



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

-----oOo-----

البحث العلمي و العالي وزارة التعليم

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

-----oOo-----

Université Mouloud MAMMERY Tizi-Ouzou

Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques

Département de biologie

جامعة مولود معمري تيزي وزو

كلية العلوم البيولوجية و العلوم الزراعية

قسم البيولوجية

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master en science biologique.

Spécialité : Biologie des populations et des organismes.

Thème :

Etude préliminaire de la flore bactérienne du lait de lapine de la souche synthétique

Réalisé et présenté par :

- M^{elle}. HADBI Cylia
- M^{elle}. HAMLAKenza

Soutenu le : 13/07/2023, devant le jury composé de :

| | | | |
|-----------------------------------|-----|-------|--------------|
| M ^{me} . TALEB K. | MCA | UMMTO | Présidente |
| M ^{me} . AMROUN T.T. | MCA | UMMTO | Copromotrice |
| M ^{me} . AFIF CHAUCHE T. | MCA | UMMTO | Examinatrice |

Encadré par :

| | | | |
|-------------------------------|-----|-------|------------|
| M ^{me} . ASMANI K.L. | MCA | UMMTO | Promotrice |
|-------------------------------|-----|-------|------------|

Année universitaire :2023/2024

Remerciements

Louange à ALLAH notre créateur qui nous a incité à acquérir le savoir et nous a donné la volonté et le courage pour y' arriver. C'est à lui que nous adressons toute notre gratitude en premier lieu, nos remerciements vont:

A notre encadrante : Mme. ASMANI K.L. maitresse conférencière de classe (A) à l'université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou.

Il nous est impossible de dire en quelques mots ce que nous vous devons. Vous nous avez fait le grand honneur de nous confier ce travail et d'accepter de le diriger. Ceci est le fruit de vos efforts. Vous nous avez toujours réservé le meilleur accueil, malgré vos obligations professionnelles. Vos encouragements inlassables, votre amabilité, votre disponibilité et votre gentillesse méritent toute admiration. Vous nous avez éblouis par votre sérieux, votre sympathie, votre modestie, votre honnêteté, et toutes vos qualités humaines. Ce travail est pour nous l'occasion de vous témoigner notre profonde gratitude.

A notre Présidente du jury : Mme. TALEB K, maîtresse conférencière de classe (A) à l'université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou.

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider notre jury. Votre modestie jointe, à votre sérieux, votre compétence et votre sens du devoir nous ont énormément marqués. Veuillez trouver ici l'expression de notre respectueuse considération et notre profonde admiration pour toutes vos qualités scientifiques et humaines faisant de vous un exemple à suivre. Durant notre formation, nous avons eu le privilège de bénéficier de votre enseignement et d'apprécier votre sens professionnel. Nous saisissons cette occasion pour vous exprimer notre profonde gratitude tout en vous témoignant notre respect.

A notre Co-promotrice : Mme. AMROUN T.T. maîtresse conférencière de classe (A) à l'université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou.

Veillez accepter madame, nos vifs remerciements pour l'intérêt que vous avez porté à ce travail en acceptant de faire partie de notre jury. Veuillez trouver ici, madame, l'expression de notre profond respect.

*A notre examinatrice : Mme. AFFIFCHAOUCHE T.maîtresse
conférencière de classe (A) à l'université Mouloud Mammeri Tizi-
Ouzou.*

*Veillez accepter madame, nos vifs remerciements pour l'intérêt que vous avez porté à ce
travail en acceptant de faire partie de notre jury. Veillez trouver ici, madame, l'expression
de notre profond respect.*

*A tous nos enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la
vie de l'UMMTO en général et ceux du département de Biologie des
organismes en particulier.*

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de
ce travail.*

MERCI !

Dédicaces

Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers,

A Mon Père et ma mère :

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon instruction et mon bien être je vous remercie pour tout le soutien et amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Puisse Allah tout puissant vous procurer santé, bonheur et prospérité.

A Mes sœurs adorées :

Je vous dédie le fruit de votre amour, votre tendresse et toutes vos prières. J'espère avoir répondu aux espoirs que vous avez fondés en moi. Que Allah vous procure santé, bonheur et longue vie. Merci pour votre soutien. Puisse ce travail conforter la confiance que vous me portez. Que Allah vous accorde santé et longue vie.

A mes amis et collègues :

Kenza, Massicialia, Sadia... Je ne peux vous citer tous ; mais soyez rassurés de mon amitié. Merci pour votre amitié sans faille.

A tous mes enseignants de la maternelle au lycée et du département des Sciences Biologiques de l'UMMTO.

A tous ceux dont l'oubli de la plume n'est pas celui du cœur.

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Cylia

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail Comme témoignage de respect et d'admiration

À mes chers parents, Fariza et Omar,

Qui n'ont jamais cessé de faire l'impossible pour me voir heureuse. Grace à leurs tendres encouragements et à leurs grands sacrifices.

A messieurs Thanina, Thilelli,

Je suis reconnaissante de leur aide et leur soutien.

A mes frères Akli et Rayane,

Je leur souhaite la réussite dans leurs études.

A toute ma famille, mes cousins et mes cousines.

*A mes chers amis, qui ont toujours eu un mot de soutien, spécialement
Siham et Fatima.*

A ma chère binôme Cylia.

Kenza

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

INTRODUCTION

Première partie : Partie bibliographique.

| | |
|---|-----------|
| Chapitre I : Généralités sur le lapin | 2 |
| 1. Généralité sur leLapin | 2 |
| 1.1. Systématique | 2 |
| 1.2. Elevage du lapin en Algérie | 2 |
| 2. Lactation et allaitement | 5 |
| 2.1. Structure et fonctions de la glande mammaire | 5 |
| 2.2. Mécanismes de sécrétion du lait..... | 6 |
| Chapitre II : Le lait du lapin | 8 |
| 1. Etude quantitative du lait de lapine | 8 |
| 2. Etude qualitative du lait de lapine | 9 |
| 3. Composant du lait de lapine | 9 |
| 3.1. Matière azotée et les protéines du lait..... | 9 |
| 3.2. Matière grasse et Glucides | 11 |
| 3.3. Fraction minérale et vitamines..... | 11 |
| 4. Facteur déterminants la composition biochimique du lait de lapine | 12 |
| 4.1. Stade de lactation..... | 13 |
| 4.2. Alimentation..... | 14 |
| 4.3. Rythme de reproduction et état physiologique | 14 |
| 4.4. Effet de la race | 15 |
| 4.5. Effet de la saison | 15 |
| 5. Composition bactérienne du lait | 16 |
| 5.1. Bactéries lactiques..... | 17 |
| 5.2. Entérobactéries | 17 |
| 5.3. Entérocoques..... | 18 |
| 5.4. <i>Staphylococcus aureus</i> | 19 |

Deuxième partie : Partie expérimental.

| | |
|--|-----------|
| Chapitre I : Matériel et méthodes | 21 |
| 1. Matériel | 21 |
| 1.1. Echantillons du lait..... | 21 |
| 1.2. Appareils, verreries et réactifs | 21 |
| 1.3. Milieux de cultures..... | 22 |
| 2. Méthode | 23 |
| 2.1. Préparation des milieux | 23 |
| 2.2. Etude de la microflore du lait | 24 |
| 2.2.1. Etudes macroscopique | 26 |
| 2.2.2. Etude microscopique | 27 |
| Chapitre II : Résultats et discussion | 29 |
| 1. Résultats | 29 |
| 1.1. Isolement des souches..... | 29 |
| 1.2. Etudes macroscopique | 30 |
| 1.3. Etude microscopique..... | 32 |
| 2. Conclusion | |
| 3. Références bibliographiques | |
| Annexes | |

Liste des abréviations

Liste des abréviations

AA : Acide Aminé.

AG : Acide Gras

BEA : Gélose Bile Esculine.

BHIB : Bouillon Brain Heart Infusion Agar.

CHAP : Gélose Chapman.

FDA: Food and Drug Administration.

GN: Gélose Nutritive.

GRAS: Generally Recognized As Safe.

IG : Immunoglobuline.

MA : Matière Azoté.

MAT : Matière Azoté Totale.

MG : Matière Grasse.

MRS : De Man, Rogosa, ET Sharp.

MS : Matière Sèche.

PCA: Plat Count Agar.

PB : Population Blanche.

PM: Poids Moyen.

QPS: Qualified Presumption of Safety.

SA : Albumine Sérique.

SS : Souche Synthétique.

VRBL : Gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre.

WAP : Whey Acédic Protein.

Liste des figures

Liste des figures

| | |
|---|-----------|
| Figure1 : Glande cutanées et mamelles de la lapine (Barone et <i>al.</i> , 1973)..... | 6 |
| Figure 2 : Reflexe neuroendocrinienne de l'éjection de lait (Delouis et <i>al.</i> , 2001) | 7 |
| Figure 3 : Evolution de la production laitière de la lapine simplement allaitantes ousimultanément gestante (Lebas, 1968 ; Lebas, 1792) | 8 |
| Figure4 :Modèles de l'organisation des micelles (a) Modèle submicellaire ; b) Modèle de micelles à structure ouverte | 11 |
| Figure5 :Evaluation des teneurs en matière sèche (MS), matière azoté totale (MAT), et matière grasse (MS), des laits en fonction du stade de lactation, de deux types génétiques de lapines la population blanche (PB) et la souche synthétique (SS) (Amroun, 2015)..... | 14 |
| Figure6 :Evaluation des teneurs en matière sèche (MS), matière azotée totale (MAT) et en matière grasse (MG) des laits en fonction des saisons dans les deux types génétiques de lapines la population blanche (PB) et la souche synthétique (SS) (Amroun, 2015) | 16 |
| Figure7 :Schéma explicatif de l'ensemencement du lait directement sur la GN | 24 |
| Figure8 :Schéma explicatif de l'ensemencement des échantillons du lait..... | 25 |
| Figure9 :Réalisation de l'ensemencement avec la technique des trois quadrants..... | 26 |
| Figure 10 : Aspects de colonies isolées sur quelques milieux..... | 32 |

Liste des tableaux

Liste des tableaux

| | |
|--|-----------|
| Tableau I : Production de viande en l'Algérie entre 1990 et 2010 | 3 |
| Tableau II :Composition du lait de lapine (Jensen et <i>al.</i> , Gors et <i>al.</i> , 2009)..... | 9 |
| Tableau III :Caractéristique des caséines du lait de lapine | 10 |
| Tableau IV :Composition comparative de la teneur minérale du lait de quelque espèces domestiques (Lebas, 1971 ; Lebas et al., 1971 ; Jarrie, 1978)..... | 12 |
| Tableau V :Concentration des vitamines dans le lait de lapine..... | 13 |
| Tableau VI : Composition moyenne de lait de lapine en fonction de rythme de reproduction | 15 |
| Tableau VII :Appareillage, matériels, verreries et réactifs chimiques | 21 |
| Tableau VIII :Différents types d'isolats obtenus sur les différents milieux | 29 |
| Tableau IX : Examen macroscopique des souches bactériennes sur différents milieux | 31 |
| Tableau X :Etude microscopique des isolats bactériens | 33 |

INTRODUCTION

Le lapin est un petit mammifère, lagomorphe et herbivore par excellence ; sa chair constitue une source riche en protéines. Cette espèce est connue par sa bonne prolificité et sa production annuelle importante (Dalle Zotte, 2014). Afin d'améliorer la cuniculture en Algérie, une souche synthétique a été développée afin de couvrir les besoins de la population en protéines animales (Gacem et Bolet, 2005).

Le lait, est un liquide biologique souvent de couleur blanchâtre, sécrété par la glande mammaire des femelles de mammifère. Il est considéré comme la première source nutritionnelle des nourissants ; la croissance de ces derniers dépend essentiellement de la quantité et la qualité du lait sécrété par les femelles (Lebas, 1969). La composition et les caractéristiques physico-chimiques du lait varient sensiblement selon les espèces, les races et le stade de lactation (Boucher et *al.*, 2007) ; c'est notamment le cas des lapins.

Les travaux réalisés sur la composition physico-chimique du lait de lapine, ont montré que ce lait était plus riche en protéine, en matière grasse, en vitamines et minéraux par rapport au lait des autres mammifères (vaches, chèvres, etc.) (Gors et *al.*, 2009 ; Hue Beauvais, 2014, Amroun, 2015). De ce fait, il favorise le développement et la croissance microbienne. Le lait comporte une flore originelle et une flore de contamination qui proviennent des mamelles et des canaux galactophores (microcoques, streptocoque lactique, lactobacilles, etc.). En effet, la majeure partie de la flore colonise le lait cru à la sortie de la mamelle. De plus, le lait peut se contaminer à partir de diverses sources, tels que les fèces et les téguments de l'animal (coliformes, entérocoques, clostridium, salmonelles, etc.) En outre, le lait peut également contenir des germes pathogènes tels que les staphylocoques, lorsque l'animal est malade.

Ce travail a pour objectif, l'étude de la diversité bactérienne du lait d'une lapine de la souche synthétique (SS), provenant d'un élevage dans la région de Tizirt. Plusieurs souches bactériennes ont été isolées à partir de deux échantillons de lait prélevés à partir d'une lapine au début et à la seconde semaine de lactation, en utilisant des techniques et des méthodes bactériologiques classiques.

Cette étude s'articule sur deux parties essentielles :

- La première partie représente une synthèse bibliographique, qui traite des généralités sur la lapine, ses performances de reproduction, la lactation, à savoir la quantité et la qualité du lait produit et sa composition.
- La deuxième partie porte sur la partie expérimentale, dans laquelle le matériel et les méthodes utilisés pour l'analyse microbiologique, ainsi que les résultats obtenus sont présentés, suivis d'une discussion pour en dégager des conclusions et des perspectives.

Partie bibliographique

Chapitre I :

Généralités sur le lapin

1. Généralités sur le lapin

Le lapin (*Oryctolagus cuniculus*) est un petit mammifère appartenant à l'ordre des lagomorphes ; c'est un animal monogastrique par opposition aux bovins ou aux chèvres (Lebas, 2006). Les différentes races de lapin se distinguent en fonction de la nature et de la couleur du poil et du format de l'animal (Djago et al., 2007). Il peut se reproduire plusieurs fois par an, avec une courte durée de gestation d'environ 30 jours (Remas, 2001).

1.1. Systématique

La position taxonomique du lapin (*Oryctolagus cuniculus*) est la suivante (Grasse, 1949 ; Lebas et al., 1984) :

- Règne : *Animalia*
- Embranchement : *Vertébra*
- Classe : *Mammalia*
- Ordre : *Lagomorpha*
- Famille : *Léporidae* (lièvre et lapin)
- Genre : *Oryctolagus*
- Espèce : *Oryctolagus Cuniculus*

1.2. Elevage du lapin en Algérie

En Algérie, l'élevage du lapin existe depuis longtemps, mais avant 1990, aucune étude n'a été faite sur le lapin local (Berchiche et Kadi, 2002). Ce n'est qu'au 19^{ème} siècle, lors de la colonisation, avec l'arrivée des populations d'origine européenne consommatrices de lapin, que ce secteur s'est développé au Maghreb. En Algérie, ce secteur n'est vraiment apparu qu'au début des années quatre-vingt (Colin et Lebas, 1995).

Le lapin peut être élevé pour 3 grands types de production : la viande, la fourrure ou le poil (angora) ; il peut être aussi élevé comme animale de laboratoire (Lebas, 2000). L'introduction de l'élevage cunicole en Algérie a pour principal objectif d'augmenter la production de viande de lapin, afin de combler le déficit en protéine animale. De ce fait, il existe deux principaux secteurs : un secteur traditionnel qui consiste en de petits élevages à vocation vivrière, et un autre rationnel comprenant de grandes ou moyennes unités orientées vers la commercialisation de leurs produits. A cause de sa grande prolificité et sa capacité à valoriser des sous-produits agro-industriels, le lapin peut être une source de protéine non

négligeable pour l'Algérie (Gacem et Bolet, 2005). Les éleveurs utilisent des souches importées et des populations locales.

Comme dans plusieurs pays dans le monde précédemment cité, l'expansion de la spéculation cunicole dans le secteur agricole algérien étant en diffusion avec des pas un peu accélérés comme le tableau ci-dessous indique (**Tableau I**).

Tableau I : Production de viande de lapin en Algérie (2013-2017). (FAO, 2018).

| Date | 2013 | 2014 | 2015 | 2016 | 2017 |
|---------|------|------|------|------|------|
| Algérie | 8250 | 8250 | 8247 | 8266 | 8281 |

1.2.1 Espèces cunicoles en Algérie

Les populations locales algériennes sont caractérisées par leur adaptation aux conditions alimentaires et climatiques algériennes, avec une capacité à résister à certaines maladies. Ces populations présentent toutefois une variabilité phénotypique résultante de croisements intempestifs et parfois volontaristes.

1.2.1.1 Population locale (le lapin Kabyle)

Appartenant à la population locale de la Kabylie, le lapin kabyle est caractérisé par un poids adulte moyen de 2,8 kg et un corps de longueur moyenne (type arqué). Sa partie postérieure est bien développée, avec des lombes bien remplies et une queue bien droite. La tête est convexe portant des oreilles dressées. Son pelage est doux, présentant plusieurs phénotypes de couleurs, conséquences de la contribution des races importées : fauve de bourgogne, blanc néo-zélandais et californien (Berchiche et Kadi, 2002).

1.2.1.2 Souche synthétique (SS)

Afin de produire une lignée de lapin plus prolifique et conservant les caractères d'adaptation au milieu, la création d'une nouvelle souche a été mise en place depuis décembre 2003 (Gacem et Bolet, 2005). Une souche synthétique issue d'un croisement entre une population locale et une souche européenne pour améliorer la production cunicole en Algérie, a donc été créée. En effet, cette souche synthétique a été créée en inséminant 81 femelles de la population locale avec la semence de 18 mâles de la souche INRA2666. Cette dernière a été

sélectionnée à l'INRA de Toulouse pour sa grande prolificité (9 lapereaux nés vivants par mise bas), avec un poids adulte plus élevé et une meilleure croissance que la population locale algérienne (Zerrouki et *al.*, 2014).

1.2.1.3 Population blanche (PB)

La population blanche algérienne résulte des programmes de la filière cunicole. En effet, dans les années 70, l'Algérie a importé quelques individus de races pures (néozélandais, californiens, fauve de bourgogne) élevés à la coopérative de Draa Ben-Khada. Au cours des années 1985 et 1986, un autre programme mené par Grimaud frères (France), a été initiée au centre par l'ORAC, à l'ouest par l'ORAVIO et à l'est par l'ORAVIE (Zerrouki et *al.*, 2007).

2.Lactation et allaitement

La lapine possède deux rangés de 4 à 6 mamelles situés sur la face ventrale de son corps. Le nombre de mamelle peut ne pas être réparti de façon symétrique et présenté un nombre impair (9 ou 11 tétons) ou pair (8 à 10 tétons). Chaque tétine est reliée à 5-6 canaux évacuateurs, correspondant à une glande mammaire séparée. Le tissu mammaire est disposé entre la peau et les muscles pectoraux auquel il est attaché par le tissu conjonctif. Après la mise bas, les lapereaux sont sourds et aveugles et leurs mobilités est peu développées. Leur survie dépend de leurs capacités à capter la tétine rapidement ; ils s'alimentent du lait maternel dans les 21 jours de vie (Lebas, 1969 ; Hassan, 2005).

2.1 Structure et fonctions de la glande mammaire

La glande mammaire est une glande exocrine constituée d'un tissu épithélial tubulo-alvéolaire et d'un vaste ensemble de tissus annexes formant le stroma (**Figure 1**). Le tissu mammaire présente une structure en lobes, qui se subdivisent en lobule. Ces derniers sont constitués d'un ensemble d'alvéoles appelé acini mammaire, qui sont connectées à un vaste réseau de canaux mammaires. Les alvéoles sont constituées d'une monocouche de cellules épithéliales qui sont irriguées à leurs pole basal par les vaisseaux sanguins. La double couche de cellules épithéliales et myoépithéliales constitue le canal lobulaire de chaque acinus.

Les cellules épithéliales alvéolaires sont polarisées et entourées de cellules myoépithéliales contractiles responsables de l'évacuation du lait des alvéoles vers les canaux sécréteurs et d'une membrane basale, constituée de laminine, de collagène, de protéoglycane

et de fibronectine. Les échanges du milieu intracellulaire se font à travers la membrane basale. Le stroma entoure cet ensemble fonctionnel qui rassemble plusieurs types cellulaires dont des adipocytes, des fibroblastes et des cellules endothéliales, etc. Le stroma n'est pas une matrice inerte, ce dernier joue un rôle essentiel dans la morphogenèse et la différenciation des glandes mammaires (Delouis et *al.*, 2001).

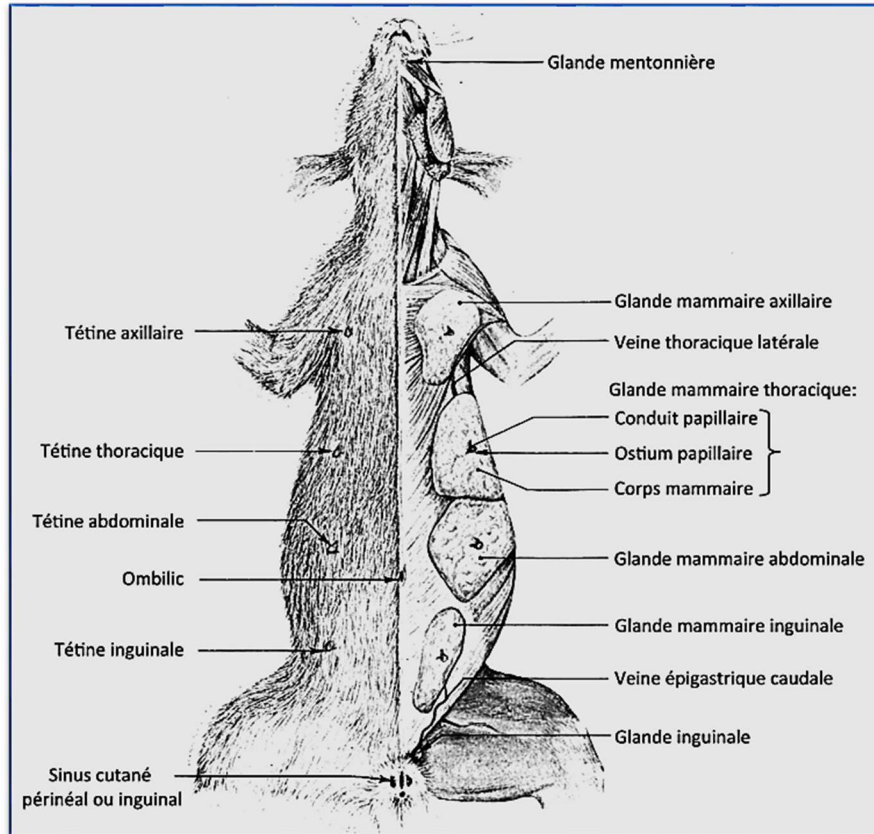


Figure 1 : Glandes cutanées et mamelles de la lapine (Barone et al., 1973).

2.2. Mécanismes de sécrétion du lait

La tétée de la lapine stimule la sécrétion immédiate d'ocytocine ; la pression intramammaire augmente induisant l'éjection du lait qui sera consommé par les lapereaux (Lebas, 2002) (Figure 2).

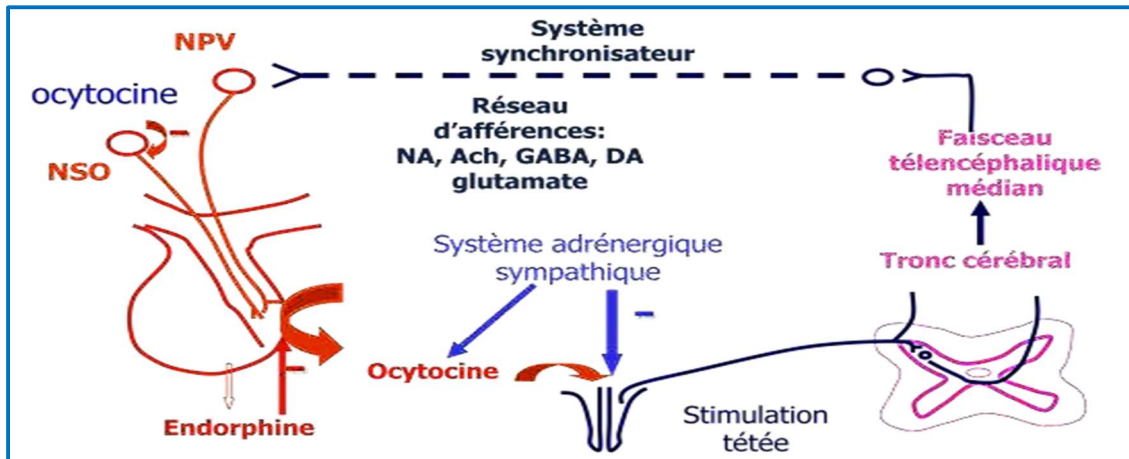


Figure 2 : Reflexes neuroendocriniens de l'éjection du lait (Delouis et al., 2001).

Deux jours après la mise bas, la concentration plasmatique d'ocytocine augmente de 40 pg/mL de plasma à 250 et 490 pg/mL au milieu et à la fin de lactation respectivement. Le taux minimal de 2025 pg/mL est nécessaire à l'enclenchement du processus de sécrétion du lait. La demi-vie de cette hormone est le temps nécessaire pour une tétée des lapereaux (Hudson et al., 2000). La durée de la tétée décroît doucement et régulièrement durant la lactation et passe de 200 à 150 secondes par exemple, entre le 14^{ème} et le 35^{ème} jour d'allaitement.

La lapine fixe le rythme des tétées, à une seule fois par 24 heures ou à deux fois dans quelques cas (Hudson et al., 2000 ; Lebas, 2002). La sécrétion du lait et son accumulation dans les glandes mammaires se fait à une vitesse constante durant les 23 à 24 heures suivant un allaitement. La synthèse du lait s'arrête ensuite très rapidement si les lapereaux ne tètent pas. Cinq minutes après la fin de la tétée, une décharge de prolactine (25-35 µg/mL) se produit. Son taux plasmatique reste élevé pendant 2 à 3 heures (Lebas, 2002).

CHAPITRE II :

Lait du lapin

1. Étude quantitative du lait de lapine

Jusqu'à la 3^{ème} semaine de lactation, les lapereaux ne consomment que le lait maternel et leur croissance dépend de la quantité de lait qu'ils ont reçue. (Lebas, 1970). Selon Zerrouki et al. (2005), durant cette période de lactation, la production laitière chez la lapine augmente d'une manière graduelle quel que soit le stade de lactation. Au cours des deux premiers jours, la quantité de lait passe de 30 g à 50 g pour atteindre 200-250g à la fin de la 3^{ème} semaine voire un peu plus de 300g pour les souches les plus allaitantes. Au-delà de 21 jour la production laitière décroît rapidement ; cette décroissance peut être plus rapide si la lapine a été fécondée juste après la mise Bas (Martens et al., 2006). La production de lait chez la lapine gestante en lactation ralentit à partir du 20^{ème} jour et atteint zéro entre le 28 et 29^{ème} jour (Fortun-Lamothe, 2006). D'après Lebas (2002), Zerrouki et al. (2005), cette production laitière augmente avec l'augmentation du nombre de portée.

L'estimation de la production de lait chez la lapine peut se faire par la méthode de mesure indirecte, c'est à dire la pesé de la lapine avant et après tétée (Lebas et Zerrouki, 2011). Elle est aussi possible à partir de la mesure du gain de poids des lapereaux de la naissance au 21^{ème} jour de lactation (Lebas, 1969 ; Fortun-Lamothe et Sabater, 2003 ; Zerrouki *et al.*, 2005 ; Lebas et Zerrouki, 2011). Cette dernière méthode est la meilleure, mais cela n'est pas toujours valable après le 21^{ème} jour, puisque les lapereaux ingèrent d'autres aliments. D'autres méthodes de mesure ont été utilisées telles que la traite de la lapine ou la mesure par échographie (Figure 3).

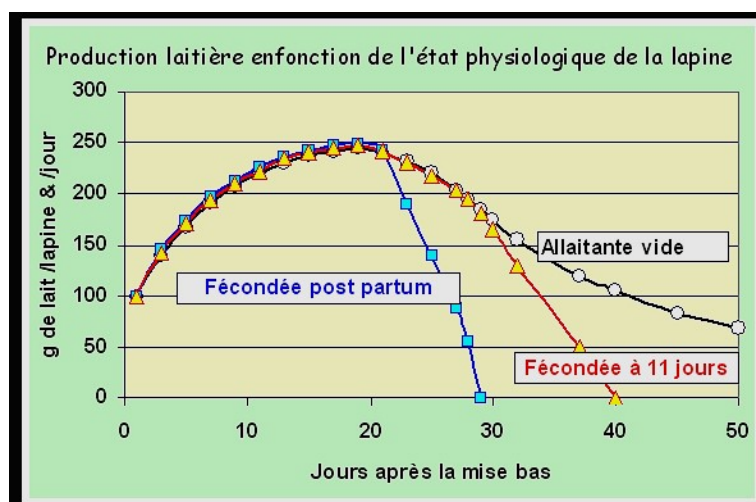


Figure 3 : production laitière de la lapine simplement allaitante ou simultanément gestante (Fortun-Lamothe, 2006).

2. Etude qualitative du lait de lapine

Chez le lapin, comme tous les autres mammifères, l'alimentation des jeunes dépend du lait maternel à cause de son importante valeur nutritionnelle. La composition du lait est liée à l'état de santé de la lapine. En effet le lait qui ne possède pas toutes les caractéristiques nutritionnelles, peuvent agir d'une manière négative sur la santé et la croissance des lapereaux (Lebas, 2007) (Tableau II).

Tableau II : Composition du lait de lapine (Gorsetal.,2009).

| Femelle | Matière grasse % | Protéine % | Lactose % | Matière sèche % |
|---------|------------------|------------|-----------|-----------------|
| Lapine | 12.2 | 10.4 | 1.7 | 26.4 |

Une analyse comparative entre quelques mammifères, à montrer que le lait de la lapine est plus riche et concentré par rapport à celui d'autres espèces de mammifères domestiques, avec une teneur en matière sèche d'environ 30%. Seul le lactose est présent à une concentration très faible dans le lait de lapine par rapport aux autres espèces. Il est cependant, riche en protéine, en matières grasses et en minéraux (Lebas, 2002).

3. Composants du lait de lapine

3.1 Matière azotée et les protéines du lait

Chez la lapine, la matière azotée totale du lait se présente sous deux fractions : matière azotée protéique (MAP) et non protéique (MANP). Les MAP ou les protéines du lait sont majoritairement des caséines (α , β et κ) et des protéines sériques, incluant l' α -lactalbumine et la transferrine. La composition en acide aminé des protéines du lait de lapine semble relativement stable au cours de la lactation, et les principaux acides aminés sont : l'acide glutamique (18%), la leucine (11%), la lysine, la sérine et la proline (6%), l'isoleucine, la thréonine, l'acide aspartique et la valine (5%) (Laurence Lamothe et al., 2017). Le lait contient également de nombreuses hormones et enzymes d'origine maternelle dites protéines mineures, qui peuvent avoir des activités biologiques importantes (immunoglobulines, hormones, facteurs de croissances, etc.) (Hue Beauvais, 2014).

a) Caséines

Les caséines sont des phosphoprotéines du lait, présentes sous plusieurs types : α_1 , α_2 , β , κ , α_2 -Like (Walstra, Jenness, 1984) (**Tableau III**).

Tableau III : Caractéristiques des caséines du lait de lapine.

| Caséines | Nombre d'AA | PM (kDa) | Rôles biologiques | Références |
|-----------------------|-------------|------------|--|--|
| Caséine-Alpha-S1 | 215 | 23972,0086 | Transport des ions calcium et phosphate dans le lait | Dayal et <i>al.</i> ,1982 ; Devinoy et <i>al.</i> , 1988 |
| Caséine-Alpha-S2 | 182 | 19926,6555 | Transport des ions calcium et phosphate dans le lait | Dawson et <i>al.</i> , 1993 ; AISarraaj et <i>al.</i> , 1978 |
| Caséine-Alpha-S2-Like | 180 | 19646,3787 | Transport des ions calcium et phosphate dans le lait | Daya et <i>al.</i> , 1982 ; Dawson et <i>al.</i> , 1993 |
| Caséine-Beta | 228 | 24548,004 | Propriétés de la surface Micellaire | Testud et RbadeauDumas,1973 ; Schaerer et <i>al.</i> , 1988. |
| Caséine-Kappa | 180 | 18018,5574 | Maintien de la stabilité des micelles des caséines Inhibition de la précipitation des autres caséines | Bősze et <i>al.</i> , 1993 ; Baranyi et <i>al.</i> , 1996 ; Bősze et Houdebine, 2006 |

Les micelles des caséines se trouvent sous forme d'un assemblage de plusieurs sous-micelles assemblées entre elles avec des ponts phospho-calciques. Le centre de la micelle est formé par les caséines les plus hydrophobe α et β liées par des interactions essentiellement hydrophobes (Holt, 1992). La caséine β , peut s'extraire hors des noyaux hydrophobes en fonction de la température (refroidissement du lait). Ce phénomène est réversible et cette caséine peut réintégrer la micelle. Il est donc nécessaire de maintenir la température (Amroun, 2018). Plusieurs modèles ont été proposés afin d'expliquer l'organisation des constituants dans la micelle des caséines (**figure4**).

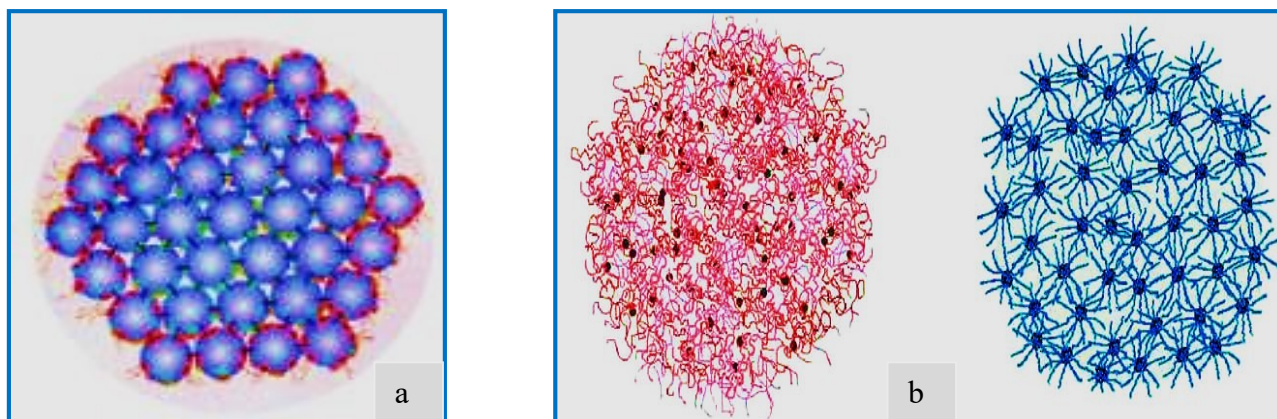


Figure 4 : Modèles de l'organisation des micelles (a) Modèle submicellaire ; b) Modèle de micelles à structure ouverte

a) Protéines sériques ou lactosérum

En plus des caséines insolubles qui représentent 70% de la matière protéique, le lait contient des protéines solubles sur une large gamme de pH, dites lactosérum ou protéines sériques. Leur quantité varie de 15 à 25% de la matière protéique du lait. La composition des protéines du lactosérum et le rapport caséines/protéines, dépendent des laits des différentes espèces de mammifères et des variations saisonnières (Uniach-Lowe, 2010). Les protéines du lactosérum, sont celles qu'on retrouve dans le lait après avoir enlevé les globules gras et précipité les micelles de caséines. Elles sont essentiellement représentées par la protéine acide de lactosérum ou WAP (WheyAcidicProtein), l' α -lactalbumine (α -La), la transferrine, les immunoglobulines (Ig), l'albumine sérique (SA) ou la sérum-albumine et les lactoferrine (Amroun, 2015).

3.2 Matière grasse (MG) et glucides

Tout comme les protéines, la composition du lait de lapine en lipide est très variable d'une espèce à une autre. Les matières grasses sont présentes sous forme de globules gras composées principalement de 98,5% de glycérides, mais contiennent une faible quantité d'acide gras libre, 1% de phospholipides et 0,5% de substances liposolubles (cholestérol, etc.) (Hue-Beauvais, 2014).

Les acides gras (AG) du lait diffèrent par la longueur de leurs chaînes carbonées, le nombre de doubles liaisons et la position de celles-ci. Ils peuvent être synthétisés par les cellules mammaires ou bien apportés par voie sanguine lorsqu'ils sont issus de l'alimentation ou de la lipolyse des réserves maternelles (Debnath et al., 2003).

En ce qui concerne la fraction glucidique, le lactose, représente le principal sucre du lait. Dans le lait de lapine, la teneur en lactose est faible (<2g/100g) (Lebas ,1971). Après une augmentation durant les quinze premiers jours, elle diminue rapidement et se rapproche de 6 g/Kg chez certaines lapines en fin de lactation (Boucher et *al.*, 2007).

3.3 Fraction minérale et vitamines

Le lait de lapine présente des teneurs élevées en minéraux, contrairement à d'autres espèces domestiques comme les laits de Vache, de Chèvre et de Brebis (Lebas,1971) (Tableau IV).

Tableau IV : Composition comparative de la teneur minérale du lait de quelque espèces domestiques (Lebas, 1971 ; Lebas et *al.*, 1971 ; Jarrie, 1978)

| Paramètre en g/Kg du lait | Vache | Chèvre | Brebis | Lapine |
|----------------------------------|--------------|---------------|---------------|---------------|
| Calcium | 1.25 | 1.30 | 1.90 | 5.60 |
| Phosphore | 0.95 | 0.90 | 1.50 | 3.38 |
| Magnésium | 0.12 | 0.12 | 0.16 | 0.37 |
| Potassium | 1.50 | 2.00 | 1.25 | 2.00 |
| Sodium | 0.50 | 0.40 | 0.45 | 1.02 |

En ce qui concerne les vitamines, le lait de lapine est plus riche en vitamines hydrosolubles et en vitamine A par rapport au lait de vache (Cautes *et al.*, 1964) (**Tableau V**).

Tableau V: Concentration des vitamines dans le lait de lapine.

| Vitamines | Teneur min-max (ug/mL) |
|----------------------------------|-------------------------------|
| Biotine (B8) | 0.08-0.45 |
| Acide folique (B9) | 0.003-0.30 |
| Acide nicotinique (B3) | 2-8.7 |
| Calcium pantothénate (B5) | 6.2-22.1 |
| Riboflavine (B12) | 2.3-4.9 |
| Acide pyridoxal(B6) | 0.9-3.6 |
| Vitamine (B18) | 0.05-0.11 |
| Thiamine (B2) | 0.3-1.7 |
| Rétinol (A) | 0.18-6.70 |

4. Facteurs déterminants la composition biochimique du lait de lapine

La production et la composition du lait de lapine dépend du stade de lactation, de l'état physiologique de l'animal et de l'environnement (alimentation, effet de la saison, etc.).

4.1. Stade de lactatio

La composition du lait n'est pas stable au cours de la lactation, elle évolue principalement en fin de lactation. (Lebas, 1971). Selon Amroun 2015, la composition du lait PB (population blanche) et SS (souche synthétique) varient significativement ($p < 0.0001$) en fonction du stade de lactation. En effet les laits collectés au stade claustral sont très riches en matière

sèche, matière grasse et en matière azotée totale. Une baisse significative des taux sont observés durant les premières et secondes semaines de lactation (figure 5).

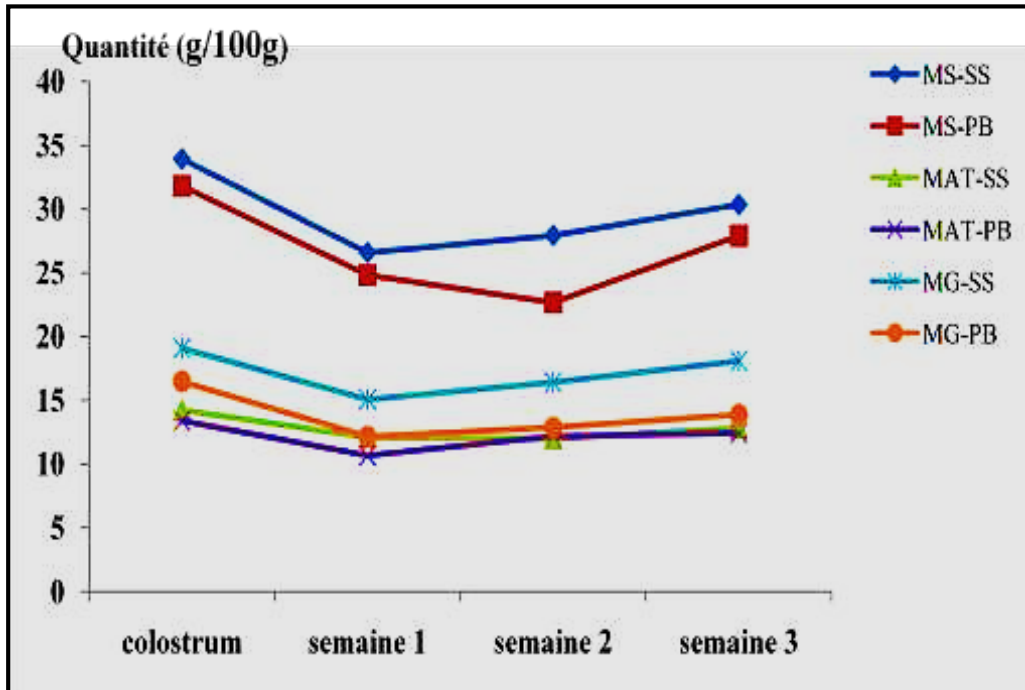


Figure 5 : Evaluation des teneurs en matière sèche (MS), matière azotée totale (MAT) et matière grasse (MG) des laits en fonction du stade de lactation chez les deux types génétiques de lapines, la population blanche (PB) et la souche synthétique (SS) (Amroun, 2015).

4.1.1 Stade de colostrum

Le colostrum, correspond au lait épais jaune et peu abondant, sécrété pendant les premiers jours post-partum (Coates et *al.*, 1964 ; Lebas, 1971 ; El Sayiad et *al.*, 1994, christ et *al.*, 1996). Le colostrum se distingue du lait moyen par sa teneur en élément nutritif sauf pour les cendres ; la composition reste relativement stable jusqu'au 21^{ème} jour de lactation (Lebas et *al.*, 1971).

Le taux de protéine est très élevé du fait de la concentration élevée en immunoglobuline (Maertens et *al.*, 2006). La composition des caséines est faible et augmente progressivement jusqu'au stade lait mature. D'autre part, les lipides sont présents avec des teneurs assez importantes à la première semaine, puis leur teneur diminue jusqu'à la 3^{ème} semaine pour

atteindre un maximum vers la 4^{ème} semaine jusqu'à la fin de la lactation (Boucher et *al.*, 2007).

4.1.2 Stade de maturité

Durant les premiers jours de lactation, le lait de la lapine est concentré en matière grasse, matières sèches et en matière azotée. A partir de la 2^{ème} et 3^{ème} semaine, la teneur de ces éléments diminue pour augmenter en fin de la lactation. Le lait mature de la lapine est plus abondant, cela signifie qu'il est moins riche. Donc plus la femelle produit du lait, moins il est riche en composants. La teneur en matière sèche enregistrée augmente à partir de la 4^{ème} semaine ; par contre les matières azotées et grasses restent similaires. En revanche, après une augmentation de la teneur en lactose dans les quinze premiers jours, une chute rapide est constatée (0g/kg en fin de lactation) (Lebas, 1995 ; Boucher et *al.*, 2007).

4.2 Alimentation

L'alimentation est l'un des facteurs liés à l'environnement, qui influence la production de la lapine (gestation, lactation, etc.), sur l'état de santé, les performances de reproduction et la croissance des animaux. La modification du régime alimentaire affecte la quantité de lait (Lebas, 1971). C'est pour cela que la quantité et la qualité des aliments reçues par la lapine doivent être adaptées à leur besoin (Lebas, 1989). La quantité de lipide présente dans l'aliment maternel influe sur la composition en acides gras du lait de lapine (Fraga et *al.*, 1989 ; Christ et *al.*, 1996 ; Lebas et *al.*, 1996).

4.3 Rythme de reproduction et état physiologique

Le rythme de reproduction est l'intervalle théorique ménagé entre deux mises bas successives. La composition moyenne du lait de lapine en fonction du rythme de reproduction, montre que les femelles soumises à un rythme de reproduction intensif produisent un lait plus gras que celui des femelles soumises à un rythme semi-intensif (Moumen et *al.*, 2009) (**Tableau VI**).

Tableau VI : Composition moyenne du lait de lapine en fonction du rythme de reproduction (% de la matière brut) (Moumen et *al.*, 2009).

| Rythme de reproduction | Matière sèche | Matière minérale | Matière grasse | Matière organique |
|-------------------------------|----------------------|-------------------------|-----------------------|--------------------------|
| Intensif | 27±6,41 (23,6) | 6,56± 3,1(47) | 19,2± 14 | 93 ±3,1(3) |
| Semi-intensif | 29±9,7 (33) | 6,48± 2,6(40) | 13,3± 10 | 93,5± 2,6(2) |

4.4 Effet de la race

L'étude des différents croisements entre souches ou races, a révélé une supériorité des produits obtenus lors de certains croisements par rapport à la moyenne des parents (Brun et *al.*, 1999). Le produit obtenu après un croisement est appelé « hybride commercial ». Lukefahr et al. (1983), ont démontré que la production laitière des lapines de race néo-zélandaise est supérieure de 30% par rapport à celle des lapines de race californienne, et celle des lapines hybrides issues du croisement de ces deux races est encore plus importante. Toutefois, une autre étude réalisée par la même équipe a conclu que le fond génétique de ces populations est peut-être plus important que celui des races elles-mêmes (McNitt et Lukefahr, 1990).

4.5 Effet de la saison

Les effets du climat et des changements saisonniers n'ont pas encore été clairement mis en évidence. En revanche, dans des conditions climatiques dont la température avoisine les 30°C, une diminution des teneurs en matières grasses ainsi que des protéines, et surtout en lactose a été observée (Kustoset *al.*, 1999).

Une comparaison de la composition biochimique du lait produit par deux types génétiques de lapine, la PB et la SS, à différentes saisons, a montré que les lapines de la SS

ont produit un lait plus riche en MS, MAT, et MG au cours des 4 saisons avec des écarts très marqués entre les périodes estivales, automnales, hivernales et printanières (**Figure 6**).

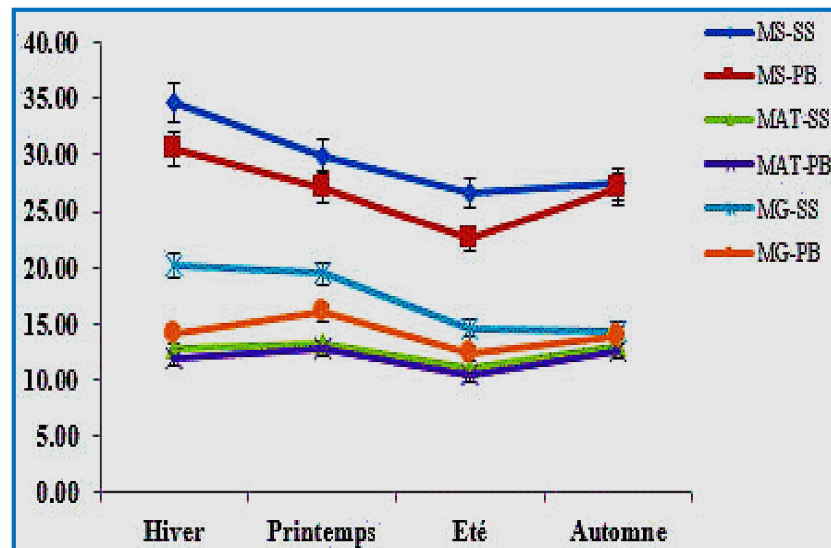


Figure 6 : Evaluation des teneurs en matière sèche (MS), matière azotée totale (MAT) et en matière grasse (MG) des laits en fonction des saisons dans les deux types génétiques de lapines la population blanche (PB) et la souche synthétique (SS) saisons (n = 12, 12, 12 et 12 lactations en automne, en hiver, au printemps et en été pour PB et SS)

5. Composition bactérienne du lait

La majorité des travaux réalisés sur l'étude de la microflore du lait concerne le lait de vaches et le lait de chèvres (Júnior et *al.*, 2019 ; Yenew et *al.*, 2022 ; Abi Khali et *al.*, 2023 ; Deddefo et *al.*, 2023).

Vu la richesse en nutriments du lait de lapine, ce dernier constitue un substrat idéal pour le développement des microorganismes incluant les bactéries, les levures et les moisissures.

Il peut être contaminé rapidement à la sortie des mamelles par des microorganismes pathogènes et d'altération. Les microorganismes retrouvés dans le lait proviennent majoritairement de l'environnement lié à l'animal. La diversité microbienne du lait est très importante : diversité de genres et d'espèces mais aussi des souches au sein d'une espèce donnée (diversité intra-spécifique) (Valence, 2017).

Parmi les grands types de flores bactériennes habituellement dénombrés dans les laits crus, les staphylocoques et les bactéries corynéformes sont généralement mis en évidence chez toutes les espèces animales produisant du lait (Thieulon, 2005). Les bactéries lactiques sont également toujours représentées. Dans la plupart des cas pour les laits de vaches, des *Pseudomonas* sont également détectés, ainsi que des bactéries propioniques, des levures et des entérobactéries (Begunova *et al.*, 2019 ; Necula *et al.*, 2021).

La contamination du lait par les coliformes, peut être d'origine fécale. Ils peuvent provenir par exemple d'une eau contaminée utilisée pour les différentes opérations de nettoyage (Wattiaux et Karg, 2004). Il existe également d'autres sources de contaminations telles que les litières fortement souillées contenant des coliformes et augmentant ainsi la prévalence de mammites (Magnusson *et al.*, 2007).

5.1 Bactéries lactiques

Les Bactéries lactiques sont des Firmicutes, à Gram positif, non sporulantes. Elles peuvent avoir une forme de coques ou de bâtonnets. Elles sont généralement immobiles et anaérobies facultatifs. Les principaux genres bactériens lactiques sont : *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Weissella* (Harlé, 2020).

Ces bactéries présentent divers métabolismes mais ont comme caractéristique commune de produire majoritairement de l'acide lactique à partir d'un substrat carboné. La production d'acide lactique conduit à un abaissement du pH, qui contribue à la coagulation des protéines du lait (Reuben *et al.*, 2020 ; Taye *et al.*, 2021).

Parmi les Bactéries lactiques, certaines espèces sont qualifiées de « sûres » pour la consommation humaine. En Europe, elles sont dites QPS (Qualified Presumption of Safety, c'est-à-dire à présomption d'innocuité reconnue). Aux Etats-Unis, elles ont le statut GRAS (Generally Recognized As Safe) pour la FDA (Food and Drug Administration).

5.2 Entérobactéries

Les entérobactéries sont des bacilles à Gram négatif, aéro-anaérobies facultatives, qui constituent une vaste famille d'un point de vue génétique. Elles sont largement retrouvées sur les plantes, dans le sol, dans l'eau et dans le tube digestif de l'Homme et des animaux à sang

chaud, d'où leur nom (Mhaya, 2019). Les entérobactéries renferment notamment les coliformes qui sont répertoriés en deux groupes :

❖ Coliformes totaux :

Ce sont des hôtes habituels de l'intestin de l'homme et des animaux à sang chaud, présents en grand nombre dans les selles. Ils peuvent survivre dans divers milieux (Sol, eaux usées, etc.) ; et fermentent le lactose à 37°C.

❖ Coliformes Fécaux :

Ce groupe de bactéries possède les mêmes propriétés que le groupe précédent mais la fermentation s'effectue à une température de 44°C. De ce fait, ils sont également appelés coliformes thermo-tolérants. Ce groupe est capable de dégrader le Tryptophane et de produire l'Indole. *Escherichia coli* est la principale représentante de ce groupe (Some et al., 2021).

5.3 Entérocoques

Les entérocoques sont des cocci à Gram positif généralement immobiles, aéro-anaérobies facultatives, de 0,6 à 1µm de diamètre en moyenne, disposées en paires ou en courtes chaînettes. Morphologiquement proche des bactéries du genre *Streptococcus*, les entérocoques ont été classées pendant très longtemps au sein de ce genre (Ion, 2020).

Les entérocoques font partis des streptocoques du groupe D selon la classification de Lancefield, qui distingue les streptocoques selon leur antigène de paroi. Avec l'apparition des techniques de biologie moléculaire, d'importantes différences par rapport aux autres streptocoques ont été découvertes, conduisant à individualiser le genre *Enterococcus* en 1984 (Moellering et al., 1992). Le genre *Enterococcus* inclut actuellement plus d'une cinquantaine d'espèces dont *Enterococcus faecalis* (80-90% des infections) et *Enterococcus faecium* (5-10%) sont responsables d'infections humaines (Ion, 2020).

5.4 *Staphylococcus aureus*

C'est une bactérie qui se présente sous forme de cocci à Gram positif, avec une disposition en paires ou en grappes. Elle est généralement capsulée et n'est jamais sporulée. C'est une bactérie aéro-anaérobie facultative, non exigeante. Le réservoir naturel de *Staphylococcus aureus* est l'Homme ainsi que les animaux à sang chaud. C'est une bactérie commensale de la peau et des muqueuses chez l'Homme (Senatore, 2022).

S. aureus est une bactérie extrêmement résistante aux conditions extérieures. Elle peut être responsable d'un large éventail d'infections, locales ou invasives, nosocomiales ou communautaires. Les infections mammaires à staphylocoques représentent la principale source de contamination du lait (Thieulon, 2005).

Partie expérimentale

*CHAPITRE I : Matériel et
méthodes*

❖ **Cadre de l'étude**

- Cette étude a été réalisée au sein du laboratoire pédagogique de physiologie animale de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, durant la période allant du 02 mai au 08 Juin 2023.
- Ce travail a pour objectif l'étude de la diversité bactérienne dans le lait de lapine de la souche synthétique (SS), prélevé au début et en fin de la seconde semaine de lactation.

1. Matériel

1.1. Echantillons du lait

Le lait provient d'une lapine de la Souche Synthétique (SS), élevée dans la région de Tigzirt. Ces échantillons ont été fournis par Dr. Amroun T. La collecte des deux échantillons de lait a été réalisée manuellement durant deux stades de lactation : échantillon L3 durant le 3^{ème} jour de lactation, et échantillon L14 durant le 14^{ème} jour de lactation. Les échantillons de lait ont été acheminés au laboratoire dans une glacière, puis repartis en petites quantités dans des flacons stériles, puis congelés jusqu'à analyse.

1.2. Appareils, verreries et réactifs

L'ensemble des appareillages, matériels, verreries et réactifs chimiques sont cités dans le (Tableau VII).

Tableau VII : Appareillages, matériels, verreries et réactifs chimiques.

| Appareille | Verrerie | Autre utile de laboratoire | Réactif |
|--|---|--|--|
| -Balance électrique. -Agitateur magnétique. -Autoclave. -Etuve. -Bain Marie. -Microscope Optique. | -Tube à essais. -Pipettes Pasteur. -Flacons. -Erlenmeyer. -Beichers. -Lames et lamelles. | -Embouts. -Micropipette. -Portoir des tubes à essai. -Bec Bunsen. -Pince en bois. | -Violet de Gentiane. -Alcool. -Fucshine. -Lugole. |

1.3. Milieux de cultures

- **Gélose nutritive (GN)**

La GN est un milieu souvent utilisé pour la culture des microorganismes peu exigeants. Elle apporte les éléments nutritifs nécessaires à la croissance d'une large gamme de microorganismes. Ce milieu est utilisé pour la culture et le dénombrement des microorganismes dans le lait, les produits laitiers, l'eau et les aliments.

- **Plate count agar (PCA)**

C'est un milieu glucosé à l'extrait de levure. Il est utilisé pour le dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FAMT). Les substances nutritives apportées par la Tryptone et les facteurs vitaminiques de l'extrait de levure et le glucose (source énergétique) favorisent la croissance de la plupart des bactéries à 30°.

- **Gélose à la bile, à l'esculine et à l'azote de Sodium (BEA)**

La gélose BEA est basée sur la capacité des microorganismes à hydrolyser l'esculine. Ce milieu est généralement utilisé pour identifier les Streptocoques du Groupe D et les Entérocoques. Ces derniers hydrolysent l'esculine en glucose et en esculetine. Ce dernier composé forme un complexe noir en présence des ions ferriques apportés par le citrate de fer. L'azide de sodium permet d'augmenter la sélectivité du milieu.

- **Gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL)**

La gélose VRBL est un milieu sélectif pour l'isolement et la numération des coliformes dans les aliments et les produits laitiers. Les sels biliaires et le cristal violet assurent l'inhibition des bactéries à Gram positif. La fermentation du lactose se traduit par une acidification, révélée par le virage au rouge de l'indicateur de pH (rouge neutre). Les coliformes fermentent le lactose et donnent des colonies pourpres (rouge-violet).

- **Gélose Chapman (CHAP)**

C'est un milieu d'isolement sélectif utilisé pour la recherche des Staphylocoques. Le pouvoir sélectif de ce milieu repose sur sa concentration très élevée en NaCl (75g/L) qui ralentit la croissance de la majorité des bactéries. Il sélectionne donc les bactéries

halotolérantes telles que *Staphylococcus aureus*. Ces dernières fermentent le mannitol et donnent des colonies jaunes dorées.

- **Gélose Sabouraud (SAB)**

C'est un milieu peptoné et glucosé, non sélectif. Le pH acide de ce milieu permet de favoriser la croissance des levures et moisissures.

- **Gélose De Man, Rogosa et sharpe (MRS)**

La gélose MRS est utilisée pour la recherche et le dénombrement des bactéries lactiques (*Lactobacillus*) dans les produits laitiers ainsi que dans les autres produits alimentaires. La peptone et le glucose apportent les éléments nutritifs nécessaires pour la croissance des lactobacilles. Le citrate d'ammonium et l'acétate de sodium inhibent le développement de la majorité des microorganismes tels que les streptocoques et les moisissures. Généralement, les bactéries lactiques ont une croissance plus lente et donnent de plus petites colonies que les autres microorganismes.

- **Bouillon BHI (Brain Heart Infusion)**

C'est un bouillon d'enrichissement utilisé pour la culture d'une grande variété de microorganismes (bactéries, levures, moisissures).

2. Méthode

2.1. Préparation des milieux

Les milieux solides PCA, VRBL, BEA, VF, Chapman et Sabouraud sont conditionnés par le fabricant dans des flacons stériles. Ces derniers ont été fondus au bain marie à 100°C puis coulés dans des boîtes de Pétri dans la zone stérile sans autoclavage. La GN a été préparée à partir d'une poudre en suivant les étapes suivantes :

- Dissoudre 8g de la poudre GN et 15g d'agar dans 1L d'eau distillée dans un Erlenmeyer.
- Agiter grâce à un barreau magnétique avec chauffage, jusqu'à dissolution complète.
- Répartir le milieu dans plusieurs flacons en verre pour un autoclavage de 20 min à 121°C.

- Après stérilisation et refroidissement, faire couler la GN dans les boîtes de Pétri dans la zone stérile du bec bunsen.

En ce qui concerne la gélose MRS, cette dernière a été préparée à partir du bouillon MRS (milieu d'enrichissement), en ajoutant la quantité nécessaire d'agar (1.8 g d'agar dans 180 mL de bouillon MRS Le milieu a été déposé dans le bain marie durant 1h environ, puis autoclavé et coulé dans des boîtes de Pétri, après refroidissement.

2.2. Etude de la microflore du lait

2.2.1. Isolement des souches bactériennes

Deux approches ont été utilisées pour l'isolement des souches bactériennes dans les échantillons de lait.

❖ Approche 1

A l'aide d'une micropipette, 100 μ L de chaque échantillon de lait ont été déposés directement sur une boîte de Pétri contenant la GN, suivi d'un étalement à l'aide d'un râteau (Figure 7).

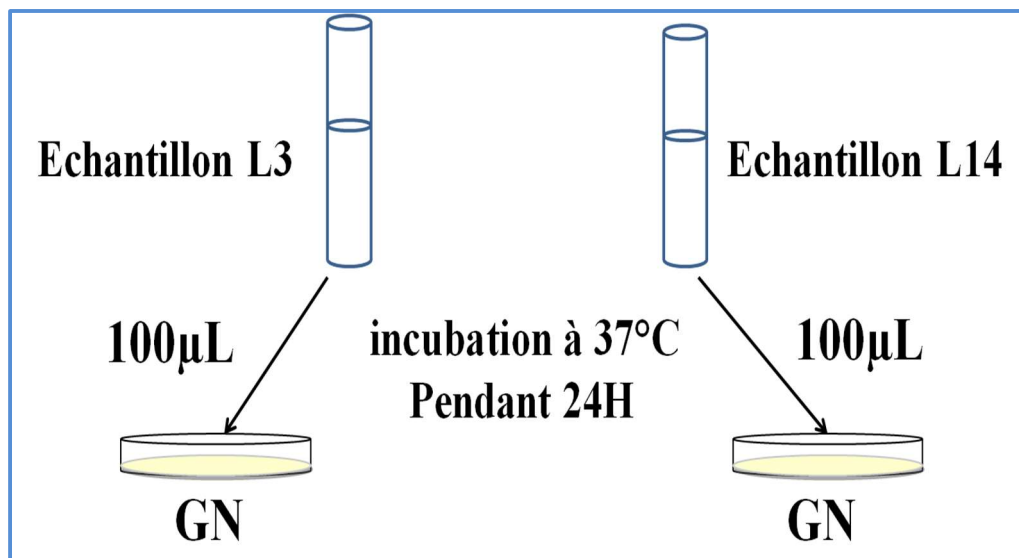


Figure 7 : Schéma explicatif de l'ensemencement du lait directement sur la GN.

L3: 3^{ème} jours de lactation ; L14 : Fin de seconde semaine de lactation.

❖ Approche 2

Dans cette approche, une étape d'enrichissement a été réalisée au préalable. A l'aide d'une micropipette, quelques gouttes de lait de chaque échantillon ont été déposées dans le bouillon BHI, dans la zone stérile. Les bouillons ont été incubés à 37° pendant 48h.

Après incubation, 100 µL de chaque bouillon BHI ont été déposés sur les boîtes de Pétri contenant les différents milieux solides (GN, BEA, VRBL, PCA, SAB). L'inoculum a été ensemençé à l'aide d'une pipette Pasteur, en utilisant la technique des trois quadrants. Les boîtes ensemençées ont été incubées à 37° pendant 48h.

Les géloses MRS et Chapman ont été également ensemençées après un enrichissement sur les bouillons MRS et Chapman, respectivement (Figure 8).

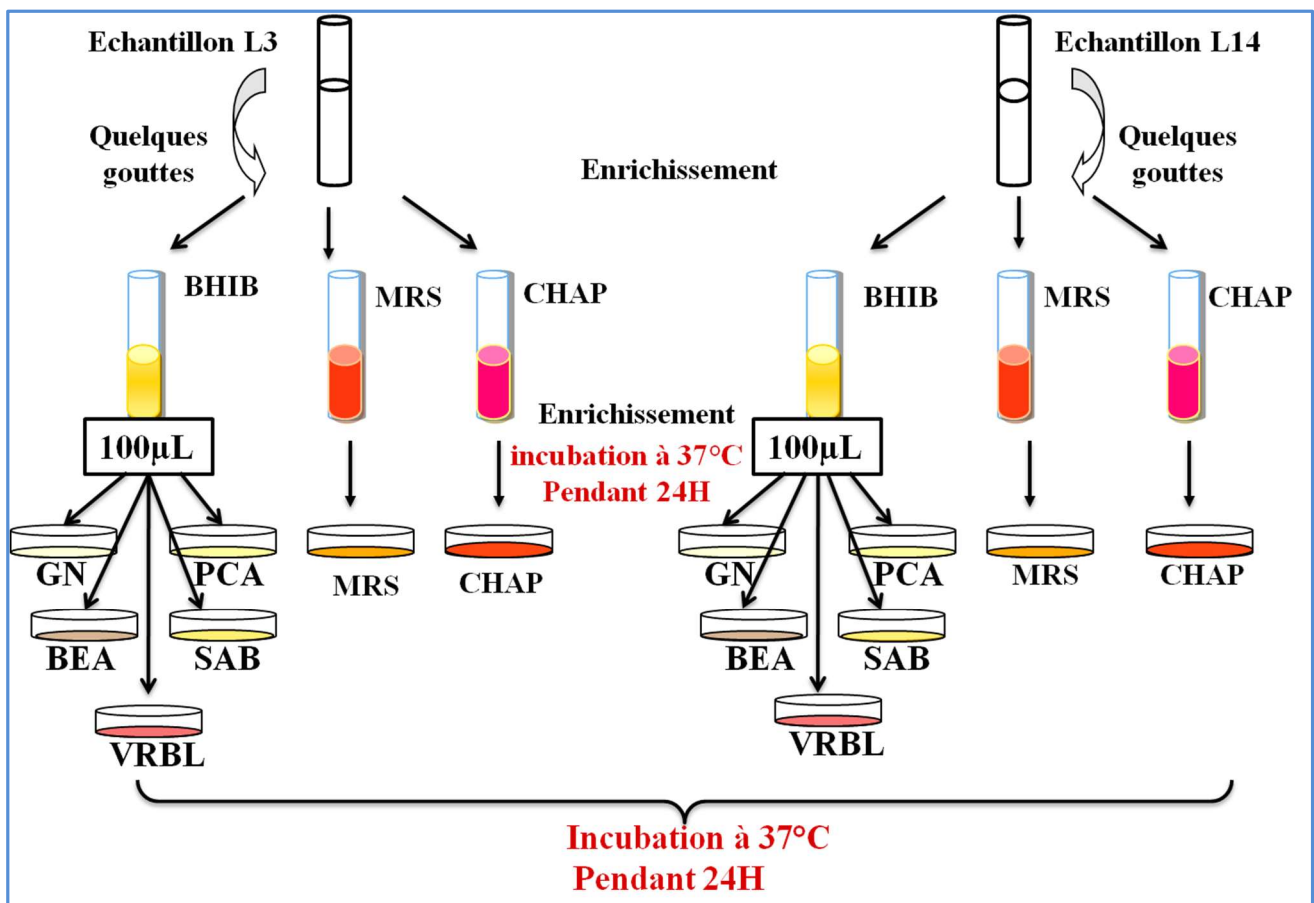


Figure 8 : Schéma explicatif de l'ensemencement des échantillons du lait.

L3: 3^{ème} jours de lactation ; L14 : Fin de la seconde semaine de lactation.

2.2.2. Purification des souches

Après 48h d'incubation des boîtes de Pétri ensemencées, les différentes colonies obtenues sur chaque milieu ont été purifiées par des repiquages successifs ; le but étant d'obtenir des souches pures. Pour cela, la technique d'isolement par épuisement (technique des trois quadrants) a été utilisée. Cette technique s'effectue comme suit (**figure 9**) :

- Dans la zone stérile du bec bunsen, prélever la colonie à l'aide d'une pipette Pasteur flambée et refroidie sur la gélose ;
- Étaler la colonie en réalisant des stries très serrées sur le premier quadrant ;
- Après avoir tourné la boîte d'environ 90°, étaler une partie des stries précédentes sur le 2^{ème} quadrant en réalisant des stries moins serrées ;
- Retourner la boîte d'environ 90° et étaler en stries larges sur le 3^{ème} quadrant.

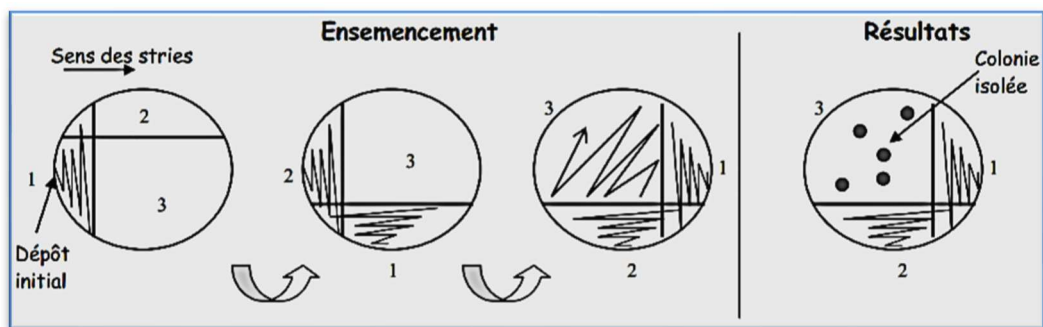


Figure 9 : Réalisation de l'ensemencement avec la technique des trois quadrants

- Incuber à l'étuve à 37°C pendant 48h.

3. Etude macroscopique

Il est important d'étudier l'aspect macroscopique des colonies isolées sur les milieux solides. Cette étude à elle seule permet de connaître le germe qu'on a en présence car les colonies sont typiques. Elle comprend :

- **La forme** : Elle est plus au moins variée, peut être circulaire, irrégulière, filamenteuse, rhizoïde.
- **Le relief** : Il existe plusieurs types de reliefs chez les colonies bactériennes (convexes, bombées, plates, bossues, en forme de cratère, etc.).
- **Le contour (le bord)** : Le bord d'une colonie peut être régulier, ondulé, filamenteux, bouclé, lobé.

- **La taille** : Le diamètre des colonies peut être mesuré avec une règle graduée (colonie punctiformes, petites, moyennes, grosses).
- **La surface** : Elle peut être lisse, rugueuse, brillante, etc.
- **L'opacité** : Les colonies peuvent être opaques, translucides, transparentes.
- **La consistance** : Elle se juge au moment du prélèvement (colonies crémeuses, sèches, gluantes, muqueuses).
- **La couleur** : Elle peut être naturelle par production de pigments, ou par un indicateur de pH.

4. Etude microscopique

Un examen microscopique a été effectué sur les souches bactériennes isolées grâce à une coloration de Gram, qui repose sur une différence fondamentale entre la composition chimique des parois des bactéries à Gram positif et des bactéries à Gram négatif. Cette coloration permet également de mettre en évidence la forme et l'agencement des bactéries. Elle a été réalisée selon les étapes suivantes :

❖ **Etape 1 : Préparation du frottis**

- Nettoyer une lame à l'alcool.
- Déposer une goutte d'eau sur la lame.
- Prélever les bactéries à partir de la boîte de Pétri à l'aide d'une anse. Il n'est pas nécessaire de prendre beaucoup de bactéries.
- Frotter la pointe dans la goutte d'eau. Laisser sécher à l'air ou au-dessus de la flamme du bec bunsen.
- Passer 3 fois la lame dans la petite flamme (veilleuse) du bec bunsen pour fixer l'échantillon à la chaleur.

❖ **Etape 2 : Coloration de Gram** : Sur le frottis fixé et refroidi :

- Faire couler la solution de violet de Gentiane jusqu'à ce que toute la lame soit recouverte et laisser agir 1 minute.
- Rincer abondamment la lame avec le jet d'une pissette d'eau distillée ou l'eau du robinet jusqu'à élimination de l'excès de colorant.

- Faire couler le Lugol sur la lame et laisser agir 95 secondes.
- Rincer abondamment la lame.
- Verser goutte à goutte l'alcool sur la lame inclinée, et surveiller la décoloration.
- Faire couler la Fucshine et laisser agir 1 minute.
- Rincer abondamment jusqu'à élimination du colorant en excès.
- Sécher la lame à l'air ou au dessus de la flame du bec bunsen.
- Observer au microscope (au grossissement $\times 1000$ en ajoutant de l'huile d'immersion).

*CHAPITRE II : Résultats
et Discussion*

1. Résultats

1.1. Isolement des souches

Les deux approches utilisées, à savoir, un ensemencement direct sur GN et un ensemencement sur différents milieux solides (PCA, BEA, MRS, VRBL, Chapman, Sabouraud) après enrichissement, ont permis l'apparition de plusieurs types de colonies. Les repiquages successifs ont permis au final d'obtenir 15 isolats purifiés : 11 souches au début de lactation (3^{ème} jour) et 4 souches à la fin de la seconde semaine de lactation (14^{ème} jour). Le **Tableau VIII** représente les différents isolats obtenus dans chaque milieu de culture.

Tableau VIII : Différents types d'isolats obtenus sur les différents milieux.

| Milieux | Echantillon | Isolats |
|---------|-------------|---------------------------------------|
| GN | L3 | S1B1a, S1B1b, S1B2, S1B4, S1B6, S1B8. |
| | L14 | S1A |
| PCA | L3 | S1B |
| | L14 | S1Aa, S1Ab |
| BEA | L3 | S1B |
| SAB | L3 | S1B |
| | L14 | S1A |
| Chapman | L3 | S1B |
| MRS | L3 | S1B |

L3: Début de lactation ; L14: Fin de la seconde semaine lactation.

Les isolements sur les différents milieux ont donné les résultats suivants :

- **Milieu BEA :**

Un noircissement a été observé sur ce milieu pour l'échantillon L3, dû à la dégradation de l'esculine en esculetine par les bactéries. Par contre, aucune colonie n'a poussé pour l'échantillon L14.

- **Milieu VRBL :**

Aucune colonie n'a poussé sur ce milieu pour les deux échantillons de lait, signifiant l'absence de coliformes.

- **Milieu MRS :**

Sur ce milieu, des colonies ont été observées pour l'échantillon L3, mais pas pour l'échantillon L14.

- **Milieu Chapman :**

Un virage au jaune du milieu Chapman, ainsi que la présence de petites colonies jaune clair ont été observés pour l'échantillon L3. Ce changement de couleur est le témoin d'une acidification du milieu suite à la fermentation du mannitol. Pour l'autre échantillon, aucune colonie n'a été observée.

- **Milieu Sabouraud :**

Des colonies blanches et brillantes ont été observées pour les deux échantillons qui pourraient correspondre à des levures. Cependant aucune moisissure n'a poussée sur ce milieu.

2. Etude macroscopique

Les colonies isolées ont été observées à la loupe binoculaire. Le résultat de l'examen macroscopique est présenté dans le **Tableau IX**.

Tableau IX : Examen macroscopique des souches bactériennes sur différents milieux.

| Caractère Milieux | Souche | Forme | Relief | Contour | Taille | Surface | Opacité | Couleur | Consistance |
|-------------------|--------|-------|--------|---------|--------|---------|---------|---------|-------------|
| GN | S1A | IR | PT | ON | PE | LI | OP | BC | CR |
| | S1B1a | CI | PT | RE | PE | LI | OP | BC | CR |
| | S1B1b | CI | PT | RE | MOY | LI | OP | BC | CR |
| | S1B2 | CI | PT | RE | PE | LI | OP | BC | CR |
| | S1B4 | TR | PT | ON | GR | RUG | OP | BC | CR |
| | S1B6 | CI | PT | RE | PE | LI | OP | BC | CR |
| | S1B8 | CI | PT | RE | PE | LI | OP | BC | CR |
| PCA | S1B | CI | PT | RE | PE | LI | OP | BC | CR |
| | S1Aa | CI | PT | ON | GR | RUG | OP | JN | CR |
| | S1Ab | CI | PT | RE | PE | LI | OP | BC | CR |
| BEA | S1B | CI | OM | RE | MOY | LI | OP | BR | CR |
| SAB | S1A | CI | BOM | RE | MOY | LI | OP | BC | CR |
| | S1B | IR | COV | RE | PE | LI | OP | BC | CR |
| CHAP | S1B | CI | PT | RE | PON | LI | OP | JNC | CR |
| MRS | S1B | CI | PT | RE | PON | LI | TRN | BC | CR |

IR : Irrégulier ; **OP** : Opaque ; **PT** : Plate ; **PE** : Petite ; **LI** : Lisse ; **BC** : Blanche ; **CR** : Crémeuse ; **GR** : Grosse ;

CI : Circulaire ; **RE** : Régulier ; **IR** : Irrégulier ; **BC** : Blanche ; **RE** : Régulier ; **RUG** : Rugueuse ; **MOY** : Moyenne ; **PON** : ponctiforme ; **JN** : Jaune ; **COV** : Convexe ; **BOM** : Bombé ; **JNC** : Jaune Claire.

L'étude macroscopique a révélé que la plupart des souches forment des colonies circulaires, plates, opaques, de petites tailles, de surface lisse, et à bord réguliers. Mais d'autres aspects macroscopiques ont été également observés, tels que la forme irrégulière et le contour ondulé, le gros diamètre, un relief bombé et une surface translucide. Quelques exemples de souches purifiées sont présentés dans la figure ci-dessous (**Figure 10**).

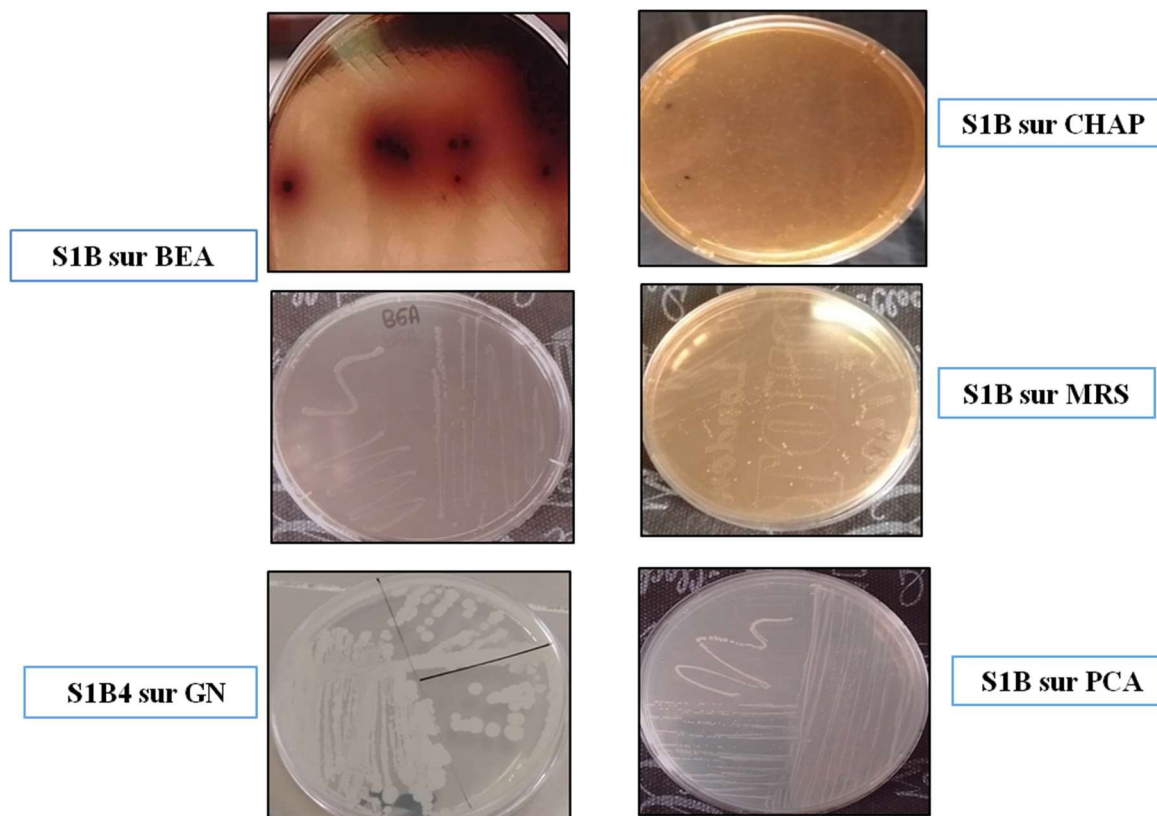


Figure 10 : Aspects de colonies isolées sur quelques milieux.

3. Etude microscopique

Après la coloration de Gram, tous les isolats ont été examinés sous microscope optique afin d'observer le type de Gram, ainsi que l'agencement, le regroupement et la présence ou l'absence de spores. Le résultat de l'examen microscopique est présenté dans le **Tableau X**.

Tableau X : Etude microscopique des isolats bactériens.

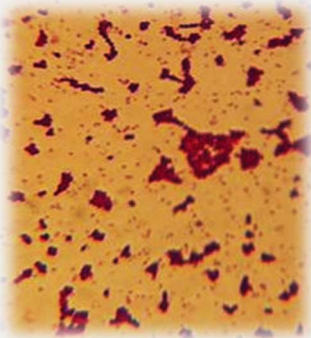
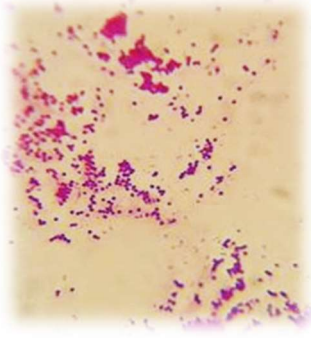
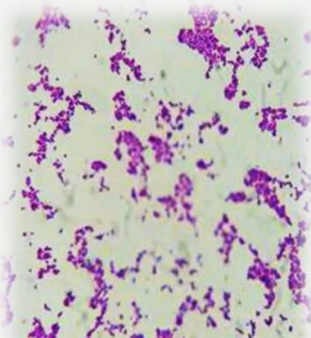
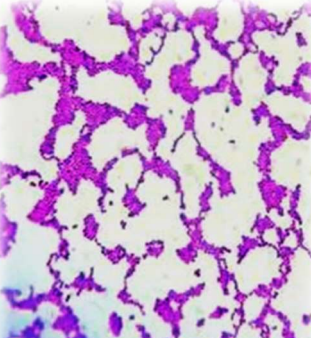
| Critères Souches | Gram | Agencement | Regroupement | Spores | Observation |
|------------------|------|------------|------------------------------|---------|---|
| S1Ab | + | Cocci | En amas | Absence |  |
| S1Ac | + | Cocci | En amas parfois en chaînette | Absence |  |
| S1B1a | + | Cocci | En amas parfois isolé | Absence |  |
| S1B1b | + | Cocci | Grappe de raisin | Absence |  |

Tableau X : Etude microscopique des isolats bactériens (Suite).

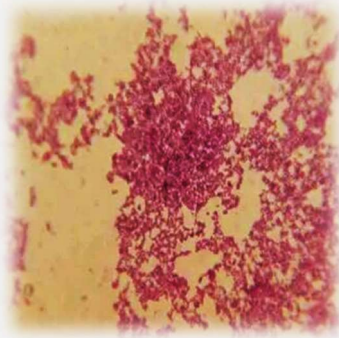
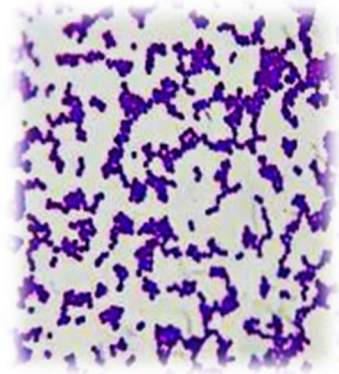
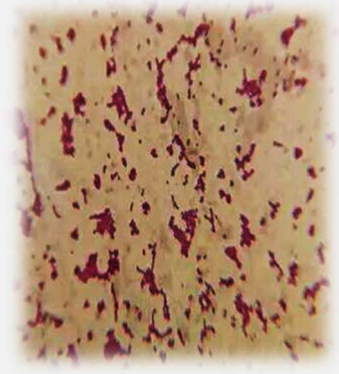
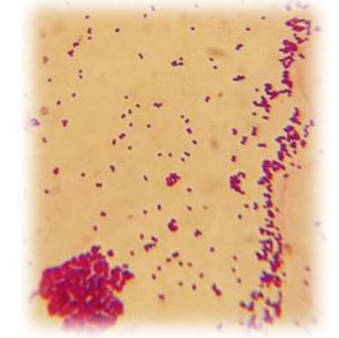
| Critères Souches | Gram | Agencement | Regroupement | Spores | Observation |
|------------------|------|------------|-------------------------------------|---------|---|
| S1B2 | - | Cocci | En amas parfois en chaînette | Absence |  |
| S1B4 | + | Cocci | En amas | Absence |  |
| S1B6 | - | Cocci | En amas parfois en grappe de raisin | Absence |  |
| S1B8 | + | Cocci | Isolé parfois en chaînette | Absence |  |

Tableau X : Etude microscopique des isolats bactériens (Suite).

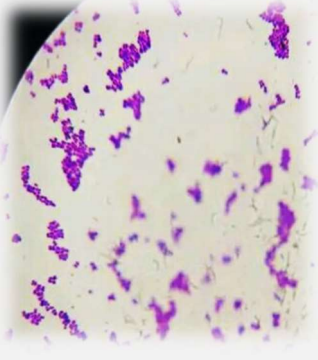
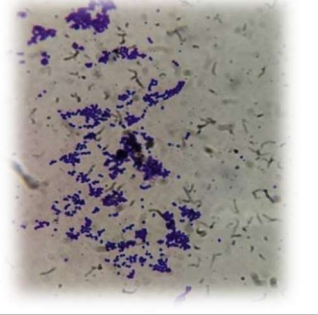
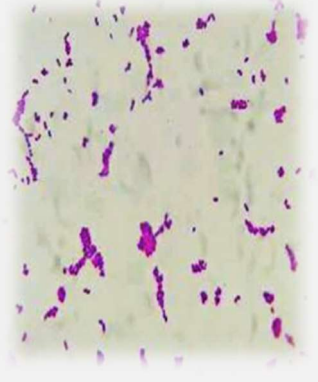
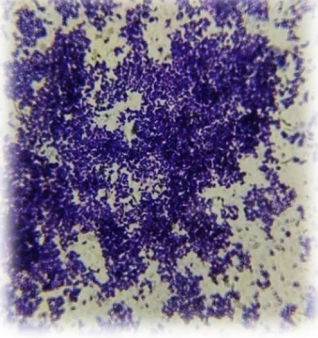
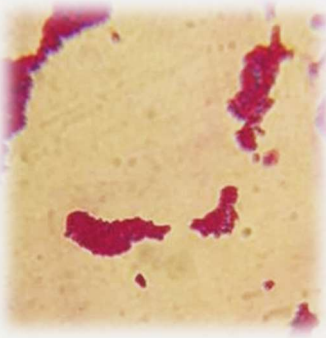
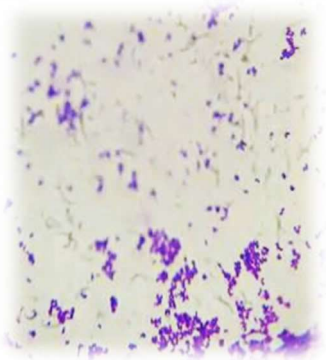
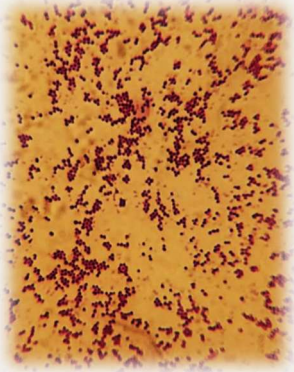
| Critères Souches | Gram | Agencement | Regroupement | Spores | Observation |
|------------------|------|------------|-------------------------------------|---------|---|
| S1A sur SAB | + | Cocci | Isolé parfois en chainette | Absence |  |
| S1B sur MRS | + | Cocci | En amas parfois isolé | Absence |  |
| S1B sur SAB | + | Cocci | Isolé parfois en chainette | Absence |  |
| S1B sur BEA | + | Cocci | En amas parfois en grappe de raisin | Absence |  |

Tableau X : Etude microscopique des isolats bactériens (Suite).

| Critères Souches | Gram | Agencement | Regroupement | Spores | Observation |
|---------------------|------|------------|-------------------------------------|---------|---|
| S1Aa sur PCA | - | Cocci | En amas parfois en grappe de raisin | Absence |  |
| S1Ab sur PCA | + | Cocci | En amas parfois isolé | Absence |  |
| S1B sur PCA | + | Cocci | En amas parfois en grappe de raisin | Absence |  |

Après la coloration de Gram, toutes les souches isolées étaient des Cocci à Gram positif agencées en amas, parfois isolées ou en chaînettes.

DISCUSSION

La composition bactérienne dans deux échantillons de lait prélevés à partir d'une lapine SS, élevée dans la région de Tizirt, a été étudiée. Malgré la haute teneur en éléments nutritifs du lait de lapine, les résultats obtenus ont révélé une faible diversité avec seulement 15 souches bactériennes isolées. Ce résultat peut être attribuée à la congélation préalable de nos deux échantillons ; un processus stressant pour les microorganismes qui peut inhiber leur croissance (Fonseca et *al.*, 2019 ; Belalli et *al.*, 2020).

Il est également important de noter que le nombre de souches isolées au début de la lactation (11 souches) est supérieur à celui de la deuxième semaine de lactation (4 souches). Il existe donc une variation dans la composition bactérienne du lait selon la période de lactation. Cette variation dans la composition bactérienne coïncide avec la variation du pH du lait de lapine durant la lactation. En effet, il a été remarqué que le pH au stade colostrale augmentait (7,44) pour ensuite baisser au cours de la deuxième semaine de lactation (Dib et *al.*, 2012 ; Vieira et *al.*, 2017). Il est connu que l'acidification du milieu perturbe les mécanismes cellulaires ainsi que le métabolisme des microorganismes, ralentissant ainsi leur croissance (Guan et *al.*, 2020).

L'isolement sur milieu BEA a montré un noircissement du milieu, dû à la dégradation de l'esculine en esculetine. Cependant, la coloration de Gram a révélé que les colonies qui ont poussées sur ce milieu n'étaient pas des entérocoques, qui se présentent habituellement sous forme de chaînettes. Il est possible qu'il s'agisse de staphylocoques, qui ont tendance à former des colonies en amas. Pour confirmer leur présence, des tests biochimiques supplémentaires seront nécessaires. Par ailleurs, il est important de noter qu'aucune bactérie coliforme n'a été isolée sur le milieu VRBL. Les entérocoques et les coliformes sont considérés comme des indices de contamination fécale (Jacob et *al.*, 2009). Les travaux réalisés par Yuan et *al.* (2022), ont montré que les entérocoques étaient présents en abondance dans le lait de vache. Une autre étude a également mis en évidence la présence de coliformes dans le lait de vache (Saidane et *al.*, 2023). Il est important de souligner qu'à notre connaissance, aucune étude sur la microflore du lait de lapine n'a été réalisée. La majorité des travaux ont été réalisés sur le lait de vache et de chèvre (Yenew et *al.*, 2022 ; Deddefo et *al.*, 2023).

Les résultats de la coloration de Gram ont indiqué que les souches obtenues à partir du milieu MRS ne correspondaient pas à des Lactobacillus. La croissance des bactéries lactiques nécessite des milieux très riches en nutriments et parfois même supplémentés en facteurs de croissance. En outre, ces bactéries ont une croissance lente (Desmazeaud, 1992 ; Kassas, 2017). Cependant, plusieurs lactobacilles ont été isolés dans le lait cru de vache (Taye et *al.*, 2021 ; Senjaliya et *al.*, 2023).

Suite à la coloration de Gram, il s'est avéré que toutes les colonies isolées sur le milieu Sabouraud étaient des bactéries. Ceci est dû à la faible sélectivité de ce milieu. Il aurait été plus judicieux d'opter pour le milieu PDA (Potato Dextrose Agar) pour l'isolement des levures et moisissures. Ce milieu est spécialement formulé pour favoriser la croissance de ces microorganismes, car il contient des éléments nutritifs dérivés de la pomme de terre et du dextrose, qui sont des sources de carbone favorables à la prolifération des souches fongiques. De plus, une étude réalisée par Raounek en 2022, a montré que le lait cru de vache contenait une proportion importante de levures et moisissures.

DISCUSSION

Les résultats obtenus ont également révélé l'absence de *Staphylococcus aureus* dans les échantillons de lait analysés. Les petites colonies jaunes pâles observées sur le milieu Chapman pourraient correspondre à d'autres staphylocoques capables de fermenter le mannitol. *Staphylococcus aureus* est fréquemment impliqués dans les mammites, notamment chez les vaches (Phophi et *al.*, 2019 ; Feyissa et *al.*, 2023). De ce fait, son absence témoigne de la bonne santé des mamelles de la lapine. Par ailleurs, la confirmation de cette absence pourrait être établie en élargissant la recherche de ce germe sur un plus grand nombre d'échantillons.

Il convient de souligner l'importance des avancées dans l'étude de la microflore du lait grâce à l'utilisation des méthodes moléculaires basées sur le séquençage du gène codant pour l'ARNr16S. Ces techniques ont radicalement transformé notre capacité à explorer et à comprendre la diversité microbienne dans le lait (Joishy et *al.*, 2019 ; Jiang et *al.*, 2020 ; Egger et *al.*, 2021).

CONCLUSION

L'objectif de ce travail était d'étudier la diversité bactérienne du lait de lapine de la SS algérienne. Pour cela, une approche bactériologique classique a été utilisée pour isoler et purifier les souches bactériennes en utilisant des milieux sélectifs. Au total, 15 souches pure ont été isolées à partir des deux échantillons de lait prélevés en début et en fin de lactation.

Cette étude nous a permis d'avoir un aperçu sur la diversité bactérienne dans le lait de lapine. Même si les résultats obtenus montrent une faible diversité, l'étude macroscopique des isolats a tout de même révélé la présence de colonies ayant des formes variées avec un contour ondulé, le diamètre gros, un relief bombé et une surface translucide. Aucune levure, ni moisissure n'ont été détectées dans les échantillons. En outre, le nombre de souches isolées en début de lactation (11 souches) était plus élevé qu'en fin de lactation (4 souches seulement), montrant ainsi une variation de la composition bactérienne du lait tout au long de la période de lactation. L'étude microscopique quant à elle, a montré que toutes les souches isolées étaient des Gram positives.

Par ailleurs, aucune bactérie coliforme, ni entérocoque n'ont été isolées, attestant de la bonne qualité bactériologique de ce lait de lapine. De plus, l'absence de *Staphylococcus aureus* indique que les mamelles de la lapine sont en bonne santé, et que les règles d'hygiène dans cet élevage de lapin sont parfaitement respectées.

Ce travail préliminaire contribuera à une meilleure connaissance de la composition microbienne du lait de lapine, ainsi que sur les conditions d'élevage dans la région de Tigzirt. Afin d'approfondir cette étude, il serait intéressant de la compléter en réalisant :

- Une identification biochimique des souches isolées ;
- Une caractérisation physiologique des souches isolées (pH, T°, Salinité) ;
- Une identification moléculaire (Séquençage, MALDI-TOF).

Il serait également pertinent de refaire cette étude sur lait de lapine frais, et de la compléter avec des analyses physico-chimiques.

Références bibliographiques

-A-

Abi Khalil R., Yvon S., Couderc C. 2023. Microbial communities and main features of labneh Ambaris, a traditional Lebanese fermented goat milk product. *Journal of Dairy Science*, vol. 106, no 2: p 868-883.

Amroun T., Bianchi L., Zerrouki-Daoudi N., Bolet G., Lebas F., Charlier M., Devinoy E., Martin Pet Miranda G. 2015. Caractérisation de la fraction protéique du lait produit par deux HG Types génétiques de lapine de la région de Tizi-Ouzou, *16èmes Journées de la Recherche Cunicole*, 24 et 25 novembre, Le Mans, France 222.

Amroun T. 2018. Impacte de la composition du lait sur la mortalité des lapereaux sous la mère dans deux types génétiques de lapine en Algérie : la population blanche et la souche synthétique. Thèse en Doctorat, option : Biologie Animale et végétale de l'université Mouloud Mammeri. Tizi-Ouzou, Algérie, P 219.

Al Sarraj K., White D.A., Mayer R. J. 1978. Purification and properties of casein from Mammary gland of lactating rabbits. *International Journal Biochemistry*. 9 : 269-277.

-B-

Barone R., Pavaux C., Blin P.C, Cuq P. 1973. Glandulae Sine Ductibus. In Atlas d'Anatomie du Lapin, Paris : Masson & Cie : P 185-190.

Begunova A.V., Rozhkova I.V., Zvereva E.A. 2019. lactic and propionic acid bacteria : the formation of community for the production of functional products with bifidogenic and hypotensive properties. *Applied biochemistry and microbiology*, vol, 55: p 660-669.

Berchiche M., Kadi S.A. 2002. The Kabyle rabbits (Algeria). Options Méditerranéennes, série B (étude et recherches) 38 : P 11-20.

Bellali S., Khalil J. B., Fontanini A. 2020. A new protectant medium preserving bacterial viability after freez drying. *Microbiological research*, vol. 236 : p 126-454.

Boucher S., Martin K., Le Bourhis C., Simonneau V., Ripoll P.J. 2007. Evolution de la composition chimique du lait d'une souche de lapines de laboratoire au cours d'une lactation. *12èmes Journées de la Recherche Cunicole*, 27-28 novembre, Le Mans, France.

Bösze Zs., Devinoy E., Puissant C., Fontaine M. L., Houdebine L. M. 1993. Characterisation of the rabbit kappa-casein Edna: control of kappa-casein gene expression in vivo and in vitro. *Journal of endocrinology and metabolism*. 11 : P 9-17.

Baptiste Senatore. 2022. Staphylococcus aureus producteurs de toxines : une année d'observation au centre hospitalier universitaire de Caen. Sciences pharmaceutiques.

Brun, J.M., Bolet, G., Theau-Clément, M., Esparbié, J., Falières, J. 1999. Constitution d'une souche synthétique de lapins INRA : 1. Evolution des caractères de reproduction et du poids des lapines dans les premières générations. *8èmes Journées de la Recherche Cunicole*, Paris, France, 9-10 Juin : P 123-126.

BONAITI, C. 2004. Approche dynamique des fonctions et des interactions microbiennes dans un écosystème reconstitué par une méthode d'omission : exemple de l'affinage du fromage de Livarot. Thèse de Doctorat. Paris : *Institut Nationale Agronomique Paris-Grignon*.

BOUTON, Y. 2014. Groupes microbiens des laits de bovins et facteurs de variation. *Réseau fromages de terroirs*.

-C-

Coates M.E., Gregory M.E., Thompson S.Y. 1964. The composition of rabbit's milk. *British journal of nutrition*. 18: P 583-586.

CHOLET, Orianne, 2006. Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire. *Institut Nationale Agronomique Paris-Grignon*.

-D-

Dawson S.P., Wilde C. J., Tighe P. J., Mayer R.J. 1993. Characterization of two novelcasein transcripts in rabbit mammary gland. *Biochimical Journal*. 296: 777-784.

Dayal R., Hurlimann J., Suard Y. M. L. and Kraehenbuhl J.P. 1982. Chemical and Immunochemical characterization of caseins and the major whey proteins of rabbit milk. *Biochemistry*. J. 201: P 71- 79.

Debnath J., Muthuswamy S.K., Brugge J.S. 2003. Morphogenesis and oncogenesis of MCF-10A mammary epithelial acini grown in three-dimensional basement membrane Cultures. *Elsevier*, (3): P 256-268.

Deddefo A., Mamo G., Asfaw M., Amenu K., 2023. Facteurs affectant la qualité microbiologique et la contamination du lait de ferme en vrac par *staphylococcus aureus* dans les fermes laitières d'Asella, en Ethiopie. *BMC. Microbiologie*, 23 (1) : P 1-13.

Delouis C., Houdebine L.M., Richard P. 2001. La lactation. La Reproduction chez les Mammifères et l'Homme. Thibault C, Levasseur MC. *Ellipses-INRA Editions* : P 580-610

Desmazeaud, M. 1992. Les bactéries lactiques in Hernier, J., Lenoir, J. et Webert. Les groupes microbiens d'intérêt laitier. *Lavoisier* : P 9-57.

Dib H., Hajj Semaan E., Mrad R., Ayoub J., Choueiry L., Moussa H., Bitar G. 2012. Identification et évolution de l'effet probiotique des bactéries lactiques isolées dans des fromages caprins traditionnels. *Lebanese science journal* 13(1): P 43-48.

Djago Y A., Kpodekon M., Lebas F.2007, Élevage du lapin en milieu tropical – Chapitre 5 Conclusions et Bibliographie : P 69.

-F-

Feyissa N., Alemu T., Birri D., Dessalegn A. 2023. Isolation, identification, and determination of antibiogram characteristics of *Staphylococcus aureus* in cow milk and milk products (yoghurt and cheese) in west showa zone, Ethiopia. *International daily journal* 137 : P 102-203.

Florence V2015. Diversité intra-spécifique des microorganismes du lait : prise en compte et conservation. *14. Journée de l'animation transversale " Glande Mammaire, Lait , Paris, France.*

Fonseca F., Pénicaud C., Tymczynszyn E. E.2019. Factors influencing the membrane fluidity and the impact on production of lactic acid bacteria starters. *Applied microbiology and biotechnology, vol. 103: p 6867-6883.*

Fortun-Lamothe, L., Bolet, G., 1995. Les effets de la lactation sur les performances de reproduction chez la lapine. *INRA Productions Animales* 8: P 49-56.

Fortun-Lamothe L.2006. Energy balance and reproductive performance in rabbit does. *Animal reproduction science.*93 : P 1-15.

Fournier A. 2014. *Artemis éditions illustrated.* Elevage des lapins France : P 96.

-G-

Gacem M., Bolet G.2005. Création d'une lignée issue du croisement entre une population locale et une souche européenne. *11ème journée de la recherche cynicologique, 29-30 novembre, Paris, p 15-18.*

Grasse P. P., 1949. Traité de zoologie Anatomie, Systématique, Biologie. Paris : *Ed. Masson et Cie:* 979 p.

Guan, Ningzi et Liu, Long. 2020. Microbial response to acid stress: mechanisms and applications. *Applied microbiology and biotechnology, vol. 104, no 1: p 51-65.*

Guiraud J.P. 2003. Microbiologie Alimentaire. Edition DUNOD. Paris. P: 136-139.

-H-

Hassan.N.S.2005. Animal model evaluation and some genetic parameters of milk production in New Zealand White and Baladi Black rabbit using .DF-REML procedure. 4th International conference on Rabbit production.in hot climates, EL-Sheikh, Egypte. 24-27 February : P 55-64.

Hanoune, S., Djeghri-Hocine, B., Kassas, Z., Derradji, Z., Boudour, A. et Boukhemis, M. 2015. Optimization of *Lactobacillus fermentum* DSM 20049 Growth on Whey and Lupin Based Medium Using Response Surface Methodology. *Advance Journal of Food Science and Technology* 9 (9): 679-685.

HARLÉ, O .2020. Identification des interactions positives entre bactéries lactiques en fermentation de jus de soja. Thèse de doctorat. Rennes, Agrocampus Ouest.

Holt C. 1992. Structure stability of bovine casein micelles. Dans *Advanced in Protein Chemistry*, 43: 63-151.

Hudson R., Schaal B., Martínez-Gómez M., Distel H. 2000. Mother-young relations in the European rabbit: physiological and behavioural locks and keys. *World rabbit science*, 8 : P85-90

Hue Beauvais C. 2014. Périodes critiques pour la croissance et le développement mammaire lors d'une alimentation obésogène, chez la lapine et la souris : Implication de la leptine. Thèse de doctorat option : physiologie. Université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines école doctorale des génomes aux organismes. Paris, France.

Hue-Beauvais C., Cathy., Aujean., Etienne., Miranda., Guy.2019. Impact of exposure to diesel exhaust during pregnancy on mammary gland development milk composition in the rabbit. *Plos*, vol.14, no 2 : P 132-212.

-I-

Ion, V-V.2020. Prise en charge d'une épidémie d'entérocoques résistants aux glycopeptides. *Sciences du Vivant [q-bio]*.

-J-

Junior J.C.R., Peruzi G., Bruzaroski S.R. 2019. Effect of bactofugation of raw milk on counts and microbial diversity of psychrotrophs. *Journal of dairy science*, 2019, vol. 102, no 9: p 7794-7799.

-K-

Kassas Zohra., 2017. Croissance de souches de bactéries lactiques d'intérêts technologiques et/ou probiotiques sur MRS végétal modifié Thèse de doctorat, *Université Badji Mokhtar-Annaba*.

Krzywonos, M. et Eberhard, T. 2011. Highdensity process to cultivate *Lactobacillus plantarum* biomass using wheat stillage and sugar beet molasses. *Electronic Journal of Biotechnology* 14 (2).
Kurbanoglu, E.B. 2004. Enhancement of lactic acid production with ram horn peptone by *Lactobacillus casei*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 20: P 37-42.

-L-

Labussirère J.1985. Composition du lait et technique de trait chez quelque espace domestique. *Bull. Threix, INRA*, 61 : P 49-58.

Lebas F.1970. Alimentation et croissance du lapereau sous la mère (feed intak and growth of rabbit before weaming). *Recueil de Médecine Vétérinaire* .146 : P 1066-1070.

Lebas F., 1971. Composition chimique du lait de lapine, évolution au cours de la traite et enFonction du stade de lactation. *Annales Zootechnie.*, 20 (2) : P 185-191.

Lebas F., Besançon P., Abouyou A. 1971. Composition minérale du lait de lapine. Variations en fonction du stade de lactation. *Annales Zootechnie*, 20 (4) : P 487-495.

Lebas F., Coudert P., Rouvier R. et De Rochambeau H. 1984. Le lapin : élevage et pathologie. F.A.O. Éd. Rome : 298 p.

Lebas F., Coudert P., Rouvier R., de Rochambeau H. 1986. The rabbit: Husbandry and Health. *FAO Animal Production and Health Series*, no. 21: P 202.

Lebas, F., Coudert P., De Rochambeau, H., Thébault RG.1996. Le lapin élevage et pathologie (nouvelle édition révisée). *FAO éditeur*, Rome: P 227.

Lebas F.2000. Overview of rabbit production in the world. *Animal WRSA Chinese Branch Meeting.Ning,Ningbo* (chine) 22-23 December: P 8.

Lebas F. 2002. 2^{ème} Congrès de Cuniculture des Amériques.

Lebas F., 2006. Alimentation et santé digestive chez le lapin. Une journée organisée en juillet 2006 par l'ASFC et l'AFTAA. *Cuniculture Magazine*, 33 : 63-70.

Lebas F.2007. Acide gras en Oméga 3 dans la viande de lapin Effets de l'alimentation. *Cuniculture Magazine* Vol 34 : P 15-20.

Lebas F., Zerrouki N.2011. Méthode de mesure de la production laitière de lapine. 14^{ème} journées de recherche cunicole. 22, 23 novembre 2011, Le Mans France.

-M-

Magnusson M., Christiansson A., Svensson B.2007. Bacillus cereus spores during housing of dairy cows: factors affecting contamination of raw milk. *Journal of dairy science*, vol. 90, no 6: P 2745-2754.

Maertens L., Lebas F., Szebdro Zs, 2006b. Rabbit Milk: A review of quantity, quality and non-dietary affecting factor. *World rabbit science*, 1: P 205-30.

Mazari, F., Kaci, S., 2016. Le lapin de population locale algérienne (*Oryctolagus Cuniculus*) : performances de reproduction, de croissance, et état sanitaire (synthèse bibliographique). Projet de fin d'étude en vue de l'obtention de diplôme de docteur vétérinaire. *Institut des Sciences Vétérinaire- Blida* : P 66.

McNitt J.I., Lukefahr S.D. 1990. Effect of breed, parity, day of lactation and number of kits on milk production of rabbits. *Journal of animal science*, 68 : P 1505-1512.

Mhaya, A.2019. Analyse de la résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries et étude d'une potentielle voie alternative aux traitements antibiotiques. Médecine humaine et pathologie. Université de Bordeaux; Université de Sfax (Tunisie). Français.

Moumen S., Ain Baziz H., Temim S. 2009. Effet du rythme de reproduction sur les Performances zootechniques des lapines de population locale Algérienne (*Oryctolagus Cuniculus*). *Livestock Reserche for Rural Development*.

Moellering RC.1992. Emergence of Enterococcus as a Significant Pathogen. *Clinical Infectious Diseases*. 1 juin ;14 (6): 1173-8.

-N-

Necula D., Ilea A., Coman I.2021. Characteristic of the composition and bioactive properties of mountain milk used for emmental cheese making-review. *Scientific Papers: Series D, Animal Science-The International Session of Scientific Communications of the Faculty of Animal Science*, vol. 64, no 1.

-P-

Perez D., Rodriguez C., Zhurbenko R., 2010. Aspects fondamentaux du genre Entérocoques en tant qu'agent pathogène très important aujourd'hui. *Journal cubain d'hygiène et d'épidémiologie* 48 (2) : P 147-161.

Phophi L., Petzer I., Qekwana D.N. 2019. Modèles de résistance aux antimicrobiens et formation de staphylococcus à coagulase négative isolées à partir d'échantillons de lait de vache présentant une mammite subclinique. *Recherche vétérinaire BMC* 15 : P1-9.

-R-

Reuben R. C., Roy P. C., Sarkar S. L., Alam A. R. U., Jahid I. K., 2020. Characterization and evaluation of lactic acid bacteria from indigenous raw milk for potential probiotic properties. *Journal of dairy science*, 103(2): 1223-1237

Rommers J.M., 2004. Breeding of young females does proceedings. Eighth world rabbit congress- september 7-10, puebla, Mexico: P 1518-531.

-S-

Schaerer E., Devinoy E., Kraehenbuhl J. P. and Houdebine L. M. 1988. Sequence of therabbit //-casein eDNA: comparison with other casein cDNA sequences. *Nuclie acids research*, 16: 11814.

Schmidt.D.G.1980. Colloidal aspect of casein. *Netherlands milk and dairy journal*. 34 : P 42-64.

Senjaliya D., George J. 2023. Caractérisation fonctionnelle de *Lactobacillus plantarum* isolé du lait de vache et développement d'une boisson mélangée à base de jus de noix de coco et de carotte fermentés. *Microbiologie actuelle* 80 (5) : 139.

Soni MM., Anjaria P., Bhavsar P., Nayak J., Chaudhary J., Brahmnhatt M. 2022. Isolement et détection moléculaire d'*Enterococcus faecalis* dans le lait de vache de la ville d'Anand avec une référence particulière à la production de biofilms et à la résistance aux médicaments multiples. *Journal indien des sciences vétérinaires et de la biotechnologie* 18 (4) : P 6-9.

-T-

Taye Y., Degu T., Fesseha H., Mathewos M. 2021. Isolement et identification des bactéries lactiques du lait de vache et des produits laitiers. *Le journal du monde scientifique*.

Testud M., Rbadeau-Dumas B. 1973. Etude des caséines du lait de la lapine. *Biochimie* 55 : P 1085 109.

Theau-Clément M, 2008. Facteurs de réussite de l'insémination : analyse chez la lapine et méthode d'induction de l'oestrus. *INRA productions animales* 21(3) : P 221-230.

Tuieulon M.2005. Lait pathogène staphylocoques. *Revue de la chambre d'agriculture du Cantal*, vol. 12.

-U-

Uniach L., HappertzT., Fox. 2010. Equine Milk proteins: Chemistry, Structure and nutritional significance. *International daily journal*. 2 : P 609-29.

-V-

Vieira M.L., Comes A.M., Pires E.M., MachadoR., Martins L. 2017. Principaux facteurs influençant la composition du lait de lapine. Une revue. *Science mondiale du lapin*, 25(2) : P 145-158.

-W-

WalstraP. 1990. On the stability of casein micelles. *Journal of Dairy Science*, 73: P 1965-1979.

Wattiaux M.A., Karg K.L.2004. Protein level for alfalfa and corn silage-based diets: I. Lactational response and milk urea nitrogen. *Journal of Dairy Science*, vol. 87, no 10: p. 3480-3491.

-Y-

Yenew C., Tadele F., Minuye B., Sisay E., Asmamaw T., Mulatu S., Demissie B. 2022. Contenu nutritionnel du lait cru de vache et prédateurs de la qualité microbiologique des producteurs laitiers de la zone du sud de Gondar en Ethiopie. *Hélyon* 8 (10).

Yuan H., Han S., Zhang S., Xue Y., Zhang Y., Lu H., Wang S., 2022. Propriétés microbiennes du lait cru tout au long de l'année et leurs relations avec les paramètres de qualité. *Aliments* 11 (9) : P 30-77.

-Z-

Zerouki N., Lebas F., Berchiche M., Bolet G.2005. Evaluation of milk production of in Algerian local rabbit population raised in the Tizi-Oozou area (Kybylia). *World Rabbit Science*. 13(1) : P 39-47.

Zerrouki N.2006. Caractérisation d'une population locale de lapin en Algérie ; évaluation des performances de reproduction des lapines en élevage rationnel. Thèse de doctorat, université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou : 131.

Zerrouki N.,Kadi S.A.,Lebas F., Bolet G.2007. Characterization of a Kabyle population of Rabbits in Algeria: *Birth to weaning growth performance*. *World rabbit science*, 15: P 111-114.

Zerrouki N., Lebas F., Gacem M., Meftah I., Bolet G., 2014. Reproduction performances of a synthetic rabbit line and rabbits of local populations in Algeria, in 2 breeding locations.*World rabbit science*, 22: 269-278.

Annexes

Annexe I

❖ Milieux de culture :

| Milieux liquide | Milieux solide |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none">-Bouillon BHIB (Brain Heart Infusion)-Bouillon MRS (Man, Rogosa et Sharpe).-Bouillon Chapman. | <ul style="list-style-type: none">-Gélose GN.-Gélose PCA.-Gélose BEA.-Gélose VRBL.-Gélose MRS.-Gélose Chapman.-Milieu Sabouraud. |

Composition des milieux de culture cités :

❖ Gélose nutritive (GN)

Composition en g/l

| | |
|-------------------------|-----|
| Peptone..... | 5g |
| Extrait de viande..... | 1g |
| Extrait de levure..... | 2g |
| Chlorure de sodium..... | 5g |
| Agar-agar..... | 15g |

PH du milieu prêt à l'emploi 7,4+/-0.2 à 25°C

❖ Gélose PCA

Composition en g/l

| | |
|------------------------------------|------|
| Trypton..... | 5g |
| Extrait autolytique de levure..... | 2,1g |
| Glucose..... | 1g |

Agar.....15g
PH du milieu prêt a l'emploi 7,4+/-0,1 a 15°C.

❖ **Gélose BEA**

Composition en g/l

Peptone tryptique.....17g
Peptone peptique de viande.....3g
Extrait de levure.....5g
Bile de bœuf déshydraté.....10g
Chlorure de sodium.....5g
Citrates de sodium.....1g
Esculine.....1g
Citrates de firmmoniacal.....0.5g
Gélose.....13g

PH de milieu prêt à l'emploi 7,1+/-0,2 à °C.

❖ **Gélose VRBL**

Composition en g/l.....7g
Peptone.....5g
Chlorure de sodium.....3g
Rouge neutre0,03g
Sels biliaire1,5g
Cristal violet.....0,002g
Lactose.....10g

pH de milieu prêt à l'emploi 7,5+/-0,2 à 25°C.

❖ **Gélose MRS**

Composition en g/l

Peptone.....10g
Extrait de viande.....8g
Extrait de levure.....4g
Citrates d'ammonium.....2g
Tween 80.....1ml

Résumé

Grace à sa richesse en nutriments, le lait de lapine permet une bonne croissance des lapereaux. Cependant, cette richesse favorise la prolifération de différents microorganismes, notamment des pathogènes. L'objectif de ce travail, est l'étude de la diversité bactérienne d'un lait de lapine de la souche synthétique, collecté au 3^{ème} et 14^{ème} jour de lactation dans la région de Tizirt.

Cette étude a permis l'isolement de 15 souches bactériennes : 11 souches en début de lactation et 4 souches à la fin de la seconde semaine de lactation. La plupart des colonies ont un contour ondulé, un gros diamètre, un relief bombé et une surface translucide. En outre, la totalité des souches isolées étaient des Cocci à Gram positif. De plus, cette analyse a révélé l'absence des coliformes et des entérocoques, qui sont considérés comme des marqueurs de la contamination fécale. L'absence de *Staphylococcus aureus* témoigne de la bonne santé des mamelles de la lapine, et nous renseigne également sur les bonnes pratiques d'élevage dans cette région.

Ces travaux constituent une étude préliminaire qui permet d'avoir une idée globale sur la diversité bactérienne du lait de lapine.

Mots clés : Cuniculture, Souche Synthétique, Lait de lapine, Microflore.

Abstract:

Thanks to its richness in nutrients, rabbit milk allows good growth of rabbits. However, this richness promotes the proliferation of different microorganisms, particularly pathogens. The objective of this work is the study of the bacterial diversity of rabbit milk of the synthetic strain, collected on the 3rd and 14th day of lactation in the Tizirt region.

This study allowed the isolation of 15 bacterial strains: 11 strains at the start of lactation and 4 strains at the end of the second week of lactation. Most colonies have a wavy outline, a large diameter, a rounded relief and a translucent surface. In addition, all of the strains isolated were Gram-positive Cocci. In addition, this analysis revealed the absence of coliforms and enterococci, which are considered markers of fecal contamination. The absence of *Staphylococcus aureus* testifies to the good health of the rabbit's udders, and also tells us about good breeding practices in this region.

This work constitutes a preliminary study which provides an overall idea of the bacterial diversity of rabbit milk.

Keywords: Rabbit farming, Synthetic strain, Rabbit milk, Microflora.