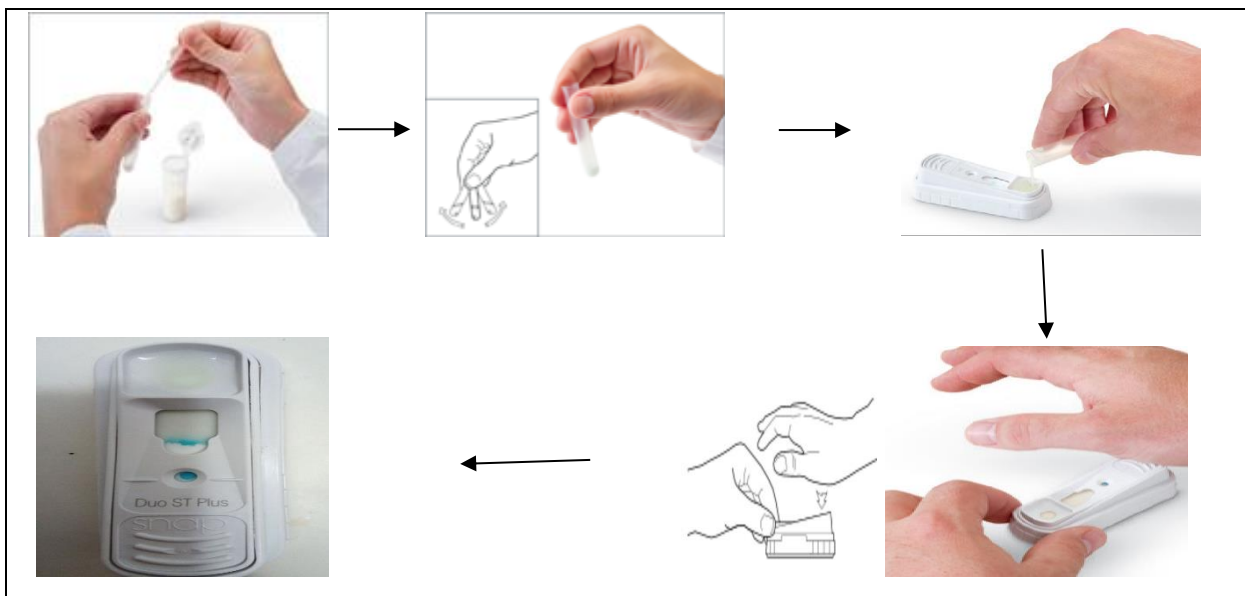
### II.1. Echantillonnage :

113 échantillons du lait cru et provenant de la laiterie Arrib ont été analysés . Ces échantillons ont été prélevés successivement de 25 Février à 02 Avril 2018, Les informations relatives à la provenance des prélèvements de lait de vaches, sont détaillées sur le tableau N° 10. (voire l'annex N°10 ).

### II.2. Mode opératoire :

- Avant de commencer le test SNAP duo ST Plus a été conçu pour être utilisé dans des conditions ambiantes normales (15 à 30°C).
- Retirer du réfrigérateur le nombre de dispositifs requis pour la journée et les laisser réchauffer à la température ambiante pendant au moins 15 minutes avant de les utiliser.
- Agiter soigneusement l'échantillon de lait.
- Retirer le dispositif SNAP, la pipette et le tube déchantillon du sachet.
- vérifier si la pastille de réactif est bien au fond du tube déchantillon. dans le cas contraire, tapoter le tube pour la faire tomber.

- introduire à la pipette l'échantillon
- Placer le dispositif SNAP sur une surface plane
- Agiter soigneusement l'échantillon de lait.
- Retirer et jeter le bouchon du tube d'échantillon
- A l'aide de la pipette IDEXX, aspirer l'échantillon de lait (450ul [50ul]) jusqu'à la ligne d'indication
- Transférer tout l'échantillon de lait de la pipette au tube d'échantillon, et agiter ensuite le tube d'échantillon pour dissoudre la pastille de réactif.
- verser le contenu du tube d'échantillon dans le puits d'échantillon du dispositif SNAP et jeter le tube.
- une fois que l'échantillon a pénétré dans le cercle d'activation, mais avant que le cercle bleu ne disparaisse complètement, appuyer fermement sur l'activation jusqu'à ce qu'il soit de niveau avec le corps du dispositif SNAP.
- Après l'activation, patienter 6 minutes, puis interpréter immédiatement les résultats.



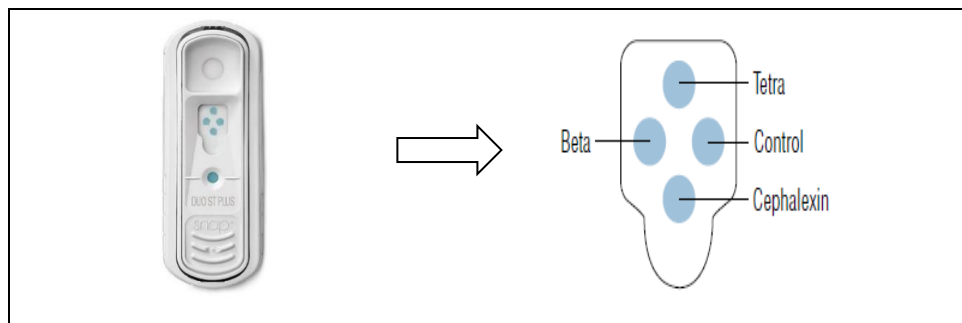
**Figure N°10:** la détection des résidus d'antibiotiques par le teste SNAP duo ST Plus dans le lait cru. ([www.cniel.com](http://www.cniel.com)).

### II.3. Lecture et expression des résultats

Pour la lecture des résultats, placer le dispositif SNAP de façon à ce que le puits d'échantillon soit en haut, si aucune couleur n'apparaît dans le contrôle, analyser de nouveau l'échantillon.

La coloration est interprétée ainsi :

- Résultat négatif pour Beta, Tétra et céphalexine : les trois zones de lecture sont plus foncées ou de la même couleur que le contrôle.
- Résultat positif pour Béta, Tétra et céphalexine : les trois zones de lecture sont de couleur plus pâle que le contrôle.



**Figure N°11.** Lecture des résultats sur le teste SNAP duo ST Plus pour les  $\beta$ -lactames, les Tétracyclines et les Céphalexine. ([www.cniel.com](http://www.cniel.com)).



*Résultats et  
discussion*



**I. Résultats des analyses microbiologiques de lait cru pasteurisé :**

Les analyses microbiologiques du lait cru pasteurisé reposent sur le prélèvement de cinq échantillons différents.

Les résultats des analyses bactériologiques du lait sont comparés avec les normes citées par le Journal Officiel de République Algérienne n°35 du 27 Mai 1998. Ces résultats donnent le dénombrement des flores qui existent dans le lait cru pasteurisé.

**Tableau N°6.** Critères bactériologiques du lait cru pasteurisé ( journal Officiel de République Algérienne n°35 du 27 Mai 1998).

| Germes                        | Normes (UFC/ml) |
|-------------------------------|-----------------|
| FTAM                          | $3 \times 10^4$ |
| Coliformes totaux             | $10^1$          |
| Coliformes fécaux             | Absence         |
| Staphylococcus aureus         | 1               |
| Clostridium sulfito-réducteur | Absence         |
| sallmonalle                   | Absence         |

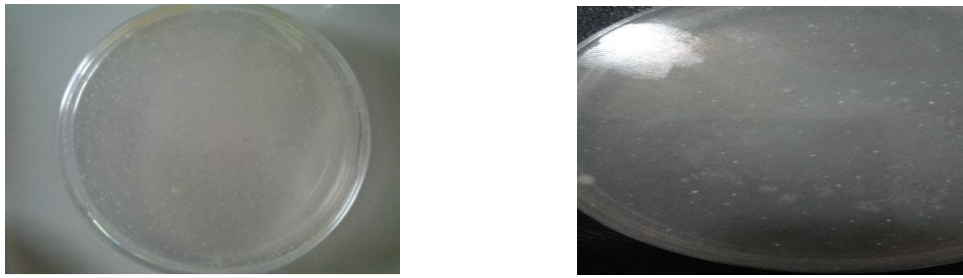
L’interprétation des résultats des analyses bactériologique se fera conformément à l’arrêté interministériel du 27 Mai 1998 paru sur le journal officiel N° 35/ 98, fixant les critères microbiologiques des principales denrées alimentaires.

Ces résultats sont exprimés selon deux critères :

- satisfaisants : c’est a dire conformes aux normes imposées par la législation.
- non satisfaisants : c’est a dire pour l’esquels le seuil d’acceptabilité est dépassé.

**1.2. Résultat de recherche des GAMT :**

On observe différents types de colonies, ces colonies sont de petite et de grande taille de couleurs différentes : blanche ou jaune de forme circulaire et lisse.



**Figure N°12. Aspect des colonies des bactéries mésophiles sur le milieu PCA.**

Le dénombrement de la FTAM reflète la qualité microbiologique générale d'un produit naturel et permet d'en suivre l'évaluation, le nombre des germes totaux pourra donner une indication de l'état de fraîcheur ou de décomposition (altération) du produit (Guiraud et Rosec, 2004).

Une charge microbienne nettement inférieure aux normes peut s'expliquer par les bonnes pratiques d'hygiène lors de la manipulation, ainsi que les bonnes conditions hygiéniques de production (Jeantet et al., 2008).

**Tableau N°7. Dénombrement de la flore totale dans les différents échantillons de lait analysés (UFC/ml).**

| Inculum            | Nombre de colonie de 1 <sup>er</sup> E | Nombre de colonie de 2 <sup>eme</sup> E | Nombre de colonie de 3 <sup>eme</sup> E | Nombre de colonie de 4 <sup>eme</sup> E | Nombre de colonie de 5 <sup>eme</sup> E |
|--------------------|--|---|---|---|---|
| 10 <sup>-1</sup>   | 180                                    | 190                                     | 168                                     | 170                                     | 185                                     |
| 10 <sup>-2</sup>   | 80                                     | 70                                      | 56                                      | 66                                      | 75                                      |
| moyen arithmétique | 9800/2 = <b>4.9×10<sup>3</sup></b>     | 8900/2 = <b>4.4×10<sup>3</sup></b>      | 7280/2 = <b>3.6×10<sup>3</sup></b>      | 8300/2 = <b>4.1×10<sup>3</sup></b>      | 9350 /2= <b>4.6×10<sup>3</sup></b>      |

Le lait cru pasteurisé examiné contient une charge variable de la FTAM, située entre **3.6×10<sup>3</sup>** et **4.9×10<sup>3</sup>** (UFC/ml), ce qui est conforme aux normes précédemment citées (Tableau N°6) du Journal Officiel, cela indique que les cinq échantillons sont de qualité hygiénique satisfaisante.

## I.2. Résultat de recherche des Coliforme :

L'estimation des coliformes permet d'apprécier l'importance des contaminations du lait cru, la valeur et l'efficacité de la pasteurisation elle révèle également la localisation des contaminations survenant après la pasteurisation, et aussi le risque d'une présence des germes pathogènes (PETRANSXIENE et LAPIED, 1981).

### I.2.1. Les coliformes totaux

Les résultats sont conformes aux normes exigées, Les coliformes totaux sont absents dans les cinq échantillons du lait analysés.

Cela indique que les cinq échantillons sont de qualité hygiénique satisfaisante.

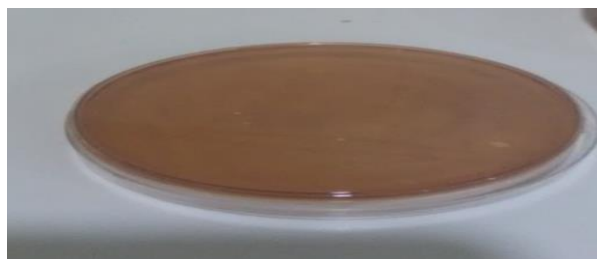


**Figure N°13.** l'absence des coliformes totaux sur le milieu VRBL .

### I.2.2. Les coliformes fécaux

Leur présence est un bon indice de mauvaises conditions hygiéniques pendant ou après la transformation de l'aliment.

Les résultats montrent l'absence des coliformes fécaux dans le milieu VRBL , ce qui est conforme aux normes du Journal Officiel. Cela indique que tous les échantillons sont satisfaisante .



**Figure N°14.** l'absence des coliformes fécaux sur le milieu VRBL .

D'après **Guiraud (2003)** et **Leary (2004)**, l'absence totale de coliformes indique l'action primordiale exercée par les traitements thermiques subits par les produits analysés d'une part et l'efficacité des opérations de nettoyage appliquées par le NEP (Nettoyage En Place) d'autre part.

On parle de coliformes pour définir les microorganismes servant d'indicateurs à la présence possible de contaminations fécales. Leur recherche et leur dénombrement permettent d'apprécier l'importance de contamination du lait et des produits laitiers (Vignola, 2002).

### I.3. Résultat de recherche des *Staphylococcus aureus*:

*Staphylococcus aureus* est absent dans tous les échantillons du lait analysés, montrant ainsi leur conformité aux normes bactériologiques du Journal Officiel de 1998. Ces résultats sont donc considérés comme satisfaisants.



**Figure N°15.** l'absence des *Staphylococcus aureus* sur le milieu d'enrichissement liquide (Giolitti Cantoni).

L'absence de ce germe confirme le respect des règles d'hygiène : lavage des mains, désinfection des matériels, port d'équipements spécifiques (masques, charlottes...) et aussi absence de contamination post-traitement thermique, avec une efficacité évidente de la pasteurisation.

La recherche des staphylocoques s'effectue pour l'évaluation de la qualité sanitaire des produits alimentaires, plus particulièrement les produits laitiers, la présence de cette espèce peut provoquer des intoxications alimentaires (Vignola, 2002).

#### I.4. Résultat de recherche des *Clostridium* sulfito-réducteur:

Les formes végétatives sont en général très sensibles à la chaleur, beaucoup sont détruites en 15 secondes à 75°C. Par contre les formes sporulées nécessitent un chauffage supérieur à 85°C pendant 10 minutes. Donc le traitement thermique a un double rôle, il favorise la destruction des formes végétatives et la germination des spores. Ces résultats pourraient être essentiellement dus à l'efficacité du traitement thermique appliqué ( **Bimben et Feutry, 2007**).

Résultats d'analyse de ce genre des micro-organismes est l'absence totale dans le lait analyses. Ce qui montre que la nourriture des vaches est dépourvue d'ensilage ou des balles rondes enrubannées mal conservées.



**Figure N°16.** l'absence des *Clostridium* sulfito-réducteurs sur le gélose viande foie.

#### I.5. Résultat de recherche *des salmonelle*:

Les salmonelles sont la première cause des infections d'origine alimentaire, leur présence dans les produits laitiers pasteurisés peut provoquer de très graves toxi-infections.

Les mesures strictes d'hygiène appliquées pendant la transformation, ainsi que le respect de la chaîne du froid, permettent de limiter les risques de contamination des produits laitiers. Une pasteurisation bien conduite détruit les salmonelles présentes dans le lait

L'analyse microbiologique de ce groupe microbien pathogène n'a pas montré de contamination, les Salmonelles sont absentes dans les cinq échantillons. Ces résultats sont conformes aux normes bactériologiques algériennes.

La recherche des salmonelles permet de savoir si le produit est propre à consommer ou

non , car les salmonelles sont responsables de gastro-entérites, de toxiinfections alimentaires, des fièvre typhoïde et paratyphoïde. (anonyme, 2009).



**Figure N°17.** l’absence des salmonelle sur le milieu Hektoen

En conclusion, l’absence des coliformes, Staphylocoques, Clostridium et salmonelle dans les cinq échantillons de lait analysés, est conforme aux normes Algériennes fixées dans le Journal Officiel, avec une prolifération de quelques germes aérobies à 30° en nombre inférieur à la norme .

Ceci peut s’expliquer par le bon respect des normes d’hygiène générale et aussi par l’efficacité de la pasteurisation qui a pour but de détruire toutes les formes pathogènes dans les produits laitiers.

**Tableau N°08.** Tableau récapitulatif des résultats bactériologiques.

| Date de prélèvement                   | 4 - 3 - 2018        | 7 - 3 - 2018        | 11 - 3 - 2018       | 14 - 3 - 2018       | 18 - 3 - 2018       | Norme (UFC/ml) (JORA, 1998) |
|---------------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-----------------------------|
|                                       | <i>Résultats</i>    |                     |                     |                     |                     |                             |
| Paramètre / Germes                    | Ech1                | Ech2                | Ech3                | Ech4                | Ech5                |                             |
| Germes aérobies                       | 4.9×10 <sup>3</sup> | 4.4×10 <sup>3</sup> | 3.6×10 <sup>3</sup> | 4.1×10 <sup>3</sup> | 4.6×10 <sup>3</sup> | 3×10 <sup>4</sup>           |
| Coliformes totaux                     | Abs                 | Abs                 | Abs                 | Abs                 | Abs                 | 10 <sup>1</sup>             |
| Coliformes fécaux                     | Abs                 | Abs                 | Abs                 | Abs                 | Abs                 | Absence                     |
| Staphylococcus aureus                 | Abs                 | Abs                 | Abs                 | Abs                 | Abs                 | 1                           |
| <i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs | Abs                 | Abs                 | Abs                 | Abs                 | Abs                 | Absence                     |
| sallmonalle                           | Abs                 | Abs                 | Abs                 | Abs                 | Abs                 | Absence                     |

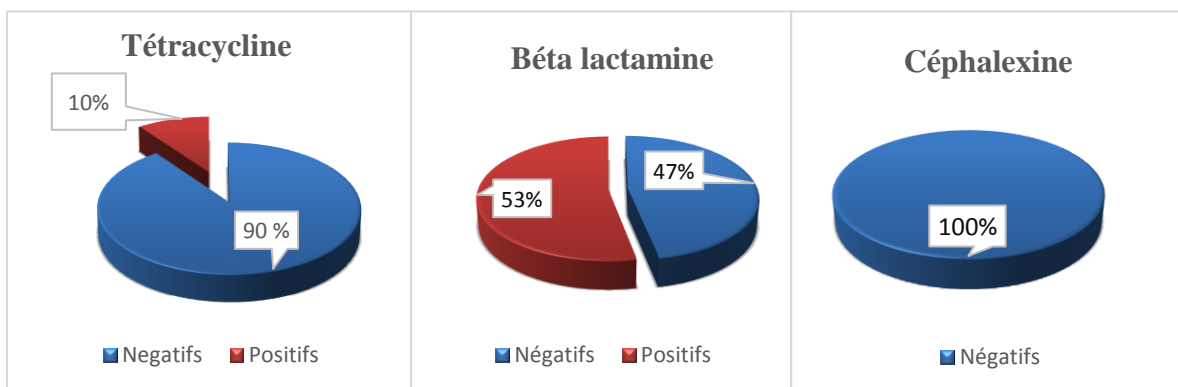
## II. Recherche des antibiotiques :

La législation algérienne dans sa définition du lait, dans l'article 6 de l'arrêté interministériel du 18 août 1993 mentionne le fait qu'un lait propre à la consommation humaine ne doit pas contenir de résidus d'antibiotiques mais ne précise pas explicitement les limites maximales de résidus.

### II.1. Expression des résultats

Cent treize échantillons de lait cru de vache sont analysés par le test SNAP duo ST Plus en vue d'une recherche qualitative des résidus d'antibiotiques. A l'issue des analyses, nous obtenons :

- Pour le tétracycline : 102/113 (soit 90 %) sont négatifs . 11/113 (10 %) sont positifs.
- Pour le béta lactamine : 53/113 ( 47%) sont négatifs, 60/113 (53%) sont positifs.
- Pour la céphaloxine :113/113 ( 100 %) sont négatifs, aucun résultats positifs .



**Figure N°18** : Résultat de la recherche d'antibiotique dans le lait cru.

Dans les résultats de tétracycline on distingue que 90% des échantillons de lait cru étudiées sont conforme à la norme (JORA, 1998) et reste 10 % est un lait contient des résidus d'ATB, dans l'antibiotique Céphalexine nous obtenons 100% des échantillons de lait étudiées sont conforme à la norme et aucun résultats positifs pour le céphalexine, et dans l'antibiotique Béta lactamine on remarque 47% des échantillons étudiée sont conforme à la norme (JORA, 1998) et le reste 53% n'est pas conforme.

Selon Chatellet (2007), Les familles antibiotiques préconisées en cas d'infection respiratoire sont : les pénicillines du groupe A, les tétracyclines et les phénicolés, les macrolides ou les quinolones.

Selon le Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière (Cniel) la lecture est interprétée sur la base de virement de la couleur où la couleur bleu plus foncé par rapport à contrôle indique que le résultat est négatifs, quand la couleur est bleu plus claire par rapport à contrôle dit que le résultat est positifs .

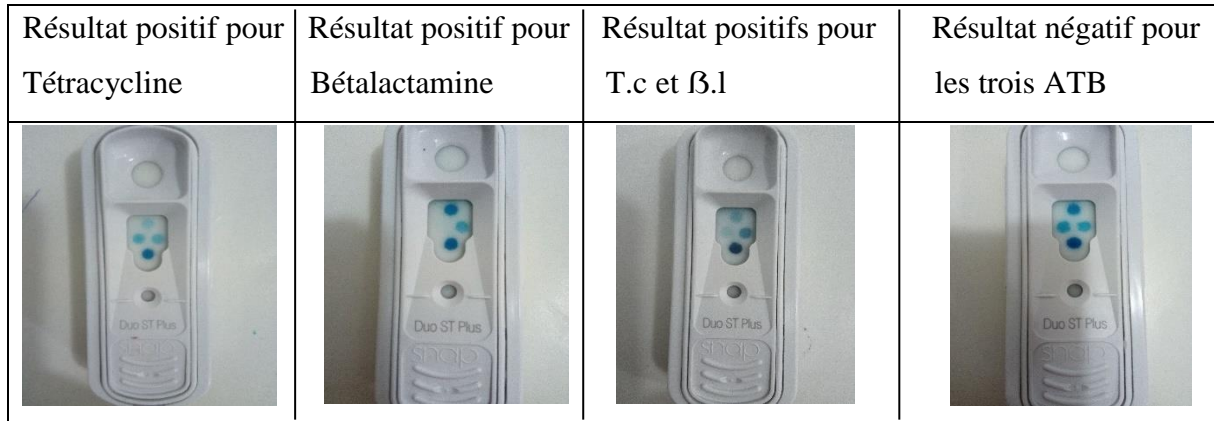


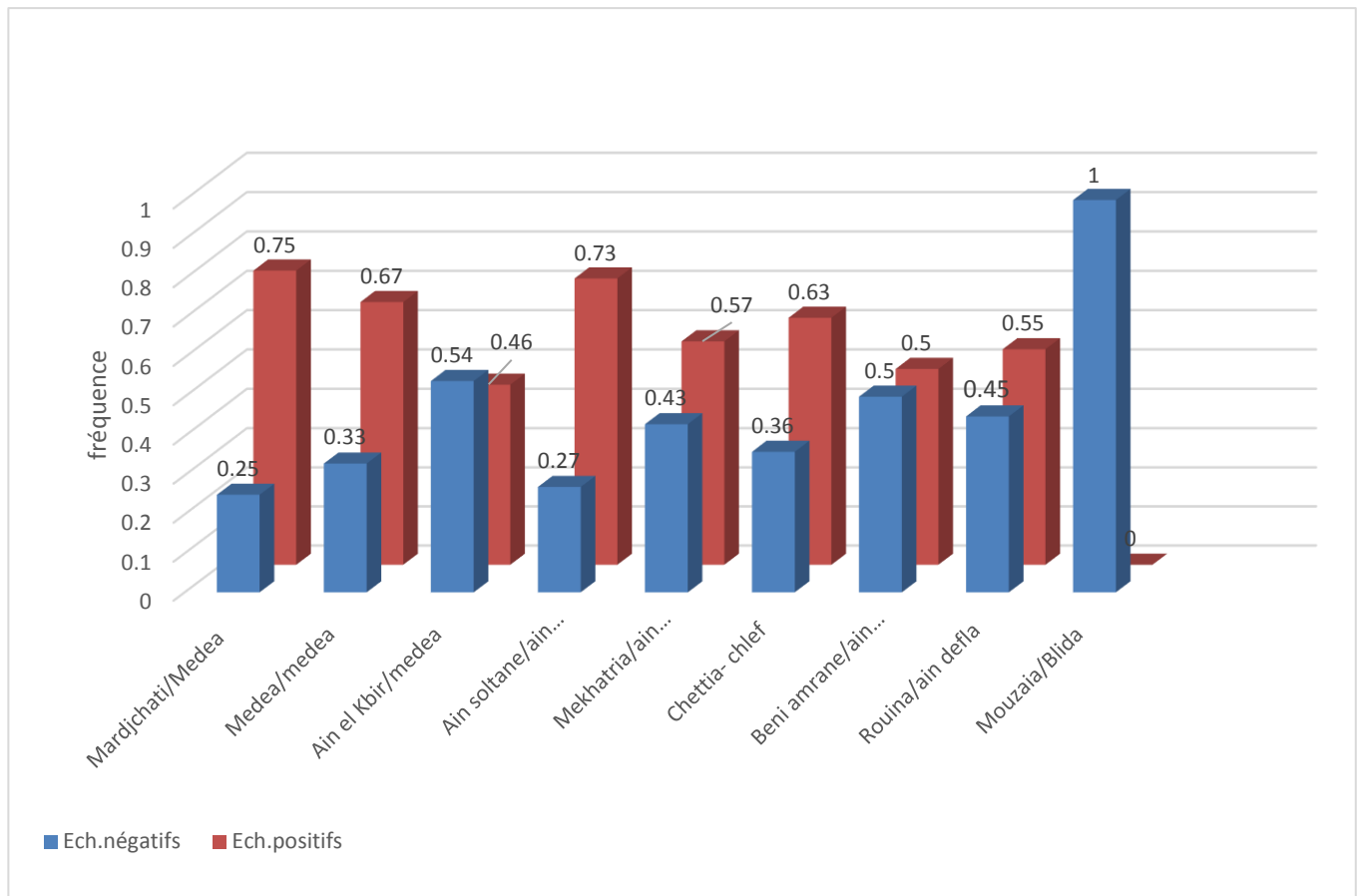
Figure N°19 : différents résultats du test d'ATB.

Pour exprimer les données, nous avons calculé les fréquences des résultats, pour chacune des communes, en divisant le nombre de cas (positifs, négatifs ) sur le nombre total des échantillons par communes . Les résultats varient considérablement d'une commune à l'autre, comme le montre le tableau, ci-dessous

Tableau N°09: fréquences des résultats négatifs et positifs/commune

| communes                        | Mardjchati/<br>medea | Medea/<br>medea | Ain el<br>kbir/<br>medea | Ain<br>soltane/<br>Ain<br>defla | Mekhatria/<br>Ain defla | Chettia<br>/Chlef | Beni<br>amrane/<br>Ain<br>defla | Rouina/<br>Ain<br>defla | Mouzaia/<br>Blida |
|---------------------------------|----------------------|-----------------|--------------------------|---------------------------------|-------------------------|-------------------|---------------------------------|-------------------------|-------------------|
| Fréquence échantillons négatifs | 0.25                 | 0.33            | 0.54                     | 0.27                            | 0.43                    | 0.36              | 0.5                             | 0.45                    | 1                 |
| Fréquence échantillons positifs | 0.75                 | 0.67            | 0.46                     | 0.73                            | 0.57                    | 0.63              | 0.5                             | 0.55                    | 0                 |





**Figure N°20 :** Histogramme de fréquence des résultats négatifs et positifs pour chacune des communes.

Daprès le tableau et histogramme nous remarquons une hétérogénéité de contamination entre les zones, la contamination est beaucoup plus importante.

Dans ce cas, on peut conclure que, pour le traitement des deux pathologies les plus répandues chez les bovins laitiers, ce sont les tétracyclines et les bêtalactamines qui sont les plus largement utilisées.

Nous avons remarqué également que la plupart des échantillons de lait cru sont contaminés par des antibiotiques de groupe bêta lactamine plus que les antibiotiques de groupe tétracycline, donc elle est due à la mauvaise utilisation de ces ATB par les éleveurs ainsi que le non-respect des délais d'attente après le traitement des animaux conduisant à la présence de résidus d'ATB dans le lait et les autres denrées d'origine animale, ce qui signifie :

Selon Abidi (2004). plusieurs causes peuvent être incriminées dans la contamination de lait cru par les antibiotiques :

1- Les erreurs commises par l'éleveur :

- Un mélange accidentel du lait d'une vache traitée avec celui des autres vaches
- Une traite, par erreur, d'une vache tarie, récemment traitée par des antibiotiques
- Une désinfection défectueuse de la machine à traire
- Une non-vérification de l'ancien traitement administré aux vaches en lactation récemment achetées
- un mélange accidentel de l'aliment médicamenteux avec la ration des vaches en lactation.

2 - Le non respect du délai d'attente : le non respect de ce délai s'explique par un manque de responsabilité et de sensibilisation des éleveurs. Par ailleurs ces derniers n'ont pratiquement aucune notion sur le délai d'attente et les risques encourus en cas de non respect de ce dernier.

3 - La mauvaise utilisation du médicament :

- Non-respect de la dose, car l'augmentation de cette dernière est à l'origine de l'allongement de la durée d'élimination du médicament
- Non-respect de la voie d'administration
- Utilisation d'une préparation destinée à une vache tarie dans le traitement d'une vache en lactation

4 - La contamination par le matériel de traite (Brouillet, 1994), (Abidi, 2004)

5 - L'absence d'identification des animaux (Abidi, 2004), (Brouillet, 1994)

6 - La mauvaise hygiène lors de la traite, le lait peut être contaminé par les souillures fécales contenant des antibiotiques excrétés par voie digestive (Labie, 1981)

7 - L'adjonction volontaire d'antibiotiques dans le lait, après la traite, dans le but d'inhiber le développement de la microflore et d'améliorer la qualité bactériologique du produit (Labie, 1981).

*Conclusion et  
Perspectives*

## *Conclusion*

L'analyse bactériologique et la recherche des résidus d'antibiotiques deviennent une étape importante dans l'évaluation de la qualité du lait, pour mieux consommer le lait cru, il est important de veiller sur une qualité meilleure depuis la traite jusqu'au stade du produit fini.

A cet effet, notre étude s'est voulue une recherche des résidus d'antibiotiques et un contrôle bactériologique du lait cru pasteurisé produit par la laiterie Arribs.

Les résultats des analyses microbiologiques sont conformes aux normes exigées, les germes sont absents dans les cinq échantillons du lait analysés, avec une prolifération de quelques germes aérobies à 30° en nombre inférieur à la norme.

Par ailleurs, la recherche de microorganismes pathogènes indique l'absence totale des coliformes totaux et fécaux, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium* et de *Salmonella* dans tous les échantillons analysés, ce qui démontre un bon respect des conditions d'hygiène.

Ainsi, les résultats de notre étude montrent que le lait cru pasteurisé produit au niveau de la laiterie Arribs satisfait aux critères donnés par le Journal Officiel du 27 Mai 1998 ce qui témoignerait des bonnes conditions hygiéniques de sa traite.

En ce qui concerne les antibiotiques, les résultats de l'analyse de nos échantillons indiquent présence des deux familles d'antibiotiques recherchés : les  $\beta$ - lactames et les Tétracyclines et aucun résultats positifs pour les céphalexines .

Néanmoins, la présence d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale doit constituer une préoccupation majeure, vu les risques encourus pour le consommateur vis-à-vis de ces produits et leurs dérivées, ainsi que les pertes économiques considérables au niveau de la transformation laitière. Il est devenu impératif de prévenir ces risques, d'instaurer une législation explicite et rigoureuse relative à ce problème.

A l'issue de nos investigations, il s'est avéré que 10 % des échantillons de lait cru étaient contaminés par les résidus d'antibiotiques de groupe tétracycline et 53% par les résidus d'antibiotiques de groupe bêtalactamine ,Ce chiffre est assez préoccupant, et doit interpellier les pouvoirs publiques pour prendre les dispositions réglementaires nécessaires telles qu'établir une limite maximale de résidus (LMR) propre aux antibiotiques utilisés en Algérie.

### **Perspectives :**

Pour une meilleure maîtrise de la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait cru , un certain nombre de mesures doivent être prises :

- Identifier chaque animal à la ferme (animaux malades, sous traitements, taris...).
- Appliquer les traitements chimiques conformément aux instructions,
- Respecter les délais d'attente requis.
- Disposer de procédures pour détecter et soigner les animaux malades ainsi que pour utiliser les médicaments vétérinaires.
- S'assurer que toutes les personnes qui travaillent dans l'élevage laitier ont reçu une formation suffisante pour s'acquitter de leurs tâches, entre-autres transmettre les consignes d'un trayeur à l'autre en cas de traitement isolé.
- Eliminer systématiquement le lait des vaches sous antibiothérapie pendant la durée du délai d'attente.
- Ecarter le lait de tous les quartiers pendant tout le délai d'attente, lors de traitement d'un seul quartier.
- Prendre en compte des modulations faites sur la prescription (allongement de la durée ou augmentation de la dose) car cela allongerait le délai d'attente.
- Eviter la contamination avec le matériel de traite, ce dernier doit être rincé afin d'éviter la contamination du tank.
- Isoler les animaux taris, pour éviter une traite « accidentelle ».

L'application de mesures d'hygiène et de contrôle à des denrées alimentaires largement consommées tel que le lait, aboutira à une meilleure protection de la santé du consommateur.

*Références  
bibliographiques*

### Références bibliographiques

**Alais C. Linden G. (1997).** Lait et produits laitiers. In. Abrégé de biochimie alimentaire. Edition Masson (4ème édition). 162p.

**Alais C. (1974).** Science du lait. 3ème éd. P 215, 300, 334, 396, 402, 779. Ed. SEP

**Adrian J. Potus J. et Frangne R. (1995).** La science alimentaire de A à Z. p 246. 2ème Ed. Tec. et Doc. Lavoisier

**Airieau. B et al, groupe institut d'élevage. (2000).** Livre maladie des bovins, 3ème édition. France Agricole, p 14-78.

**Abidi K. (2004).** Residus d antibiotiques dans le lait de boisson, medecine veterinaire école nationale de médecine vétérinaire de sidi Thabet, Tunisie, P. 2-23.

**Anonyme., (2009) :** Traite des vaches laitières : Matériel, installation, entretien. 1<sup>ere</sup> édition. France Agricole, institut de l'élevage : 554p.

**Bourgeois C.M. Mesle J-F. et Zucca J.(1996).** Microbiologie alimentaire aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Vol 1. p 272, 275, 277, 281, 289. Ed. Tec. et Doc. Lavoisier

**Bourgeois C.M. et Larpent J.P. (1996).** Microbiologie alimentaire. Tome2. p4, 16e Ed .Tec. et Doc. Lavoisier

**Bonnefoy C. Guillet F. Leyral G. et Bourdais E-V. (2002).** Microbiologie et qualité dans les industries agro-alimentaire. Aquitaine : Doin, Paris. 248p.

**Bousseboua H. (2005).** Eléments de microbiologie. p 171, 172. 2 eme Ed. Campus Club

**Boudier J-F et Luquet F-M.(1981).** Dictionnaire laitier. p 9. 2ème Ed. Tec. et Doc. Lavoisier

**Bendali F, Chastant S, Clerc B. Delacroix M. Farlout B. Gourreau J-M. Guillot J.**

**Brouillet .P, (1994).** Maîtrise de la présence d'inhibiteurs dans le lait. Recueil de médecine vétérinaire, n° 170, Juin-Juillet 1994, p. 443-454.

**Bimben E. et Feutry F. (2007).** Quelques bases sur la microbiologie du lait et du fromage. Ed. INRA de Recherche en Technologie et Analyses Laitières et CDEO.Paris. 60p.

**Chatellet. M. C (2007).** modalités d'utilisation des antibiotiques en élevage bovin : enquête en Anjou, thèse de doctorat vétérinaire, faculté de médecine de Créteil, 11-149.

**Deforges J. Derens E. Rosset R. et Serrand M. (1999).** Maitrise de la chaîne du froid des produits laitiers réfrigérés. Edition Cemagref Tec et Doc, Paris.

**Fredot E. (2005).** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier. Pp. 10-14.

**Fontaine M. (1992).** Formulaire vétérinaire de Pharmacologie, de Thérapeutique et d'hygiène. Volume 3. p 1103, 1109, 1114. Ed. ONDA

**Fabre J-M. Lepoutre D. (2002).** Changement de méthode de détection des inhibiteurs : les conséquences pour les vétérinaires et les éleveurs. Bulletin des GVT, n°15. Avril-Mai-Juin 2002, p 33-34.

**Fabre J-M. Moretain J-P. Berthelot X. (2002).** Évolution de la méthode interprofessionnelle de recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait. Bulletin des GVT, n°15. Avril-Mai-Juin 2002, p 26-28.

**Guiraud J-P. (1998).** Microbiologie alimentaire. Techniques d'analyses microbiologiques. p 82, 83, 88. Ed. Dunod

**Guiraud J-P. (2003).** Microbiologie Alimentaire. Edition DUNOD. Paris. Pp : 136-139.

**Guiraud. Joseph-Pierre. Jean-Philippe Rosec. (2004).** pratique des normes en microbiologie alimentaire. p 96, 136, 183,199, 200, 238. AFNOR .France..

**Helali. A. (1999).** Pharmacologie fondamentale et clinique à l'usage des étudiants en médecine. Édition ENG, p. 135.

**Henter A. Uilenberg G. et Meyer C.(2006).** La santé animale : Principales maladies. Volume II. p 242-243. Ed. Quae.



**Hulsen J et Lam T. (2007).** Signe de mamelle, édition RoodBont, p 4-38.

**Jacquet J. et Veisseyre R. (1987).** Le lait matière première de l'industrie laitière. p 187, 188, 189, 225

**JOURNAL OFFICIEL N° : 69 du 27/10/1993** Arrêté Interministériel du 18 août 1993  
relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation

**JOURNAL OFFICIEL N° : 35 du 27/05/1998** Arrêté interministériel du 24 janvier 1998  
relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires

**Joffin J-N. et Leyral G. (2006).** Microbiologie technique .Tome I. dictionnaire des techniques. p 15, 23. 4<sup>ème</sup> Ed. Scéen

**Jeantet R. Croguennec T. Schuck P. et Brule G. (2007).** Du lait aux produits laitiers. In : Science des aliments. Vol 2.p 7, 12, 17. Ed. Tec. et Doc.Lavoisier

**Jeantet R. Croguennec T. Mahaut M. Schuck P. Brulé G. (2008).** Les produits laitiers. Technique et documentation. Lavoisier (Ed.), Paris. 184p.

**Jeon M. kim J. Paeng K-j. Park S-W. Paeng I-R. (2008).** Biotin-avidin mediated competitive enzyme-linked immunosorbent assay to detect residues of tetracyclines in milk. Microchemical Journal, 2008, 88, (1), p 26-31

**Labie. Ch (1981).** Dispositions législatives destinées à éviter la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait. Recueil de médecine vétérinaire, n°157, p 161-167.

**Lalande M. Corrieu G. Tissier J-P. Ferret R. (1979)** . Étude du comportement d'un échangeur à plaques Vicarb utilisé pour la pasteurisation du lait. Le Lait, INRA Editions, 1979, 59 (581\_582), pp.13-33.

**Larpen J-P. (1997).** Microbiologie alimentaire. Techniques de laboratoire. Paris. p128, 200, 338 p. Ed. Tec. et Doc.Lavoisier

**Leveau J-Y et Bouix M. (1993).** Microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel. Tec et Doc, Lavoisier, Paris : 612p.

**Leyral G. et Vierling E. (2007).** Microbiologie et toxicologie des aliments: hygiène et sécurité alimentaires. 4<sup>e</sup> édition Biosciences et techniques. 87p.

**Leary M.J. (2004).** Manuel de transformation du lait. chapitre 13. 249p

**Mathieu J. (1998).** Initiation à la physico-chimie du lait. Ed. Tec et Doc. Lavoisier. Paris. 214p

**Maillard R. Millemann Y. Ravary-plumioën B. Schelcher F. (2008).** Livre maladie des bovins 4ème édition, édition France Agricole, p. 208-535

**Moll M. et Moll N. (2002).** Sécurité alimentaire du consommateur. p 84. 2ème Ed. Tec. et Doc. Lavoisier

**Madigan M. et Martinko J. (2007).** Biologie des micro-organismes. p 686, 703, 705. 11ème Ed. ISBN

**OuId Mustapha A. N'diyae D. OuId Kory B. (2012).** Etude de la qualité du lait pasteurisé des industries laitières situées à Nouakcote (Mauritanie) Sciences du vivant Biologie. Editions Mersenne: Volume 4 N 0120804 ISSN 2111 - 4706.

**Petranswienee D. et Lapiede L. (1981).** La qualité bactériologique du lait et des produits laitiers : Analyses et tests. p 41, 50, 51,68,79. 2ème Ed. Tec. et Doc. Lavoisier. Paris

**Ranieri M-L. Huck J-R. Sonnen M. Barbano D-M. Boor K-J. (2009).** High temperature, short time pasteurization temperatures inversely affect bacterial numbers during refrigerated storage of pasteurized milk. J. Dairy Sci., 92(10): 4823-4832.

**Singleton P. (2005).** Bactériologie pour la médecine, la biologie et la biotechnologie. 6ème Ed. p 454, 455,459

**Solenn Beaunieux(CNIEL) et Anne PECOU (CNIEL). (2016).** Étude de tests rapides de détection des résidus d'antibiotiques dans le lait. Etude comparative de tests rapides de détection des résidus d'antibiotiques dans le lait, Service des Laboratoires, *Etude Cniel Tests rapides Antibiotiques 2016,p83.*

**Vignola C. (2002).** Sciences et Technologie du lait Transformation du lait. (Ed). Presses Internationales Polytechnique. Canada. 600p

**Vignola C. (2002).** Science et technologie du lait : La fraction de technologie laitière du Québec-ing. Ed. Ecole Polytechnique de Montréal. p 25, 58,61, 89, 90, 144, 145

**Vierling E. (2008).** Aliments et boissons filières et produits. Science des aliments. 3ème Ed.  
Doin. p 119

## **REFERENCES WEBOGRAPHIQUES**

[www.IDEXX.com](http://www.IDEXX.com).

# *Annexes*

**Liste des Annexes**

**Annexe N°01 :**

**❖ Appareillage et verrerie**

- Bain marie.
- Etuve réglables à différentes températures.
- Pipette pasteur stériles.
- Bécher.
- Bec bunsen.
- Biote de pétri.
- Tubes à essai.

**❖ Solution et Réactifs :**

- Additive Alun de fer.
- Additif Sulfite de sodium.
- Additif Tellurite de potassium.
- Alcool.

## ANNEXES

---

### Annexe N°02 : Composition du milieu de culture :

#### ❖ Plate Count Agar(PCA) :

| Composant         | Quantité |
|-------------------|----------|
| Bio trypase       | 5g       |
| Extrait de levure | 2.5g     |
| Glucose           | 1g       |
| Agar              | 15g      |
| Eau distillée     | 1000ml   |
| ph                | 7        |

#### ❖ Bouillon Giolitti canttoni (G C):

| Composant                       | Quantité |
|---------------------------------|----------|
| Pepptone de caséine             | 10g      |
| Extrait de viande               | 5g       |
| Extrais de levure               | 5g       |
| Chlorure de lithium             | 5g       |
| Mannitol                        | 20g      |
| Chlorure de sodium              | 5g       |
| Glycine                         | 12g      |
| Puryvate de sodium              | 5g       |
| Eau distillée                   | 1000ml   |
| Ajout de Tellurite de potassium | 0.025g   |
| pH                              | 7.4      |

#### ❖ Bouillon d'enrichissement au sélénite et à la cystéine (SFB) :

| Composant           | Quantité |
|---------------------|----------|
| Peptone de caséine  | 5g       |
| L-mannitol          | 0.01g    |
| Phosphate de sodium | 4g       |
| Lactose             | 4g       |
| Eau distillée       | 1000ml   |

## ANNEXES

---

### ❖ Milieu de Chapman (gélose de mannitol) :

| Composant                  | Quantité |
|----------------------------|----------|
| Extrait de viande de boeuf | 1g       |
| Bio-polytone               | 10g      |
| Chlorure de sodium         | 5g       |
| D-mannitol                 | 10g      |
| Gélose                     | 15g      |
| Rouge de phénol            | 0.025g   |
| Eau                        | 1000ml   |
| pH                         | 7.4      |

### .❖ Gelose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre VRBL = violet red bile lactose agar

| Composant          | Quantité |
|--------------------|----------|
| Extrait de levures | 5g       |
| Sels biliaires     | 1.5g     |
| Lactose            | 10g      |
| Chlorure de sodium | 5g       |
| rouge neutre       | 30g      |
| Cristal violet     | 2g       |
| Gélose             | 12g      |
| Eau distillée      | 100ml    |

### ❖ Eau physiologique :

9g de NaCL pour 1000ml d'eau distillée.

❖Gélose Hektoen :

| Composant                 | Quantité |
|---------------------------|----------|
| Protéose-peptone          | 12g      |
| Extrait de levure         | 3g       |
| Chlorure de sodium        | 5g       |
| Thiosulfate de Sodium     | 5g       |
| Sels biliaires            | 9g       |
| Citrate de fer ammoniacal | 1.5g     |
| Salicine                  | 2g       |
| Lactose                   | 12g      |
| Saccharose                | 12g      |
| Fucine acide              | 0.1g     |
| Bleu de bromothymol       | 65g      |
| Gélose                    | 13g      |

AnnexeN°03 :



Figure N°21 : l'échantillonnage de lait.



Annexe N°04 :

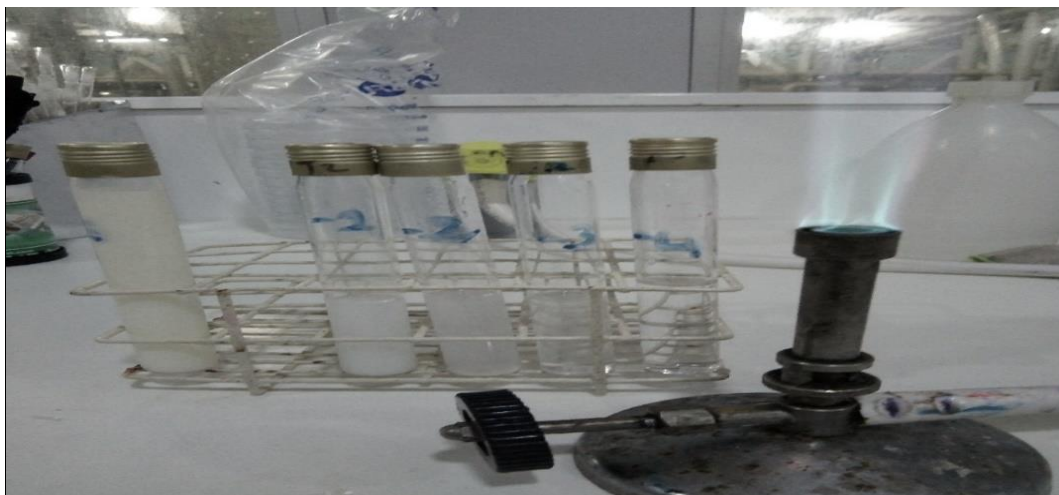


Figure N°22 : Les dilutions décimales préparées dans les Analyses Microbiologique.

Annexe N°05:

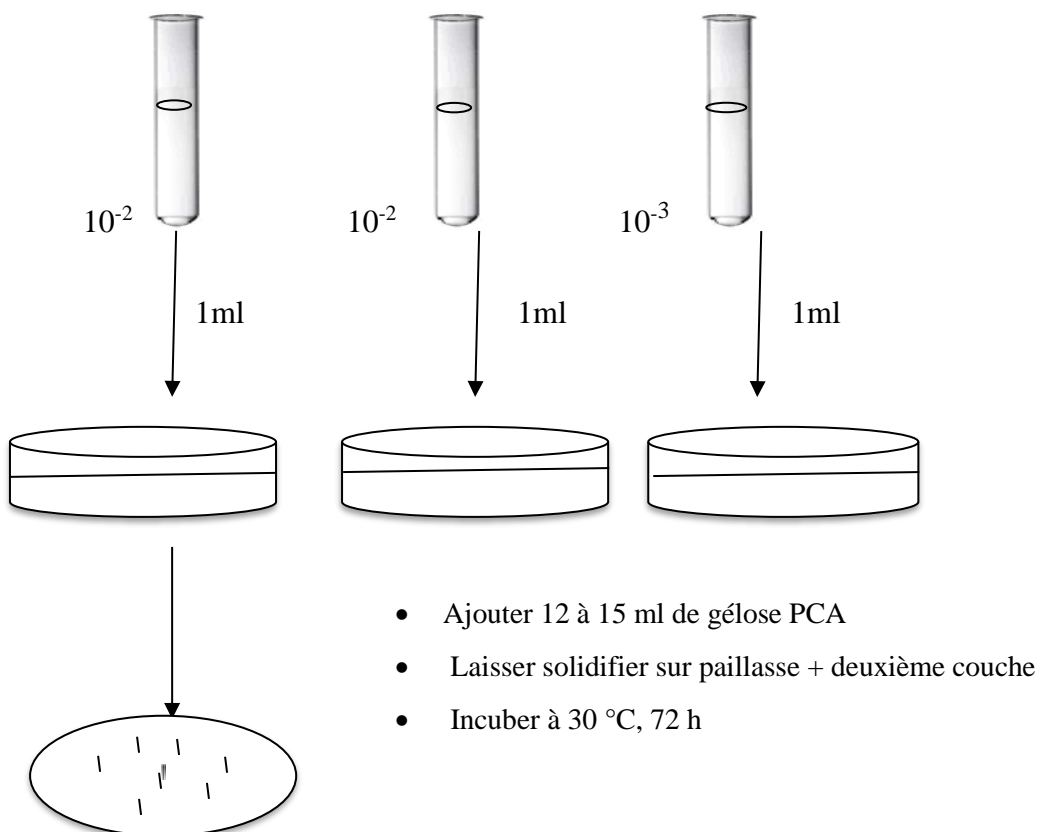


Figure N°23 : Schéma représentatif du dénombrement des GAMT

Annexe N°06 :

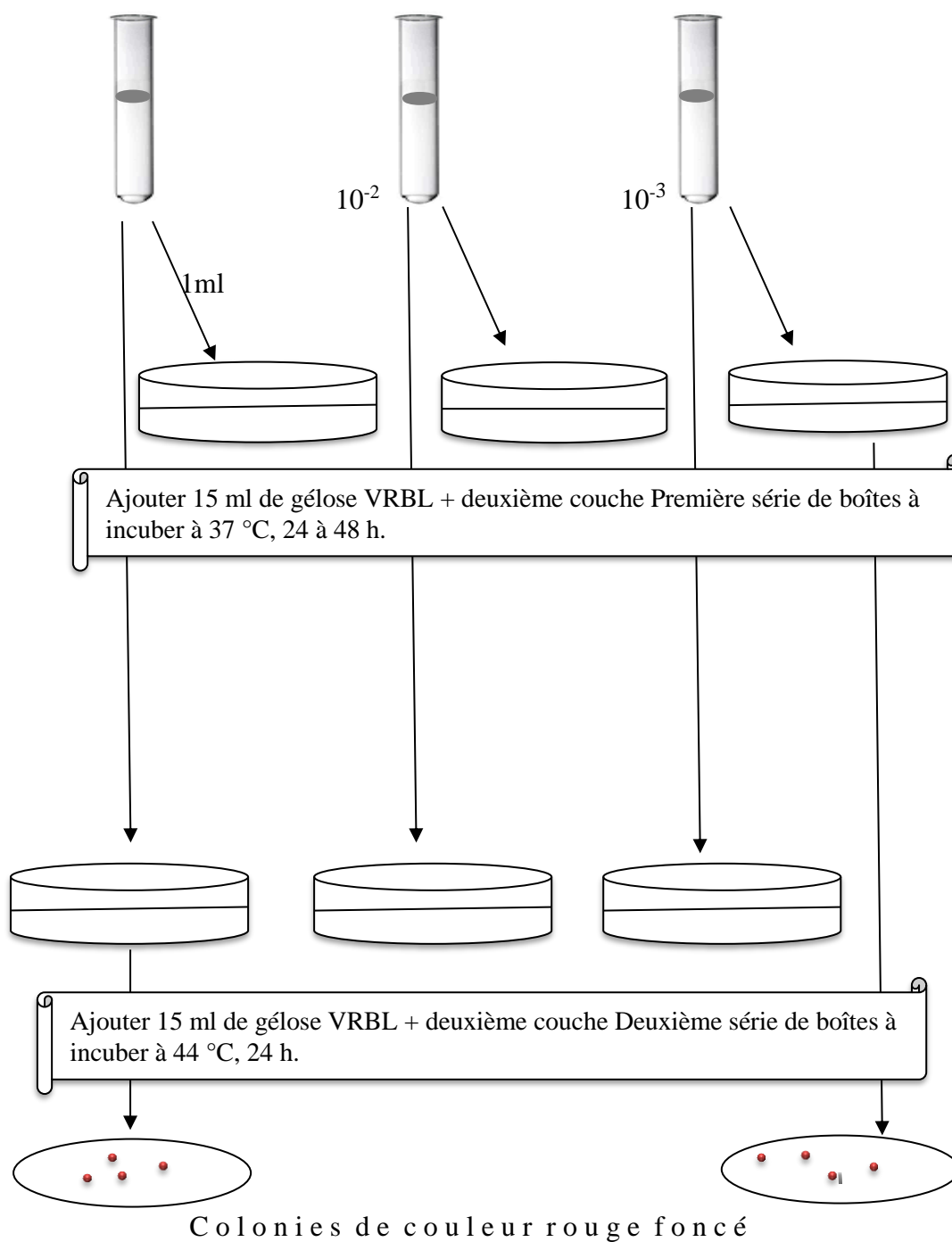


Figure N°24: Schéma représentatif du dénombrement des coliformes

Annexe N°07 :

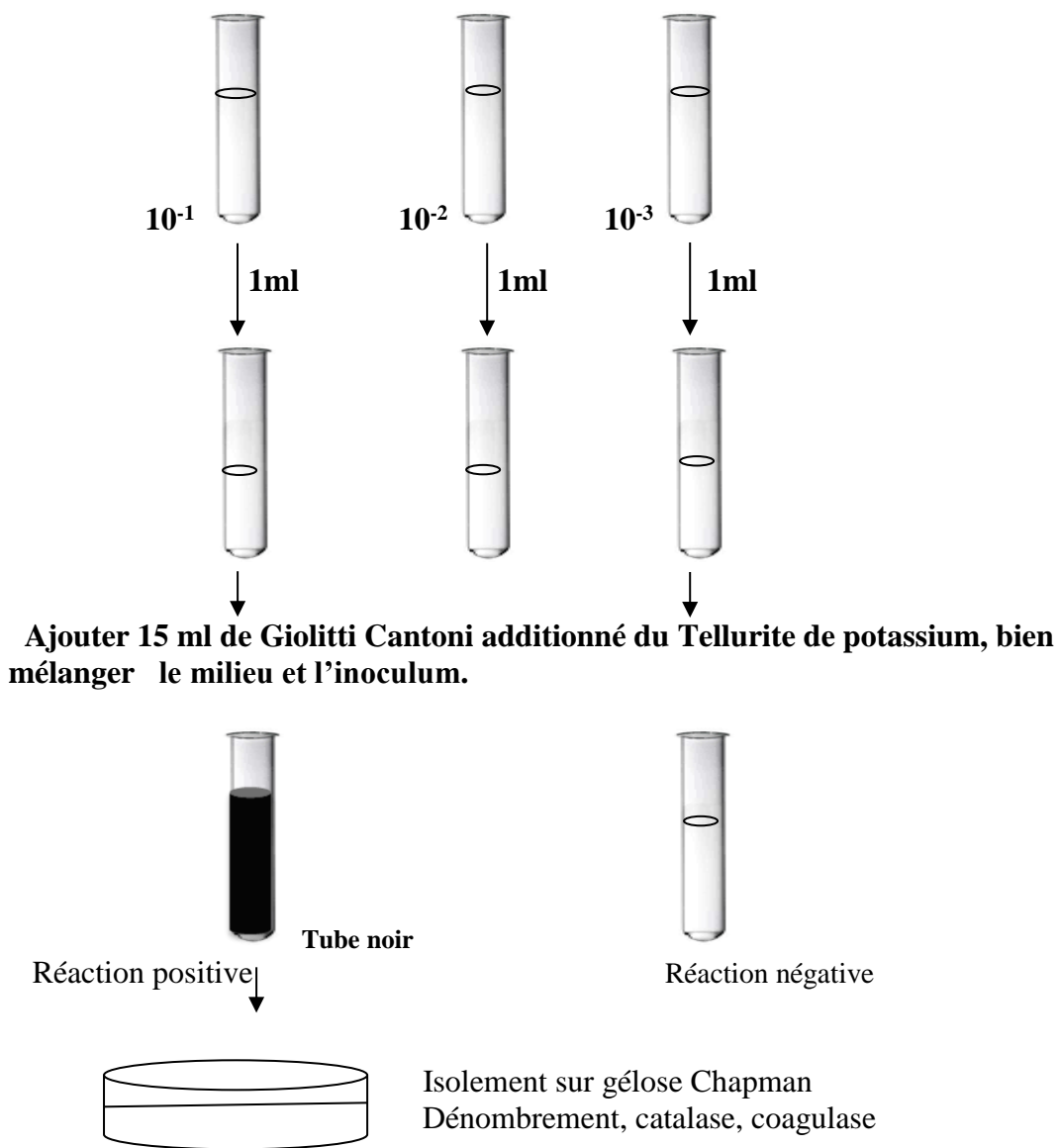


Figure N°25 : Schéma représentatif du dénombrement des *Staphylococcus aureus*

Annexe N°08 :

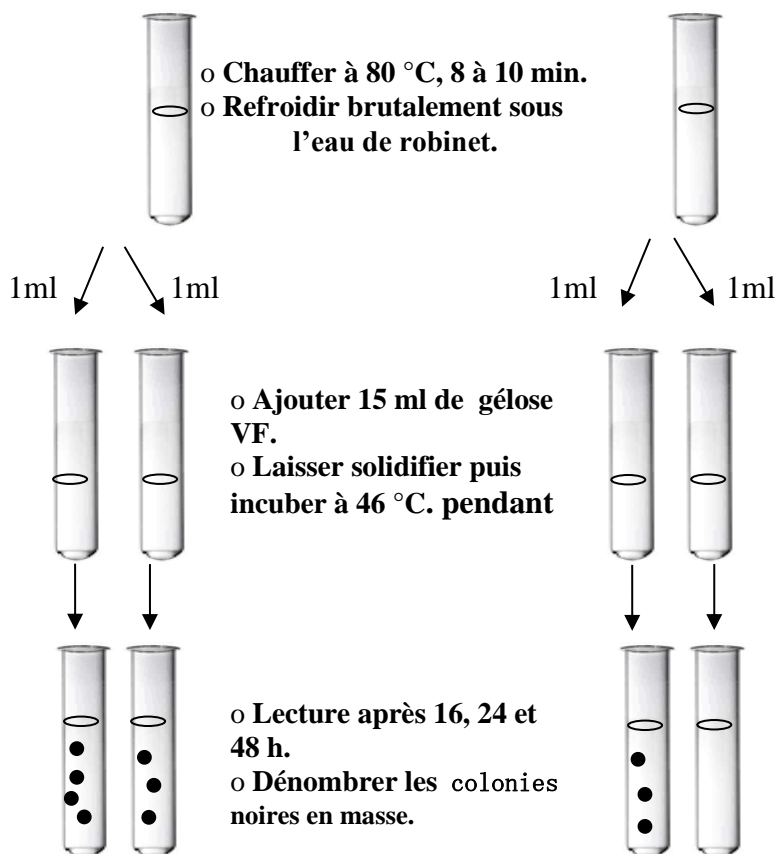


Figure N°26 Schéma représentatif du dénombrement des *Clostridium sulfito-réducteurs*

Annexe N°09 :

**1<sup>er</sup> jour : pré enrichissement :**



1ml de lait + 9ml de TSE  
Incuber à 37 °C pendant 24 h

**2<sup>eme</sup> jour : enrichissement :**



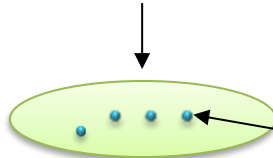
1 ml du mélange de pré-enrichissement estensemencé dans un tube de bouillon au sélénite (SFB) et incubé à 37°C pendant 24h

**3<sup>eme</sup> jour : isolement :**



Ensemencer en stries une boite de Petri contenant le milieu Hektoen à partir de la solution d'enrichissement et incuber à 37°C/24h

**4<sup>eme</sup> jour : lecture et identification :**



Colonies bleues vertes à centre noir

Résultat positif

Figure N°27 : Schéma représentatif du dénombrement des salmonelle

## Annexe N°10 :

| 8  |   | JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 35 |                   | Aouel Safar 1419<br>27 mai 1998 |
|--|---|--|-------------------|---------------------------------|
| ANNEXE I   |   |  |                   |                                 |
| CRITERES MICROBIOLOGIQUES RELATIFS A CERTAINES DENREES ALIMENTAIRES    |   |  |                   |                                 |
| TABLEAU I  |   |  |                   |                                 |
| CRITERES MICROBIOLOGIQUES DES LAITS ET DES PRODUITS LAITIERS           |   |  |                   |                                 |
| PRODUITS   | n | c  | m                 |                                 |
| <b>1. Lait cru :</b>   |   |  |                   |                                 |
| — germes aérobies à 30° C  | 1 | —  | 10 <sup>5</sup>   |                                 |
| — coliformes fécaux  | 1 | —  | 10 <sup>3</sup>   |                                 |
| — streptocoques fécaux   | 1 | —  | abs/0,1ml         |                                 |
| — <i>Staphylococcus aureus</i>   | 1 | —  | absence           |                                 |
| — clostridium sulfito-réducteurs à 46° C                               | 1 | —  | 50                |                                 |
| — antibiotiques  | 1 | —  | absence           |                                 |
| <b>2. Lait pasteurisé conditionné :</b>                                |   |  |                   |                                 |
| — germes aérobies à 30° C  | 1 | —  | 3.10 <sup>4</sup> |                                 |
| — coliformes :   |   |  |                   |                                 |
| * sortie usine   | 1 | —  | 1                 |                                 |
| * à la vente   | 1 | —  | 10                |                                 |
| — coliformes fécaux  |   |  |                   |                                 |
| * sortie usine   | 1 | —  | absence           |                                 |
| * à la vente   | 1 | —  | absence           |                                 |
| — <i>Staphylococcus aureus</i>   | 1 | —  | 1                 |                                 |
| — phosphatase  | 1 | —  | négatif           |                                 |
| <b>3. Lait stérilisé et lait stérilisé UHT (nature et aromatisé) :</b> |   |  |                   |                                 |
| — germes aérobies à 30° C  | 5 | 2  | < 10/0,1 ml       |                                 |
| — test de stabilité  | 5 | 0  | négatif           |                                 |
| — test alcool  | 5 | 0  | négatif           |                                 |
| — test chaleur   | 5 | 0  | négatif           |                                 |
| <b>4. Lait concentré non sucré :</b>                                   |   |  |                   |                                 |
| — test de stabilité  | 5 | 0  | négatif           |                                 |
| — test alcool  | 5 | 0  | negatif           |                                 |
| — test chaleur   | 5 | 0  | négatif           |                                 |
| <b>5. Lait concentré sucré :</b>                                       |   |  |                   |                                 |
| — germes aérobies à 30° C  | 5 | 2  | 10 <sup>4</sup>   |                                 |
| — coliformes   | 5 | 0  | absence           |                                 |
| — <i>Staphylococcus aureus</i>   | 5 | 0  | absence           |                                 |
| — clostridium sulfito-réducteurs à 46° C                               | 5 | 0  | absence           |                                 |
| — levures et moisissures   | 5 | 0  | absence           |                                 |
| — <i>Salmonella</i>  | 5 | 0  | absence           |                                 |
| <b>6. Lait déshydraté conditionné (1) :</b>                            |   |  |                   |                                 |
| — germes aérobies à 30° C  | 5 | 2  | 5.10 <sup>4</sup> |                                 |
| — coliformes   | 5 | 2  | 5                 |                                 |
| — <i>Staphylococcus aureus</i>   | 5 | 0  | absence           |                                 |
| — clostridium sulfito-réducteurs à 46° C                               | 5 | 0  | absence           |                                 |
| — levures et moisissures   | 5 | 2  | 50                |                                 |
| — <i>Salmonella</i>  | 5 | 0  | absence           |                                 |
| — antibiotiques  | 1 | 0  | absence           |                                 |

**Figure N°28:** Les normes microbiologiques selon le journal officiel. Selon l'arrêté interministériel du **18 août 1993** relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation. (J.O.R.A N° 69 du 27-10-1993).

## ANNEXES

### Annexe N°11 :

#### *Tables de Mac Grady*

| <i>2 tubes par dilution</i> |                    | <i>3 tubes par dilution</i> |                    |                        |                    |                        |                    |
|-----------------------------|--------------------|-----------------------------|--------------------|------------------------|--------------------|------------------------|--------------------|
| Nombre caractéristique      | Nombre de cellules | Nombre caractéristique      | Nombre de cellules | Nombre caractéristique | Nombre de cellules | Nombre caractéristique | Nombre de cellules |
| 000                         | 0.0                | 000                         | 0.0                | 201                    | 1.4                | 302                    | 6.5                |
| 001                         | 0.5                | 001                         | 0.3                | 202                    | 2.0                | 310                    | 4.5                |
| 010                         | 0.5                | 010                         | 0.3                | 210                    | 1.5                | 311                    | 7.5                |
| 011                         | 0.9                | 011                         | 0.6                | 211                    | 2.0                | 312                    | 11.5               |
| 020                         | 0.9                | 020                         | 0.6                | 212                    | 3.0                | 313                    | 16.0               |
| 100                         | 0.6                | 100                         | 0.4                | 220                    | 2.0                | 320                    | 9.5                |
| 101                         | 1.2                | 101                         | 0.7                | 221                    | 3.0                | 321                    | 15.0               |
| 110                         | 1.3                | 102                         | 1.1                | 222                    | 3.5                | 322                    | 20.0               |
| 111                         | 2.0                | 110                         | 0.7                | 223                    | 4.0                | 323                    | 30.0               |
| 120                         | 2.0                | 111                         | 1.1                | 230                    | 3.0                | 330                    | 25.0               |
| 121                         | 3.0                | 120                         | 1.1                | 231                    | 3.5                | 331                    | 45.0               |
| 200                         | 2.5                | 121                         | 1.5                | 232                    | 4.0                | 332                    | 110.0              |
| 201                         | 5.0                | 130                         | 1.6                | 300                    | 2.5                | 333                    | 140.0              |
| 210                         | 6.0                | 200                         | 0.9                | 301                    | 4.0                |                        |                    |
| 211                         | 13.0               |                             |                    |                        |                    |                        |                    |
| 212                         | 20.0               |                             |                    |                        |                    |                        |                    |
| 220                         | 25.0               |                             |                    |                        |                    |                        |                    |
| 221                         | 70.0               |                             |                    |                        |                    |                        |                    |
| 222                         | 110.0              |                             |                    |                        |                    |                        |                    |

## Annexe N°11 :

**Tableau N°10 :** Résultats de l'analyse des résidus d'antibiotiques par le teste Idexx SNAP duo ST Plus sur les échantillons de lait cru

| La date    | L'heure de réception | Nom de collecteur     | La quantité | La région               | les résultats |     |     |
|------------|----------------------|-----------------------|-------------|-------------------------|---------------|-----|-----|
|            |                      |                       |             |                         | Tc            | B.l | Cfx |
| 25/02/2018 | 9h30min              | Mekhtiche Mohamed     | 1130L       | Mardjchakir-medea       | -             | -   | -   |
|            | 10h15min             | Benkouar Kamel        | 2370L       | Medea-medea             | -             | +   | -   |
|            | 10h30min             | Ghezali Ayoub         | 3250L       | Ain el kbir-medea       | -             | -   | -   |
|            | 11h :00              | Adda Bouziane         | 650L        | Ain soltan-ain defla    | -             | +   | -   |
|            | 11h30min             | Daoudi Belarbi        | 860L        | Ain defla-ain defla     | -             | +   | -   |
|            | 12h :00              | Belhireche Abdelkader | 2600L       | Chettia-chlef           | -             | +   | -   |
| 26/02/2018 | 9h :00               | Ennehas Benyoucef     | 893L        | Beni amrane - Ain defla | -             | +   | -   |
|            | 9h15min              | Ghezali Ayoub         | 3120L       | Ain el kbir-medea       | -             | -   | -   |
|            | 10h :00              | Belhireche Abdelkader | 5348L       | Chettia - chlef         | -             | +   | -   |
| 27/02/2018 | 9h15min              | Mekhtiche Mohamed     | 1130L       | Mardjchakir-medea       | -             | -   | -   |
|            | 9h30min              | Benkouar Kamel        | 2370L       | Medea-medea             | -             | +   | -   |
|            | 9h35min              | Daoudi Belarbi        | 750L        | Ain defla-ain defla     | -             | +   | -   |
|            | 10h :00              | Ghezali Ayoub         | 3560L       | Ain el kbir-medea       | -             | -   | -   |
|            | 10h15min             | Adda Bouziane         | 550L        | Ain soltan-ain defla    | -             | -   | -   |
|            | 11h :00              | Belhireche Abdelkader | 1588L       | Chettia - chlef         | -             | +   | -   |
| 28/02/2018 | 9h15min              | Benotsmane Mustapha   | 3394L       | Rouina- ain defla       | -             | -   | -   |
|            | 9h30min              | Ghezali Ayoub         | 3230L       | Ain el kbir-medea       | -             | -   | -   |
|            | 10h15min             | Daoudi Belarbi        | 620L        | Ain defla-ain defla     | -             | +   | -   |
|            | 11h :00              | Mekhtiche Mohamed     | 1130L       | Mardjchakir-medea       | -             | -   | -   |



## ANNEXES

|            |          |                       |       |                      |   |   |   |
|------------|----------|-----------------------|-------|----------------------|---|---|---|
|            | 11h30min | Belhireche Abdelkader | 5966L | chettia - chlef      | - | + | - |
| 01/03/2018 | 9h15min  | Adda Bouziane         | 860L  | Ain soltan-ain defla | - | - | - |
|            | 9h30min  | Benkouar Kamel        | 2362L | Medea-medea          | - | - | - |
|            | 10h10min | Ghezali Ayoub         | 3268L | Ain el kbir-medea    | - | - | - |
|            | 11h :00  | Belhireche Abdelkader | 1460L | Chettia-chlef        | - | - | - |
| 04/03/2018 | 9h10min  | Benkouar Kamel        | 2370L | Medea-medea          | - | - | - |
|            | 9h15min  | Adda Bouziane         | 500L  | Ain soltan-ain defla | - | - | - |
|            | 10h30min | Belhireche Abdelkader | 1354L | Chettia-chlef        | - | - | - |
|            | 11h40min | Ghezali Ayoub         | 3244L | Ain el kbir-medea    | - | - | - |
| 05/03/2018 | 9h5min   | Benotsmane Mustapha   | 2386L | Rouina- ain defla    | - | - | - |
|            | 9h30min  | Adda Bouziane         | 550L  | Ain soltan-ain defla | - | - | - |
|            | 10h20min | Ghezali Ayoub         | 3235L | Ain el kbir-medea    | - | - | - |
|            | 10h30min | Mekhtiche Mohamed     | 930L  | Mardjchakir-medea    | - | + | - |
|            | 11h25min | Belhireche Abdelkader | 5103L | Chettia-chlef        | - | - | - |
| 06/03/2018 | 9h :00   | Benkouar Kamel        | 2330L | Medea-medea          | - | - | - |
|            | 9h30min  | Daoudi Belarbi        | 820L  | Ain defla-ain defla  | - | + | - |
|            | 10h15min | Ghezali Ayoub         | 3270L | Ain el kbir-medea    | - | + | - |
|            | 11h :00  | Belhireche Abdelkader | 1116L | Chettia-chlef        | - | - | - |
| 07/03/2018 | 9h30min  | Benotsmane Mustapha   | 3450L | Rouina- ain defla    | - | - | - |
|            | 10h :00  | Ghezali Ayoub         | 3225L | Ain el kbir-medea    | - | + | - |
|            | 11h30min | Belhireche Abdelkader | 5387L | Chettia-chlef        | - | - | - |
| 08/03/2018 | 9h15min  | Benkouar Kamel        | 1788L | Medea-medea          | - | - | - |
|            | 9h30min  | Daoudi Belarbi        | 640L  | Ain defla-ain defla  | - | + | - |
|            | 10h :00  | Ghezali Ayoub         | 3220L | Ain el kbir-medea    | - | + | - |

## ANNEXES

|            |          |                       |       |                         |   |   |   |
|------------|----------|-----------------------|-------|-------------------------|---|---|---|
|            | 10h45min | Adda Bouziane         | 671L  | Ain soltan-ain defla    | - | + | - |
|            | 11h :00  | Belhireche Abdelkader | 1638L | Chettia-chlef           | - | - | - |
| 11/03/2018 | 9h30min  | Daoudi Belarbi        | 665L  | Ain defla-ain defla     | - | + | - |
|            | 10h :00  | Ghezali Ayoub         | 2158L | Ain el kbir-medea       | - | + | - |
|            | 10h30min | Adda Bouziane         | 810L  | Ain soltan-ain defla    | - | + | - |
|            | 11h :00  | Belhireche Abdelkader | 5366L | Chettia-chlef           | - | - | - |
|            | 11h50min | Ennehas Benyoucef     | 1416L | Beni amrane - Ain defla | - | + | - |
| 12/03/2018 | 9h10min  | Ennehas Benyoucef     | 1064L | Beni amrane - Ain defla | - | - | - |
|            | 9h15min  | Benotsmane Mustapha   | 2020L | Rouina- ain defla       | - | - | - |
|            | 10h20min | Ghezali Ayoub         | 3264L | Ain el kbir-medea       | - | + | - |
|            | 10h55min | Adda Bouziane         | 540L  | Ain soltan-ain defla    | - | + | - |
|            | 11h :00  | Mekhtiche Mohamed     | 1140L | Mardjchakir-medea       | - | + | - |
|            | 11h40min | Belhireche Abdelkader | 5887L | Chettia-chlef           | - | - | - |
| 13/03/2018 | 9h :00   | Benotsmane Mustapha   | 523L  | Rouina- ain defla       | - | + | - |
|            | 9h19min  | Benkouar Kamel        | 2360L | Medea-medea             | + | - | - |
|            | 10h :00  | Ghezali Ayoub         | 3268L | Ain el kbir-medea       | - | + | - |
|            | 11h25min | Belhireche Abdelkader | 1320  | Chettia-chlef           | - | - | - |
| 15/03/2018 | 9h10min  | Benkouar Kamel        | 2370L | Medea-medea             | + | + | - |
|            | 9h30min  | Adda Bouziane         | 510L  | Ain soltan-ain defla    | - | + | - |
|            | 10h :00  | Daoudi Belarbi        | 750L  | Mekhatria - ain defla   | - | + | - |
|            | 10h30min | Mekhtiche Mohamed     | 1140L | Mardjchakir-medea       | - | + | - |
|            | 11h15min | Ghezali Ayoub         | 3267L | Ain el kbir-medea       | - | + | - |
|            | 11h30min | Belhireche Abdelkader | 1498L | Chettia-chlef           | - | + | - |
| 16/03/2018 | 9h20min  | Adda Bouziane         | 690L  | Ain soltan-ain defla    | - | + | - |

## ANNEXES

|            |          |                       |       |                         |   |   |   |
|------------|----------|-----------------------|-------|-------------------------|---|---|---|
|            | 10h15min | Ghezali Ayoub         | 3268L | Ain el kbir-medea       | - | + | - |
|            | 10h30min | Bair Yassine          | 579L  | Mouzaia-blida           | - | - | - |
|            | 11h :00  | Benotsmane Mustapha   | 2654L | Rouina- ain defla       | - | + | - |
|            | 11h30min | Daoudi Belarbi        | 560L  | Mekhatria - ain defla   | - | + | - |
|            | 11h45min | Belhireche Abdelkader | 5990L | Chettia-chlef           | - | + | - |
| 20/03/2018 | 9h12min  | Benotsmane Mustapha   | 2969L | Rouina- ain defla       | + | + | - |
|            | 9h35min  | Ghezali Ayoub         | 3244L | Ain el kbir-medea       | - | + | - |
|            | 10h14min | Adda Bouziane         | 610L  | Ain soltan-ain defla    | - | + | - |
|            | 10h40min | Mekhliche Mohamed     | 1140L | Mardjchakir-medea       | - | + | - |
|            | 11h :00  | Ennehas Benyoucef     | 1248L | Beni amrane - Ain defla | - | - | - |
|            | 11h30min | Belhireche Abdelkader | 5302L | Chettia-chlef           | - | + | - |
| 21/03/2018 | 9h30min  | Benkouar Kamel        | 2139L | Medea-medea             | + | + | - |
|            | 10h :00  | Daoudi Belarbi        | 763L  | Mekhatria - ain defla   | - | - | - |
|            | 10h15min | Ghezali Ayoub         | 3263L | Ain el kbir-medea       | - | + | - |
|            | 10h25min | Adda Bouziane         | 520L  | Ain soltan-ain defla    | - | + | - |
|            | 11h :00  | Belhireche Abdelkader | 5178L | Chettia-chlef           | - | + | - |
| 25/03/2018 | 10h15min | Benotsmane Mustapha   | 873L  | Rouina- ain defla       | + | + | - |
|            | 11h :00  | Ghezali Ayoub         | 3268L | Ain el kbir-medea       | - | - | - |
| 26/03/2018 | 9h30min  | Daoudi Belarbi        | 655L  | Mekhatria - ain defla   | - | - | - |
|            | 10h15min | Adda Bouziane         | 480L  | Ain soltan-ain defla    | - | + | - |
|            | 10h30min | Ghezali Ayoub         | 3268L | Ain el kbir-medea       | - | - | - |
|            | 11h :00  | Belhireche Abdelkader | 1194L | Chettia-chlef           | - | + | - |
|            | 11h30min | Benkouar Kamel        | 2370L | Medea-medea             | + | - | - |
| 27/03/2018 | 9h15min  | Benotsmane Mustapha   | 325L  | Rouina- ain defla       | + | + | - |

## ANNEXES

|            |          |                       |       |                       |   |   |   |
|------------|----------|-----------------------|-------|-----------------------|---|---|---|
|            | 9h25min  | Daoudi Belarbi        | 655L  | Mekhatria - ain defla | - | - | - |
|            | 10h40min | Benkouar Kamel        | 2370L | Medea-medea           | + | - | - |
|            | 10h55min | Bair Yassine          | 636L  | Mouzaia-blida         | - | - | - |
|            | 11h20min | Ghezali Ayoub         | 2150L | Ain el kbir-medea     | - | - | - |
| 28/03/2018 | 9h15min  | Benkouar Kamel        | 3532L | Medea-medea           | + | + | - |
|            | 9h45min  | Daoudi Belarbi        | 725L  | Mekhatria - ain defla | - | - | - |
|            | 10h20min | Ghezali Ayoub         | 3272L | Ain el kbir-medea     | - | - | - |
|            | 11h :00  | Belhireche Abdelkader | 5041L | Chettia-chlef         | - | + | - |
| 29/03/2018 | 9h10min  | Benkouar Kamel        | 2370L | Medea-medea           | + | - | - |
|            | 9h20min  | Ghezali Ayoub         | 3265L | Ain el kbir-medea     | - | - | - |
|            | 9h55min  | Adda Bouziane         | 450L  | Ain soltan-ain defla  | - | + | - |
|            | 10h10min | Daoudi Belarbi        | 705L  | Mekhatria-ain defla   | - | - | - |
|            | 10h45min | Belhireche Abdelkader | 1887L | Chettia-chlef         | - | + | - |
|            | 11h :00  | Mekhtiche Mohamed     | 1140L | Mardjchakir-medea     | - | + | - |
| 01/04/2018 | 9h15min  | Benkouar Kamel        | 2370L | Medea-medea           | + | - | - |
|            | 10h20min | Ghezali Ayoub         | 3264L | Ain el kbir-medea     | - | - | - |
|            | 10h35min | Adda Bouziane         | 690L  | Ain soltan-ain defla  | - | + | - |
|            | 11h15min | Belhireche Abdelkader | 1535L | Chettia-chlef         | - | + | - |
| 02/04/2018 | 9h30min  | Benotsmane Mustapha   | 2270L | Rouina- ain defla     | + | + | - |
|            | 10h15min | Daoudi Belarbi        | 735L  | Mekhatria - ain defla | - | - | - |
|            | 11h12min | Ghezali Ayoub         | 3260L | Ain el kbir-medea     | - | + | - |
|            | 11h30min | Belhireche Abdelkader | 5167L | Chettia-chlef         | - | + | - |

## ANNEXES

### Annexe N°12 :

**Tableau N°11 :** Liste des éleveurs et des collecteurs de lait cru

| <i>Nom/Prénom de collecteur</i> | <i>Nom/Prénom de l'éleveur</i> |
|---------------------------------|--------------------------------|
| <i>Mekhtiche Mohamed</i>        | <i>Mekhtiche Moussa</i>        |
|                                 | <i>Terras Hamdane</i>          |
|                                 | <i>Terras Lyes</i>             |
| <i>Benkouar Kamel</i>           | <i>Aissani Abdelkader</i>      |
|                                 | <i>Belhadj Ezzine mhamed</i>   |
|                                 | <i>Boussila Ahmed</i>          |
|                                 | <i>Boussila Maamar</i>         |
| <i>Ghezali Ayoub</i>            | <i>Benbrida Abderrazak</i>     |
|                                 | <i>Bettache Benkhalfa</i>      |
|                                 | <i>Boudjemaa Zouhir</i>        |
|                                 | <i>Djelaili Yahia</i>          |
|                                 | <i>Hamdani Kherredine</i>      |
| <i>Ennehas Benyoucef</i>        | <i>Ali Bouregaa Issam</i>      |
|                                 | <i>Benameur Rabah</i>          |
|                                 | <i>Tahar Hacem Mohamed</i>     |
| <i>Belhireche Abdelkader</i>    | <i>Abbas Djelloul</i>          |
|                                 | <i>Beghdaoui Brahim</i>        |
|                                 | <i>Benbeka Laid</i>            |
|                                 | <i>Hadidi Yassine</i>          |
|                                 | <i>Mehenni Maamar</i>          |
| <i>Adda Bouziane</i>            | <i>Benssetou Abdelkader</i>    |
|                                 | <i>Benssetou Belkacem</i>      |
|                                 | <i>Kerras Abdelkader</i>       |
| <i>Benotsmane Mustapha</i>      | <i>Brada Mohamed</i>           |
|                                 | <i>Hammiche Mohamed</i>        |
|                                 | <i>Benaziza Mohamed</i>        |
|                                 | <i>Yakhlef Brahim</i>          |
| <i>Daoudi Belarbi</i>           | <i>Boudjadi Djilali</i>        |
|                                 | <i>Mordjani Abdelkader</i>     |
|                                 | <i>Hamaddouche Harib</i>       |
|                                 | <i>Mokabli Abbad</i>           |
|                                 | <i>Filali slimane</i>          |
| <i>Bair Yassine</i>             | <i>Taieb Ezzraimi farid</i>    |

## ANNEXES

### Annexe N°13 :

**Tableau N°12 :** Limites Maximales des résidus (LMR) des principaux antibiotiques éprimées en ppm ( Laboratoire Idexx ) par des différentes testes.

| Antibiotics                        | EU MRL | IDEXX Duo ST Plus | Charm MRLBLTET 8 min | Charm PLABLTET 5 min |
|------------------------------------|--------|-------------------|----------------------|----------------------|
| <b>BetaLactam</b>                  |        |                   |                      |                      |
| <b>Penicilines</b>                 |        |                   |                      |                      |
| penicillin G (4)                   | 4      | 2                 | 2 - 3                | 2 - 3                |
| ampicilline (4)                    | 4      | 4                 | 2.5 - 4              | 2.5 - 4              |
| amoxicilline (4)                   | 4      | 3                 | 2.5 - 4              | 2.5 - 4              |
| oxacillin (30)                     | 30     | 3                 |                      |                      |
| cloxacilliln (30)                  | 30     | 4                 | 25 - 35              | 20 - 30              |
| dicloxacillin (30)                 | 30     | 4                 | 20 - 30              | 20 - 30              |
| Nafcillin ( 30)                    | 30     | 3                 |                      |                      |
| <b>Cefalosporins</b>               |        |                   |                      |                      |
| Ceftiofur ( 100)                   | 100    | 8                 | 10 - 20              | 50 - 70              |
| Desfuouroylceftiofur (100)         | 100    | 25                |                      | 50 - 70              |
| cefquinome (100)                   | 100    | 16                | 15 - 20              | 15 - 20              |
| cefazolin (50)                     | 50     | 20                | 8 - 16               | 10 - 15              |
| cephapirin ( 60)                   | 60     | 30                | 4 - 8                | 6 - 10               |
| desacetylcephapirine (60)          | 60     | 100               |                      | 6 - 10               |
| cefacetrile (125)                  | 125    | 50                | 6 - 12               | 14 - 20              |
| cefoperazone (50)                  | 50     | 35                | 4 - 8                | 2 - 4                |
| cefalexine (100)                   | 100    | 40                | 15 - 3               | 50 - 70              |
| cefalonium (20)                    | 20     | 14                | 3 - 5                | 8 - 12               |
| <b>Tetracycline</b>                |        |                   |                      |                      |
| tetracycline (100)                 | 100    | 16                | 10 30                | 15 - 30              |
| Oxytetracycline (100)              | 100    | 18                | 50 100               | 40 - 70              |
| Chlortetracycline (100)            | 100    | 40                | 50 100               | 40 - 70              |
| Doxycycline                        |        | 25                |                      |                      |
| Info from CNIEL 2016 except colors |        | ILVO 16           | Web Charm            | Insert Charm         |

Too sensitive : risk to refuse too much milk

For cheese & yogurth production: important to detect below 10 (Ghent and German studies)

Detection level above MRL but lover 2x MRL

Detection level above 2x MRL or data supplied by the producer missing