



MÉTHODES OFFICIELLES DE DÉTECTION DES RÉSIDUS DANS LAIT DE CHÈVRE

Parmi les résidus pouvant se trouver dans le lait, ce sont certainement les substances à actions inhibitrices qui préoccupent le plus les professionnels de la filière lait. La détection de résidus de médicaments vétérinaires et spécialement d'antibiotiques et de sulfamides dans le lait a une grande importance étant donné leurs répercussions sur la santé publique ainsi que sur certains procédés technologiques de fermentation.

Malgré les sanctions lourdes mises en place par les instances professionnelles telle que la grille de paiement du BRILAC pour la zone Charentes-Poitou qui est en application depuis le 1^{er} Février 2001, et une détection de plus en plus systématique, ce problème ne semble pas s'améliorer (0,63% des producteurs sont positifs au contrôle officiel et pénalisés pour l'année 2003 sur la zone du LILCO de Surgères).

1^{ère} Détection : 08 points de pénalités
2^{ème} Détection : 16 points de pénalités
3^{ème} Détection : 75 Points de pénalités
Valeur du point 3,049 €/1000 litres sur la livraison du mois

Le test ECLIPSE utilisé pour la détection qualitative d'inhibiteurs dans le lait cru de chèvre permet de vérifier que la dose d'antibiotiques ne soit pas supérieure aux limites maximales de résidus permises (LMR).

Principe de la méthode

ECLIPSE 100 est basé sur l'inhibition de la croissance de la bactérie *Bacillus stearo-thermophilus var. calidolactis* par la présence d'antibiotiques dans l'échantillon de lait.

L'essai consiste à déposer un volume déterminé d'échantillon de lait dans chaque puits de la microplaque. Ces puits contiennent un milieu de culture spécifique avec des spores de *B. stearo-thermophilus var. calidolactis* et un indicateur acide base. Lors de l'incubation à 65°C, les spores germent et se multiplient en acidifiant le milieu pendant leur croissance et en provoquant le changement de couleur de l'indicateur, du bleu violet au jaune verdâtre.

Si l'échantillon de lait contient une concentration d'antibiotiques ou de sulfamides supérieur à la limite de détection du test, la croissance du microorganisme est inhibée et de même la production d'acide, empêchant ainsi le changement de couleur de l'indicateur, le puits gardant la couleur bleu violet.

Préparation des échantillons

Les échantillons prélevés par le laitier dans le tank du producteur sont identifiés avec des étiquettes code barre, puis acheminés au laboratoire dans une cellule isotherme. Les échantillons sont homogénéisés puis disposés sur le plan de travail du robot qui effectue automatiquement la prise de 0,1 ml de l'échantillon de lait et sa distribution dans le puits de la plaque microtiter correspondant du test ECLIPSE. Afin d'assurer la traçabilité de l'échantillon, chaque puits est identifié avec le n° de producteur.

Procédé du test ECLIPSE 100

Après ensemencement du lait dans la microplaque, le robot distribue un échantillon de lait témoin négatif (lait dépourvu d'antibiotique) et un témoin positif (lait contenant de la pénicilline à 10 µg/l) dans les deux dernières cupules de la microplaque. La plaque est scellée avec une feuille adhésive puis l'échantillon est laissé diffuser dans la gélose pendant une heure à température ambiante, la microplaque est vidée puis lavée avec de l'eau distillée, elle est scellée de nouveau avec une feuille adhésive et mise à incuber dans une étuve à hygrométrie contrôlée (80 % d'humidité) à 65 °C pendant 2 h 15 - 2 h 30 jusqu'à obtenir un changement de couleur du lait témoin négatif. L'incubation terminée, une lecture visuelle des résultats est effectuée, les puits de couleur jaune seront considérés négatifs et les puits de couleur bleu - violet seront considérés

Tableau 1: Effet de quelques inhibiteurs naturels du lait sur le test ECLIPSE

Inhibiteurs	Taux normal dans le lait (g/l)	Dosage dans le test (g/l)	Résultat ECLIPSE
Lactoferrine	Lait : 0,05 - 0,10 Colostrum : 1,0 - 5,0 Sécrétion du tarissement : 10,0 - 50,0 (involution de la mamelle)	1,0	-
Lactoperoxydase	0,01 - 0,03	0,2	-
Lysozyme	0,1 - 0,2	0,2	-

Malgré les sanctions lourdes mises en place par les instances professionnelles telle que la grille de paiement du BRILAC pour la zone Charentes-Poitou qui est en application depuis le 1^{er} Février 2001, et une détection de plus en plus systématique, ce problème ne semble pas s'améliorer (0,63% des producteurs sont positifs au contrôle officiel et pénalisés pour l'année 2003 sur la zone du LILCO de Surgères).

Tableau 2: Effet de la présence d'inhibiteurs naturels du lait sur le test ECLIPSE

Inhibiteur	Résultat ECLIPSE
Colostrum de la première traite	+
Colostrum de la deuxième traite	+
Colostrum de la troisième traite	+
Colostrum de la quatrième traite	-
Lait définitif	-

Le test ECLIPSE utilisé pour la détection qualitative d'inhibiteurs dans le lait cru de chèvre permet de vérifier que la dose d'antibiotiques ne soit pas supérieure aux limites maximales de résidus permises (LMR).

Principe de la méthode

ECLIPSE 100 est basé sur l'inhibition de la croissance de la bactérie *Bacillus stearothermophilus var. calidolactis* par la présence d'antibiotiques dans l'échantillon de lait.

L'essai consiste à déposer un volume déterminé d'échantillon de lait dans chaque puits de la microplaque. Ces puits contiennent un milieu de culture spécifique avec des spores de *B. stearothermophilus var. calidolactis* et un indicateur acide base. Lors de l'incubation à

65°C, les spores germent et se multiplient en acidifiant le milieu pendant leur croissance et en provoquant le changement de couleur de l'indicateur, du bleu violet au jaune verdâtre.

Si l'échantillon de lait contient une concentration d'antibiotiques ou de sulfamides supérieure à la limite de détection du test, la croissance du microorganisme est inhibée et de même la production d'acide, empêchant ainsi le changement de couleur de l'indicateur, le puits gardant la couleur bleu violet.

Préparation des échantillons

Les échantillons prélevés par le laitier dans le tank du producteur sont identifiés avec des étiquettes code barre, puis acheminés au laboratoire dans une cellule isotherme. Les échantillons sont homogénéisés puis disposés sur le plan de travail du robot qui effectue automatiquement la prise de 0,1 ml de l'échantillon de lait et sa distribution dans le puits de la plaque microtiter correspondant du test ECLIPSE. Afin d'assurer la traçabilité de l'échantillon, chaque puits est identifié avec le n° de producteur.

Procédé du test ECLIPSE 100

Après ensemencement du lait dans la microplaque, le robot distribue un échantillon de lait témoin négatif (lait dépourvu d'antibiotique) et un témoin positif (lait contenant de la pénicilline à 10 µg/l) dans les deux dernières cupules de la microplaque. La plaque est scellée avec une feuille adhésive puis l'échantillon est laissé diffuser dans la gélose pendant une

Limites de détection pour le lait de chèvre

Les limites de sensibilité du test ECLIPSE ont été calculées selon les indications de la norme FIL (FIL 183:1999). Pour cela, différents dosages d'antimicrobiens ont été rajoutés au lait dépourvu d'antibiotique. Les limites de détection pour chaque antibiotique sont exprimés en mg/l ou en ppm.

Inhibiteur	Négatif	positif
Pénicilline G	0,001	0,003
Ampicilline	0,004	0,006
Cloxacilline	0,025	0,040
Oxacilline	0,010	0,020
Oxytétracycline	0,050	0,150
Sulfathiazole	0,025	0,075
Sulfaméthazine	0,100	0,200
Sulfanilamide	0,100	0,600
Erythromycine	0,200	0,600
Tylosine	0,100	>0,200

Jacques BRUNET
LILCO

