

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biologie



Mémoire de fin d'études

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biologie des populations et des organismes

Thème

*Etude préliminaire de la flore bactérienne
du lait de lapine de population blanche*

Soutenue le : 13/07/2023

Présenté par : Melle Djeroum Sarah et Melle Bouksil Amina.

Devant le jury composé de :

| | | |
|---|-----|-------|
| Présidente : M ^{me} Taleb K. | MCA | UMMTO |
| Promotrice : M ^{me} Asmani K.L. | MCA | UMMTO |
| Co-Promotrice : M ^{me} Amroun T.T. | MCA | UMMTO |
| Examinatrice : M ^{me} Dermeche S. | MCB | UMMTO |

Promotion : 2022/2023

Remerciements

Nous tenons d'abord à remercier Dieu pour volonté et le courage qu'il nous a donné pour mener à terme ce travail. C'est avec enthousiasme que nous voudrions rendre mérite à tous ceux qui nous ont aidé de près ou de loin dans l'élaboration de ce mémoire.

Nous voudrions exprimer notre gratitude à Madame Katia.Louiza Maitre de Conférences classe A à l'Université Mouloud Mammeri qui nous a fait l'honneur d'accepter d'être notre promotrice, de nous diriger tout au long de notre travail et pour toute l'aide et le temps qu'elle nous a consacré, nous la remercions pour sa patience et ses encouragements.

On exprime notre reconnaissance à notre co-promotrice, Madame Amroun T.T. Maitre de Conférences classe A à l'Université Mouloud Mammeri.

Nous voudrions aussi exprimer nos sincères remerciements à Madame Taleb K. Maitre de Conférences classe A à l'Université Mouloud Mammeri, pour avoir accepté de présider ce jury, ainsi qu'à Madame Dermeche S., Maitre de Conférences classe B à l'Université Mouloud Mammeri, qui a bien voulu nous accorder une partie de son temps pour examiner et juger ce travail.

Un grand merci.

Sincèrement Amina et Sarah.

Sommaire

| | |
|--|----|
| INTRODUCTION | 1 |
| CHAPITRE I : GENERALITES SUR LE LAPIN | |
| 1-Généralités sur le lapin..... | 3 |
| 1.1 Systématique | 3 |
| 1.2. Elevages du lapin | 4 |
| 1.2.1 Elevage du lapin en Algérie | 4 |
| 2. Lactation et allaitement | 5 |
| 2.1 Lactation..... | 5 |
| 2.1.1 Croissance folliculaire | 5 |
| 2.1.2 Glandes mammaires..... | 5 |
| 2.1.2.1 Développement des glandes mammaires | 5 |
| 2.1.2.2 Structure et fonction des glandes mammaires..... | 6 |
| 3.1.3 Mécanismes de sécrétion du lait | 7 |
| CHAPITRE II : LAIT DE LAPINE | |
| 1. Composition chimique du lait de lapine..... | 9 |
| 2. Microflore du lait | 10 |

PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIEL ET METHODE

| | |
|---|----|
| Cadre de l'étude | 13 |
| 1. Matériel | 13 |
| 1.1 Appareils, verreries et réactifs..... | 13 |
| 1.2 Milieux de culture | 14 |
| 1.3 Echantillons de lait | 14 |
| 2. Méthodes | 14 |
| 2.1 Prélèvements | 14 |
| 2.2 Préparation des milieux..... | 15 |
| 2.3 Etude de la microflore du lait..... | 15 |
| 2.3.1 Isolement des souches bactériennes..... | 15 |
| 2.3.2 Purification des souches..... | 16 |
| 2.3.4 Etude macroscopique | 17 |
| 2.3.5 Etude microscopique..... | 17 |
| a. Préparation du frottis | 18 |
| b. Coloration et explication | 18 |

RESULTAT ET DISCUSSION

| | |
|-------------------------------------|----|
| 1. Résultats | 20 |
| 1.1 Résultats macroscopiques | 20 |
| 1.2 Observation macroscopique | 21 |
| 1.2 Résultats microscopiques | 22 |
| 2. Discussion | 24 |

| | |
|----------------------------------|----|
| CONCLUSION GENERALE | 27 |
|----------------------------------|----|

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXE

RESUME

Liste des abréviations

MRS: Man, Rogosa, Sharpe

VRBL: Violet Red Bile Agar with Lactose

BEA: Bile Esculine Azide de sodium

SAB: Sabouraud

GN: Gélose nutritive

PCA: Plate Count Agar

BHI: Brain Heart Infusion

LH et FSH: Luteizing hormone et Follicle stimulating hormone

Pg: Picogramme

Atm: Atmosphere

Hg: Mercure

PB : Population blanche

DL : Début de lactation

FL : Fin de lactation

SS : Souche synthétique

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1: Lapin de la population blanche..... | 3 |
| Figure 4: Glandes cutanées et mamelles chez la lapine | 9 |
| Figure 7: Etapes de l'ensemencement du lait dans les différents milieux de cultures..... | 21 |
| Figure 8: Réalisation de l'ensemencement avec la technique des trois quadrants | 22 |
| Figure 9: Aspects des colonies formées sur quelques milieux..... | 27 |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau I: Synthèse bibliographique portant sur le poids vifs obtenus pour le lapin kabyle (locale) à différents âges | 4 |
| Tableau II: Composition biochimique du lait de lapine comparée aux autres laits de mammifères | 9 |
| Tableau III: Différents types d'isolats obtenus dans chaque milieu ainsi que le nombre de souches purifiées | 20 |
| Tableau IV: Caractères cultureux des souches obtenues | 21 |
| Tableau V: Résultats de l'étude microscopique des isolats bactériens | 23 |
| Tableau VI: Matériel utilisé au cours de l'expérimentation | 36 |
| Tableau VII: Composants de la gélose MRS | 37 |
| Tableau VIII: Composants de la gélose BEA | 37 |
| Tableau IX: Composants de la gélose Sabouraud | 38 |
| Tableau X: Composants de la gélose VRBL | 38 |
| Tableau XI: Composants de la gélose Chapman | 39 |
| Tableau XII: Composants de la gélose PCA | 39 |
| Tableau XIII: Composants de la gélose nutritive GN | 40 |
| Tableau XIV: Composants du bouillon BHIB | 40 |

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Pour le lapereau, comme pour les autres jeunes mammifères, le lait maternel constitue le seul aliment au tout début leur vie, avant qu'ils ne puissent digérer d'autres types d'aliments. La croissance de ces animaux est en fonction de la quantité de lait ingérée et de sa qualité. Le lait est un liquide biologique comestible, généralement de couleur blanchâtre produit par les glandes mammaires des mammifères femelles. Aliment complet et équilibré, il est la seule source de nutriments pour les jeunes mammifères au tout début de leur vie avant qu'ils puissent digérer d'autres types d'aliments.

Le lait de lapin contient une teneur équilibrée en matière grasse, en vitamines et minéraux essentiels pour le développement des lapereaux. Le lait en début de lactation est de couleur jaunâtre, il présente une composition différente et est appelée colostrum. Ce dernier est très riche du point de vue nutritionnel et porte les anticorps de la mère qui réduisent ainsi le risque de nombreuses maladies chez le nouveau né.

Du fait de sa composition physico-chimique, le lait est un excellent substrat pour la croissance microbienne. De ce fait, le lait comporte une flore originelle et une flore de contamination. Il s'agit principalement des germes saprophytes provenant des mamelles et des canaux galactophores (microcoques, streptocoques lactiques, lactobacilles, etc.). Des germes pathogènes peuvent être présents lorsque le lait est issu d'un animal malade (Staphylocoques par exemple). Le lait peut se contaminer à partir de diverses sources, telles que les fèces et les téguments de l'animal (Coliformes, Entérocoques, Clostridium, Salmonelles, etc.).

L'objectif de ce travail est l'étude de la diversité bactérienne du lait de la lapine d'une population blanche élevée dans la région de Tizirt.

Ce mémoire est scindé en deux parties :

- La première partie consiste en une synthèse bibliographique sur la reproduction des lapins, la lactation chez la lapine, ainsi que sur la composition du lait.
- La seconde partie est expérimentale. La méthodologie utilisée pour l'isolement des différentes souches dans le lait de la lapine, ainsi que les principaux résultats obtenus sont présentés dans cette partie. L'ensemble de ces résultats sont discutés pour en dégager des conclusions et des perspectives.

Chapitre I :
GENERALITES SUR LE
LAPIN

1. Généralités sur le lapin

Le lapin (*Oryctolagus Cuniculus*) est un petit mammifère vertébré (ayant une colonne vertébrale). Cet animal était autre fois classée dans l'ordre des rongeurs mais il a été finalement classé dans celui des lagomorphes (lièvres, lapins, etc). C'est un animal à mœurs crépusculaires et nocturnes, constructeurs de terriers en pleine nature. Avant la mise bas, la femelle construit un nid avec ses poils et les matériaux secs de son environnement (herbes ou feuilles sèches). C'est aussi un animal calme, peu bruyant, docile et qui aime être traité avec beaucoup de douceur (Kpodekon et al., 2018).

1.1 Systématique

D'après Linné (Ammaliumspecierum 1759), le lapin domestique se situe dans la classification taxonomique suivante (Figure 1) (Amroun et al., 2018).

- Règne : Animal
- Embranchement : Vertébrés
- Classe : Mammifères
- Ordre : Lagomorphes
- Famille : Léporides (lièvre et lapin)
- Genre : *Oryctolagus*
- Espèce : *Oryctolagus Cuniculus*



Figure 1 : Lapin de la population blanche (*Oryctolagus cuniculus*)

(<https://www.pexels.com/fr-fr/chercher/lapin/>).

1.2. Elevages du lapin

En perpétuelle évolution, la production de viande de lapin a été estimée à 1 841 000 tonnes de carcasses (Lebas et Colin, 2000), alors qu'en 1984, elle était estimée à 1 million de tonnes. Plus de la moitié de la production (52,9 %) provient de l'Europe ou la demande est très forte, suivie par l'Asie avec 30,8 % dont la grande partie revient à la chine qui se place au premier rang mondial avec 417 000 tonnes de carcasses par an. L'Afrique en produit 10,8% dont 60,8% proviennent de l'Afrique du Nord (15 000 tonnes/an pour l'Algérie) (Gidenne, 2007).

1.2.1 Elevage du lapin en Algérie

Le lapin de la population algérienne est issu des programmes de développement de la filière cunicole. En effet, durant les années 70, l'Algérie a importé quelques individus de races pures (**Néo-Zélandais, Californiens, Fauve de Bourgogne**) élevés à la coopérative de Draa Ben Khada. Un autre programme a été lancé en 1985 et 1986. Une importation de l'hybride « Hyplus » commercialisé par Grimaud frères (France) a été initiée dans la région centre par l'ORAC, à l'ouest par l'ORAVIO et à l'est par l'ORAVIE. Cette population de phénotype albinos dominant, est décrite comme plus prolifique (multiplication rapide) avec un poids plus important que la population kabyle locale (**Zerrouki et al., 2007**).

Cette population blanche présente une bonne adaptation aux conditions climatiques locales ; elle est principalement utilisée dans la production de viande même si sa prolificité et son poids adulte sont trop faibles pour être utilisables en l'état dans des élevages de chair à réel potentiel économique. La productivité numérique enregistrée chez les femelles de cette population est de l'ordre de 25 à 30 lapins sevrés /femelle /an (**Berchiche et Kadi, 2002 ; Gacem et Bolet, 2005; Zerrouki et al., 2005**).

La population locale (kabyle) de lapin a fait l'objet de plusieurs études essentiellement zootechniques (**Tableau I**). Cette population qui appartient à la région de Tizi Ouzou, est caractérisée par un poids adulte moyen de 2,8 Kg, ce qui lui a valu une classification dans le groupe des races légères, comme les lapins Hollandais et Himalayens (**Zerrouki et al., 2001 ; Zerrouki et al., 2005 ; Zerrouki-Daoudi., 2006 ;Zerrouki et al., 2007**).

Tableau I : Synthèse bibliographique portant sur les poids vifs obtenus pour le lapin kabyle (population local) à différents âges.

| Age (semaine) | Poids (Kg) | Classe II (Adulte) | Références |
|---------------|------------|--------------------|---|
| | | Poids (Kg) | |
| 13 | 1,800 | - | Fettal, Mor et Benachour (1994) |
| - | - | 3,000 | Zerrouki et al ., (2001) Berchiche et Kadi, (2002) |
| 12 | 1,900 | // | |
| 13 | 1,926 | // | |
| 15 | 2,290 | 2,810 | Lakabi et al ., (2004) |
| - | - | 2,890 | Zerrouki et al ., (2005) |
| 12 | 2 ,03 | - | Zerrouki et al ., 2006 ; 2007 ; 2008 ; 2009 |

2. Lactation et allaitement

2.1 Lactation

2.1.1 Croissance folliculaire

Chez la lapine, une vague de croissance folliculaire commence à l'approche de la parturition, au moment où le taux de progestérogène diminue. L'ovaire de lapine présente des follicules préovulatoires pendant toute la période post-partum (**Gosal-vez, 1986**). Cependant, ceux-ci seraient moins nombreux pendant la lactation que pendant la gestation ou après le sevrage. Comme chez les autres espèces, la sécrétion de LH et de FSH est diminuée pendant la lactation chez la lapine, ce qui peut expliquer cette réduction du développement folliculaire. En outre, il a été démontré que, chez la lapine allaitante, le taux de LH et de FSH augmentent lorsque le nombre de lapereaux allaités diminue. Par ailleurs, la prolactine injectée ou naturellement présente à des concentrations sanguines élevées (lactation), inhiberait directement la croissance folliculaire et la capacité stéroïdogénique des cellules folliculaires (**Dorrington et Gore, 1981**).

2.1.2 Glandes mammaires

La glande mammaire est une glande exocrine, productrice de lait qui est la seule source alimentaire pour les lapereaux. Chez la femelle, la glande mammaire acquiert un développement considérable représentant le caractère sexuel secondaire le plus typique (**Vaissaire, 1977**).

2.1.2.1 Développement des glandes mammaires

Le développement des glandes mammaires est un processus séquentiel très long qui contient plusieurs étapes bien définies. Selon (**Briskin et O'malley, 2010**), Le développement de la glande mammaire s'effectue selon deux phases

Première phase : Elle est hormono-indépendante et a lieu avant la puberté.

Seconde phase : Elle est hormono-dépendante et débute à partir de la puberté. Cette seconde phase est en partie cyclique car après chaque lactation la glande mammaire va subir une involution après le sevrage, avant un nouveau cycle de développement à la gestation suivante.

Le développement de la glande mammaire débute pendant la vie fœtale, se poursuit lors de la puberté et s'achève à la première lactation. Il peut être divisé en quatre périodes : Mammogénèse, lactogénèse, galactopoïèse et involution (**Grib et Chachoua, 2018**).

2.1.2.2 Structure et fonction des glandes mammaires

Les glandes mammaires se distribuent en 2 rangées dans le tissu graisseux ventro-latéral de la lapine, qui s'étend de la région thoracique jusqu'à la région inguinale (**Figure 4**). Il dénombre en générale quatre paires : une paire axillaire, une thoracique, une abdominale et une inguinale. Ainsi, certaines lapines possèdent 5 à 6 paires, principalement suite à une sélection génétique basée sur un critère de prolificité. Les variations de nombres portent en général sur les paires les plus ventrales, celles qui sont et d les plus accessibles lors de la tétée (abdominales et thoraciques). Chaque tétine est composée de 5 à 6 canaux évacuateurs et correspond à une glande mammaire indépendante. En temps normal, le tissu mammaire est difficilement palpable, mais ce dernier se développe fortement avant la gestation et pendant la lactation, pour devenir bien visible (**Grib et Chachoua, 2018**).

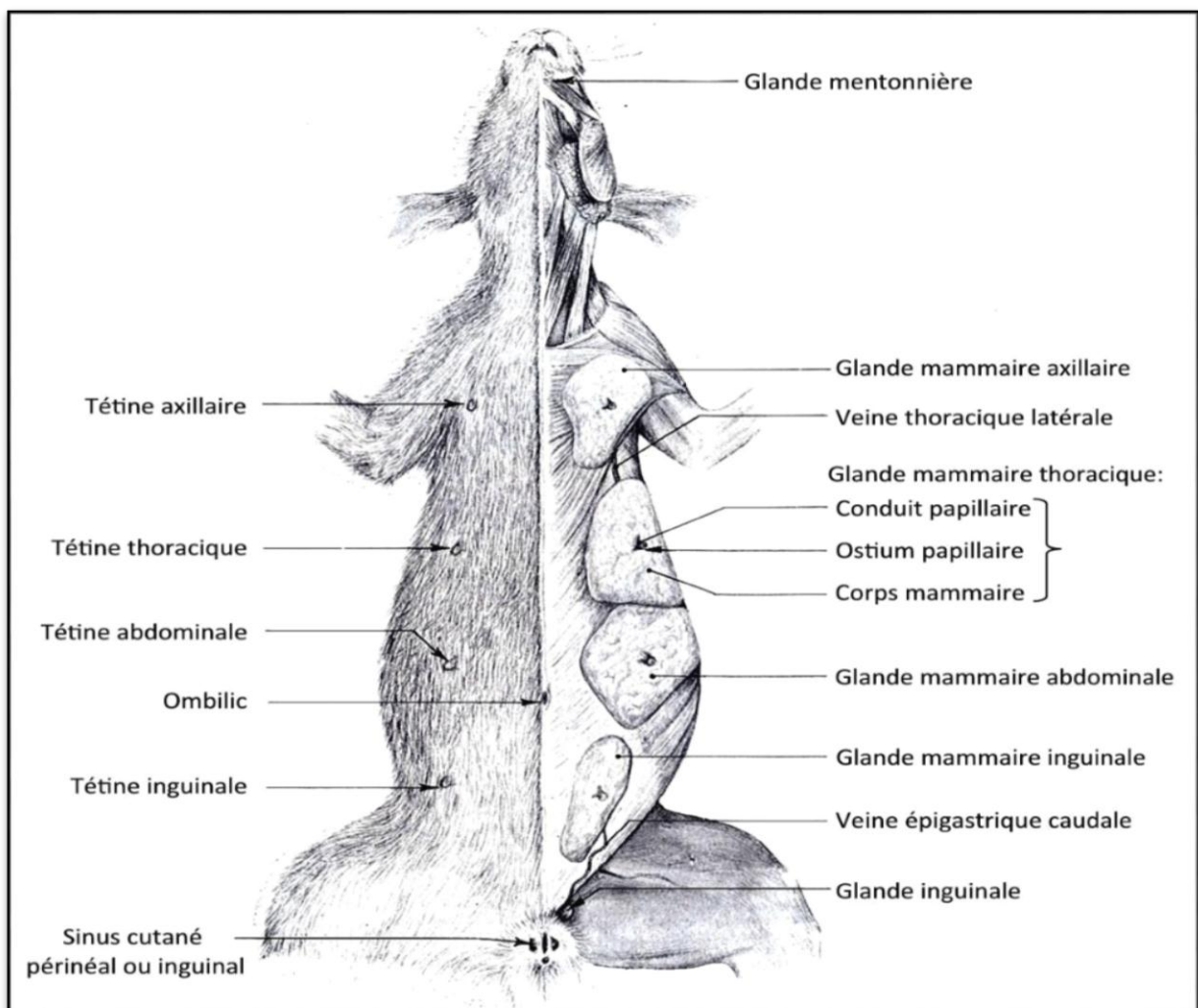


Figure 4 : Glandes cutanées et mamelles chez la lapine (**Barone et al., 1973**)

3.1.3 Mécanismes de sécrétion du lait

Une diminution rapide de la teneur en progestérone a la parturition suite à la libération d'ocytocine. La stimulation de la prolactine entraîne une montée laiteuse dans une glande prédéveloppée. Lors de la mise bas, les mamelles de la lapine contiennent déjà 50 à 80 g de lait (**Lebas, 1971**). Les lapereaux vident presque entièrement la mamelle (80 % à 90 % du lait présent), et la tétée ne dure que 2 à 4 minutes. Cette durée est indépendante du nombre de lapereaux allaités et du fait que la lapine soit ou non simultanément gestante.

CHAPITRE II :

LAIT DE LAPINE

1. Composition chimique du lait de lapine

Le lait maternel est l'aliment qui répond le mieux aux besoins du nouveau née. Les caractéristiques de la composition du lait sont très variables car ils dépendent de nombreux facteurs inhérents au type de mammifère (espèce, race), à son état physiologique (stade de lactation, naissance à terme, etc.) à son état sanitaire et son alimentation. Même si plusieurs facteurs peuvent influencer le volume et la qualité du lait maternel, il est possible de déterminer deux types de lait distincts : Le colostrum, épais jaune et peu abondant, déjà secrété durant la gestation jusqu'aux tout premiers jours post-partum et le lait mature, blanc et plus abondant, secrété par la suite (**Amroun, 2018**). La composition physico-chimique du lait de lapine a fait l'objet de nombreuses études et de très nombreux composés ont pu être identifiés et caractérisés (**Alhussien, M.N.; Dang, A.K, 2018, Kandeel, S.A, 2019**).

Une analyse comparative du lait de quelques mammifères a démontré que le lait de la lapine est plus riche en protéines (10,4%), en matières grasse (12.2%) et en minéraux (surtout le calcium et le phosphore), mais pauvre en lactose (1,8%) (**Tableau II**) (**Amroun, 2018**).

Tableau II : Composition biochimique du lait de lapine comparée aux autres laits de mammifères (**Gors et al ., 2009**) .

| Femelles | Matière grasse % | Protéines % | Lactose % | Matière sèche % |
|------------------|------------------|-------------|-----------|-----------------|
| Vache (Holstein) | 3,5 | 3,1 | 4,9 | 12,2 |
| Chèvre | 3,5 | 3,1 | 4,6 | 12 |
| Femme | 4,5 | 1,1 | 6,8 | 12,6 |
| Lapine | 12,2 | 10,4 | 1,8 | 26,4 |
| Souris | 29,8 | 12,7 | 1,7 | 45,5 |

2. Microflore du lait

La plupart des études disponibles sur le lait de lapine, ne s'intéressent pas à la composition microbienne, et se focalisent principalement sur la composition physico-chimique de ce dernier (Amroun, 2018 ; Hue-Beauvais et *al.*, 2019). La majorité des études sur la microflore concernent le lait cru de vache et de chèvre (Júnior et *al.*, 2019 ; Yenew et *al.*, 2022 ; Abi Khali et *al.*, 2023 ; Deddefo et *al.*, 2023).

Le lait est un aliment très riche (protéines, glucides) extrêmement favorable au développement de nombreuses espèces de microorganismes incluant les bactéries, les levures et les champignons filamenteux. 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 des laits 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 microbiennes habituellement dénombrés dans les laits crus, les staphylocoques et bactéries corynéformes sont généralement mis en évidence chez toutes les espèces animales produisant du lait. Les infections mammaires à staphylocoques représentent la principale source de contamination du lait (Thieulon, 2005). 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).

Les bactéries lactiques sont également toujours représentées. Ce sont des bactéries ayant des caractéristiques communes, dont la plus importante est leur capacité à fermenter les glucides en acide lactique. Les principaux genres bactériens lactiques sont : *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Vagococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Aerococcus*, *Tetragenococcus*, *Leuconostoc* et *Lactobacillus*. 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).

CHAPITRE III:
PARTIE
EXPERIMENTALE

MATERIEL
ET METHODES

- **Cadre de l'étude**

Cette étude a été réalisée au niveau du laboratoire de physiologie animale situé à l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, durant la période allant du 02 mai au 18 juin 2023.

L'objectif de ce travail est d'étudier la flore bactérienne du lait d'une lapine de population blanche, au début de lactation et à la fin de la seconde semaine de lactation.

1. Matériel

1.1 Appareils, verreries et réactifs

Les appareils, le matériel ainsi que les réactifs utilisés au cours de cette étude sont listés dans l'annexe 01. La verrerie utilisée pour la microbiologie a été stérilisée à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes.

1.2 Milieux de culture

Les milieux utilisés pour la culture des microorganismes sont :

-Plate count Agar (PCA) : C'est une gélose glucosée à l'extrait de levure, utilisée pour le dénombrement de la flore aérobie mésophile totale. Les substances nutritives apportées par la Tryptone, les facteurs vitamiques de l'extrait de levure et le glucose (source énergétique) favorisent la croissance de la plupart des bactéries à 30°C.

- Gélose VRBL (gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre) : C'est un milieu sélectif pour l'isolement et la numération des Coliformes. La présence simultanée du cristal violet et des sels biliés assure 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 bactéries qui fermentent rapidement le lactose, donnent des colonies pourpres.

-Milieu MRS (De Man, Rogosa et Sharpe) : Est utilisée pour la culture et le dénombrement des bactéries lactiques dans le lait, produits laitiers et les autres produits alimentaires ainsi que dans les produits destinés à l'alimentation animale.

Milieu Chapman : 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 (75 g/L). Ce milieu sélectionne donc les bactéries halotolérantes comme les *Staphylococcus aureus*. La fermentation du mannitol est mise en évidence par le virage au

jaune de l'indicateur pH (rouge de phénol). *Staphylococcus aureus* forment des colonies de couleur jaune doré.

-Gélose de Sabouraud : Est un milieu peptoné et glucosé permettant la croissance des levures et des moisissures. Naturellement acide, cette gélose inhibe la croissance de plusieurs bactéries.

-Gélose à la bile, à l'esculine et à l'azide de Sodium (BEA) : Est un milieu sélectif et différentiel, basé sur la capacité des bactéries à hydrolyser l'esculine en présence de bile. Il est couramment utilisé pour identifier Streptocoques du groupe D et les Entérocoques. Le milieu BEA contient de la bile pour inhiber la croissance des bactéries Gram positives ainsi que de nombreuses bactéries Gram négatives. L'azide de sodium permet d'augmenter la sélectivité du milieu. Les entérocoques 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.

-Bouillon BHI (Brain Heart Infusion) : Ce milieu de culture est hautement nutritif et tamponné pour favoriser la croissance des micro-organismes exigeants et non exigeants, y compris la pris des bactéries aérobies et anaérobies.

1.3 Echantillons de lait

Les lapines PB (population blanche) sont les descendants d'hybrides commerciaux, importés de France dans les années 1980-1987 (Zerrouki et *al.*, 2007). Les échantillons de lait ont été extraits à partir de lapines PB fournies par Dr. Amroun Thilali. Il s'agit de deux échantillons de lait prélevés au début et en fin de lactation. Le premier échantillon nommé UB450 DL, correspond au lait prélevé en début de lactation, tandis que le second échantillon nommé UB50 FL, correspond au lait prélevé à fin de la seconde semaine de la lactation.

2. Méthodes

2.1 Prélèvements

Les échantillons de lait ont été prélevés par une traite manuelle des femelles dans des conditions d'hygiène rigoureuses avec un nettoyage des mains entre chaque traite. Le lait a été collecté à partir d'une lapine PB en début et à la fin de la seconde semaine de lactation, dans des tubes en plastique stériles. Les échantillons de lait ont été ensuite conservés à -20°C jusqu'à analyse.

2.2 Préparation des milieux

Les milieux solides PCA, VRBL, BEA, Chapman et Sabouraud sont présentés 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 8 g de GN et 15 g d'agar dans 1 mL 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 d'enrichissement MRS, 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 à 100°C durant 1h environ, puis autoclavé. Après refroidissement, le milieu a été ensuite coulé dans des boîtes de Pétri dans la zone stérile

2.3 Etude de la microflore du lait

2.3.1 Isolement des souches bactériennes

Deux approches ont été utilisées pour l'isolement des souches bactériennes dans les deux échantillons de lait étudiés (**figure7**).

- **Approche 1**

Cent microlitres de chaque échantillon de lait ont été déposés directement sur une boîte de Pétri contenant la GN, à l'aide d'une micropipette. L'inoculum a été ensuite étalé sur toute la surface de chaque boîte à l'aide d'un râteau. Les boîtes ont été ensuite incubées à 37°C durant 48H.

- **Approche 2**

Contrairement à l'approche 1, une étape d'enrichissement a été réalisée. Quelques gouttes de lait de chaque échantillon ont été déposées dans le bouillon BHIB, à l'aide d'une micropipette. Les bouillons ont été incubés à 37° pendant 48H. Après incubation, 100µl de chaque bouillon BHIB ont été déposés sur les boîtes de Pétri contenant les différents milieux solides. L'inoculum a été ensuite étalé à l'aide d'un râteau. Les boîtesensemencées ont été incubées à 37° pendant 48H. Les géloses MRS et Chapman ont été égalementensemencées à

partir des bouillons d'enrichissement MRS et Chapman, en suivant la même méthodologie. Toutes les étapes réalisées se sont déroulées dans la zone stérile du bec bunsen.

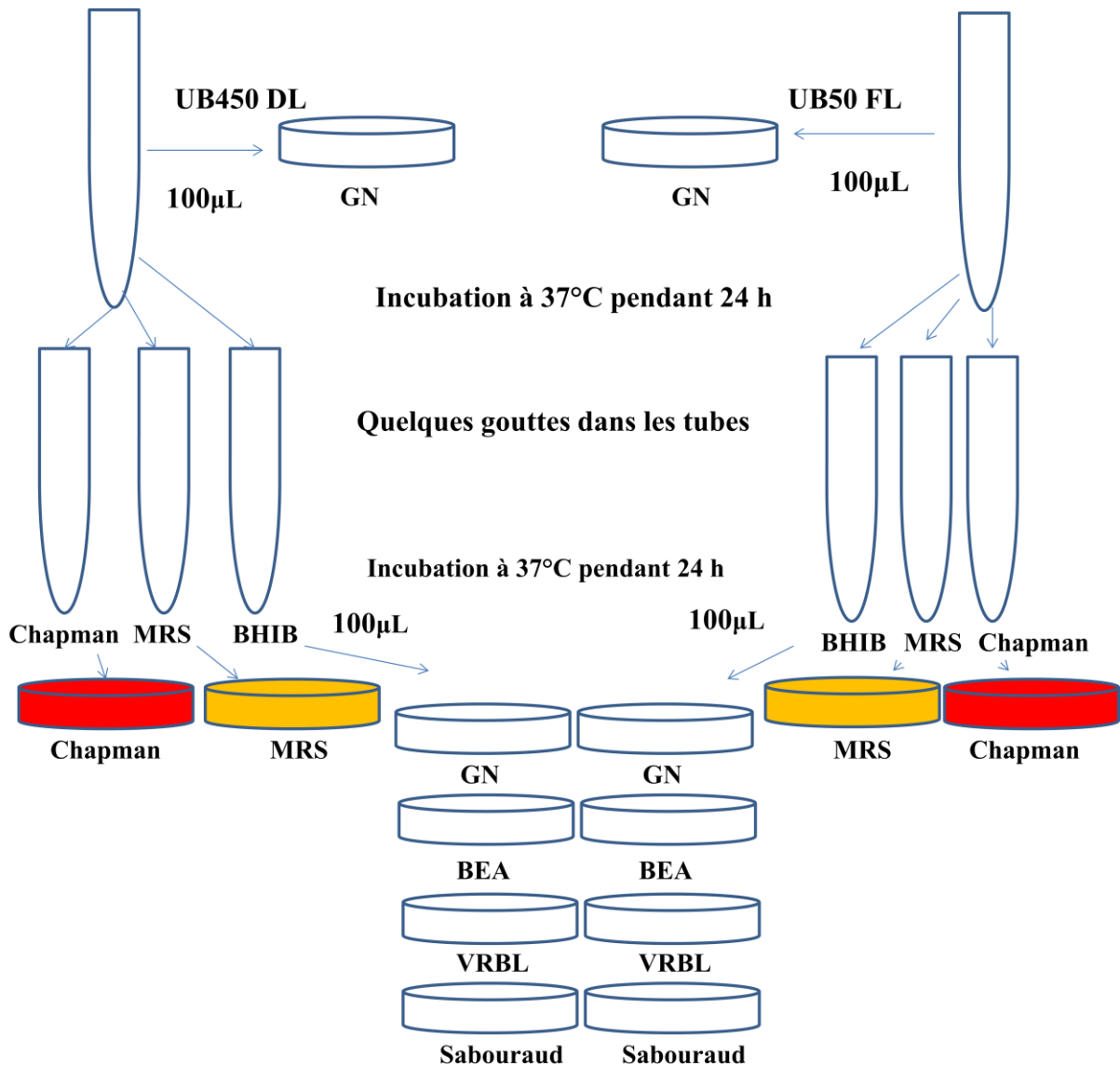


Figure 7: Étapes de l'ensemencement du lait dans les différents milieux de cultures.

2.3.2 Purification des souches

Afin d'obtenir des souches pures, les différentes colonies obtenues sur chaque milieu solide ont été purifiées par des repiquages successifs. Pour ce faire, la technique d'isolement par épuisement, appelée également la technique des trois quadrants a été utilisée (**figure 8**). Cette technique est réalisée comme suit :

Dans la zone stérile du Bec Bunsen, la colonie est prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur flambée et refroidie sur la gélose.

L'ensemencement est réalisé en effectuant des stries serrées sur le 1^{er} quadrant. La boîte est ensuite retournée vers le 2^{ème} quadrant pour effectuer également des stries. Le 3^{ème} quadrant est ensemencé par des stries non serrées et éloignées. Les boîtes ensemencées ont été incubées pendant 24h à 37°C.

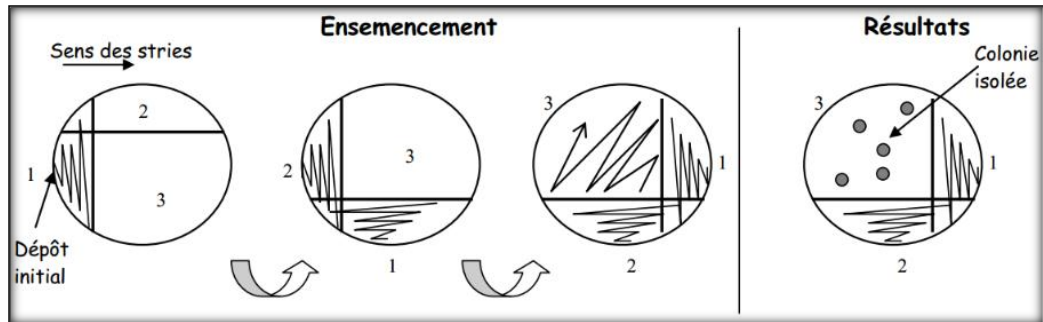


Figure 8 : Réalisation de l'ensemencement avec la technique des trois quadrants.

2.3.4 Etude macroscopique

Une étude morphologique a été réalisée. Elle correspond à une description macroscopique des colonies bien isolées. Parfois cette seule étude permet de connaître le germe car les colonies sont typiques. Les principaux caractères à étudier sont :

La forme : De nombreuses espèces bactériennes forment des colonies rondes, d'autres donnent des colonies aux formes plus ou moins variées.

Le relief : Les colonies peuvent présenter un relief plat, convexe, etc.

Le contour : Les colonies peuvent présenter un contour régulier, ondulé, etc.

La taille : Il existe des colonies punctiformes (très petites), des colonies moyennes et des grosses colonies (mesuré en mm).

La surface : On distingue les colonies lisse smooth (S) et les colonies rugueuses (R).

L'opacité : Les colonies opaques ne laissent pas passer la lumière, contrairement aux translucides, qui laissent passer la lumière. Certaines sont très transparentes.

La couleur : Elle peut être naturelle, due à la production de pigments par les bactéries, ou due à un colorant ou un indicateur de pH du milieu.

2.3.5 Etude microscopique

Cette étude est réalisée grâce à une coloration de Gram qui repose sur une différence fondamentale entre la composition chimique des parois des bactéries Gram positives et des bactéries Gram négatives. Elle renseigne également sur la forme et l'agencement des bactéries. La coloration de Gram a été réalisée selon les étapes suivantes :

a. Préparation du frottis

Déposer une goutte d'eau sur une lame propre ;

Prélever une colonie à l'aide d'une pipette Pasteur et la déposer sur la lame ;

Sécher le frotti au-dessus de la flamme du bec bunsen.

Passer trois fois la lame dans la petite flamme (veilleuse) du bec bunsen pour fixer le frottis à la chaleur.

b. Coloration et explication

Déposer quelques gouttes de solution de violet de gentiane (colorant basique qui colore le cytoplasme des bactéries) sur le frottis fixé et laisser agir 1min.

Rincer à l'eau.

Déposer quelques gouttes de lugol sur le frottis. Le lugol est un composé iodé qui permet de fixer le violet dans les bactéries.

Laisser agir 1min et 30s puis rincer brièvement à l'eau.

Verser quelques gouttes d'alcool sur le frotti et laisser agir 15s. L'alcool pénètre dans la bactérie ; la paroi des bactéries Gram négatives est dissoute par l'alcool. La paroi plus mince et de composition différente laisse alors sortir la coloration violette. Si l'alcool ne traverse pas la paroi, le colorant violet reste dans les bactéries. On est en présence de bactéries Gram positives.

Rincer l'alcool à l'eau.

Contre colorer en déposant quelques gouttes de Fuschine (rose) durant 1 min. Ce colorant permet de visualiser les bactéries Gram négatives décolorées à l'étape précédente.

Cette coloration moins forte que le violet n'affecte pas la couleur des Gram +.

Rincer à l'eau puis sécher à l'air ou au dessus de la flamme du bec bunsen.

Observer au microscope au grossissement X 1000 en ajoutant de l'huile d'immersion.

RESULTATS

ET

DISCUSSION

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Résultats

1.1 Résultats de l'analyse et l'isolement macroscopiques

Les deux approches utilisées, à savoir, un ensemencement direct sur GN et un ensemencement sur différents milieux solides (PCA, BEA, MRS, VRBL, Chapman et Sabouraud) après enrichissement, ont permis l'apparition de plusieurs types de colonies. Les repiquages successifs ont permis au final d'obtenir 10 isolats purifiés à savoir 6 isolats à partir de l'échantillon UB 450 DL et 4 isolats à partir de l'échantillon UB 50 FL. Le **tableau III** ci-dessous résume les résultats macroscopiques obtenus.

Tableau III: Différents types d'isolats obtenus dans chaque milieu ainsi que le nombre de souches purifiées.

| Milieux | Echantillons | Isolats | Nombre de souches purifiées sur GN |
|---------|--------------|------------|------------------------------------|
| GN | UB450 | M1, M2, M3 | 3 |
| | UB50 | S1, S2 | 2 |
| PCA | UB450 | A1, A2 | 2 |
| | UB50 | G | 1 |
| BEA | UB450 | - | - |
| | UB50 | - | - |
| SAB | UB450 | H1 | 1 |
| | UB50 | H2 | 1 |
| VRBL | UB450 | - | - |
| | UB50 | - | - |
| MRS | UB450 | - | - |
| | UB50 | - | - |
| CHAPMAN | UB450 | - | - |
| | UB50 | - | - |

(-) : Absence de colonies

RESULTATS ET DISCUSSION

1.2 Observation des résultats macroscopique

Les différents isolats ont été observés à la loupe binoculaire ; le résultat de l'examen macroscopique est présenté dans le **tableau IV**.

Tableau IV: Caractères cultureux des souches obtenues.

| Souches Critère | M1 | M2 | M3 | S1 | S2 | A1 | A2 | G | H1 | H2 |
|--------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|----------------|---------------|---------------|
| Forme | Cir | Cir | Cir | Irr | Cir | Cir | Cir | Cir | Irr | Irr |
| Relief | Conv | Plate | Plate | Plate | Plate | Plate | Plate | Plate | conv | conv |
| Contour | Reg | Reg | Reg | Ond | Reg | Reg | Reg | Reg | Ond | Ond |
| Taille | Petite | Petite | Petite | Petite | Petite | Petite | Petite | Petite | Grande | Grande |
| Surface | Lisse | Lisse | Lisse | Lisse | Lisse | Lisse | Lisse | Lisse | Rug | Rug |
| Opacité | Opa | Opa | Opa | Opa | Trans | Opa | Opa | Opa | Opa | Opa |
| Couleur | Jaune | Jaune | Jaune | Jaune | Jaune | Jaune | Jaune | Blanche | Rose | Rose |

Cir= circulaire, **irr**= irrégulier, **conv**= convexe, **ond**= ondulé, **rug**= rugueuse, **opa**= opaque, **trans**= translucide.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les isolats ont montré divers aspects culturels, en fonction du milieu de culture utilisé. En effet, après incubation, la plupart des souches forment des colonies circulaires, plates, régulières, petites tailles, lisses, opaques, et jaunâtres. D'autres aspects macroscopiques ont été également observés chez une minorité des souches, tels que la forme irrégulière et le contour ondulé, un relief convexe et une surface rugueuse (**figure 9**). En outre, aucune colonie n'a été observée sur les milieux BEA, VRBL, MRS et Chapman. De plus, aucune moisissure, ni levures n'ont été observées sur le milieu Sabouraud pour les deux échantillons.

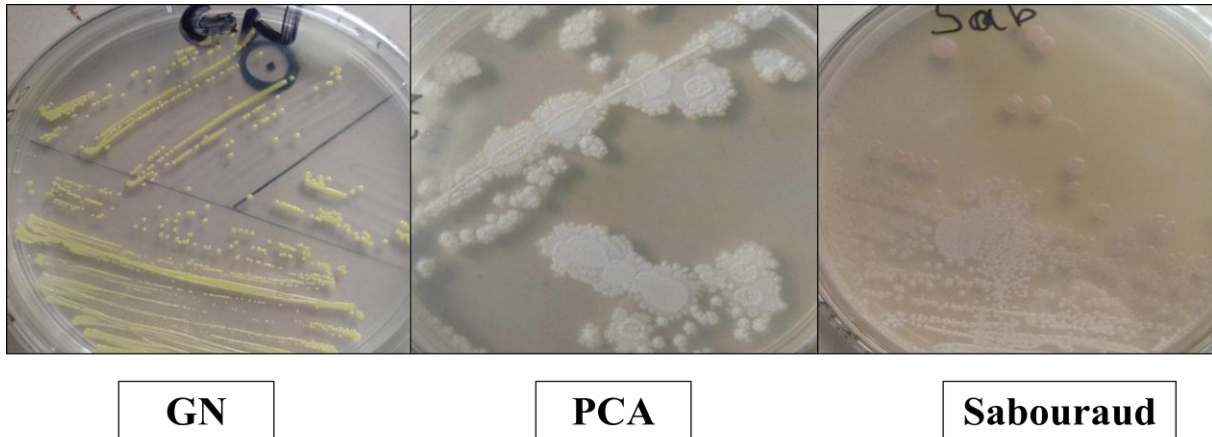


Figure 9: Aspects des colonies formées sur quelques milieux.

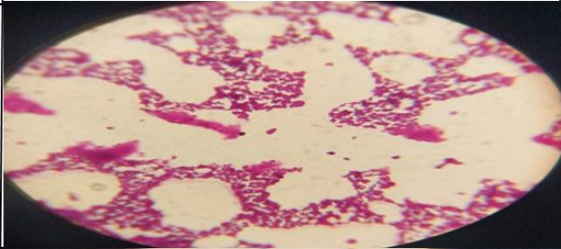
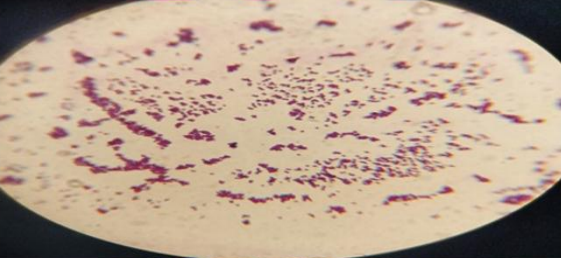
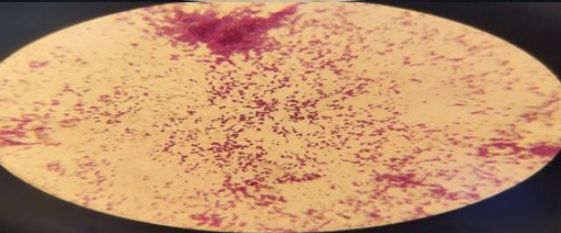
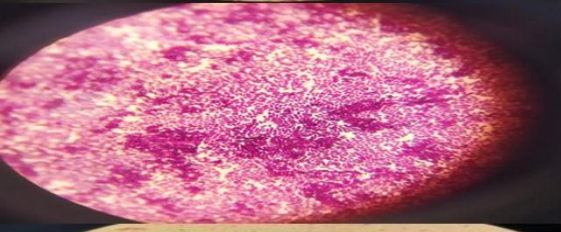

1.2 Résultats microscopiques

Après coloration de Gram, toutes les souches isolées ont été examinées sous microscope optique afin de déterminer le type de Gram. L'agencement, le regroupement et la présence ou l'absence de spore ont été également observés. L'observation microscopique a révélé que la majorité des souches étaient des cocci isolés à Gram positif. Cependant, des coccobacilles en amas et en chaînette ont été observés.

Le résultat de l'examen microscopique est présenté dans le **tableau V**.

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau V: Résultats de l'étude microscopique des isolats bactériens.

| Souches | Résultats microscopiques | | | | Observation |
|---------|--------------------------|----------------|---------------|-------|--|
| | Gram | Agencement | Regroupement | Spore | |
| M1 | + | Cocci | En amas | - |  |
| M2 | + | Cocci | Isolé en amas | - |  |
| M3 | + | Cocci | Isolé | - |  |
| A2 | + | Cocco-bacilles | En amas | - |  |
| H2 | + | Cocco-bacilles | En-chainette | - |  |

(-) : Asporulée.

2. Discussion

La diversité bactérienne dans deux échantillons de lait, prélevés à partir d'une lapine PB algérienne, provenant d'un élevage dans la région de Tizirt, a été étudiée. Les résultats obtenus ont montré une faible diversité avec seulement 10 souches isolées, et ce malgré la richesse du lait de lapine en éléments nutritifs qui favoriseraient la prolifération bactérienne. Ceci pourrait être expliqué par le fait que nos échantillons étaient congelés avant analyse. En effet, la congélation constitue un stress qui peut inhiber la croissance des microorganismes (Fonseca et al., 2019 ; Bellali et al., 2020).

En outre, le nombre de souches isolées en début de lactation (6 souches) est plus élevé que dans la seconde semaine de lactation (4 souches), montrant ainsi une variation de la composition bactérienne de ce lait tout au long de la période de lactation. Ces résultats pourraient être expliqués par la variation du pH durant cette période. En effet, le pH au stade colostrale augmente (7,44) pour baisser ensuite au cours de la 2^{ème} semaine de lactation (Fernandez et al., 2012 ; Vieira et al., 2017). Une acidification du milieu a pour effet de ralentir considérablement la croissance bactérienne (Guan et al., 2020).

Aucune bactérie coliforme, ni entérocoques n'ont été isolées sur le milieu VRBL et BEA, respectivement. A notre connaissance, aucune étude sur la microflore du lait de lapine n'a été réalisée ; la plupart des travaux concernent le lait de vache et de chèvre (Yenew et al., 2022 ; Deddefo et al., 2023). Une étude similaire effectuée par Yuan et al. (2022) sur le lait de vache, a montré que les entérocoques étaient présents en abondance. De plus, une autre étude a révélé la présence de coliformes dans le lait de vache (Saidane et al., 2023). Les entérocoques et les coliformes sont considérées comme des marqueurs de contamination fécale (Jacob et al., 2009).

Cependant, aucune souche n'a été isolée sur le milieu MRS qui permet l'isolement des *Lactobacillus*. Leur absence pourrait être expliquée par le fait que les bactéries lactiques exigent généralement des milieux très riches en nutriments et en facteurs de croissance. En effet, ce groupe bactérien exige la fourniture exogène d'acides aminés pour sa croissance, car il est incapable d'en effectuer la synthèse à partir d'une source azotée simple. De plus, certains genres appartenant à ce groupe bactérien sont caractérisés par une croissance lente (Desmazeaud, 1992 ; Kassas, 2017). D'ailleurs, plusieurs études ont été menées pour trouver des milieux de culture moins coûteux et fiables pour la croissance des lactobacilles (Krzywonos et al., 2011 ; Hanoune et al., 2015 ; Ahmed-Gaid et al., 2016). Contrairement à la présente étude, d'autres travaux ont montré la présence d'une proportion importante de lactobacilles dans le lait cru de vache par exemple (Taye et al., 2021 ; Senjaliya et al., 2023).

RESULTATS ET DISCUSSION

En outre, aucune levure ni moisissure n'ont été observées sur le milieu Sabouraud ; la totalité des colonies présentes sur ce milieu étaient des bactéries comme cela a été confirmé par la coloration de Gram. L'ajout d'un antibiotique à ce milieu tel que le chloramphénicol rendrait le milieu Sabouraud plus sélectif pour l'isolement des souches fongiques. De plus, une étude réalisée par Ghomain en 2022, a montré que le lait cru de vache contient une charge importante de levures et moisissures.

La présente étude a également montré une absence des *Staphylococcus aureus*. L'absence de cette espèce bactérienne signifie que les mamelles de la lapine sont en bonne santé, et qu'à priori les règles d'hygiène sont bien respectées dans cet élevage. *Staphylococcus aureus* fait partie de la flore commensale des mammifères ; à l'inverse de certaines espèces de staphylocoques qui ont un hôte préférentiel. Ce pathogène peut coloniser tous les mammifères même si différents biotypes de souches de *S. aureus* pourraient être raccordés à des hôtes spécifiques (Hennkine et al., 2003). Cette espèce est fréquemment isolée dans le lait provenant du lait des mammifères, notamment chez les vaches atteintes de mammites (Phophi et al., 2019 ; Feyissa et al., 2023).

Il est important de souligner que la majorité des travaux réalisés sur la microflore du lait, utilisent des techniques moléculaires basées sur le séquençage du gène codant pour l'ARNr 16S. Ces techniques plus sensibles, permettent la mise en évidence des bactéries non cultivables, et des bactéries minoritaires (Joishy et al., 2019 ; Jiang et al., 2020 ; Egger et al., 2021).

CONCLUSION GENERALE

L'objectif principal de cette étude était d'isoler des souches bactériennes à partir de deux échantillons de lait de lapine : Un échantillon en début de lactation (UB 450 DL) et un second à la fin de la seconde semaine de lactation (UB 50 FL). Notre démarche s'est appuyée sur une approche bactériologique classique basée sur l'isolement et la purification des souches bactériennes sur des milieux sélectifs.

Au cours de cette étude, 10 souches ont été isolées : 6 isolats en début de lactation et seulement 4 isolats à la fin de la seconde semaine de lactation. La caractérisation morphologique des souches isolées a montré que les colonies arboraient des formes variées telles que la forme circulaire présentée par la majorité des colonies, mais aussi des colonies de forme irrégulière, ainsi qu'un contour régulier. La plupart des souches étaient des cocci isolées à Gram positif.

Ces résultats montrent une faible diversité bactérienne et une forte variation de cette dernière selon la période de lactation. En effet, le nombre de souches isolées en début de lactation est supérieur à celui de la fin de lactation. Néanmoins aucune bactérie coliforme, ni entérocoques n'ont été isolées, témoignant de la bonne qualité bactériologique de ce lait de lapine. En outre, l'absence de *Staphylococcus aureus* indique que les mamelles de la lapine sont en bonne santé, et que les règles d'hygiène de cet élevage de lapin sont à priori respectées.

Cette étude préliminaire permettra d'améliorer les connaissances sur la composition microbienne du lait de lapin, ainsi que sur les conditions d'élevage de ces animaux dans la région de Tigzirt. Pour la suite de ce travail, il serait donc intéressant de le poursuivre et le compléter en :

Etudiant la microflore dans du lait de lapine frais ;

Effectuant des analyses physico-chimiques sur du lait de lapine frais ;

Réalisant une étude physiologique des souches isolées, afin de déterminer la gamme de température, de pH et de salinité, présentée par chaque souche.

Identifiant les souches isolées en utilisant des tests biochimiques et des techniques moléculaires.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

« A »

AIT CHABANE O.M., BENMILOUD D.M., BELABESS M. 2018. « Composition microbiologiques du lait de lapine ». P (71).

AMROUN T.T, 2018. « Impact 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 » Systématique du lapin de population blanche. P (171-219).

AMROUN T.T, 2018. « Impact 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 ». P (171-219).

AMROUN T.T. 2018 ., ZERROUKI N., KADI S.A., BERCHICHE M., BOLET G., LEBAS F. 2005. « Evaluation de la productivité des lapines d'une population locale algérienne, en station expérimentale et dans des éleveurs ».11^{ème} Journées de la Recherche Cunicole, 29-30 novembre 2005, Paris. P (171-219).

AMROUN T.T. 2018 ., CALVERT D.T., KNIGHT C.H., PEAKER M. 1985. « Milk accumulation and secretion in the rabbit». Q J Exp. Physiol. 70, 357-63. P(171-219).

AMROUN T.T. 2018. « Impact 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 ». P (171-219).

ASMA Z., EVELYNE F., DELBES C., VERDIER-METZ I., MORGAVI D., POPOVA M., CALDAS R., BERGONIER D., MEYNADIER A., ETANCELIN C.M. 2021. Le 6 avril 2021.Vol. 33 No 4 (2020). P (249-260).

« 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., ET AL 2019. « Lactic and propionic acid bacteria: the formation of a community for the production of functional products with bifidogenic and hypotensive properties ». Applied biochemistry and microbiology, vol. 55. P (660-669).

BELLALI S., KHALIL J.B., FONTANINI A., ET AL 2020. « A new protectant medium preserving bacterial viability after freeze drying». Microbiological research, vol. 236. P(126454).

BENMILOUD M. 2018. « Facteurs favorables à l'isolement des Lactobacilles des lait de vaches, brebis et chèvres ». P (71).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BERCHICHE M., KADI S.A. 2002. «The Kabyle rabbits (Algeria). Rabbit Genetic Resources in Mediterranean Countries». Options méditerranéennes, Série B: Etudes et recherches. P(11-20).

BERCHICHE M., KADI S.A. 2002. « The Kabyle rabbits (Algeria). Rabbit Genetic Resources in Mediterranean Countries». Options méditerranéennes, Série B: Etudes et recherches, 38. P (11-20).

BOUSSIT D. 1989. « Reproduction et insémination artificielle en cuniculture ». Association Française de Cuniculture. Lempdes, Paris, France, P (234).

BRISKEN C., O'MALLEY B. 2010. « Hormone action in the mammary gland». Cold Spring Harb Perspect Biol 2, a003178.

« C »

COATES M.E., GREGORY M.E., THOMPSON S.Y. 1964. «The composition of rabbit's milk». Brit. J. Nutr., 18. P (563-586).

« D »

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

DORRINGTON J., GORE L.R. 1981., GOZAL V. 1986. «Prolactin inhibits oestrogen synthesis in the ovary ». Nature, 290. P (600-602).

« E »

EGGER L., MÉNARD O., ABBÜHL., LYCHOU., ET AL. «Higher microbial diversity in raw than in pasteurized milk Raclette-type cheese enhances peptide and metabolite diversity after in vitro digestion». Food chemistry, 2021, vol. 340, P (128-154).

« F »

FONSECA F., PÉNICAUD C., TYMCZYSZYN E.E, ET AL. 2019. «Tic acid bacteria starters ». Applied microbiology and biotechnology, 2019, vol. 103, P (6867-6883).

« G »

GAID A. K., BOUKHEMIS M., DJEGHRI H.B. 2016. «A low cost medium containing chicken intestine autolysate for Lactobacillus brevis growth: Statistical optimization». Advance Journal of Food Science and Technology. 10(9): P (642-647).

GIDENNE T., AYMARD P., BANNELIER C., COULMIER D., LAPANOUSE A. 2007. «Valeur nutritive de la pulpe de betterave déshydratée

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

chez le lapin en croissance ». 12^{ème} Journées de la Recherche Cunicole, 27-28 novembre 2007, Le Mans, France: P (105-108).

GIROD C., CZYBA JC. 1977. « Biologie de la reproduction : I- Appareils génitaux. 2^{ème} édition, revue, corrigée et augmentée ». Simep - édition 1977.

GÖRS S., KUCIA M., LANGHAMMER M., JUNGHANS P., METGES C.C. 2009. « Technical note: Milk composition in mice methodological aspects and effects of mouse strain and lactation day ». J. Dairy Sci. 92, 632-7.

GRIB S., CHACHOUA S. 2018 ., VAISSAIRE. 1977. « Sexualité et reproduction des mammifères domestiques et de laboratoire ». Edition MALOINE S.A .P 200. P (72-91).

GUAN N., LIU L. 2020. « Microbial response to acid stress: mechanisms and applications ». Applied microbiology and biotechnology, 2020, vol. 104, no 1. P (51-65).

«H»

HANOUNE S., DJEGHRI H. 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):P (679-685).

HUE-BEAUVAIS., CATHY., AUJEAN., ETIENNE., MIRANDA., GUY., ET AL. 2019. « Impact of exposure to diesel exhaust during pregnancy on mammary gland development and milk composition in the rabbit ». PloS One, 2019, vol. 14, no 2, P (132-212).

«J»

JIANG ., YANG LI NAN., WANG QI., ET AL. 2020. « Microbial diversity and volatile profile of traditional fermented milk, Journal of dairy science ». 2020, vol. 103, no 1, P (87-97).

JOISHY., TULSI K., DEHINGIA ., MADHUSMITA. ET KHAN, MOJIBUR R. 2019. « Bacterial diversity and metabolite profiles of curd prepared by natural fermentation of raw milk and back sloping of boile milk ». World Journal of Microbiology and Biotechnology, vol. 35, P (1-12).

JÚNIOR J ., RIBEIRO C., PERUZI ., GISLAINE AS., BRUZAROSKI ., SAMERA R., ET AL. « Effect of bacto-fugation of raw milk on counts and microbial diversity of psychrotrophs. Journal of dairy science ». 2019, vol. 102, no 9, P (7794-7799).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

« K »

KASSAS Z. 2017. « Croissance de souches de bactéries lactiques d'intérêts technologiques et/ou probiotiques sur MRS végétal modifié ». Thèse de doctorat, UNIVERSITE BADJI MOKHTAR – ANNABA and Biotechnology P (37-42)

KHALIL A., Reine., YVON., Sophie., COUDERC., Christel., ET AL 2023. « Microbial communities and main features of labneh Ambaris, a traditional Lebanese fermented goat milk product ». Journal of Dairy Science, 2023, vol. 106, no 2, P (868-883).

KPODEKON T.T. Marc ., DIAGO A.Y., Tiemoko YO ., ADANGUIDI J. 2018. Cuniculture.info. Généralités sur le lapin. P (6-8).

Krzywonos M. et Eberhard T. 2011. « High density 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.

« L »

LAKABI D., ZERROUKI N., BERCHICHE M., LEBAS F. 2004. Growth performances and slaughter traits of a local Kabyle population of rabbits reared in Algeria: Effects of sex and rearing season. Proceedings of the 8th World Rabbit Congress, Puebla (Mexico) Sept, WRSA ed., P (1396-1402).

LEBAS F. 1971 ; MARIE-CLAUDE SCHELLER ; G. SARD. « Culture. Info ».

LEBAS F. 1971. « Composition chimique du lait de lapine, évolution au cours de la traite et en fonction du stade de lactation », Ann.Zootech., vol. 20(2), 1971. P (185-192).

LEBAS F. 2000. Systèmes d'élevage en production cunicole. Jornadas Internacionais de Cunicultura, 24-25 Nov.2000, Vila Real (Portugal), 163-170.

LEBAS F., COLIN M. 2000. Jornadas Internacionais de Cunicultura APEZ - 24 e 25 de Novembro 2000- UTAD Vila Real, Portugal F. « Production et consommation de viande de lapin dans le Monde ». P(11).

« M »

MAGNUSSON M., CHRISTIANSSON A., et SVENSSON B. 2007. Bacillus cereus spores during housing of dairy cows: factors affecting contamination of raw milk. Journal of dairy science, 2007, vol. 90, no 6, P (2745-2754).

MISKIMIN et al., 1976 ; CODINA et al., 2015 ; MARTIN ET AL., 2016 ; BOOR ET AL., CORDINA, 2017 ; JEMRA, 2018). « Etude sur des laits des

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

mammifères (vache, chèvre, etc) ».Composition microbiologique du lait de lapine.

« N »

NECULA, DORU, ILEA, ARGHI, COMAN, IOAN, ET AL. « Characteristics 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.

« O »

OWIE A.T. 1969. «Variations in the yield and composition of the milk during lactation in the rabbit and the galactopoietic effect of prolactin». J.Rndocr., P(43-44).

« S »

SALISSARD M. 2013. « Lapine est une espèce à ovulation provoqué », appareil de reproduction interne et externe de lapin. Université de Toulouse. P(105).

SALISSARD M. 2013. « Lapine est une espèce à ovulation provoqué », comportement sexuel de lapin. Université de Toulouse. P (105).

« T »

TAYE., YESHAMBEL., DEGU., TADESSE., FESSEHA., HABEN., et al. 2021. Isolation and identification of lactic acid bacteria from cow milk and milk products. The Scientific World Journal, 2021, vol. 20.

THIEULON M. 2005. Laits pathogènes staphylocoques. Revue de la chambre d'agriculture du Cantal, 2005, vol. 12.

« V »

VAISSAIRE. 1977. Sexualité et reproduction des mammifères domestiques et de laboratoire .Edition MALOINE S.A .P (200).

VALENCE F. 2005. Diversité intra-spécifique des microorganismes du lait : prise en compte et conservation. 14. Journée de l'animation transversale " Glандe Mammaire, Lait ", Nov 2015, Paris, France. 2015.

« W »

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).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

« Z »

ZERROUKI N. 2006. Caractérisation d'une population locale de lapins en Algérie : évaluation des performances de reproduction des lapines en élevage rationnel. THESE DE DOCTORAT, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, P (131).

ZERROUKI N., BOLET G., BERCHICHE M., LEBAS F. 2001. Caractérisation d'une population locale de lapins en Algérie: performances de reproduction des lapines. 9 èmes Journées de la Recherche Cunicole. Paris, 28-29 Nov P (163-166).

ZERROUKI N., BOLET G., THEAU-CLEMENT M. 2009. Etudes des composantes biologiques de la prolificité de lapines de population locale algérienne. 13èmes Journées de la Recherche Cunicole, 17-18 novembre 2009, Le Mans, France, P (153-156).

ZERROUKI N., KADI S.A., LEBAS F., BOLET G. 2007. Characterization of a Kabylia population of rabbits in Algeria: Birth to weaning growth performance. World Rabbit Science, 15, P (111- 114).

ZERROUKI N., LEBAS F., BERCHICHE M., BOLET G. 2005. Evaluation of milk production of an Algerian local rabbit population raised in the Tizi-Ouzou area (Kabylia). Wor. Rab. Sci., 13, P (39 -47).

ZERROUKI N., LEBAS F., DAVOUST C., CORRENT E. 2008. Effect of mineral blocks addition on fattening rabbit performance. 9 th World Rabbit Congress, June 10-13, 2008, Verona Italy, P (853-857).

ANNEXE

Annexe 1:**-Matériels utilisés****Tableau VI:** Matériel utilisé au cours de l'expérimentation

| Appareils | Verreries | Réactifs |
|-------------------------------------|------------------------|---------------------------|
| Le bec Bunsen | Pipette Pasteur | violet de gentiane |
| Micropipette | Boîtes de Pétri | Lugol |
| Incubateur | Lames | Alcool |
| Agitateur magnétique à chaud | Erlenmeyer | Fushine |
| Microscope optique | Tubes | |
| Balance | | |
| Autoclave | | |

Annexe 2 :

Composition des milieux de culture.

Tableau VII: Composition de la gélose MRS.

| Composition gélose MRS | | | |
|------------------------|--------------|----------------------|--------------|
| Ingrédients | gramme/litre | Ingrédients | gramme/litre |
| Peptone | 10g | Acétate desodium | 5g |
| Extrait de levure | 5g | Sulfate de magnésium | 0.1g |
| Extrait de viande | 10g | Sulfate de manganèse | 0.05g |
| Glucose | 20g | Phosphate disodique | 2g |
| Polysorbate 80 | 1g | Agar | 15g |

Tableau VIII : Composition de la gélose BEA.

| Composition gélose BEA | |
|-----------------------------------|--------------|
| Ingrédients | Gramme/litre |
| Extrait de bœuf | 11g |
| Digestion enzymatique de gélatine | 34,5 g/L |
| Esculine | 1g |
| Sulfate de manganèse | 0.05g |
| Bile de boeuf | 2g |
| Citrate d'ammonium ferrique | 0,5 g/L |
| Gélose | 15,0 g/L |

Tableau IX : Composition de la gélose Sabouraud.

| Composition gélose Sabouraud | |
|---|-------------------|
| Ingredients | gram/litre |
| Digestion peptique de tissus animaux | 5.0g |
| Dextrose | 40.0 g/L |
| Digestion pancréatique de caséine | 5.0g |
| Gélose | 15.0g |

Tableau X: Composition de la gélose VRBL.

| Composition gélose VRBL | |
|--------------------------------|---------------------|
| Ingrédients | gramme/litre |
| Peptone | 7,00g |
| Chlorure de sodium | 5g |
| Extrait de levure | 3g |
| Rouge neutre | 0.03g |
| Sels biliaires | 1.5g |
| Cristal violet | 0,002g |
| Lactose | 10g |
| Gélose | 15,00g |

Tableau XI: Composition de la gélose Chapman

| Composition gélose Chapman | |
|-----------------------------------|---------------------|
| Ingrédients | gramme/litre |
| Peptone | 10 g |
| Extrait de viande de boeuf | 1 g |
| Chlorure de sodium | 75g |
| Mannitol | 10g |
| Rouge de phénol | 0,025g |
| Gélose | 15g |
| pH final | 7,4 ± 0,2 |

Tableau XII: Composition de la gélose PCA.

| Composition gélose PCA | |
|----------------------------------|----------------------------|
| Ingrédients | gramme/litre |
| Tryptone | 5g |
| Extrait de levure | 2.5g |
| Glucose | 1g |
| Agar agar bactériologique | 12g |
| pH | à 25 °C : 7,0 ± 0,2 |

Tableau XIII : Composition de la gélose nutritive GN

| Composition gélose nutritive | |
|-------------------------------------|---------------------|
| Ingrédients | gramme/litre |
| Tryptone | 5,0g |
| Extrait de viande | 1,0g |
| Extrait de levure | 2,0 g |
| Chlorure de sodium | 5,0 g |
| Agar agar bactériologique | 12,0 g |

Tableau XIV : Composition du bouillon BHI.

| Composition bouillon cœur-cervelle | |
|--|---------------------|
| Ingrédients | Gramme/litre |
| Digestion enzymatique de tissus animaux | 10.0 g |
| Infusion De Cervele De Veau Déshydratée | 12.5 g |
| Infusion de coeur de boeuf déshydraté | 5.0 g |
| Glucose | 2.0 g |
| Chlorure de sodium | 5.0 g |
| Hydrogénophosphate disodique, anhydre | 2,5 g |

Résumé

Le lait de lapine est riche en éléments nutritifs nécessaires pour la croissance des jeunes lapereaux. Cette richesse fait de ce lait un excellent substrat pour le développement de différents microorganismes.

L'objectif de ce travail, est l'étude de la diversité bactérienne d'un lait de lapine de la souche blanche, collecté au 3^{ème} et 14^{ème} jour de lactation dans la région de Tizirt. Dix souches ont été isolées à partir de ces deux échantillons : 6 souches en début de lactation et 4 souches seulement à la fin de la seconde semaine de lactation. L'étude macroscopique a montré que les isolats arboraient des formes variées, avec une majorité de colonies ayant un contour régulier, un petit diamètre, un relief plat et une surface lisse. De plus, l'étude microscopique a révélé que la majorité des souches isolées étaient des cocci à Gram positif.

En outre, aucune bactérie coliforme, ni entérocoques n'ont été isolées, témoignant de l'absence d'une contamination fécale de ce lait de lapine. L'absence de *Staphylococcus aureus* indique que les mamelles de la lapine sont en bonne santé, et qu'à priori les règles d'hygiène dans cet élevage de lapin sont bien respectées.

Cette étude préliminaire contribuera à une meilleure connaissance de la diversité bactérienne du lait de lapine, ainsi que des conditions d'élevage de ces animaux dans cette région.

Mots clés : Cuniculture, souche blanche, Lait de lapine, Microflore.

Summary

Rabbit milk is rich in nutrients necessary for the growth of young rabbits. This richness makes this milk an excellent substrate for the development of different microorganisms.

The objective of this work is to study the bacterial diversity of rabbit milk from the white strain, collected on the 3rd and 14th day of lactation in the Tizirt region. Ten strains were isolated from these two samples: 6 strains at the start of lactation and 4 strains only at the end of the second week of lactation. The macroscopic study showed that the isolates displayed various shapes, with a majority of colonies having a regular outline, a small diameter, a flat relief and a smooth surface. In addition, the microscopic study revealed that the majority of the strains isolated were Gram-positive cocci.

In addition, no coliform bacteria or enterococci were isolated, indicating the absence of faecal contamination of this rabbit milk. The absence of *Staphylococcus aureus* indicates that the rabbit's udders are in good health, and that a priori the rules of hygiene in this rabbit farm are well respected.

This preliminary study will contribute to a better knowledge of the bacterial diversity of rabbit milk, as well as of the breeding conditions of these animals in this region.

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