

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la vie
Filière : Sciences Agronomiques
Spécialité/Option: Production et Technologie Laitières
Département: Ecologie et Génie de l'Environnement

**Thème : Résidus des antibiotiques : répercussions sur la santé
humaine et l'industrie laitière**

Présenté par :

DJERADI Hadjer

TADJINE Dahmane

Devant le jury composé de :

Président: M^r KSOURI Samir M.C.B Université de Guelma

Examineur : M^{me} BENRBIHA Roumaïla Sabrina M.A.A Université de Guelma

Encadreur : M^{me} LEKSIR Choubaïla M.A.B. Université de Guelma

Juin 2016

Remerciements

Louange à DIEU, seigneur de l'Univers, qui nous a comblés de ses bienfaits, nous a guidé dans toutes les années d'études et nous a donné le courage pour terminer ce travail.

Nos remerciements s'adressent À :

À Mr KSOURI Samir

D'avoir accepté de présider le jury du présent mémoire.

À Mme LEKSIR Choubaïla d'avoir accepté de nous encadrer,

Pour nous avoir proposé ce projet,

Pour nous avoir guidé dans notre démarche,

Et pour sa disponibilité.

*À Dr. Madame BENRBIHA Roumaïla Sabrina d'avoir l'amabilité
d'examiner notre travail,*

Dédicace

Je dédie ce modeste travail comme témoignage d'affection, de respect et d'admiration :

À toute personne qui de près ou de loin m'a fait part de renseignements nécessaires à mon stage et à mon rapport.

*À mes très chers **parents** qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance.*

*Votre tâche n'a pas toujours été aisée,
J'espère aujourd'hui vous êtes source de fierté*

*À mes chères sœurs **Kawthar, Salsabile, Sarra** et son époux **Nadir***

*À ma chère nièce **Tasnime***

*À plus cher au monde, mon frère **Aymen***

*À mon binôme **Dahmane***

À mes professeurs pour leurs efforts afin de nous assurer une formation solide

À mes amis et mes collègues étudiants de ma promotion 2016.

Et à tous ceux que le manque de place ne me permet pas de nommer ici.

Hadjer



Dédicace

C'est avec un grand plaisir que je réserve ces lignes en signe de gratitude et de reconnaissance pour exprimer Mes remerciements les plus sincères à mon grand Dieu toute puissance de nous avoir donné la santé et la patience pour terminer ce travail.

À celui que les rois s'inclinent devant sa majesté et les césars devant sa force; à celui que la sagesse revient à ses conseils et son cœur est rempli de tendresse et de patience, à toi mon père.

Elle où le soleil a brillé pour éclairer ses yeux, qui a offert la beauté aux fleurs et le charme à tout ce qui est beau pour la personne qui n'a jamais cessé de me porter aide et courage, à vous mes mères Hada et Nora .

À mes chers frères : MEHDI, ISLEM et ABDELKODOUSSE

À mes chères sœurs : NESMA, BOSRA, ROUMAÏSSA, SHAMS et ISHREK

À tous mes amis surtout : CHOYAB, HADJER, DÉLÉGUÉE RYMA ET

À TOUTE MA PROMOTION et toute ma grande famille.

Dahmane



Sommaire

Introduction.....	01
--------------------------	-----------

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : RESISTANCE DES BACTERIES LACTIQUES AUX ANTIBIOTIQUES.....	04
I.1. Définitions de la résistance aux antibiotiques.....	05
I.2. Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	06
I.2.1. Mécanismes biochimique.....	06
I.2.1.1. Interférence avec le mécanisme de transport de type imperméabilité	06
I.2.1.2. Interférence avec le mécanisme de transport de type efflux.....	06
I.2.1.3. Inactivation ou détoxification enzymatique.....	06
I.2.1.4. Modification d'affinité de la cible	06
I.2.1.5. Substitution de cible	07
I.2.2. Mécanismes génétiques	07
I.2.2.1. Mutation	07
I.2.2.2. Acquisition d'ADN.....	08
I.3. Familles des antibiotiques	09
I.4. Mode d'action des antibiotiques.....	09
I.4. 1. Synthèse de la paroi.....	09
I.4.2. Réplication (synthèse de l'ADN).....	10
I.4.3. Transcription (synthèse des ARN)	10
I.4.4. Traduction (synthèse des protéines).....	10
I.5. Définition de résidu d'antibiotiques.....	10
I.6. Délais d'attente.....	11
I.6.1. Définition	11
I.6.2. Détermination du délai d'attente.....	11
I.6.3. Le calcul du temps d'attente	11
I.6.3.1. La méthode statistique	11
I.6.3.2. La méthode pragmatique.....	12
I.6.4.L'approche dans le calcul du temps d'attente « LAIT »	13
I.6.5. Expression du temps d'attente.....	13

CHAPITRE II: LES FERMENTS LACTIQUES UTILISÉS EN INDUSTRIE

LAITIÈRE.....	14
II.1. Généralités sur les ferments lactiques.....	14
II.1.1. Définition.....	14
II.1.2. Taxonomie des micro-organismes utilisés dans l'industrie laitière.....	14
II.1.2.1. Levures.....	14
II.1.2.2. Moisissures	14
II.1.2.3. Bactéries	15
II.1.3. Rôle des ferments	15
II.1.4. Types de ferments	16
II.2. Qualité et critères de sélection des ferments lactiques	16
II.2.1. Critères de sécurité.....	19
II.2.2. Fonctionnalités technologiques.....	19
II.2.3. Performances	20
II.2.4. Propriétés probiotiques	21
II.2.5. Aspects relatifs aux mélanges de souches/espèces	22
II.3. Problèmes liés à l'utilisation des ferments lactiques.....	22
II.4. Le génie génétique pour l'amélioration des ferments lactiques	23

CHAPITRE III : RÉPERCUSSIONS DES ANTIBIOTIQUES SUR L'INDUSTRIE

LAITIÈRE ET LA SANTÉ HUMAINE.....	25
III.1. Les problèmes sanitaires	25
III.1.1. Problèmes d'allergie.....	25
III.1.2. Risques toxiques.....	26
III.1.3. Modifications de la flore digestive du consommateur	26
III.1.4. Risques d'antibiorésistance.....	27
III.2. Les problèmes technologiques.....	28
III.3. Risques économiques	28
III.4. Pertinence de la résistance des ferments lactiques aux antibiotiques.....	29

PARTIE PRATIQUE

Matériel et méthodes

I.1. Matériel	30
I.2. Méthode	30
I.2.1. Réalisation de l'enquête auprès des vétérinaires.....	30
I.2.2. Delvotest SP	31
I.2.2.1. Présentation et principe.....	31
I.2.2. 2. Sensibilité minimale des trois méthodes de détection des antibiotiques	32
I.2.2.3. Caractéristiques des tests de détection des antibiotiques.....	33

RÉSULTATS ET DISCUSSION

I. Résultats de l'enquête	33
I.1. Espèces animales les plus exposées aux maladies dans la wilaya de Guelma	33
I.2. Races bovines les plus prédisposées aux maladies	33
I.3. Fréquence de maladies chez les animaux d'élevage	34
I.4. Utilisation des médicaments vétérinaires à titre préventif ou curatif	35
I.5. Les médicaments les plus utilisés en médecine vétérinaire	36
I.6. Les antibiotiques les plus utilisés par les vétérinaires	37
II. Lecture sur Appareil Delvotest	40

Conclusion.....	41
------------------------	-----------

Références Bibliographiques.....	43
---	-----------

Annexe

LISTE DES FIGURES

Figures	Titres	Pages
Figure 01	Evolution de la résistance d'E. Coli aux Fluoroquinolones dans différents pays européens.	4
Figure 02	Principaux mécanismes de résistance intrinsèque et acquise aux antibiotiques	8
Figure 03	Appareil Delvotest de l'unité « Edough » Annaba	31
Figure 04	Espèces animales les plus exposées aux maladies	33
Figure 05	Races bovines les plus prédisposées aux maladies	34
Figure 06	La fréquence des maladies chez les animaux d'élevage	34
Figure 07	Utilisation des médicaments vétérinaires à titre préventif	35
Figure 08	Utilisation des médicaments vétérinaires à titre curatif	36
Figure 09	Médicaments les plus utilisés en médecine vétérinaire	36
Figure 10	Familles d'antibiotiques les plus utilisés par les vétérinaires	38
Figure 11	Famille des β -lactamines	38
Figure 12	Famille de Tétracyclines	38
Figure 13	Famille de Quinolones	39
Figure 14	Famille des Céphalosporines	39
Figure 15	Famille des Macrolides	39
Figure 16	Expression des résultats de Delvotest®	40

LISTE DES TABLEAUX

Tableaux	Titres	Pages
Tableau 01	Différents types de résistance des bactéries aux antibiotiques	05
Tableau 02	Principales familles d'antibiotiques et leurs spectres	09
Tableau 03	Classification des ferments utilisés dans l'industrie laitière	15
Tableau 04	Exemples de critères de choix des ferments utilisés dans l'industrie laitière	18
Tableau 05	Spécifications microbiologiques des ferments lactiques	19
Tableau 06	Sensibilité minimale des méthodes de détections des antibiotiques	32
Tableau 07	Les familles d'antibiotiques que les vétérinaires utilisent le plus	37

LISTE DES ANNEXES

Annexes	Titres	Pages
Annexe 01	Questionnaire destiné aux médecins vétérinaires au niveau de la wilaya de Guelma sur l'utilisation des médicaments vétérinaires (exemplaire vierge).	i
Annexe 02	Questionnaire sur l'utilisation des médicaments vétérinaires au niveau de la wilaya de Guelma (renseigné par un vétérinaire).	ii
Annexe 03	Sensibilité du Tests Delvotest SP-NT pour les antibiotiques les plus utilisés dans le monde.	iii
Annexe 04	Caractéristique de différents tests de détection des antibiotiques.	iv

LISTE DES ABRIVIATIONS

Unités de mesures

°C : degré Celsius.

% : pourcentage.

pH : mesure l'acidité ou la basicité d'une solution.

A

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AMM : Autorisations de Mise sur le Marché.

ARN : Acide ribonucléique.

ATP : Adénosine triphosphate.

B

BNR : Bas niveau de résistance.

C

CE : Communauté européenne.

CMI : concentration minimale inhibitrice.

CRISPR: clustered, regularly interspaced short palindromic repeats.

CVMP: The Committee for Medicinal Products for Veterinary Use.

D

DANMAP: Danish Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme.

E

EMA/ European Medicines Evaluation Agency.

F

FINRES: Finnish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring and Consumption of Antimicrobial Agents report.

G

GRAS: Generally Recognized as Safe.

H

HNR : Haut niveau de résistance.

HPLC: High-performance liquid chromatography.

I

IDF: International Dairy Federation.

L

LMR : Limite maximale de résidus.

M

MARAN: Monitoring of Antimicrobial Resistance and Antibiotic Usage in Animals in the Netherlands.

O

OMS : Organisation mondiale de la santé.

P

PBP : Penicillin Binding Protein.

PLP : Protéines de Liaison aux Pénicillines.

S

ssp: Sous espèce.

SVARM: Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance monitoring.

T

TESSy: The european surveillance system.

TTSC:Time To Safe Concentration.

U

UFC: Unités formant colonies.

UHT : Ultra-High temperature

Introduction

INTRODUCTION

Le lait et les produits laitiers sont des aliments importants pour le consommateur, c'est l'aliment noble par excellence. L'Algérie, étant un pays fortement dépendant des importations alimentaires, est particulièrement vulnérable aux risques liés aux microorganismes destinés à la consommation humaine, notamment les ferments lactiques. Parmi ces risques, l'émergence de la résistance aux antibiotiques, notamment dans la flore pathogène, ne cesse de susciter un intérêt croissant dans la communauté scientifique. Cependant, ce risque pourrait s'avérer plus important dans la flore considérée bénigne puisque les éléments génétiques responsables de résistance aux antibiotiques, en particulier ceux contenant des éléments mobiles, peuvent se déplacer rapidement chez les populations humaines et animales. Le cas des bactéries lactiques est particulièrement intéressant en raison de leur statut GRAS (généralement reconnu comme (étant) sûrs). En effet, les germes pathogènes multirésistants aux antibiotiques peuvent transporter leurs résistances aux germes commensaux du tube digestif humain par transfert horizontal (EFSA, 2008).

En outre, les micro-organismes présents en grand nombre dans une denrée alimentaire ou dans l'intestin de l'homme présentent une plus grande probabilité de transfert de gènes d'antibiorésistance en comparaison aux micro-organismes présents en plus petit nombre. C'est le cas des bactéries qui constituent les ferments lactiques et qui se développent en grand nombre pendant la fermentation des produits laitiers fermentés. De surcroît, les conditions sublétales dans lesquelles subsistent les bactéries des ferments lactiques dans le tractus intestinal humain augmentent les chances de transmission horizontale via la conjugaison de plasmides portant des gènes d'antibiorésistance par rapport à la fréquence observée entre cellules bactériennes non stressées (AFSCA, 2012).

Plusieurs études soutiennent l'hypothèse d'un lien entre l'utilisation des antibiotiques dans la production alimentaire primaire et la présence d'antibiorésistance chez des agents pathogènes humains, avec l'alimentation comme moyen de transmission important (Carattoli, 2008; Silbergeld *et al*, 2008; Srinivasan *et al*, 2008; Stine *et al*, 2007; Mayrhofer *et al*, 2006).

Cependant, le risque de transfert de cette résistance par le biais des bactéries lactiques, longtemps considérées comme étant bénéfiques pour la santé, n'est pas encore bien déterminé. L'apparition de cette résistance peut être liée à des mauvaises pratiques thérapeutiques (posologie inadaptée, fréquence d'administration, non-respect de la prescription...etc.) (Maghuin-Rogister *et al*, 2001). D'un autre côté, la robustesse des

ferments lactiques vis-à-vis les fluctuations des paramètres opérationnels des procédés industriels constitue un critère de qualité technologique qui est prisé par les opérateurs industriels. De ce fait, les souches les plus performantes sous les conditions industrielles hostiles, entre autres la présence de résidus d'antibiotiques, auront tendance à être sélectionnées dans les opérations de criblage des souches industrielles.

INTERET DE L'ETUDE

La résistance des ferments lactiques aux antibiotiques pourrait représenter un avantage technologique étant donné que ça leur confère une robustesse convoitée par les industriels. Cependant, ce type de ferments pourrait dissimuler des pratiques frauduleuses des producteurs laitiers (Exp. lait contenant des résidus d'antibiotiques). En outre, le risque de transfert des gènes de résistance à la flore digestive humaine représente un danger potentiel pour la santé humaine. En Algérie, il existe un réseau national de surveillance de la résistance aux antibiotiques, cependant les activités de ce réseau accordent la priorité aux germes pathogènes. Un nombre de chercheurs algériens se sont également intéressés à ce domaine, toutefois la majorité des travaux consultés sont orientés vers la recherche de germes pathogènes résistants, le phénotypage des bactéries lactiques autochtones ou la détection de résidus d'antibiotiques dans différentes denrées alimentaires. Notre étude aborde le sujet d'une perspective différente : celle du risque de transfert de la résistance aux antibiotiques à la flore intestinale du consommateur des produits laitiers fermentés, par le biais des ferments lactiques importés. Nos résultats contribueraient éventuellement à mettre en exergue la nécessité de mettre en œuvre, au niveau national, les mécanismes nécessaires pour élargir la surveillance de l'émergence de la résistance aux antibiotiques aux microorganismes généralement reconnus comme sûrs telles que les bactéries lactiques.

Dans ce travail, nous avons entrepris de :

- Réaliser une enquête auprès d'une vingtaine de vétérinaires au niveau de la wilaya de Guelma, et ce pour déterminer un certain nombre de facteurs conditionnant l'utilisation d'antibiotiques en médecine vétérinaire. A titre d'exemple : espèces animales les plus exposées aux maladies, les médicaments vétérinaires utilisés, les grandes familles d'antibiotiques utilisés etc.

- Réaliser d'autre part, une petite étude de terrain en visitant une entreprise laitière « Idough » et ce afin de voir de près l'opération et l'appareillage du dépistage des résidu d'antibiotiques dans le lait cru de vache destiné à la transformation laitière, ainsi que de discuter avec les spécialistes de l'industrie laitière sur les éventuels accidents qui ont survenus suite à la réception des laits contenant des résidus d'antibiotiques.

CHAPITRE I : RÉSISTANCE DES BACTÉRIES LACTIQUES AUX ANTIBIOTIQUES

L'évolution rapide de la résistance aux antibiotiques est une réponse des bactéries au changement dramatique de leur environnement présenté par l'utilisation étendue d'antibiotiques. Ceci a abouti à l'émergence de la résistance bactérienne à de nombreux antibiotiques couramment utilisés (voir Figure 01). Ce problème intéresse de plus en plus les chercheurs, vu ses répercussions sur la santé humaine (Nollet et Toldra, 2010). Des mesures correctives sont prises dans plusieurs pays, l'exemple est donné par l'Union Européenne où plusieurs pays ont adopté des programmes pour surveiller cette résistance. Cette approche a été réalisée uniquement dans quelques pays tels que: le Danemark (DANMAP), la Suède (SVARM / SWEDRES), la Finlande (FINRES), la Hollande (MARAN) et la Norvège (NORM / NORM-VET) (EFSA, 2008). Plusieurs travaux de recherches se focalisent sur l'identification des séquences génétiques codant la résistance aux antibiotiques (Hummel *et al*, 2006). Dans un effort de diminuer le développement de la résistance, de diverses mesures ont été prises au niveau du SCAN pour définir les critères évaluant la présence ou l'absence des causes déterminantes de résistance aux antibiotiques dans les micro-organismes utilisés en tant qu'additifs alimentaires (SCAN, 2003).

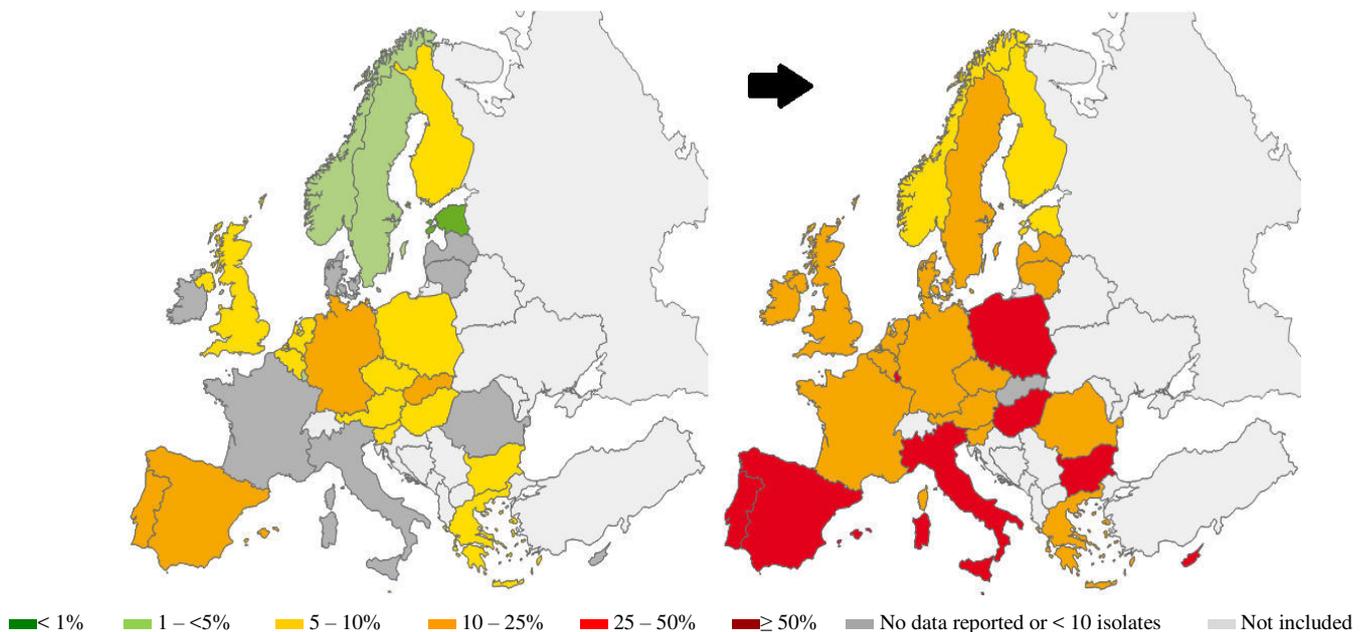


Figure 01. Evolution de la résistance d'E. Coli aux Fluoroquinolones dans différents pays européens : (a) 2001 et (b) 2010. Les pourcentages expriment les proportions des isolats ayant démontré une résistance (European Surveillance System, 2012).

1.1. Définitions de la résistance aux antibiotiques

Plusieurs types de résistance aux antibiotiques existent chez les bactéries, le Tableau 01 explique brièvement la nature de chacune de ces résistances (**Lavigne, 2010**):

Tableau 01. Différents types de résistance des bactéries aux antibiotiques

1. Résistance innée	Nommée également résistance intrinsèque ou naturelle ; cette résistance concerne toutes les souches d'une espèce donnée. On rencontre ce type de résistance chez les souches sauvages, n'ayant jamais été en contact avec un antibiotique. Elle permet de définir le spectre clinique d'un antibiotique.
2. Résistance acquise	Quand une souche d'une espèce typique susceptible devient résistante à un antibiotique donné on la considère donc comme résistance acquise.
3. Résistance clinique	C'est l'expression de la résistance in vivo par l'échec thérapeutique.
4. Résistance croisée	Fait référence au spectre d'inactivation lié à un même mécanisme de résistance vis-à-vis de divers antibiotiques appartenant à la même famille ou sous-groupe (se révèle par lecture interprétative de l'antibiogramme).
5. Résistance chromosomique (liée au chromosome)	Il s'agit souvent d'expliquer le déterminisme génétique d'une résistance naturelle ou acquise dont le ou les gènes est ou sont liés au chromosome (mutation).
6. Résistance génétique	Modification du patrimoine génétique entraînant des augmentations limitées de concentration minimale inhibitrice (CMI), souvent peu apparente de légères modifications du patrimoine génétique d'une bactérie peuvent entraîner une moindre sensibilité à un antibiotique ou plusieurs de la même famille ou de plusieurs selon le mécanisme.
7. Résistance extrachromosomique (plasmidique)	La résistance est liée à la présence d'un fragment d'ADN, le plus souvent en position cytoplasmique et non chromosomique tel un ADN plasmidique révélé après une électrophorèse sur gel.
8. Résistance associée	Résistance méditée par un plasmide porteur de plusieurs gènes de résistance à des antibiotiques de familles différentes (résistance plasmidique ou transposable)
9. Résistance inductible	Expression de la résistance en présence d'un inducteur (antibiotique de la même famille).
10. Résistance constitutive (déreprimée)	Modification de l'ADN d'un gène impliqué dans la résistance inductible, se traduit par une expression augmentée de la résistance
11. Résistance transposable	Structure particulière d'ADN localisée sur des transposons (éléments génétiques mobiles), situés soit dans le chromosome, soit sur un plasmide.

I.2. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

I.2.1. Mécanismes biochimiques

Les bactéries se défendent contre l'action des antibiotiques en se rendant imperméables à leur pénétration, en produisant des enzymes capables de les inactiver ou en modifiant la structure de leurs cibles. Les mécanismes biochimiques impliqués dans la résistance bactérienne aux antibiotiques sont brièvement expliqués ci-dessous (EFSA, 2008; SCAN, 2003).

I.2.1.1. Interférence avec le mécanisme de transport de type imperméabilité

Défaut d'entrée de l'antibiotique dans la bactérie (Gram -) provoqué par le dysfonctionnement ou la perte d'une porine qui sont des canaux aqueux ou hydrophiles constitués de trois molécules de protéines qui laissent diffuser diverses molécules de faible masse moléculaire comme des substrats ou encore des antibiotiques. *Exemple:* β -lactamines.

I.2.1.2. Interférence avec le mécanisme de transport de type efflux

Extrusion de l'antibiotique de la bactérie (Gram + ou Gram -). *Exemple:* Quinolones.

I.2.1.3. Inactivation ou détoxification enzymatique

Le mécanisme de résistance naturelle ou acquise par inactivation ou détoxification enzymatique est important et très varié. *Exemple:* les β -lactamases (au moins 350 enzymes maintenant identifiées). La résistance par ce type de mécanisme à d'autres familles d'antibiotiques est bien connue comme pour les aminoglycosides avec les enzymes impliqués.

I.2.1.4. Modification d'affinité de la cible

Ce mécanisme est en relation avec une modification d'affinité d'une ou plusieurs cibles de type PLP (Protéines de liaison aux pénicillines) ou PBP (*Penicillin Binding Protein*) comme chez *Streptococcus pneumoniae* définissant une résistance de niveau variable: bas niveau de résistance (BNR) et haut niveau de résistance (HNR).

I.2.1.5. Substitution de cible

Ce mécanisme est de moindre importance dans le monde bactérien. Cependant, l'exemple majeur est la résistance intrinsèque de *Staphylococcus aureus* qui est liée d'une part, à la présence d'une nouvelle PLP de faible affinité, dénommée PLP2a et d'autre part à son hyperproduction. La conséquence clinique est importante, car il y aura résistance croisée entre β -lactamines.

I.2.2. Mécanismes génétiques

I.2.2.1. Mutation

Les mutations chromosomiques peuvent conduire à une résistance accrue aux antibiotiques de différentes manières. Les plus fréquents sont des mutations dans les gènes codant pour les molécules cibles d'antibiotiques, généralement par une modification sur le site de liaison de l'antibiotique. Un exemple bien étudié est celui des mutations dans le gène de la protéine de liaison de la pénicilline ce qui se traduit par une résistance élevée à la pénicilline. Des mutations de l'ARNr 16S ou 23S rend *Helicobacter pylori* et *Streptococcus pneumoniae* résistantes à la tétracycline et l'érythromycine, respectivement. La résistance par mutation des gènes chromosomiques présente un faible risque de diffusion horizontale toutefois (EFSA, 2008).

I.2.2.2. Acquisition d'ADN

Trois principaux mécanismes de résistance antimicrobienne ont été décrits:

- L'inactivation directe de la molécule active.
- La perte de susceptibilité bactérienne à l'antibiotique par la modification de la cible d'action.
- La réduction de la concentration de l'antibiotique qui atteint la molécule de cible sans modification du composé elle-même. Les mécanismes de défense d'antibiotiques de la résistance intrinsèque est dans la plupart des cas relative à la présence de basses cibles d'affinité, l'absence de cibles, prise diminuée ou flux d'antibiotiques (Figure 02). (SCAN, 2003)

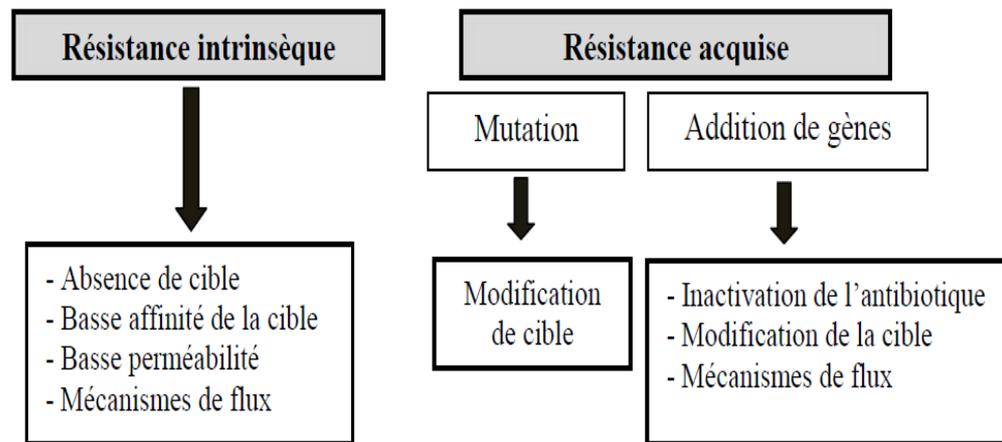


Figure 02. Principaux mécanismes de résistance intrinsèque et acquise aux antibiotiques (EFSA, 2008)

I.3. Familles des antibiotiques

Les principales sources des antibiotiques sont les champignons comme la pénicilline qui est produite par le champignon *Penicillium*, mais ils peuvent aussi avoir comme source les bactéries. Il existe également des antibiotiques entièrement synthétiques comme le chloramphénicol, produit de synthèse chimique (Guillemot *et al*, 2006; Yala *et al*, 2001). Les antibiotiques sont définis aussi par leur :

- Activité antibactérienne (spectre d'activité) ;
- Toxicité sélective (mode d'action) et
- Bonne absorption et diffusion dans l'organisme (pharmaco-cinétique) (Yala *et al*, 2001).

Les antibiotiques sont aussi subdivisés en plusieurs familles selon leur spectre d'action (voir Tableau 02).

Tableau 02. Principales familles d'antibiotiques et leurs spectres d'activité (Abidi, 2004)

Familles	Antibiotiques correspondants	Spectre d'activité
Bêtalactamines <i>Les pénicillines</i>	Pénicilline G ; Pipéracilline ; Ampicillines ; Nafcicilline ; Amoxicilline ; Oxacilline ; Carbénicilline ; Cloxacilline ; Dicloxacilline	Coques Gram + et Gram - Bacilles Gram +
<i>Les céphalosporines</i>	Première génération Céfalexine ; Céfazoline ; Cefalonium ; Céfadroxil ; Céfapirine ; Céfalotine ; Céfardine Deuxième génération Céfuroxime ; Céfoxitine Troisième génération Ceftiofur ; Céfépime ; Céfopérazone ; Ceftazidime ; Céfotiam Quatrième génération Cefquinome	Gram + Spectre intermédiaire Gram -
Aminosides	Streptomycine ; Paramomycine ; Néomycine ; Framycétine ; Apramycine ; Tobramycine ; Amikacine ; Spectinomycine ; Gentamicine ; Ribostamycine ; Kanamycine ; Netilmicine	Bacilles Gram -
Phénicolés	Chloramphénicol ; Florfénicol ; Thiamphénicol	Spectre large
Tétracyclines	Oxytétracycline ; Minocycline ; Chlortétracycline ; Doxycycline ; Déméthylchlortétracycline	Spectre large
Macrolides	Érythromycine ; Tilmicosine ; Lincomycine ; Spiramycine ; Josamycine ; Oléandomycine ; Tulathromycine ; Tylosine	Coques Gram + et Gram - Bacilles Gram + Mycoplasmes
Glycopeptides	Vancomycine ; Teicoplanine	Bactéries Gram +
Polypeptides	Colistine ; Tyrothricine ; Colistiméthate ; Bacitracine ; Polymyxine B	Bacilles Gram -
Sulfamides	Sulfaméthizol ; Sulfathiazol ; Sulfadimidine ; Sulfadimérazine ; Sulfaméthoxazole ; Sulfadiazine ; Sulfadiméthoxine ; Sulfaméthoxyridazines	Spectre large
Quinolones	Acide oxolinique ; Fluméquine, Ciproflaxine ; Ibaflaxine, Marboflaxine ; Difloxacine, Enrofloxacin ; Danofloxacin	Spectre large

I.4. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques exercent leur action sur les cellules procaryotes au niveau de différentes cibles.

I.4.1. Synthèse de la paroi

Certains antibiotiques interfèrent avec, ou se fixent sur une enzyme de la voie de biosynthèse du peptidoglycane et bloquent son activité. De plus, d'autres mécanismes peuvent être mis en jeu (Jean-Noel et Guy, 2006). Les antibiotiques en question sont principalement des β -Lactamines (pénicillines, céphalosporines, et dérivés), Cyclosérine, Bacitracine, Vancomycine et Fosfomycine (Abidi, 2004).

I.4.2. Réplication (synthèse de l'ADN)

Les quinolones bloquent l'ADN gyrase, provoquant une fragmentation de l'ADN. La Novobiocine empêche la fixation de l'ATP sur l'ADN gyrase (**Jean-Noel et Guy, 2006**).

I.4.3. Transcription (synthèse des ARN)

La Rifampicine se fixe sur la sous-unité β de l'ARN polymérase ADN dépendante altérant ainsi le message (**Abidi, 2004**).

I.4.4. Traduction (synthèse des protéines)

La Streptomycine se fixe sur l'ARN 16 S de la sous-unité 30 S du ribosome et empêche l'initiation. D'autres aminosides se fixent sur l'ARN 16 S de la sous-unité 30 S du ribosome et empêchent l'élongation. L'Erythromycine se fixe sur la sous-unité 50 S du ribosome et bloque la translocation (**Jean-Noel et Guy, 2006**).

I.5. Définition de résidus d'antibiotiques

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

La définition de résidus est codifiée dans une directive européenne (**DIRECTIVE 81/851/ CEE, 1981**). Dans cette Directive, les résidus sont définis comme étant « tous les principes actifs ou leurs métabolites qui subsistent dans les viandes ou autres denrées alimentaires provenant de l'animal auquel le médicament en question a été administré ».

Le règlement 2377/90/CEE modifie légèrement cette définition en la complétant. Les résidus sont définis comme toute substance pharmacologiquement active, qu'il s'agisse de principes actifs, d'excipients ou de métabolites présents dans les liquides et tissus des animaux après l'administration de médicaments et susceptibles d'être retrouvés dans les denrées alimentaires produites par ces animaux. (**DIRECTIVE 81/851/ CEE, 1981**).

I.6. Délais d'attente

Chaque fois qu'un médicament vétérinaire est administré. Il existe un risque de présence de résidus dans les denrées d'origine animale (lait. Viande. Œufs) qui seront livrés à la consommation. De plus dans certains cas particuliers. Principalement lors de

récidive. Le vétérinaire peut être amené à allonger la durée de traitement prévue par l'AMM afin d'augmenter les chances de guérison.

Si ces résidus sont considérés comme dangereux. Un temps ou délai d'attente pour la consommation humaine doit être impérativement respecté (**Ouslimani, 2008**).

I.6.1. Définition

Délai entre la dernière administration d'un médicament à des animaux, dans des conditions normales d'emploi, et la production de denrées alimentaires issues de ces animaux, garantissant que ces denrées ne contiennent pas de résidus du médicament en quantité supérieure à sa LMR (directive 81/851/CEE) (B). La détermination du délai d'attente est un point essentiel à l'AMM de tout médicament (**Ouslimani, 2008**).

I.6.2. Détermination du délai d'attente

Très récemment harmonisée au niveau européen (F), elle peut faire appel à 3 méthodes statistiques différentes, la méthode « *Time To Safe Concentration* » (*TTSC*), recommandée par l'EMA (European Medicines Evaluation Agency), est généralement utilisée par les industriels ; elle consiste à calculer les limites de tolérance du nombre de traite (**stoltz, 2008**).

I.6.3. Le calcul du temps d'attente

Le calcul du temps d'attente se fait à partir des résultats des études de déplétion des résidus. Il y a deux groupes de méthodes (**stoltz, 2008**).

- Les méthodes statistiques,
- Les méthodes traditionnelles, dites simplifiées, « pragmatiques ».

Par souci de simplification du langage, nous parlerons de « la méthode statistique » et de « la méthode pragmatique ».

Seul le calcul du temps d'attente « viande et abats » sera décrit. La réglementation européenne propose également une méthode pour le calcul du temps d'attente « lait » (**Laurentie et Sa, 2002**).

I.6.3.1. La méthode statistique

La méthode statistique est la méthode la plus fiable scientifiquement et elle a l'avantage de permettre une harmonisation des méthodes de calcul du temps d'attente entre les différentes législations nationales des pays de l'Union Européenne

(**EMEA/CVMP/036/95-FINAL, 1996**). Mais elle est contraignante sur la quantité de données à générer nécessitant des études incluant de nombreux animaux. Elle repose sur l'hypothèse, le plus souvent vérifiée, que les quantités de résidus dans les tissus décroissent à vitesse constante.

Pour chaque tissu (muscle, foie, rein, graisse), un temps d'attente est alors déterminé, égal au temps où, statistiquement, les concentrations en résidus sont inférieures aux LMR chez 95 % des individus. Graphiquement, ce moment est déterminé par l'intersection de la courbe des 95% et la LMR. Ces temps d'attente, pour les différents tissus, sont déterminés avec un niveau de confiance de 95 %. Le temps d'attente final correspond au temps le plus long calculé, le plus souvent arrondi au nombre directement supérieur de jours entiers (**Stoltz, 2008**).

La méthode statistique doit être utilisée en priorité par rapport à la méthode pragmatique. Si la méthode statistique ne peut pas être utilisée et que le recours à la méthode pragmatique s'avère nécessaire, une justification est nécessaire (**Stoltz, 2008**).

I.6.3.2. La méthode pragmatique

La méthode pragmatique a été la méthode utilisée pendant longtemps pour le calcul des temps d'attente, d'où le nom de méthode traditionnelle. Elle repose sur une analyse empirique des données.

Les animaux sont abattus à différentes dates après la dernière administration effectuée selon le protocole thérapeutique qui sera proposé dans le dossier d'AMM. Les résidus sont alors dosés dans les différents tissus. La date d'abattage la plus proche, pour laquelle toutes les concentrations résiduelles sont inférieures aux LMR, additionnée d'une marge de sécurité le plus souvent de 30 %, détermine le temps d'attente (**Stoltz, 2008**).

Cette méthode de fixation des temps d'attente présente l'avantage de nécessiter peu d'animaux dans les études de déplétion des résidus et d'être souvent plus sécuritaire pour le consommateur que la méthode statistique en établissant des temps d'attente plus long. Cependant, cette méthode est peu reproductible d'un lot d'animaux à l'autre. Il suffit en effet d'augmenter le nombre d'animaux dans une étude pour que statistiquement le temps d'attente, s'allonge à cause d'une probabilité élevée d'avoir des animaux qui présentent des

quantités de résidus supérieures et pendant plus longtemps que la moyenne de la population (**Stoltz, 2008**).

I.6.4. L'approche dans le calcul du temps d'attente « LAIT »

Le principe général du calcul du temps d'attente pour le lait est proche de celui détaillé pour les tissus. Du fait que les mesures de concentration des résidus sont réalisées individuellement, la variabilité individuelle est importante et il faut prendre en compte différents facteurs comme la quantité de lait produite, l'effet race ou l'effet stade de lactation par exemple. Le temps d'attente correspond au premier temps de traite pour lequel la concentration en résidus est inférieure ou égale à la LMR pour 95 % de la population avec un niveau de confiance de 95 % (**Sachot et Pu, 2001**).

I.6.5. Expression du temps d'attente

Initialement le temps d'attente était exprimé sous forme d'un nombre de traites à éliminer avant de pouvoir commercialiser le lait. Il était considéré, comme « sans objet » lorsque les concentrations de résidus au cours du traitement ou après le traitement étaient inférieures à la LMR, ou que la substance était classée en annexe II. Un temps d'attente nul correspondait à une substance pour laquelle les concentrations pouvaient dépasser la LMR en cours de traitement, mais étaient inférieures à la LMR à la première traite, soit 12h après l'arrêt du traitement. Actuellement le temps d'attente est exprimé en multiples de 12heures, considérant que ce temps correspond à l'intervalle moyen entre 2 traites. Par conséquent le temps d'attente est exprimé en heures ou en jours éventuellement, ou « XX » heures ou jours : Un temps d'attente est noté « Zéro » lorsque il n'est pas nécessaire d'éliminer le lait après un traitement (**Fabre et al, 2006**). Cela correspond à plusieurs cas :

Une teneur dans le lait qui est toujours inférieure à la LMR durant et après le traitement. Si un principe actif n'a pas de LMR dans le lait, le médicament vétérinaire le contenant ne peut pas être utilisé chez une femelle en lactation. La mise en évidence de ce résidu dans le lait correspond à un non-respect de l'AMM et de réglementation sur les résidus (**Laurentie et Sanders, 2002**). Le non-respect du temps d'attente entraîne un risque de contamination massive du lait de tank. Certains temps d'attente ont été définis il y'a plusieurs années et sont toujours en vigueur. Une phase de réévaluation sera entamée pour déterminer les temps d'attente selon les nouvelles techniques. (**Laurentie et Sanders, 2002**).

CHAPITRE II: LES FERMENTS LACTIQUES UTILISÉS EN INDUSTRIE LAITIÈRE

II.1. Généralités sur les ferments lactiques

Les ferments lactiques sont ajoutés au lait pour démarrer le procédé de fermentation. Ils sont employés pour la production d'une grande gamme de produits laitiers comme le fromage, le yaourt, le lait fermenté, le beurre et la crème (Chen, 2010; Hylckama Vlieg et Hugenholtz van, 2007; Pfeiler et Klaenhammer, 2007; Wildman, 2007; Salminen *et al*, 2004). Puisque la flore lactique originale du lait est soit inefficace, incontrôlable, imprévisible, ou bien détruite sous l'effet de traitements thermiques auxquels le lait est soumis, les ferments lactiques ajoutés au lait, suite à l'étape de pasteurisation, assurent une fermentation plus contrôlée et plus prévisible (Yıldız, 2010; Chamba, 2008; Makarova *et al*, 2006; Badis *et al*, 2005; Parente et Cogan, 2004).

II.1.1. Définition

Un ferment lactique est une préparation comprenant un grand nombre de micro-organismes (une seule espèce ou plusieurs), qui est ajoutée au lait pour produire un aliment fermenté en accélérant et en orientant son processus de fermentation (Yıldız, 2010; Leroy et De Vuyst, 2004). La production des ferments lactiques est fondée sur la technique de la « culture pure » initialement élaborée par Robert Koch. Dans une culture pure, chaque colonie microbienne se compose de cellules qui proviennent toutes de la même cellule. Ceci assure que les cultures ne sont pas un mélange de différents micro-organismes inconnus et elles peuvent donc être dénombrées et exploitées pour produire les réactions biochimiques prédéterminées (Solieri et Giudici, 2009; Chamba, 2008; Makarova *et al*, 2006; Parente et Cogan, 2004).

II.1.2. Taxonomie des micro-organismes utilisés dans l'industrie laitière

II.1.2.1. Levures

Les levures sont des micro-organismes largement utilisés aux procédés de production de produits laitiers notamment les fromages (fromages à pâtes molles à croûte fleurie, fromages à pâtes molles à croûte lavée, fromages à pâtes persillées, fromages à pâtes pressées). Et pour la production de certains laits fermentés (*Candida kékfir*, *Torulopsis kékfir*). Les levures interviennent essentiellement par production d'éthanol (Branger, 2012).

II.1.2.2. Moisissures

Les moisissures sont utilisées également pour la production d'une large gamme de fromages (fromages à pâtes molles à croûte fleurie, fromages à pâtes molles à croûte lavée, à pâtes persillées, fromages à pâtes pressées) (Ray et Bhljnia, 2008; Robinson, 2002). Les espèces les plus couramment utilisés sont *Penicillium camemberti*, *Penicillium roqueforti* (Branger, 2012).

II.1.2.3. Bactéries

Les bactéries lactiques utilisées dans l'industrie laitière sont restreints à cinq genres principaux (voir Tableau 03): *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* et *cremoris*; *Streptococcus thermophilus*; *Leuconostoc* espèces *lactis*, *mesenteroides* ssp. (*cremoris* et *dextranium*) et *pseudomesenteroides*; *Enterococcus faecalis* et *faecium*; et plusieurs espèces de *Lactobacillus*, notamment, *delbruekii* ssp. *bulgaricus*, *casei*, *brevis*, *helveticus*, *rhamnosus*, *acidophilus*, *fermentum*, *curvatus*, *johnsonii*, et *gasseri* (Shetty et al, 2006).

Tableau 03. Classification des ferments utilisés dans l'industrie laitière (Robinson, 2002 ; Ray et Bhljnia, 2008)

	Microflore traditionnelle	Espèces microbiennes incorporées aux ferments lactiques
Genres	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Lactococcus</i> - <i>Leuconostoc</i> - <i>Pediococcus</i> - <i>Streptococcus</i> - <i>Lactobacillus</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Bifidobacterium</i> - <i>Enterococcus</i> - <i>Propionibacterium</i> - <i>Brevibacterium</i> - Levures - Moisissures

II.1.3. Rôle des ferments

La pasteurisation du lait réduit fortement la microflore indigène, le rôle principal des ferments est par conséquent d'initier et conduire le procédé de fermentation selon les propriétés souhaitées dans le produit fini (Carminati et al, 2010; Mozzi et al, 2010; Saithong et al, 2010; Hylckama Vliega et Hugenholtzb van, 2007). Les ferments contribuent également aux caractéristiques organoleptiques, nutritionnelles et sensorielles des produits et à leur sûreté (Yildiz, 2010). L'impact sur la qualité du produit est fortement dépendant de la souche utilisée et varie entre les souches selon leurs activités et voies métaboliques (Hylckama et Hugenholtzb, 2007). Les ferments sont utilisés en raison de leur capacité de production d'acide lactique à partir du lactose. De plus, ils possèdent d'autres fonctions importantes comme l'inhibition des micro-organismes indésirables,

l'amélioration des propriétés sensorielles et rhéologiques, en plus de leurs bienfaits prouvés pour la santé.

Etant donné que les ferments commerciaux comportent des souches choisies d'espèces prédéfinies ayant des propriétés métaboliques connues, l'introduction de ces ferments a significativement amélioré la qualité commerciale et hygiénique des produits laitiers fermentés et a contribué à l'harmonisation des normes de qualité (**Parente et Cogan, 2004**).

II.1.4. Types de ferments

Les ferments peuvent être classés sur la base de leur fonction, leur température de croissance, ou leur composition. Avant l'arrivée de la biotechnologie moderne, des ferments artisanaux étaient utilisés. Bien qu'ils soient encore en usage, leur instabilité microbiologique a favorisé l'évolution de production de mélanges de bactéries lactiques prédéfinies afin d'obtenir une activité et une qualité d'acidification plus stables dans les produits finaux (**Marth et Steele, 2001**). Cependant, les ferments artisanaux représentent des sources potentielles de nouvelles souches de bactéries lactiques à intérêt commercial. Aujourd'hui, des cultures mono- ou multi- souches bien définies sont intensivement utilisées autour du monde pour produire des produits laitiers variés (**Brusetti et al, 2008 ; Uchida et al, 2007**). Ces cultures sont commercialisées sous forme de cellules concentrées congelées ou lyophilisées pour être directement introduites dans les cuves de fermentation (inoculation).

On distingue donc deux catégories principales de ferments: les ferments artisanaux utilisés dans les procédés traditionnels et les ferments commerciaux utilisés dans les procédés modernes:

II.2. Qualité et critères de sélection des ferments lactiques

La sélection d'un ferment lactique est réalisée soit par l'utilisateur potentiel, soit par le producteur de ferments, sur la base d'un cahier des charges généralement fixé par l'utilisateur. Cette sélection s'appuie sur de nombreux critères afin de répondre à la fois aux spécifications demandées par l'utilisateur et aux contraintes imposées par le producteur (**Corrieu et Luquet, 2008; Robinson, 2002**). Ces critères relèvent habituellement des fonctionnalités technologiques des souches, de leurs performances, de leurs propriétés probiotiques éventuelles et de leur sécurité. Ils diffèrent selon le type de produit désiré, les caractéristiques des matières premières à transformer et la technologie appliquée. Il importe également de s'assurer de la faisabilité économique de la propagation de la souche

coûts des milieux, mise en œuvre pratique de la culture, mise en œuvre de la phase de stabilisation. Enfin, leur robustesse, notamment lors des différentes phases de leur production, constitue le critère ultime de sélection (**Corrieu et Luquet, 2008; Robinson, 2002**).

Le Tableau 04 présente des exemples de critères recherchés dans les ferments utilisés dans l'industrie laitière.

Tableau 04. Exemples de critères de choix des ferments utilisés dans l'industrie laitière (Branger, 2012)

Critères	Bactéries lactiques	Corynébactéries	Levures	Moisissures
Conditions de croissance	<ul style="list-style-type: none"> - Température optimale et cycle thermique - Croissance à basse température - Comportement en présence d'autres bactéries (effets synergiques, symbioses, antagonismes). 	<ul style="list-style-type: none"> - pH optimal et minimal - Comportement à +4°C - Croissance à 10-15°C - Comportement en présence de levures et/ou moisissures. 	<ul style="list-style-type: none"> - Adaptation à des températures basses ou élevées - Exigences faibles en éléments nutritifs - Comportement en présence de bactéries lactiques et propioniques. 	<ul style="list-style-type: none"> - Vitesse de germination et de croissance - Température - Comportement en présence d'autres microorganismes.
Productions ou caractères particuliers	<ul style="list-style-type: none"> - Capacité acidifiante - Production de polysaccharides (dextranes) - Arômes - Potentiel aminopeptidasique - Potentiel protéolytique - Bactériocines. 	<ul style="list-style-type: none"> - Pigmentation non photo-dépendante - Activité caséolytique - Activité aminopeptidasique - Activité lipolytique - Arômes - Activité déméthylase 	<ul style="list-style-type: none"> - Taux d'éthanol - Rendement en éthanol - Production élevée en glycérol - Esters lourds - Phénotype « Killer » - Dégradation de l'acide malique - Caractère agglomérant - Propriétés protéolytiques - Action sur les polyphénols. 	<ul style="list-style-type: none"> - Morphologie (feutrage ras, dense, aéré) - Couleur et stabilité au vieillissement - Sporulation souhaitée (<i>Penicillium roqueforti</i>) - Ou non (<i>Penicillium camemberti</i>) - Activité protéolytique - Activité lipolytique.
Caractères non recherchés	<ul style="list-style-type: none"> - Production de peptides amers. 	<ul style="list-style-type: none"> - Production de sulfures. 	<ul style="list-style-type: none"> - Production d'écume - Production d'acide acétique - Production d'acétate d'éthyle (acidité volatile) - Production de H₂S et de mercaptans - Production trop importante d'alcools supérieurs. 	<ul style="list-style-type: none"> - Goûts indésirables.

II.2.1. Critères de sécurité

Les bactéries susceptibles d'être produites et utilisées comme ferments lactiques ne doivent évidemment pas présenter de caractère pathogène et/ ou générer des substances toxiques. C'est le cas de la plupart des espèces de bactéries lactiques, qui possèdent le statut GRAS (*Generally Recognized As Safe*), à l'exception de certains entérocoques (Delorme, 2008; Corrieu et Luquet, 2005; Renault, 2002). Les préparations de ferments commerciaux doivent, en outre, être exemptes de substances infectieuses ou susceptibles de provoquer des problèmes d'hygiène. Elles ne doivent pas contenir de contaminants tels que des coliformes, des levures ou des moisissures. Ainsi selon la Fédération Internationale de Laiterie (IDF, 2005), les ferments doivent satisfaire aux spécifications indiquées dans le Tableau 05 :

Tableau 05. Spécifications microbiologiques des ferments lactiques (Corrieu et Luquet, 2008)

Type de contaminant	Ferments non concentrés		Ferments concentrés	
	<i>Congelés</i>	<i>Lyophilisés</i>	<i>Congelés</i>	<i>Lyophilisés</i>
<i>Bactéries non lactiques</i>	<50	<50	<500	<500
<i>Levures et moisissures</i>	<1	<10	<1	<10
<i>Coliformes</i>	<1	<1	<1	<10
<i>Entérocoques</i>	<10	<10	<10	<100
<i>Staphylococcus aureus</i>	<1	<10	<1	<10
<i>Salmonella ssp.</i>	Absence dans 25 g de produit			
<i>Listeria monocytogenes</i>	Absence dans 1 g de produit			

II.2.2. Fonctionnalités technologiques

Les fonctionnalités technologiques des ferments lactiques relèvent les propriétés suivantes :

- Activité acidifiante : il s'agit, pour un ferment donné, de permettre une vitesse d'acidification élevée et/ou d'atteindre un niveau d'acidité finale prédéfinie. Ce niveau d'acidité finale dépend des spécificités du produit, lesquelles vont conditionner le choix des souches ;
- Métabolisme des sucres : le choix d'un ferment est conditionné par son aptitude à produire, soit de l'acide lactique presque exclusivement (métabolisme homofermentaire), soit de l'acide lactique et d'autres produits finaux tels que l'éthanol et le CO₂ (métabolisme hétérofermentaire) ;

- Propriétés protéolytiques et peptidasiques: les bactéries démontrent des potentialités différentes, liées à leur équipement enzymatique, pour l'utilisation de la fraction azotée ;
- Propriétés lipolytiques : généralement faibles chez les bactéries lactiques, elles peuvent cependant présenter un intérêt pour certaines applications fromagères ;
- Activité gazogène : certains ferments lactiques sont capables de produire du CO₂ à partir d'une source de carbone, participant ainsi à la formation d'ouvertures dans les fromages ;
- Production de composés d'arômes : cette fonctionnalité est particulièrement importante lors de l'élaboration des laits fermentés, des fromages frais, crèmes et beurres, dont l'arôme principal est lié à cette activité microbienne ;
- Production de polysaccharides exocellulaires : il s'agit de sélectionner des ferments capables de produire, en quantité et en qualité, des exopolysaccharides qui vont accroître la viscosité du produit (cas des yaourts brassés par exemple) ;
- Activité antimicrobienne : certains ferments sont capables de produire des bactériocines ou d'autres inhibiteurs de micro-organismes indésirables. Ces molécules sont particulièrement intéressantes pour l'élaboration de produits à partir de lait cru, donc susceptibles de contenir des micro-organismes indésirables, voire pathogènes ;
- Post-acidification : le choix de souches faiblement post-acidifiantes permet, lors de la fabrication des laits fermentés, de limiter les phénomènes d'acidification qui peuvent intervenir lors de leur stockage à basse température (4 à 6°C), modifiant ainsi leur qualité organoleptique. La sélection d'un ferment fait généralement appel à plusieurs de ces propriétés simultanément (**Corrieu et Luquet, 2008**).

II.2.3. Performances

La sélection d'un ferment lactique doit prendre en compte des critères de performance des bactéries. Ainsi, quelle que soit la (ou les) propriétés fonctionnelles retenues, les bactéries devront répondre à certaines des spécificités suivantes :

- Résistance aux bactériophages (assortie d'un programme de rotation des cultures)
- Tolérance aux inhibiteurs de la croissance, tels que les antibiotiques ;
- Résistance aux traitements mécaniques (centrifugation, ultrafiltration) ;
- Aptitude à la congélation ou à la lyophilisation ;
- Aptitude à la conservation (congelée ou lyophilisée) pendant plusieurs mois ;
- Comportement en présence d'oxygène ;

- Tolérance au chlorure de sodium (pour les productions fromagères) ;
- Tolérance au saccharose (cas des laits fermentés sucrés) ;
- Tolérance à l'acidité ;
- Croissance à des températures non optimales (pour certaines fabrications fromagères).
- Tolérance aux températures élevées (fabrications fromagères thermophiles) ;
- Compatibilité avec d'autres souches ;
- Facilité d'emploi.

Les cinq premiers critères de performance concernent toutes les bactéries lactiques, quelles que soient leurs applications, et sont recherchés dès la production des ferments. En revanche, les critères suivants concernent plutôt leurs utilisations potentielles et sont donc plus variables (**Corrieu et Luquet, 2008**).

II.2.4. Propriétés probiotiques

Lors de la sélection des ferments probiotiques, outre les caractéristiques précédentes, il faut prendre en compte certaines spécificités liées à leur activité probiotique. Ces spécificités correspondent essentiellement à des propriétés de résistance lors du passage dans l'estomac, dans le duodénum et dans l'intestin (**Wildman, 2007; Remacle et Reusens, 2004**). Les probioiques possèdent d'énormes bienfaits sur la santé (**Mattila-Sandholm et Saarela, 2003; Hofman et Thonart, 2002**). Beaucoup de travaux ont discuté les bienfaits des probiotiques sur la santé (**Smith et Charter, 2010; Nollet et Toldrá, 2010; Trivedi, 2009; Gibson et Williams, 2000**).

Les principales propriétés recherchées sont les suivantes :

- Résistance aux acides (acides gastriques) ;
- Résistance aux sels biliaires ;
- Stabilité en milieu acide ;
- Aptitude à adhérer aux parois intestinales (adhésion in vitro aux cellules épithéliales) ;
- Production de substances antimicrobiennes (bactériocines) ;
- Activité immunostimulante ;
- Activité antioxydante.

II.2.5. Aspects relatifs aux mélanges de souches/espèces

Lorsque le ferment est composé d'un mélange de plusieurs bactéries, il est nécessaire de s'assurer tout d'abord de la compatibilité entre les souches associées. Il s'agit notamment de considérer leur température de croissance, leur activité antimicrobienne (par de production de molécules inhibitrices envers les souches associées) et les interactions bactériennes éventuelles. Les critères qui président à l'élaboration des mélanges de ferments reposent sur la connaissance des propriétés décrites précédemment, en fonction du type de produit à fabriquer. Par exemple, pour l'élaboration d'un yaourt brassé, il s'agira de choisir des souches de bactéries capables d'acidifier rapidement le lait, de produire des exopolysaccharides pour améliorer la texture finale du produit, et de postacidifier faiblement le produit lors de sa conservation (**Luquet et Corrieu, 2008; Salminen *et al*, 2004**).

II.3. Problèmes liés à l'utilisation des ferments lactiques

Le nombre limité de souches disponibles ayant une haute performance technologique et le risque constant des attaques de bactériophages justifient le besoin continu de rechercher des nouvelles souches pour diversifier la gamme des produits laitiers (**Parente et Cogan, 2004**). L'utilisation des ferments industriels a réduit la diversité des produits laitiers fermentés. Ce phénomène peut être expliqué par le fait que la disponibilité commerciale de nouveaux ferments intéressants est limitée. Actuellement, des efforts sont fournis pour rechercher des nouveaux micro-organismes à partir de lait cru, des cultures non définies, ou des fromages traditionnels, qui démontreraient du potentiel pour être utilisés comme ferments (**Mozzi *et al*, 2010; Yıldız, 2010**).

La biotechnologie moderne a permis aux chercheurs de développer une meilleure appréciation des risques liés à l'utilisation des ferments lactiques dans l'alimentation humaine. Parmi les problèmes émergents dans l'industrie laitière nous citons:

- Le risque d'épuisement des souches performantes : les starters commerciaux utilisés dans l'industrie fromagère par exemple sont normalement issus des souches qui n'ont pas été isolées dans le secteur géographique où les fromages sont produits (**Marino *et al*, 2003**). Cependant, il y a beaucoup d'études qui visent à remplacer des *starters* naturels par des souches de multi cultures définies qui incluent des souches choisies isolées à partir d'endroits géographiques spécifiques. Ces études

ont été exécutés en Italie (**De Angelis et al. 2008; de Candia et al, 2007; Pisano et al, 2007; Randazzo et al, 2006**), en Espagne (**Menéndez et al, 2000**), au Portugal (**Macedo et al, 2004**), et en Argentine (**Candioti et al, 2002**).

- Les problèmes de production liés aux bactériophages : la sensibilité aux bactériophages constitue un point critique pour les ferments lactiques. Quand les starters sont choisis pour l'usage industriel, beaucoup de stratégies ont été développées, à titre d'exemple : le transfert de plasmides de résistance aux bactériophages vers des ferments afin de les rendre résistantes aux bactériophages (**Garneau et Moineau, 2011; Mozzi et al, 2010**). Plusieurs travaux de recherche récents (**Briggiler et al. 2010; Rodriduez Gonzalez et al, 2010; Hejnowicz et al, 2009; Emond et Moineau, 2007; Sturino et Klaenhammer, 2006**) étudient les systèmes impliqués dans les mécanismes de résistance aux bactériophages basés sur la sélection des souches ou la modification génétique par introduction de gènes de résistance aux comme le système Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR).

- Le risque d'instabilités génétiques : L'industrie laitière a pris un essor considérable par la sélection des souches de bactéries lactiques basée sur la capacité de production d'acide lactique, de composés aromatiques, de bactériocines, de production de CO₂ et de résistance aux phages. Ces caractères technologiques sont souvent codés par des plasmides entraînant donc une instabilité de ces caractères (**Von Mollendorff, 2008; Badis et al, 2005; Hansen, 2002**).

- La résistance aux antibiotiques : ceci est un problème sérieux qui a suscité un intérêt croissant dans la communauté scientifique. La capacité des bactéries à développer une résistance naturelle aux agents qui lui sont néfastes est bien établie. Cependant, la résistance aux antibiotiques représente un problème particulièrement préoccupant à cause des implications dangereuses pour la santé publique. Par conséquent, une section détaillée est consacrée à ce problème dans ce mémoire.

II.4. Le génie génétique pour l'amélioration des ferments lactiques

On constate souvent l'instabilité des bactéries lactiques : la perte de certaines de leurs propriétés provoque des perturbations au cours de la fermentation. L'utilisation de bactéries lactiques implique donc des risques. La formation de faux-goûts dans le produit fini et la sensibilité des bactéries aux phages sont d'autres défauts dans le produit fini et la sensibilité des bactéries aux phages sont d'autres défauts qui limitent le nombre de cultures disponibles. Les producteurs de cultures sont ainsi obligés de renouveler sans cesse la gamme de souches et de les modifier. Jusqu'à présent il a fallu de vastes programmes de criblage pour isoler et sélectionner de nouvelles souches utilisables. La biotechnologie moderne offre d'autres possibilités pour mettre au point des souches « faites sur mesure », aux propriétés génétiquement stables et programmées. Les avancées technologiques récentes dans la génétique des bactéries lactiques, particulièrement dans la progression de notre compréhension des processus de base relatifs au transport, au métabolisme et à la régulation génétique de l'utilisation des sucres, la production de bactériocines, et la résistance aux phages ont créé beaucoup d'opportunités pour les techniques d'ingénierie pour appliquer des techniques de génétique pour améliorer les ferments lactiques.

Dans le passé, les souches rapides productrices d'acide lactique et résistantes aux bactériophages ont été obtenues par simple sélection et par techniques de mutations. Cependant la perte de ces caractères par un bon nombre de souches modifiées par mutations ainsi que l'instabilité des caractères recherchés apparemment due à la perte de plasmides ont été constatées. La compréhension des propriétés fonctionnelles de plasmides et des mécanismes d'échange génétique et d'expression des gènes dans les streptocoques lactiques promet de faciliter le clonage des traits désirables dans les ferments lactiques (Mozzi *et al*, 2010; Yıldız, 2010). Il est bien établi que les cultures *starters* mésophiles ont des plasmides de tailles diverses et que certains codent pour plusieurs fonctions principales.

CHAPITRE III : RÉPERCUSSIONS DES ANTIBIOTIQUES SUR L'INDUSTRIE LAITIÈRE ET LA SANTÉ HUMAINE

Les problèmes liés à la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait sont à la fois d'ordre sanitaire, technologique et économique. 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.1. Les problèmes sanitaires

III.1.1. Problèmes d'allergie

Les résidus antibiotiques utilisés en thérapeutique animale sont parfois incriminés en allergologie humaine. Les antibiotiques le plus souvent incriminés sont les pénicillines, suivis des sulfamides et, dans une moindre mesure les tétracyclines ou la spiramycine (**Fabre *et al*, 2006; Châtaigner et Stevens, 2005**). Cette liste repose sur les molécules utilisées en médecine humaine impliquées dans la majorité des cas d'allergie médicamenteuse. En l'absence de données relatives aux accidents allergiques liés aux résidus antibiotiques dans les denrées alimentaires, il paraît vraisemblable de considérer que leur implication dans les allergies suit une classification similaire (**Form, 2003**). Pour qu'une allergie se déclare, il faut que l'organisme ait été en contact au moins deux fois avec l'allergène. Un premier contact sensibilisant, généralement asymptomatique, permettant à l'organisme de reconnaître l'allergène, et un deuxième contact déclenchant qui va provoquer la crise allergique, et ce pour des doses d'allergène même très inférieures à celles ayant provoqué la sensibilisation (**Form, 2003 ; Gaudin, 1999**). Les résidus d'antibiotiques présents dans le lait ne peuvent intervenir qu'en tant qu'éléments déclenchant, compte tenu des faibles quantités incriminées et également du fait que la voie digestive est nettement moins allergisante qu'un contact cutané ou respiratoire (**Form , 2003**). Ce risque apparaît donc beaucoup plus théorique que réel : quelques cas seulement d'allergies à la pénicilline, suite à la consommation de produits laitiers, ont été déclarés dans le monde en plusieurs décennies (**Federicci et Mathieu, 2000**). Cependant, devant la difficulté d'éliminer formellement tout contact antérieur avec un antibiotique (crise allergique alors qu'a priori aucun contact antérieur n'a eu lieu), il convient de rester prudent (**Form, 2003**).

III.1.2. Risques toxiques

La toxicité directe des antibiotiques est dans l'ensemble extrêmement limitée, qui, par définition, est provoqué par le médicament lui-même ou l'un de ses métabolites lors d'un contact unique (**Fabre *et al*, 2006; Châtaigner et Stevens, 2005**). Les manifestations de cette toxicité dépendent de la dose administrée et de la voie d'administration (**Fabre *et al*, 2006; Maghuin-Rogister *et al*, 2001**).

Ce risque est inexistant en ce qui concerne les résidus d'antibiotiques dans le lait car les quantités retrouvées dans le lait sont toujours trop faibles (**Gaudin, 1999 ; Labie, 1981**). Il faut, cependant, faire une exception pour le chloramphénicol, car la littérature médicale comprend quelques rares observations d'accidents d'anémie grave par aplasie médullaire, à la suite de traitements médicaux par de faibles doses de cet antibiotique, pendant un temps bref (**Labie, 1981**). Toutefois, depuis l'interdiction en 1994 du chloramphénicol chez les animaux producteurs de denrées alimentaires, ce risque est désormais exclu.

III.1.3. Modifications de la flore digestive du consommateur

Dans le tube digestif vivent des milliards de bactéries saprophytes et commensales. Le risque bactériologique lié à la consommation de denrées alimentaires contenant des résidus d'antibiotiques peut être attribué à un phénomène : la modification de la flore digestive pouvant entraîner des troubles et une symptomatologie indésirables (**Châtaigner et Stevens, 2005**). La microflore intestinale est un écosystème complexe où cohabitent différentes espèces bactériennes selon un équilibre biologique. Chez l'homme, cet équilibre est constitué par une flore anaérobie stricte (clostridies, Eubacterium, etc.) dite dominante laquelle, de par sa propre croissance régule et limite le développement du reste de la flore (lactobacilles, entérobactéries, etc.) dite subdominante (**Broutin *et al*, 2005**). La perturbation de cet équilibre entraîne inévitablement des désordres plus ou moins graves. chez l'homme de souches de germes pathogènes résistantes à ces antibiotiques (**Abidi, 2004**). La présence d'un antibiotique dans le milieu intestinal peut conduire à une modification de la composition de la flore : un antibiotique particulièrement actif contre les germes anaérobies et le gram + va détruire une partie importante de la flore digestive. Le vide ainsi créé pourra être rempli par d'autres micro-organismes qui pourront alors proliférer et devenir pathogènes. Ces micro-organismes peuvent être soit des germes de la flore subdominante (E. coli...), soit des germes en transit (Candida albicans, Salmonella sp...) (**Form, 2003**).

III.1.4. Risques d'antibiorésistance

Au cours des deux dernières décennies, les agents pathogènes résistants aux antibiotiques sont devenus un sérieux problème de santé publique. Une des raisons de l'augmentation de cette résistance pourrait résider dans l'utilisation préventive et thérapeutique d'antibiotiques en production animale, car les médicaments vétérinaires contiennent en partie les mêmes matières actives qu'en médecine humaine (**Gysi, 2006**). Il est bien admis aujourd'hui que l'usage des antibiotiques est le facteur de risque le plus important qui conduit à la sélection et au développement, aussi bien chez l'animal que chez l'homme, de souches bactériennes résistantes et que le taux de développement de ces résistances est étroitement associé à la quantité d'antibiotiques utilisés (**Kruse, 1999, Weneger et al, 1999**). C'est ce processus d'apparition de résistances qui a jalonné la découverte de nouveaux antibiotiques et leur introduction en thérapeutique. Ce processus gênant du point de vue thérapeutique a pendant longtemps été pallié par l'apparition de nouveaux principes actifs. Mais la question des résistances a connu un regain d'intérêt dès l'instant où l'apparition de souches multirésistantes de bactéries pathogènes pour l'homme a pris une certaine ampleur épidémiologique. Dès lors, la recherche des causes d'apparition des résistances affectant les bactéries humaines a conduit à sortir du cadre du milieu hospitalier ou du cabinet de ville pour les rechercher dans les autres domaines d'utilisation d'antibiotiques, en particulier le domaine de l'élevage et de la thérapeutique vétérinaire. Concernant les zoonoses, les bactéries pathogènes et parfois résistantes chez l'animal infectent l'homme. Le problème principal est celui des salmonelles dont le monde animal constitue le principal réservoir. L'utilisation d'antibiotiques en médecine vétérinaire exerce indéniablement une pression de sélection favorable aux souches résistantes (**Martel et Vandaele, 1999**). Celles-ci peuvent alors infecter l'homme, soit directement, soit par l'environnement, soit par des aliments d'origine animale. En l'état actuel des connaissances, la transmission des bactéries résistantes constitue même la seule option possible pour la transmission de résistances par mutation. Cependant, il existe une autre possibilité qui est l'échange de plasmides entre une bactérie d'origine animale et un germe pathogène ou commensal de l'homme. Il s'agit là d'un type de transmission indirecte de l'animal à l'homme, non plus des bactéries mais des gènes de résistance. Dans ce cas théorique, des facteurs de résistance pourraient circuler via une ou plusieurs bactéries et les écosystèmes entre les animaux et l'homme (**Martel et Vandaele, 1999**). En fait, un certain nombre d'études a déjà révélé le fait qu'une résistance créée chez l'animal peut se

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

III.2. Les problèmes technologiques

Les résidus d'antibiotiques représentent un réel problème pour les transformateurs laitiers par leurs conséquences néfastes sur les fermentations lactiques et constituent le problème majeur des accidents de fabrication (**d'Aimmo et al, 2007**). La présence de résidus d'antibiotiques inhibe de manière partielle ou totale la croissance des ferments et se traduit par de nombreux accidents de fabrication tels que les défauts de coagulation du lait, l'insuffisance de l'égouttage et les risques de prolifération incontrôlée de germes gazogènes, insensibles aux antibiotiques telles que les coliformes, *Bacillus*, *Clostridium*, *Proteus*, *Aerobacter* ce qui rend le lait contenant des résidus d'antibiotiques inapte à la transformation (**Abidi, 2004; Stoltz et Hankinson, 1952**). Dans la plupart des pays, la 44 législation interdit la vente de lait contenant des antibiotiques tel que recommandé par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) (**Kelly, 2009; d'Aimmo et al, 2007**).

III.3. Risques économiques

Les pertes subies, chaque année, par les industries laitières sont estimées à des centaines de millions de dinars. A cause de la présence de résidus inhibiteurs dans le lait, c'est environ 0,5% de la production annuelle nationale qui est perdue, impropre à la transformation et à la consommation. En laiterie, une citerne contaminée par des résidus d'antibiotiques (soit jusqu'à 25 000 litres de lait) entraîne un manque à gagner correspondant à environ 1 250 000 dinars, soit la valeur des produits finis, (compte tenu du paiement du lait, des frais de collecte et de transformation). La présence dans ce produit, de résidus d'antibiotiques, on parle de refoulement de 30 000 à 50 000 litres de lait par jour (**Ouslimani, 2008**).

III.4. Pertinence de la résistance des ferments lactiques aux antibiotiques

Pendant plusieurs décennies d'études sur la sélection et la diffusion de la résistance aux antibiotiques, de nombreux chercheurs ont émis récemment l'hypothèse que les bactéries commensales, y compris les bactéries lactiques peuvent servir de réservoirs de gènes de résistance aux antibiotiques semblables à ceux trouvés dans les pathogènes humains. Beaucoup d'antibiotiques sont utilisés dans la production laitière pour traiter les mammites, et ils sont excrétés dans le lait des vaches traitées. Depuis les années 1950 et le milieu des années 1970, il y avait des rapports concernant la présence d'antibiotiques dans le lait. Des essais ont été réalisés afin d'accroître la résistance aux antibiotiques des cultures de lactobacilles utilisées pour la production du yaourt (**Sozzi et Smiley, 1980; Stoltz et Hankinson, 1952**). Les bactéries résistantes sont potentiellement transmissibles à l'homme via les denrées alimentaires (**Fabre *et al*, 2006; Châtaigner et Stevens, 2005**). La principale menace associée à ces bactéries, c'est qu'elles peuvent transférer des gènes de résistance aux bactéries pathogènes étant donné que le tractus gastro-intestinal est un environnement idéal pour le transfert de gènes entre les bactéries de différents types (**Kelly, 2009**).

Un certain nombre d'initiatives ont été récemment lancées par diverses organisations à travers le monde pour répondre aux préoccupations en matière de biosécurité des cultures *starter* et les micro-organismes probiotiques (**Kelly, 2009; d'Aimmo *et al*, 2007**). Les études peuvent conduire à une meilleure compréhension du rôle joué par les cultures *starters* dans le transfert horizontal de gènes de résistance aux antibiotiques à la flore intestinale humaine et aux bactéries pathogènes probablement ingérés avec l'alimentation (**Mathur et Singh, 2005**).

Il est important de préciser que la problématique de l'antibiorésistance doit être différenciée de celle des résidus d'antibiotiques. Ceux-ci peuvent avoir des répercussions sur la santé des consommateurs (*ex.* allergies) mais ne sont pas en cause dans le développement de l'antibiorésistance. Par ailleurs, il faut souligner que ce ne sont pas les animaux où les humains qui deviennent résistants aux antibiotiques mais bien les bactéries qui les affectent (**Fabre *et al*, 2006 ; Châtaigner et Stevens, 2005**).

Partie
Bibliographique

Chapitre I :
RÉSISTANCE DES BACTÉRIES
LACTIQUES AUX
ANTIBIOTIQUES

CHAPITRE II:
LES FERMENTS LACTIQUES UTILISÉS
EN INDUSTRIE LAITIÈRE

**CHAPITRE III : RÉPERCUSSIONS
DES ANTIBIOTIQUES SUR
L'INDUSTRIE LAITIÈRE ET LA
SANTÉ HUMAINE**

Partie pratique

MÉTHODOLOGIE

Dans le cadre de la réalisation de notre étude, nous avons procédé à la préparation d'un questionnaire sur l'utilisation des médicaments vétérinaires. Notre enquête a été réalisée au niveau de la wilaya de Guelma auprès d'une vingtaine de vétérinaires praticiens dans la période s'écoulant du 10/02/2016 jusqu'au 07/05/2016 pour récupérer un maximum d'informations sur les pratiques médicamenteuses en médecine vétérinaire ainsi que de comprendre les facteurs de risque liés à l'apparition des résistances aux antibiotiques chez les bactéries.

L'étude de susceptibilité des ferments lactiques aux antibiotiques a été réalisée au Laboratoire de microbiologie de la laiterie « Edough » à Annaba.

I.1. Matériel

Le matériel utilisé durant notre enquête réalisée dans la wilaya de Guelma est composé principalement de :

- Fiche des questionnaires préalablement préparés (Annexe 01);
- Matériel humain composé de 20 vétérinaires praticiens.

Les réponses des praticiens contenues dans le questionnaire (voir Annexe 02) représentent les éléments essentiels de notre matériel. Il faut toutefois signaler que nous avons limité notre étude à la wilaya de Guelma et ses environs.

I.2. Méthode

I.2.1. Réalisation de l'enquête auprès des vétérinaires

Un questionnaire contenant 6 questions a été distribué au 20 vétérinaires praticiens privés répartis sur plusieurs communes de la wilaya de Guelma (Annexe 01).

La collecte des informations se faisait en interrogeant les praticiens qui remplissaient le questionnaire au fur et à mesure de notre explication, Le questionnaire résume des critères relatifs à l'utilisation des médicaments vétérinaires.

Le traitement des informations a été réalisé sur Microsoft Excel 2010.

I.2.2. Delvotest SP

I.2.2.1. Présentation et principe

Le Delvotest SP (et ses variantes Delvotest Mini ou Delvotest SP 5PACK) est un test de sélection microbiologique à large spectre, permettant de détecter les résidus de substances anti-infectieuses dans le lait à des niveaux proches des limites maximales des résidus, il est particulièrement sensible vis-à-vis des pénicillines, des céphalosporines et des sulfamides **(Reybroeck, 2004)**, **(Verhnes et Vandaele, 2002)**.



Figure 03. Appareil Delvotest de l'unité « Edough » Annaba

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

Un échantillon de 0.1 ml de lait est laissé à diffuser dans le milieu gélosé, l'ampoule est fermée par un ruban adhésif et placée pendant 2 h 30 à 3h dans un petit incubateur à 64°C plus au moins 1°C, si le lait ne contient aucune substance inhibitrice, l'indicateur de pH vire du violet au jaune en raison de la production d'acide par le germe. En présence de substances inhibitrices, la couleur du milieu gélosé reste pourpre (violet) car ces dernières empêchent la croissance du germe et par conséquent la production d'acide **(Abidi, 2004)**.

I.2.2. 2. Sensibilité minimale des trois méthodes de détection des antibiotiques

Le tableau suivant représente Sensibilité minimale des méthodes de détections des antibiotiques

Tableau 06. Sensibilité minimale des méthodes de détections des antibiotiques

Antibiotique	Delvotest*	Galesloot*	Méthode électro Phorétique
Pénicilline DI/ml	0.005	0.01	0.0005
Chloramphénicoln ug/ml	10	10	2.5
Streptomycine /tg/ml	5	5	0.1
Chlortétracycline /tg/ml	0.5	0.5	0.05
Terramycine -tg/ml	0.4	0.4	0.05
Néomycine -tg/m	1	20	0.1

* Résultats donnés par le Laboratoire de Technologie Laitière, C.N.R.Z., Jouyen Josas, novembre 1977.

- Sensibilité du Tests Delvotest SP-NT pour les antibiotiques les plus utilisés dans le monde. (Voir Annexe 03).

I.2.2.3. Caractéristiques des tests de détection des antibiotiques

Le Tableau 02 représente les différentes caractéristiques des tests de détection des antibiotiques. (Voir Annexe 04).

RÉSULTATS ET DISUSSION

I. Résultats de l'enquête

I.1. Espèces animales les plus exposées aux maladies dans la wilaya de Guelma

La figure 04 représente, selon les avis des vétérinaires interrogés, les animaux ayant tendance le plus à être touchés par des maladies dans la wilaya de Guelma.

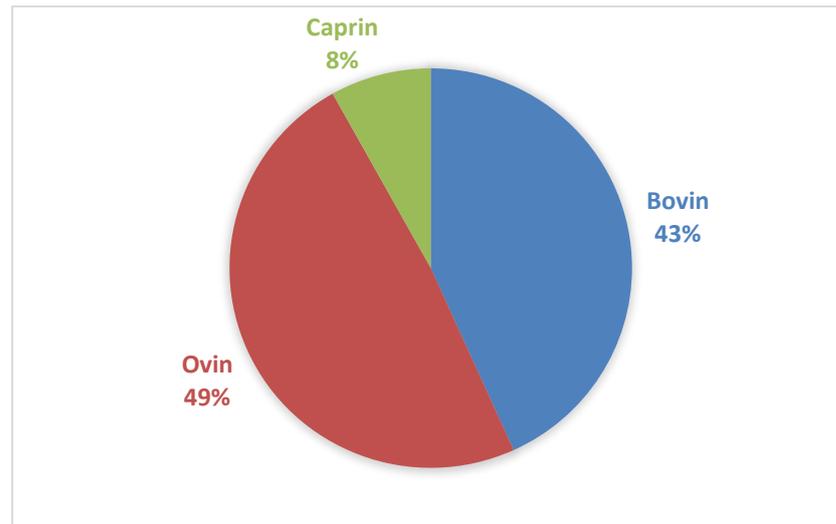


Figure 04. Espèces animales les plus exposées aux maladies dans la wilaya de Guelma

Dans ce graphe, il est à signaler que les ovins présentent des niveaux acceptables, où l'on constate des scores de plus de 49%, les bovins arrivent juste à enregistrer des niveaux voisins de 43% , les niveaux les plus bas sont observés au sein des élevages pour les caprins avec environ 8% .

I.2. Races bovines les plus prédisposées aux maladies

La figure suivante illustre les résultats obtenus en ce qui concerne les races bovines que les vétérinaires interrogées traitent le plus.

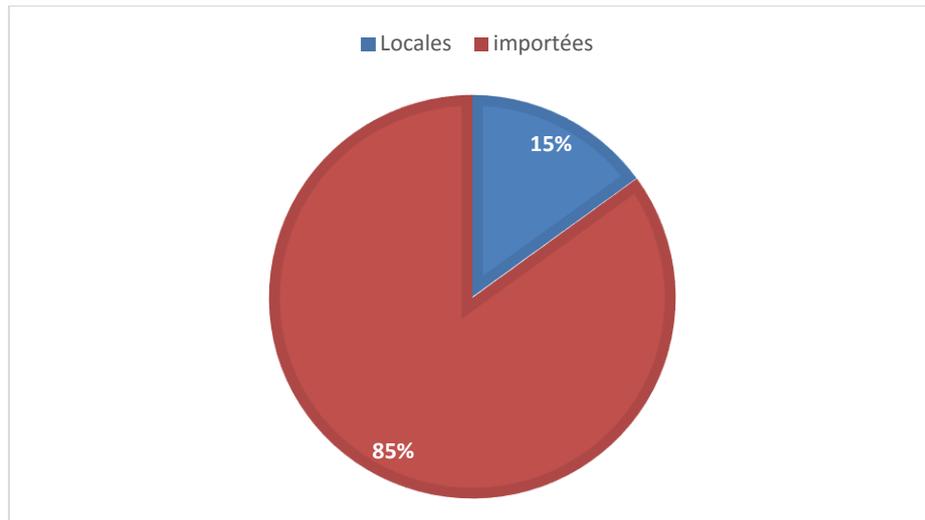


Figure 05. Races bovines les plus prédisposées aux maladies

La majorité des vétérinaires (17 vétérinaires sur 20 interrogés) traitent souvent les races importées et rarement les races locales. Cette différence est due à la sensibilité des races importées aux différentes maladies et que les races locales sont connues par leur grande adaptation aux conditions environnementales et donc elles sont plus rustiques.

I.3. Fréquence de maladies chez les animaux d'élevage

La figure ci-dessous illustre la fréquence des maladies chez les animaux d'élevage selon les vétérinaires interrogés.

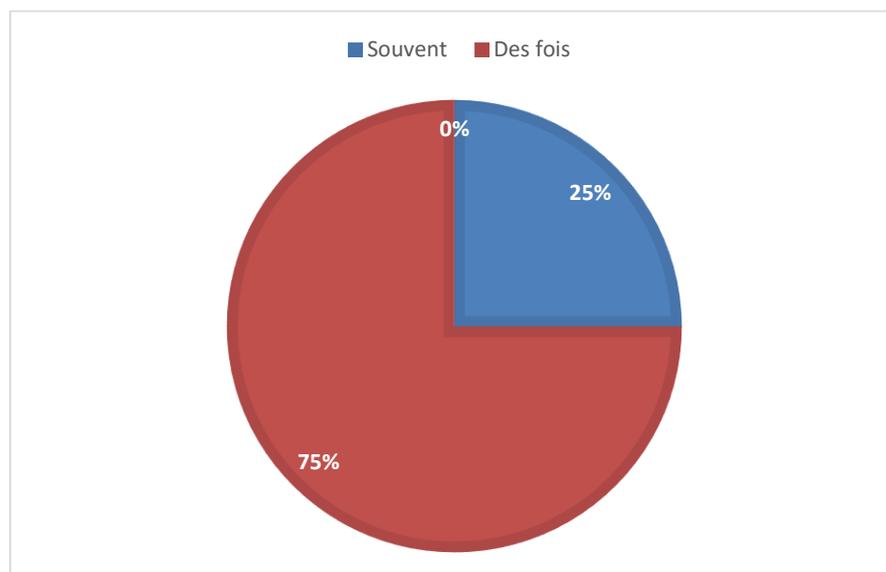


Figure 06. La fréquence des maladies chez les animaux d'élevage

Parmi les vingt vétérinaires interrogés, 15 d'entre eux affirment que les animaux tombent malades « parfois », ce qui donne un taux de 85 %, par contre seulement 05 ont répondu «souvent», de ce fait ce on a un taux de 15%. En revanche aucun vétérinaire n'a répondu « rarement» 0%.

I.4. Utilisation des médicaments vétérinaires à titre préventif ou curatif

La figure suivante montre le but d'utilisation des médicaments vétérinaires selon les médecins vétérinaires interrogés.

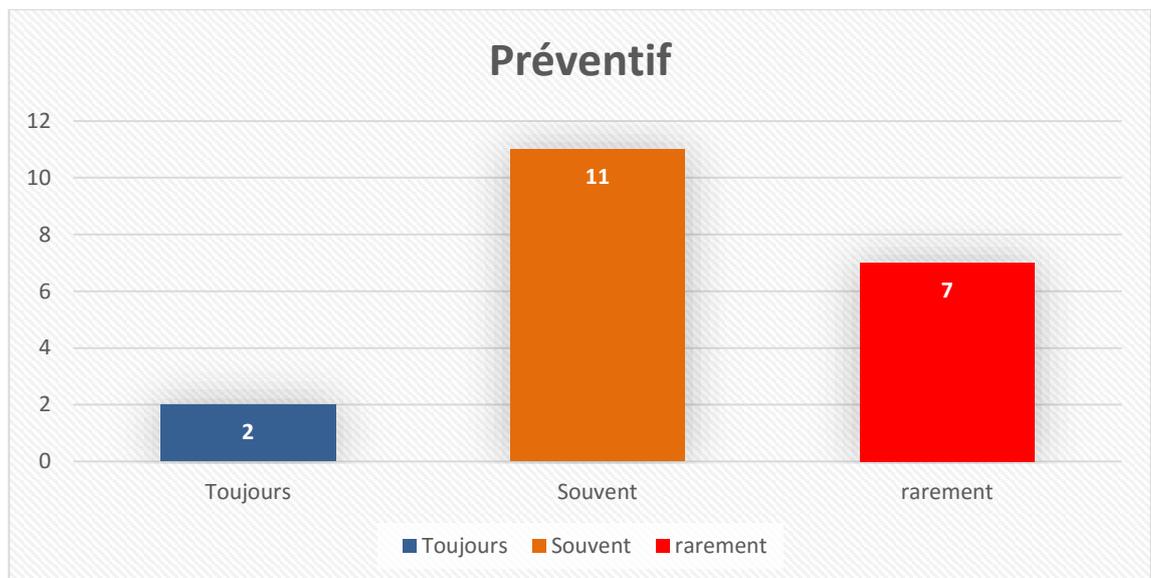


Figure 07. Utilisation des médicaments vétérinaires à titre préventif

Parmi les 20 vétérinaires interrogés, nous remarquons que :

11 vétérinaires ont répondu par « souvent » à titre préventif ce qui donne un taux de 55% ce qui confirme nos hypothèses concernant l'utilisation abusive des antibiotiques en médecine vétérinaire, ceci est appelé couramment traitement de masse (à titre préventif) ce qui a de graves répercussions sur la santé humaine. Cette pratique est à la base réalisée par les vétérinaires pour construire une barrière contre l'installation d'une surinfection bactérienne suite à une pathologie présumée d'origine virale ou autre mais qui a en réalité des conséquences lourdes sur la santé publique (**Figure 07**).

La figure 08 présente la fréquence d'utilisation des médicaments vétérinaires à titre curatif par les vétérinaires interrogés.

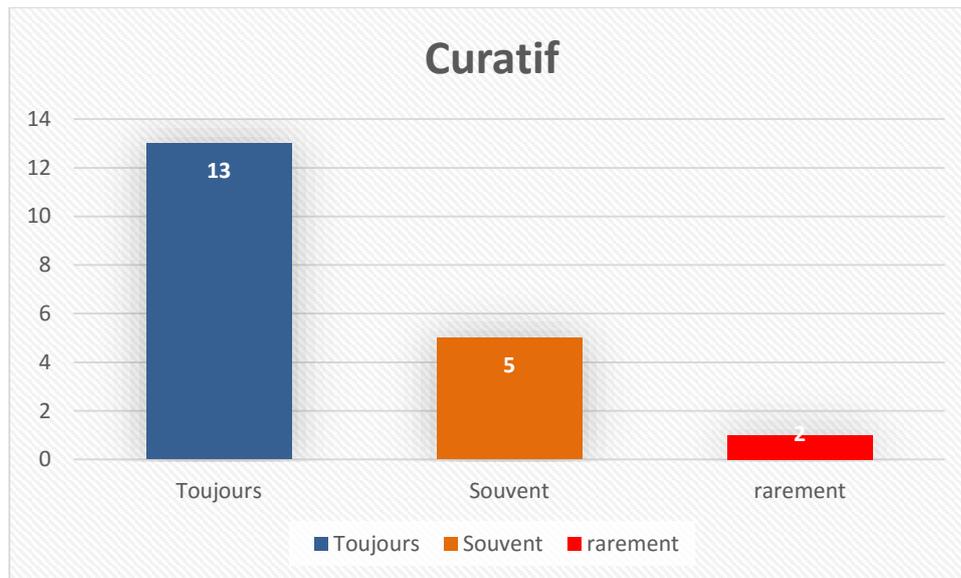


Figure 08. Utilisation des médicaments vétérinaires à titre curatif

I.5. Les médicaments les plus utilisés en médecine vétérinaire

Le pourcentage d'utilisation des antibiotiques par les vétérinaires interrogés au niveau de la wilaya de Guelma est donné sur la figure 09 :

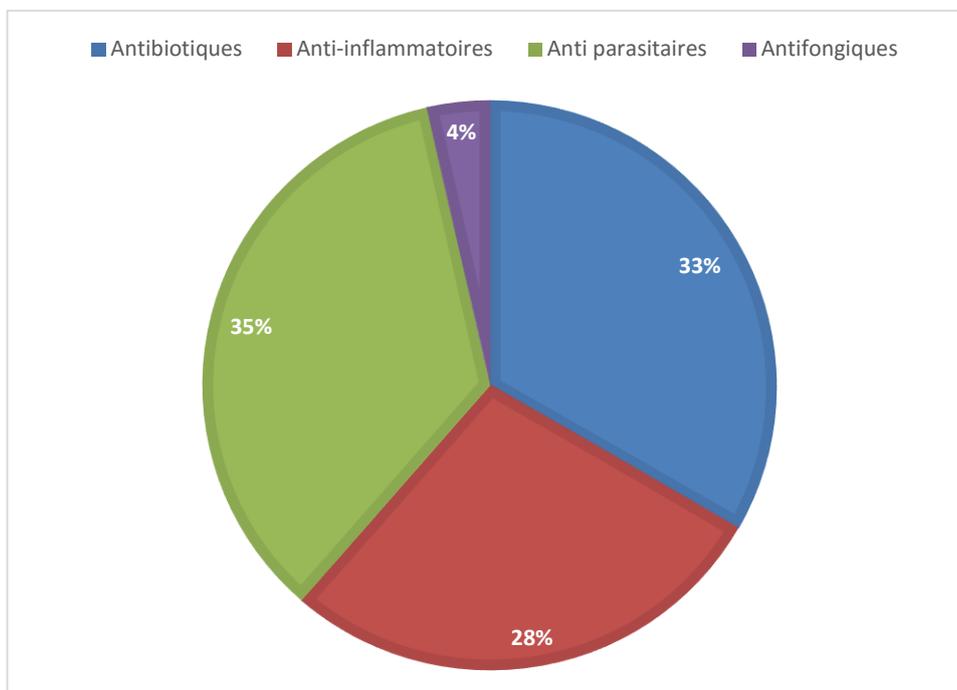


Figure 09. Médicaments les plus utilisés en médecine vétérinaire

Nous notons en analysant le graphe que la classe thérapeutique la plus utilisée en thérapie des animaux est celle des antibiotiques avec un pourcentage moyen de 33% (présence obligatoire des antibiotiques dans le traitement quel que soit le cas clinique présenté) puis vient en deuxième rang la classe des anti-inflammatoires avec un pourcentage de 28% et enfin les antiparasitaires avec un taux de 35 %. Les antifongiques ont présenté le taux le plus faible dans les traitements réalisés par les vétérinaires. Cette utilisation importante des antibiotiques en premier puis des anti-inflammatoires en second lieu par ces vétérinaires interrogés ne peut être expliquée que par une seule raison majeure qui est :

- La quasi-totalité des maladies rencontrées par ces vétérinaires sont des maladies dont ils ignorent l'agent causal exact (diagnostic expérimental au laboratoire n'est pas établi) d'où recours obligatoire à cette classe thérapeutique.

I.6. Les antibiotiques les plus utilisés par les vétérinaires

Les familles d'antibiotiques que les vétérinaires utilisent le plus dans le traitement des différentes affections qui peuvent exister chez les bovins de la wilaya de Guelma sont résumées dans le tableau 09.

Tableau 07. Familles d'antibiotiques les plus utilisés par les vétérinaires

Famille d'ATB	Médicaments correspondants	
Bétalactamines	Pénicilline	15
	Amoxicilline	07
	β lactamines autre	03
Tetracyclines	Oxytetracycline	11
	Tétracycline autre	06
	Doxicycline	01
Sulfamides	Sulfamides	05
Quinolones	Enroflaxacine	01
	Quinolones autre	01
Macrolides	Tylosine	04
	Erythromycine	03
	Macrolide autre	05
Aminosides	Streptomycine	05
	Aminoside autre	01
Céphalosporines	Ceftiofur	01

La figure 10 montre les résultats obtenus concernant les familles d'antibiotiques utilisées le plus par les vétérinaires lors de la mise en place d'une antibiothérapie.

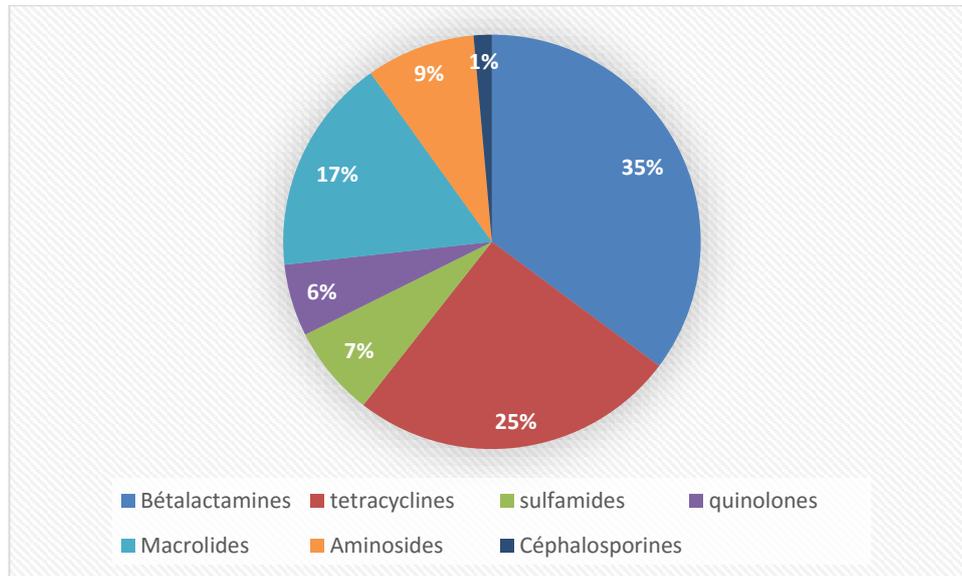


Figure 10. Familles d'antibiotiques les plus utilisés par les vétérinaires

Les figures en dessous représentent le taux des différents antibiotiques utilisés par les vétérinaires en question

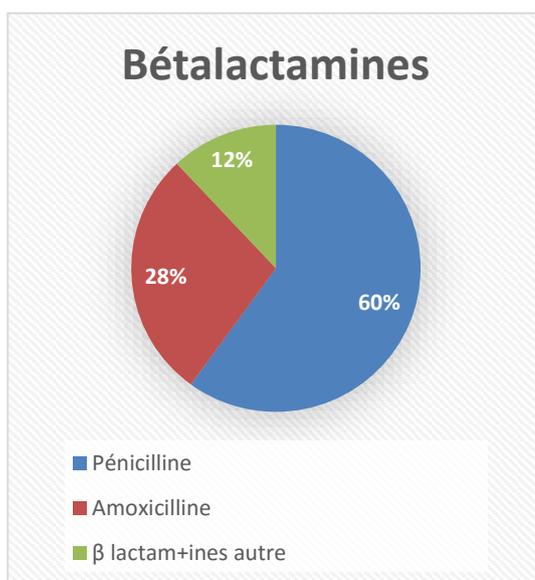


Figure 11. Famille des β-lactamines

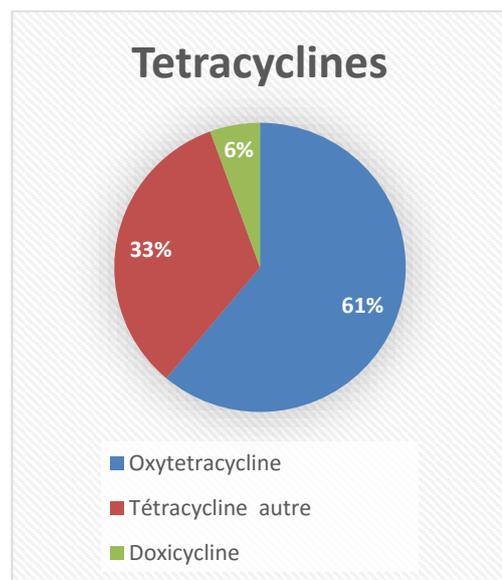


Figure 12. Famille de Tétracyclines

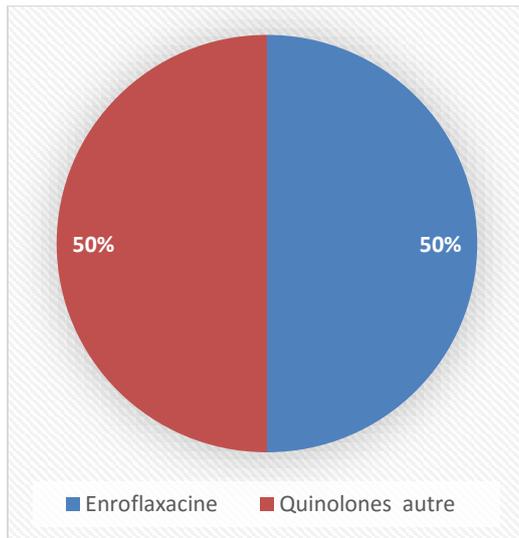


Figure 13. Famille de Quinolones

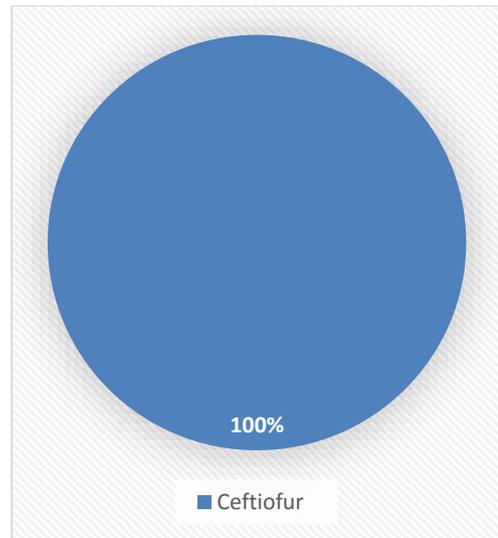


Figure 14. Famille des Céphalosporines

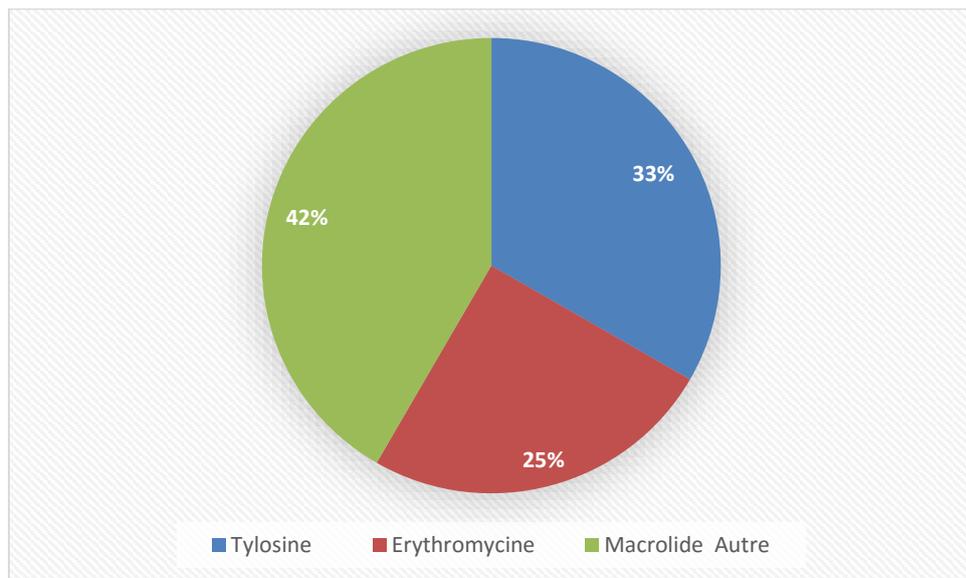


Figure 15. Famille des Macrolides

En analysant les graphes ci-dessus nous notons que la famille d'antibiotique utilisée le plus par les vétérinaires dans la thérapie est celle des Bétalactamines avec comme chef de file) Pénicilline puis on trouve en second lieu la famille des Tétracyclines avec comme principale molécule l'oxytétracycline (ND : Terramycineet) enfin la famille des macrolides avec comme chef de file la Tylosine (ND : Tylan).

Cette préférence des vétérinaires pour l'utilisation de ces 3 grandes familles d'antibiotiques réside d'après eux dans les points essentiels suivants :

- Efficacité remarquée ;
- Leur large spectre notamment pour les tétracyclines ;
- Prix d'achat bas donc gain important ;

II. Lecture sur Appareil Delvotest

Le Delvotest® SP est un test permettant de détecter dans le lait la présence de substances antibactériennes telles que les antibiotiques.

Après l'incubation (à 64°C). Les résultats sont lus dans les 2/3 inférieurs de l'agar.

Les résultats sont présentés sur la figure N° 16

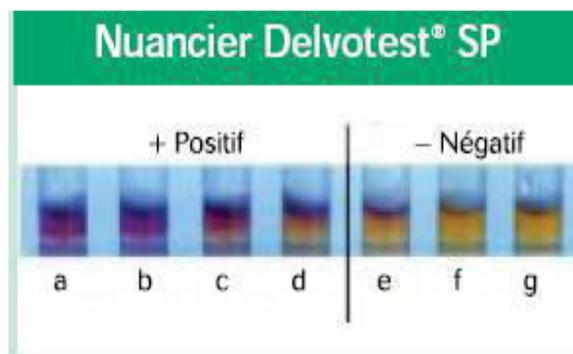


Figure 16. Expression des résultats de Delvotest® (Reybroeck, 2004)

- Une couleur jaune indique l'absence de substance antibactérienne à une concentration supérieure ou égale à la limite de détection du test.
- Une couleur jaune / violette indique la présence de substances antibactériennes dans l'échantillon de lait analysé à un taux proche du seuil de détection.
- Une couleur violette indique la présence de substances antibactériennes dans l'échantillon de lait analysé à un taux égal ou supérieur au seuil de détection.
- C'est un test microbiologique rapide qui peut être utilisés de façon complémentaire, tout au long de l'ensemble de la chaîne d'approvisionnement du lait.
- Fiabilité et précision élevées (faible nombre de faux résultats).
- Détection de la plus grande gamme d'antibiotiques.
- Test microbiologique unique, très utilisé par les laiteries, il offre un large spectre de détection et une bonne sensibilité vis-à-vis des β -lactamines qui représentent le plus grand risque technologique.
- Détection des résidus d'antibiotiques proches des standards internationaux.
- C'est un test de référence dans la plupart des pays.

Conclusions

Conclusion et recommandations

L'enquête qui a été réalisée auprès de 20 vétérinaires praticiens privés (répartis sur les différentes communes de la wilaya de Guelma) nous a permis de tirer les points essentiels suivants :

- Une prédominance de l'exercice de la médecine vétérinaire dans l'espèce ovine ;
- Les antibiotiques sont toujours de 1^{er} choix lors des traitements, avant les anti-inflammatoires, les antiparasitaires et les antifongiques.
- Les antibiotiques sont surtout utilisés pour obtenir la guérison des animaux cliniquement malades. Mais aussi pour la prophylaxie.
- La famille d'antibiotiques utilisée par la plupart des vétérinaires dans la thérapie des animaux est celle des Béta-lactamines puis on trouve en second lieu la famille des Tétracyclines et enfin la famille des Macrolides. Par contre les antibiotiques les moins utilisés sont les macrolides et les sulfamides. Quelques antibiotiques de la famille des phénicolés.
- Les examens complémentaires (notamment Delvotest), et qui peuvent faciliter le diagnostic sont difficiles à réaliser sur notre terrain (manque de moyens).
- La plus part des vétérinaires assurent que le délai d'attente est connu par les éleveurs. Mais le problème posé c'est que la plupart ne le respectent pas ; mettant ainsi la santé publique en danger et les éleveurs ignorent la notion du délai d'attente.
- Le seuil de détection de l'appareil au niveau de la laiterie est presque annulé à cause de la grève des éleveurs alors ils font plus le test de détection des antibiotiques et par conséquence ce dernier se trouve dans le lait.
- L'utilisation abusée des antibiotiques provoque un risque de transfert horizontal chez l'homme par la résistance des bactéries lactiques éventuellement les bactéries lactiques génétiquement modifiées aux antibiotiques, ces dernières en se trouvant dans les produits laitiers fermentés risquent de communiquer leurs résistance souvent portée par des plasmides aux bactéries commensales colonisant normalement le tractus digestif humain. On parle alors de transfert horizontal de gènes de résistance aux antibiotiques vue les conditions hostiles (pH gastrique bas) ce qui fait ce risque de passage des fragments d'ADN responsables de cette résistance aux antibiotiques des ferments lactiques résistants

aux bactéries commensales du tractus intestinal de l'homme. La diminution des doses d'antibiotiques utilisées en médecine vétérinaire et un meilleur suivi de la qualité des ferments lactiques utilisés en industries peuvent diminuer les risques de ce grand danger pour la santé publique.

Références Bibliographiques

A

[1]- **Abidi K., (2004).** Résidus d'antibiotiques dans le lait de boisson, Thèse : Médecine vétérinaire, École nationale de médecine vétérinaire de Sidi Thabet, Tunisie, 123 p.

[2]- **AFSCA (2012).** Contribution de l'alimentation à la transmission de l'antibiorésistance à l'homme (dossier SCI Com 2007/08: auto-saisine). Comité scientifique de l'agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire, Avis 18-2012, 19 p.

B

[3]- **Badis A., Laouabdia-Sellami N., Guetarni D., Kihal M. et Ouzrout R., (2005).** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales "arabia et kabyle". Sciences & Technologie C, 23 :30-37.

[4]- **Boultif .L (2009).**, Optimisation des paramètres de détection et de quantification des résidus d'antibiotiques dans le lait par chromatographie liquide haute performance (hplc). Mémoire magister en médecine vétérinaire, département vétérinaire d'el-khroub, université mantouri, 2009 p 44-65.

[5]- **Branger A. (2012),** Fabrication de produits alimentaires par fermentation : l'ingénierie, f3501, Paris-France, p. 17.

[6]- **Briggiler M. M., Reinheimer J. A. et Quiberoni A., (2010).** Phage adsorption to *Lactobacillus plantarum*: Influence of physiological and environmental factors, International Journal of Food Microbiology, 138:270–275.

[7]- **Brouillet. P, (2002).**, Les tests rapides de détection des antibiotiques dans le lait. Bulletin des GTV N°15 pp-183-189.

[8]- **Broutin. C et al (2005).** Maîtrise de la qualité dans la transformation laitière, Guide de bonnes pratiques d'hygiène, Groupe de recherche et d'échanges technologiques, 94 p.

[9]- **Brusetti L., Malkhazova I., Mora D., Borin S., Merabishvili M., Zaccaria A., Colnago D., Chanishvili N. et Daffonchio D., (2008).** Fluorescent- Box-PCR, an improved tool for resolving bacterial genetic diversity and biogeography studies. BMC Microbiol., 8:220-232.

C

- [10]- **Candiotti M., Hynes E., Quiberoni A., Palma S., Sabbag N. et Zalazar C., (2002).** Reggianito Argentina cheese: Influence of *Lactobacillus helveticus* strains isolated from natural whey cultures on cheese making and ripening processes. *Int. Dairy J.* 12:923 – 931.
- [11]- **Carattoli, A., (2008).** Animal reservoirs for extended spectrum beta-lactamase producers. *Clinical Microbiology and Infection*, 14 : 117-123.
- [12]- **Carminati D., Giraffa G., Quiberoni A., Binetti A., Suárez V. et Reinheimer J., (2010).** *Advances and Trends in Starter Cultures for Dairy Fermentations*, In Mozzi F. *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria Novel Applications*, Wiley-Blackwell Publishing, USA, 393 p.
- [13]- **Chamba J. F., (2008).** Applications des bactéries lactiques lors des fabrications fromagères. In : Corrieu, G. and Luquet, F.M. (Eds.), *Bactéries lactiques - De la génétique aux ferments*. Lavoisier, Paris, p. 787-815.
- [14]- **Châtaigner B. et Stevens A., (2005).** Investigation sur la présence de résidus d'antibiotiques dans les viandes commercialisées à Dakar, Institut Pasteur de Dakar, 9 p.
- [15]- **Chen G. Q., (2010).** *Plastics from bacteria 'Natural functions and applications'*, Springer, *Microbiology Monographs*, Volume 14, Münster, Germany, 450 p.
- [16]- **Corrieu G. et Luquet F-M., (2005).** *Bactéries lactiques et probiotiques*, édition Tec. et Doc. Lavoisier, Paris France, 307 p.
- [17]- **Corrieu G. et Luquet F-M., (2008).** *Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments*, édition Tec. et Doc.Lavoisier, Paris France, 849 p.

D

- [18]- **D'Aimmo M.R., Modesto M. et Bivati B., (2007).** Antibiotic resistance of lactic acid bacteria and *Bifidobacterium* spp. isolated from dairy and pharmaceutical products. *Int. J Food Microbiol* 115 :35-42.

[19]- **De Angelis M., de Candia S., Calasso M., Faccia M., Guinee T., Simonetti M. et Gobbetti M., (2008).** Selection and use of autochthonous multiple strain cultures for the manufacture of high - moisture traditional Mozzarella cheese. *Int. J. Food Microbiol.* 125:123-132.

[20]- **De Candia S., De Angelis M., Dunlea E., Minervini F., McSweeney P., Faccia M. et Gobbetti M., (2007).** Molecular identification and typing of natural whey starters cultures and microbiological and compositional. properties of related traditional Mozzarella cheeses. *Int. J. Food Microbiol.*, 119:182-191.

[21]- **Delorme C., (2008).** Safety assessment of dairy microorganisms: *Streptococcus thermophilus*. *International Journal of Food Microbiology*, 126:274–277.

[22]- **Directive 81/851/CEE Directive du Conseil, du 28 septembre 1981,** concernant le rapprochement des législations des États membres relatives aux médicaments vétérinaires.

E

[23]- **Emond E. et Moineau S. (2007).** Bacteriophages in food fermentations. In: *Bacteriophages. Genetics and Molecular Biology*, ed. S. McGrath and D. van Sinderen, Norfolk, UK: Cyster Academic Press. p. 93-124.

[24]- **European Food Safety Authority (2008).** Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards on a request from the European Food Safety Authority on foodborne antimicrobial resistance as a biological hazard. *EFSA Journal*, 765 : 1-87.

[25]- **European Surveillance System (TESSy). (2012).**
http://ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARS-Net/database/Pages/map_reports.aspx

F

[26]- **Fabre J. M, Moretain J. P. et Berthelot X., (2002).** Évolution de la méthode interprofessionnelle de recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait. *Bulletin des GVT*, 15 :26-28.

[27]- **Fabre J-M., Petit C. et Bosquet G., (2006).** Extrait du livre : Comprendre et prévenir les risques de résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale.

[28]- **Federicci-Mathieu C., (2000)**. Résidus dans le lait et sécurité alimentaire : quels risques ? Quels moyens de maîtrise ? Bulletin des GVT, 7 :21-22.

[29]- **Form G., (2003)**. Les résidus inhibiteurs dans le lait. Evolution des méthodes de détection-Fr.wikipedia.org/wiki/HPLC,2003.

G

[30]- **Garneau J. E. et Moineau S., (2011)**. Bacteriophages of lactic acid bacteria and their impact on milk fermentations, Microbial Cell Factories, From 10th Symposium on Lactic Acid Bacterium Egmond aan Zee, the Netherlands. 28 August - 1 September 2011, 10 p.

[31]- **Gaudin P., (1999)**. Origines et conséquences des substances dites inhibitrices dans la filière lait – étude au niveau d’un groupe laitier-. 1999, Thèse Méd. Vét., Nantes.

[32]- **Gibson G. R. et Williams C. M., (2000)**. Functional foods Concept to product, CRC Press LLC, USA, 374 p.

[33]- **Guillemot M. D., Chauvin C., Colin P., Danan C., et Sanders P., (2006)**. Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine Document AFSSA, p. 49-55.

[34]- **Gysi M., (2006)**. Antibiotiques utilisés en production laitière en 2003 et 2004. Suisse Agric., 38(4):215-219.

H

[35]- **Hansen E-B. (2002)**. Commercial bacterial starter cultures for fermented foods of the future. International Journal of Food Microbiology, 78:119–131.

[36]- **Hejnowicz M. S., Gołębiewski M. et Bardowski J., (2009)**. Analysis of the complete genome sequence of the lactococcal bacteriophage bIBB29. International Journal of Food Microbiology, 131:52–61.

[37]- **Hofman M. et Thonart P., (2002)**. Engineering and Manufacturing for biotechnology, Volume 4, Kluwer Academic Publishers, 490 p.

[38]- **Humme A. S., Hertel C., Holzapfel, W.H. et Franz C. M., (2006).** Antibiotic resistances of starter and probiotic strains of lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 73:730-739.

[39]- **Hylckama Vliega J. E. T. et Hugenholtz van J., (2007).** Mining natural diversity of lactic acid bacteria for flavor and health benefits, *International Dairy Journal*, 17:290–1297.

I

[40]- **IDF (2005).** The world market for cheese 1995–2004, Bulletin n° 402, Brussels, Belgium: International Dairy Federation (IDF).

J

[41]- **Jean-Noel J. et Guy L., (2006).** Microbiologie technique, 4^{ème} édition : dictionnaire des techniques, CRDP d'Aquitaine. 368 p.

K

[42]- **Kelly B. G., Vespermann A. et Bolton D. J., (2009).** Gene transfer events and their occurrence in selected environments. *Food and Chemical Toxicology*, 47: 978–983.

[43]- **Kruse H., (1999).** Indirect transfer of antibiotic resistance genes to man. *Acta vet. scand.*, 1999, Suppl. 92, 59-65.

L

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

[45]- **Laurentie M. et Sanders P, (2002) :** Résidus de médicaments vétérinaires et temps d'attente dans le lait. *Bulletin des GTV N° 15* pp-197-201.

[46]- **Lavigne J. P., (2010).** Bactériologie : Effet des antibiotiques, mécanismes de résistance, Cours en ligne Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes, 12 p.

[47]- **Leroy F. et De Vuyst L., (2004).** Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends Food Science and Technology*, 15:67–78.

M

- [48]- **Macedo A. C., Travares T. G. et Malcata F. X., (2004).** Influence of native lactic acid bacteria on the microbiological, biochemical and sensory profiles of serra da Estrella cheese. *Food Microbiology*, 21: 233-240.
- [49]- **Maghuin-Rogister G., Janosi A., Helbo V., Van Peteghem C., Sanders E., Van Eeckhout E., Cornelis M. et Jouret M., (2001).** Stratégie intégrée d'analyse qualitative et quantitative des résidus de substances antimicrobiennes dans les denrées alimentaires Services scientifiques du premier Ministre Affaires scientifiques, techniques et culturelles (SSTC) France. Rapport Final SSTC, p. 13-58.
- [50]- **Makarova K., Slesarev A., Wolf Y., Sorokin A., Mirkin B. et Koonin E., (2006).** Comparative genomics of the lactic acid bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 429(103):15611–15616.
- [51]- **Marino M., Maifreni M. et Rondinini G., (2003).** Microbiological characterization of artisanal Montasio cheese: Analysis of its indigenous lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol Lett*, 229:133–140.
- [52]- **Marth E. H. et Steele J. M., (2001).** *Applied dairy microbiology*, 2nd Edition, Marcel Dekker, Inc, New York, USA, 744 p.
- [53]- **(Martel . JL et Vandaele . E., (1999).** Epidémiosurveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes chez les bovins. *Point Vét.*, 1999, 30 (198), 15-22.
- [54]- **Mathur, S. et Singh, R., (2005).** Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria - a review. *International Journal of Food Microbiology*, 105: 281-295.
- [55]- **Mattila-Sandholm T. et Saarela M., (2003).** *Functional dairy products*, CRC Press, 395 p.
- [56]- **Mayrhofer S., Domig K. J., Amtmann E., Van Hoek A. H., Petersson A., Mair C., Mayer H. K. et Kneifel W.,(2007).** Antibiotic susceptibility of *Bifidobacterium thermophilum* and *Bifidobacterium pseudolongum* isolates from animal sources. *J Food Prot.*, 70(1):119-24.

[57]- **Menéndez S., Centeno J., Godínez R. et Rodríguez-Otero J., (2000).** Effects of Lactobacillus strains on the ripening and organoleptic characteristics of Arzúa - Ulloa cheese. *Int. J. Food Microbiol.*, 59:37-46.

[58]- **Mozi F., Raya R. R. et Vignolo G. M., (2010).** *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria Novel Applications*, Wiley-Blackwell Publishing, USA. 393 p.

N

[59]- **Nollet L. M. L. et Toldrá F., (2010).** *Handbook of Dairy Foods Analysis*, CRC Press Taylor & Francis Group, USA, 900 p.

O

[60]- **Ouslimani, (2008):** les résidus d'antibiotiques dans le lait. Thèse docteur vétérinaire .France

P

[61]- **Parente E. et Cogan T. M., (2004).** Starter cultures: general aspects. In: Fox, P. F., McSweeney P. L. H., Cogan T. M. et Guinee, T. P. (Eds.), *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol. I. Chapman and Hall, London, p.123-148.

[62]- **Pfeiler E. A. et Klaenhammer T. R., (2007).** The genomics of lactic acid bacteria, *Trends in Microbiology*, 15(12):546-553.

[63]- **Pisano M., Fadda M., Deplano M., Corda A., Casula M. et Cosentino S., (2007).** Characterization of Fiore Sardo cheese manufactured with the addition of autochthonous cultures. *J. Dairy Res.*, 74:1-7.

R

[64]- **Randazzo C., Vaughan E. et Caggia C., (2006).** Artisanal and experimental Pecorino Siciliano cheese: Microbial dynamics during manufacture assessed by culturing and PCR – DGGE analyses. *International Journal of Food Microbiology*, 109:1–8.

[65]- **Ray B. et Bhljnia A. (2008).** *Fundamental food microbiology*, fourth edition Taylor & Frands Group CRC Press, 492 p.

- [66]- **Remacle C. et Reusens B., (2004).** Functional foods, ageing and degenerative disease, CRC Press LLC, 771 p.
- [67]- **Reybroeck., (2004).** Les résidus d'antibiotiques dans le lait. Utilisation des Kits de dépistage des inhibiteurs, le point vétérinaire 2004.
- [68]- **Robinson R. K., (2002).** Dairy Microbiology Handbook, third Edition, John Wiley and Sons, Inc., New York USA, 764 p.
- [69]- **Rodríguez González A., García P. et Raya R. R., (2010).** Chapter 6: Bacteriophages of Lactic Acid Bacteria, In: Biotechnology of Lactic Acid Bacteria Novel Applications, Wiley-Blackwell Publishing, USA. 393 p.

S

- [70]- **Sachot E et Puyt J, (2001) :** Les différents temps de calculs de temps d'attente. Article Le Point Vétérinaire N ° 212 pp-48-51.
- [71]- **Saithong P., Panthavee W., Boonyaratanakornkit M. et Sikkhamondhol Ch., (2010).** Use of a starter culture of lactic acid bacteria in plaa-som, a Thai fermented fish, Journal of Bioscience and Bioengineering, 110(5):553–557.
- [72]- **Salminen S., Wright A. et Ouwehand A., (2004).** Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects, Third Edition, Marcel Dekker, Inc. USA, 628 p.
- [73]- **SCAN (2003).** Report of the SCAN on the safety of the microorganism product Provita E for the use as feed additive. European Commission Publications.
- [74]- **Shetty K., Paliyath G., Pometto A. et Levin R. E., (2006).** Food biotechnology, Second Edition, CRC Press Taylor & Francis Group, 1982 p.
- [75]- **Silbergeld E. K., Graham J. P. et Price L. B., (2008).** Industrial food animal production, antimicrobial resistance, and human health. Annu Rev Public Health, 29 :151-169.
- [76]- **Smith J. et Charter E., (2010).** Functional Food Product Development, Blackwell Publishing Ltd, 512 p.

[77]- **Solieri L. et Giudici P., (2009).** Vinegars of the World Springer-Verlag Italia, 297 p.

[78]- **Sozzi T. et Smiley M. B., (1980).** Antibiotic Resistances of Yogurt Starter Cultures *Streptococcus thermophiles* and *Lactobacillus bulgaricus*, Applied and environmental microbiology, 40(5):862-865.

[79]- **Srinivasan V., Nam H.-M., Sawant A. A., Headrick S. I., Nguyen L. I. et Oliver S. P., (2008).** Distribution of tetracycline and streptomycin resistance genes and class 1 integrons in Enterobacteriaceae isolated from dairy and nondairy farm soils. *Microb. Ecol.* 55:184–193.

[80]- **Stine O. C., Johnson J. A. et Keefer-Norris A., (2007).** Widespread distribution of tetracycline resistance genes in a confined animal feeding facility. *Int J Antimicrob Agents*, 29:348-352.

[81]- **Stoltz E. I. et Hankinson D. J., (1952).** Antibiotics and Lactic Acid Starter Cultures, Department of Dairy Industry, University of Massachusetts, Amherst, p. 24-29.

[82]- **Sturino J. M. et Klaenhammer T. R., (2006).** Engineered bacteriophage - defence systems in bioprocessing. *Nat. Rev. Microbiol.* 4:395-404.

T

[83]- **Trivedi P. C., (2009).** Microbes' applications and effects, Aavishkar Publishers, Distributors India, 265 p.

V

[84]- **Vandaele, Verhnes R et Vandaele E., (1999).** Détection rapide des inhibiteurs dans le lait. *Point Vét.*, 2002, 33 (227), 16-17.

[85]- **Von Mollendorff J. W., (2008).** Characterization of bacteriocins produced by lactic acid bacteria from fermented beverages and optimization of starter cultures. Thesis presented in partial fulfilment of the requirements for the degree of Master of Science at the University of Stellenbosch, study-leader: Prof. L.M.T. Dicks. 130 p.

W

[86]- **Weneger et al ., (1999)**. WENEGER H.C, AARESTRUP F.M, GERNER-SMIDT P, BAGER F. Transfer of antibiotic resistant bacteria from animals to man. Acta vet. scand., 1999, Suppl. 92, 51-57.

[87]- **Wildman R. E. C., (2007)**. Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods, Second Edition, CRC Press Taylor & Francis Group, USA, 541 p.

Y

[88]- **Yala D., Merad A. S., Mohamedi D. et Ouar Korich M. N., (2001)**. Classification et modes d'action des antibiotiques, Médecine du Maghreb 91 :13-19.

[89]- **Yıldız F., (2010)**. Developpement and manufacture of yougurt and other dairy products, CRC Press Taylor & Francis Group, USA, 435 p.

Références
Bibliographiques

Annexes

Annexe 01 : Questionnaire destiné aux médecins vétérinaires au niveau de la wilaya de Guelma sur l'utilisation des médicaments vétérinaires (exemplaire vierge).

Questionnaire

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Guelma

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers

Questionnaire sur l'utilisation des médicaments vétérinaires au niveau de la wilaya de Guelma

DJERADI Hadjer
TADJINE Dahmane
Choubaila

encadrés par : M^{me} LEKSIR

Dans le cadre de la réalisation de notre mémoire de fin d'études Master II, nous avons préparé le présent questionnaire. Nous vous prions d'avoir l'amabilité de répondre aux questions suivantes :

Vétérinaire traitant :

Nom et prénoms : Cachet :

Adresse professionnelle :

Wilaya :

Daïra :

Numéro d'inscription à l'AVN :

1- Quelles sont les espèces animales les plus exposées aux maladies dans la wilaya de Guelma:

- bovins
- Ovins
- Caprins

2- Pensez-vous que les races bovines les plus prédisposées aux maladies :

- Locales
- Importées

3- Selon vous, Les animaux d'élevage tombent malade :

- Souvent
- Des fois
- Rarement

4- Les médicaments vétérinaires, sont utilisés à titre:

- **Préventif :** Toujours Souvent Rarement Jamais
- **Curatif :** Toujours Souvent Rarement Jamais

5- Selon vous, les médicaments les plus utilisés en médecine vétérinaire sont :

- Antibiotiques
- Anti-inflammatoires
- Anti parasitaires
- Antifongiques
- Autres (Précisez ?)

Citez les antibiotiques que vous utilisez le plus ?

.....
..... **Merci pour votre contribution valeureuse ☺**

Annexe 02 : Questionnaire sur l'utilisation des médicaments vétérinaires au niveau de la wilaya de Guelma (renseigné par un vétérinaire).

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers

Questionnaire sur l'utilisation des médicaments vétérinaires au niveau de la wilaya de Guelma

DJERADI Hadjer
TADJINE Dahmane

encadrés par : M^{me} LEKSIR Choubaila

Dans le cadre de la réalisation de notre mémoire de fin d'études Master II, nous avons préparé le présent questionnaire. Nous vous prions d'avoir l'amabilité de répondre aux questions suivantes :

Vétérinaire traitant :

Nom et prénoms : HAMLAOUI Hocine Cachet : HAMLAOUI Hocine
Adresse professionnelle : 157, rue Bordjbe - Guelma 06123
Wilaya : Guelma
Daïra : Guelma
Numéro d'inscription à l'AVN : 06123

1- Quelles sont les espèces animales les plus exposées aux maladies dans la wilaya de Guelma:

- Bovins
 Ovins
 Caprins

2- Pensez-vous que les races bovines les plus prédisposées aux maladies :

- Locales
 Importées

3- Selon vous, Les animaux d'élevage tombent malade :

- Souvent
 Des fois
 Rarement

4- Les médicaments vétérinaires, sont utilisés à titre:

- Préventif : Toujours Souvent Rarement Jamais
• Curatif : Toujours Souvent Rarement Jamais

5- Selon vous, les médicaments les plus utilisés en médecine vétérinaire sont :

- Antibiotiques
 Anti-inflammatoires
 Anti parasitaires
 Antifongiques
 Autres (Précisez ?)

Citez les antibiotiques que vous utilisez le plus ?

Bêta lactams, tétracyclines, macrolides, aminoglycosides, sulfamides, quinolones *Merci pour votre contribution valeureuse* ©

Annexe 03 : Sensibilité du Tests Delvotest SP-NT pour les antibiotiques les plus utilisés dans le monde.

Delvotest SP-NT	Ampoules	ug
Antibiotiques	CT	3h
B-lactame		
Cloxacilline	12	16
Dicloxacilline	6	8
Penicilline	2	2
Nafcilline	4	5
Ampicilline	2	3
Amoxicilline	2	3
Pénicilline	2	2.5
Céphalosporines		
Cefalonium	6	8
Cephalexin	45	70
Cef-operazon	30	45
Cef-quinome	65	100
Aminosides		
Dihydrostrepto	700	1200
Néomycine	115	340
Streptomycine	950	1800
Macrolides		
Erythromycine	90	180
Lincomycine	170	300
Novobiocine	750	1500
Rifaximine	50	100
Spiramicyne	280	540
Tylosine	35	50
Tetracycline		
Tétracycline	320	700
Oxytetracyclin	300	680
Sulfamides		
Sulfadizine	65	170
Sulfadoxine	130	300
Sulfathiazole	40	90
Autres		
Bacitracin	580	750

Annexe 04 : Caractéristique de différents tests de détection des antibiotiques (Boultif, 2009; Abidi, 2004)

Test du dépistage	Méthode de détection	Caractéristique
Méthode d'acidification	-Microbiologique - Qualitative	- Test à <i>Streptococcus thermophilus</i> . -Affirmation par <i>Bacillus steartophilus</i> .
DelvoTest SP	-Microbiologique - Qualitative	- Test à <i>Bacillus steartophilus</i> var <i>calidolactis</i> . - Large spectre de détection. - Durée d'incubation de 2 h 30 min à 3 h. - Haut degré de sensibilité
Delvo X Press	- Qualitative - Immuno- Enzymatique	-Spécifique pour les B-lactamines. -Rapide (10 min).
Copan Milk Test	-Microbiologique - Qualitative	- Test à <i>Bacillus steartophilus</i> var. <i>calidolactis</i> . - Large spectre de détection. - Durée d'incubation de 2 h 30 min à 3 h. - Haut degré de sensibilité
Valio T101	-Microbiologique - Qualitative	-Test à <i>Streptococcus thermophilus</i> . - Haut degré de sensibilité - Long dans son opération
B-Star	-Immuno- colorimétrique - Qualitative et semi-quantitative	-Test à récepteur spécifique lié à des particules d'or. -Rapide (5 min à 50 min). - Simple d'emploi.
Penzym Test	-Enzymatique -colorimétrique	-Test à enzyme DD carboxypeptidase -Facile d'emploi. -Très rapide (20 min). - Qualitatif.
Snap Test	- Immuno- enzymatique	-Test à récepteur. - Très rapide (9 min).
Charm Test	- Immun-compétition - Quantitative.	-Test à molécule radioactive (C14 ou H3). -Large spectre. - Investissement important.
Tests ELISA	- Immuno- enzymatique	-Rapide (de quelques minutes à 20 minutes) - Onéreux. - Spécifique pour une famille d'antibiotiques.
Test à microbilles magnétiques	- Immunologique - Quantitative.	-Test à microbilles magnétiques. - Rapide (10 minutes). - Précise (10 ng/ml).
HPLC	- physico-chimique (phase mobile et phase stationnaire) - Qualitative	- Grande exactitude. - Facile à la manipulation. - Coût élevé. - long nécessite la préparation de l'échantillon.
Méthode STAR	- Microbiologique - Qualitative	- Ensemencé dans un milieu gélosé.

Résumé

La fabrication de produits laitiers fermentés nécessite l'incorporation de quantités importantes de ferments lactiques importés. La robustesse des ferments par rapport aux fluctuations des paramètres opérationnels des procédés industriels est un critère de qualité qui est prisé par les opérateurs industriels.

De ce fait, l'antibiorésistance peut être innée ou acquise suite à l'exposition d'une souche particulière à des antibiotiques. L'utilisation des antibiotiques dans la production animale est considérée comme la principale cause de la sélection pour l'antibiorésistance chez les bactéries qui peuvent ensuite se retrouver dans des denrées alimentaires. Plusieurs études scientifiques soutiennent l'hypothèse d'un lien entre l'utilisation des antibiotiques dans le secteur de la production primaire et l'émergence d'une antibiorésistance chez des agents pathogènes humains, avec l'alimentation comme moyen de transmission important.

Notre travail comporte deux parties principales : (1) réalisation d'une enquête auprès d'une vingtaine de vétérinaires au niveau de la wilaya de Guelma ; (2) réalisation d'une petite étude de terrain en visitant une entreprise laitière « Idough ».

Suite au développement technologique, les antibiotiques sont de plus en plus utilisés. Malheureusement ; leur utilisation souvent inconsidérée présente des inconvénients sérieux, aussi bien sur la santé du consommateur du lait et ses dérivés, qu'au niveau de la transformation de ce dernier.

Mots clés : ferments lactiques, industrie laitière, résistance, antibiotiques et enquête.

Summary

The manufacturing of fermented milk products requests the incorporation of important quantities of imported lactic ferments. The hardness of ferments according to the fluctuations of industrial procedure operational settings is a criterion of quality which is taken in consideration by the industrial operators.

So an antibio_resistance can take place or be acquired following the exposition of a particular species to some antibiotics. The use of antibiotics in the animal production is considered as the major cause of the selection of the antibio_resistance for the bacteriae which can be in the nutritional denries. Many scientific studies support the hypothesis that assumes the existence of a link between the use of antibiotics in the primary production and the emergence of antibio_resistance in some human pathologic agents with the feeding as a mean of an important transmission.

Our task is an amount of two principleparts: (1) making an investigation with about twenty veterinaries in the wilaya of Guelma. (2) making a shallow study by visiting a milk factory “Idough”.

Thanks to the technological progress, the antibiotics are increasingly used. Unfortunately, mostly unconsidered use present so serious convenient on the human consumers of milk and its derives for instance at the transforming level.

Keywords: Starter cultures, dairy industry, resistance, antibiotics and investigation.

ملخص

صناعة منتجات الألبان المخمرة يتطلب إدماج كميات كبيرة من تتخمّر اللاكتيك المستوردة. الشدة في تتخمّر فيما يتعلق بتغييرات في المعلمات التشغيلية من العمليات الصناعية هي معايير الجودة التي تحظى بشعبية مع شركات الصناعية

وبالتالي، قد تكون مقاومة الميكروبات اما فطرية أو مكتسبة عند التعرض لسلالة معينة للمضادات الحيوية. يعتبر استخدام المضادات الحيوية في الإنتاج الحيواني السبب الرئيسي لاكتساب البكتيريا مقاومة ضد المضادات الحيوية التي يمكن أن تكون متواجدة في ما بعد في الغذاء. العديد من الدراسات العلمية تدعم فرضية وجود صلة بين استخدام المضادات الحيوية في قطاع الإنتاج الأولي وظهور مقاومة للمضادات الحيوية في الكائنات الممرضة للإنسان، مع العلم ان الطعام هو الناقل الاكثر اهمية.

عملنا يتكون من جزأين رئيسيين: (1) إجراء دراسة استقصائية لعشرين من الأطباء البيطريين في ولاية قالمة. (2) تحقيق ودراسة ميدانية صغيرة عن طريق زيارة شركة لمنتجات الالبان « ايدوغ »

بعد التطور التكنولوجي، والاستخدام بالشكل المتزايد للمضادات الحيوية. للأسف؛ استخدامها في كثير من الأحيان العشوائي يؤدي الى اضرار خطيرة، سواء علي صحة المستهلك، الحليب ومشتقاته، وكذلك التحولات التخمرية لهذا الأخير.

الكلمات المفتاحية: الخمائر اللبنية. صناعة الالبان. المقاومة. المضادات الحيوية والتحقيق .