REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
االجمهورية االجزائرية االديمقراطية االشعبية

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
وزارة االتعليم العالي و البحث العلمي

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE – ALGER
المدرسة الوطنية العليا للبيطرة ـ الجزائر

PROJET DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLOME DE DOCTEUR VETERINAIRE

ETUDE DE LA QUALITE BACTERIOLOGIQUE ET PHYSICO-CHIMIQUE DE L'ALIMENT UTILISE CHEZ LE LAPIN

Présenté par : Melle BENSAHNOUN AICHA
Soutenu le : 27/06/2012

Le jury :

-. Présidente : Mme LOUNES.N	Maitre assistante classe A	ENSV
-. Promotrice : **Mme SAHRAOUI.L**	Maitre assistante classe B	ENSV
-. Examinatrice : Mme BENALI.N	Maitre assistante classe B	ENSV
-. Examinatrice : Mme DJELOUT.B	Maitre assistante classe A	ENSV

Année universitaire : 2011/2012

Remerciement

Tout d'abord, remercie ***ALLAH*** *qui nous a amené jusqu'à la fin de notre travail, sans oublie nos parents qu'ils ont le plaisir de réussir durant notre formation*

Je remercie tout particulièrement ***Mme SAHRAOUI.L****, pour avoir encadré notre travail et avoir guidé et encouragé pendant toute cette période, ses remarques pertinentes et ses conseils ont été très utiles pour la rédaction de ce mémoire.*

Mes remercîment vont à l'ensemble des membres jury :

Mme LOUNRS.N *pour m'avoir honoré de présider le jury, également à* ***Mme DJELOUT.B*** *et* ***Mme BENALI.N*** *pour avoir accepté d'examiner mon travail*

Je remercie très chaleureusement ***Mme BENALI Nadia*** *pour l'aide inestimable qu'elle m'a apportée tout au long d'une partir de cette étude, sans oublier* ***Melle DAHMANI yamina***

Que tout le personnel de l'Ecole National Supérieur Vétérinaire qu'il soit trouve l'expression de notre gratitude d'avoir contribué d'une façon ou d'une autre à notre formation

Dédicace

Je dédie ce travail :

A mes très chers parents.

A toute ma famille grande et petite.

A mes meilleures amies

A tous mes amis.

Et toute personne chère à mon cœur.

Résumé :

La contamination bactérienne et le déséquilibre des constituants de l'aliment de lapin ont un impact important sur la santé et la croissance de l'animal vue la sensibilité de l'animal. Dans notre étude préliminaire, le degré de contamination par les flores bactériennes et la détermination des paramètres physicochimiques ont été réalisées à partir de 4 élevages avec trois fournisseurs différents dans les wilayat d'Alger et Tizi Ouzou. Un total de 15 échantillons d'aliment commercial. Des méthodes microbiologiques AFNOR et ISO ont été utilisées dans l'analyse bactériologique et les dosages chimiques ont été effectués par des méthodes usuel de laboratoire. Les résultats montrent un aliment de qualité satisfaisante selon certains travaux menés dans le cadre du contrôle microbiologique des aliments pour animaux. Il y a cependant toujours des cas d'exception, qui peuvent toute fois être évités grâce à un suivi régulier par les fabricants d'aliments.

Mots clés : aliment de lapin, qualité bactériologique, qualité physicochimique

ملخص

التلوث الجرثومي وعدم التوازن في مكونات الغذاء من أرنب يكون لها تأثير كبير على صحة ونمو الحيوانات لحساسية الحيوان. في دراستنا الأولية، نفذت درجة التلوث الجرثومي من قبل النباتات، وتحديد المعايير الفيزيائية والكيميائية في الفترة من 4 إلى المزارع مع ثلاث جهات مختلفة في ولاية الجزائر العاصمة وتيزي وزو. ما مجموعه 15 عينة من الأعلاف التجارية. تم تنفيذ طرق في فحوصات الجرثومية والكيميائية بالطرق المختبرية التقليدية. اظهرت النتائج ISO و AFNOR الميكروبيولوجية وقد استخدمت مرضية من جودة المواد الغذائية وفقا لبعض العمل في الرقابة الميكروبيولوجية للأعلاف. لكن هناك دائما استثناءات، أي الوقت الذي يمكن الوقاية منها مع مراقبة منتظمة من قبل مصنعي المواد الغذائية.

الكلمات المفتاح: المواد الغذائية الأرنب والجرثومية، الفيزيائية

Summary:

Bacterial contamination and the imbalance of the food constituents of rabbit have a significant impact on the health and growth of the animal to the animal's sensitivity. In our preliminary study, the degree of contamination by bacterial flora and the determination of physicochemical parameters were carried out from 4 farms with three different providers in the wilayat of Algiers and Tizi Ouzou. A total of 15 samples of commercial feed. Microbiological methods AFNOR and ISO have been used in the bacteriological and chemical assays were performed by conventional laboratory methods. The results show a satisfactory quality of food according to some work in the microbiological control of feed. There are however always exceptions, any time that can be prevented with regular monitoring by food manufacturers.

Keywords: rabbit food, bacteriological, physicochemical.

Sommaire

I. INTRODUCTION 3

II. L'ALIMENT : 3

II.1. Types d'alimentation : 3
II.1.1.Alimentation naturelle : 3
II.1.2. Alimentation industrielle : 3

II.2. Les catégories importants du l'aliment composée du lapin : 4
II.2.1. Les granules: 4
II.2.2. Le foin : 5
II.2.3. L'eau : 7

III. HYGIENE DES ALIMENTS POUR ANIMAUX : 7

III.1. Application des principes HCCP de la fabrication de prémélanges d'additifs pour l'alimentation animale : 7
III.1.1. Définition de HCCP : «analyse des dangers, points critique pour leurs maîtrise » 7
III.1.2. Description des processus de réalisation : 8

I. L'APPAREIL DIGESTIF : 10

I.1. Le tube digestif : 10
I.1.1. La digestion : 10
I.1.2.Organisation générale de la physiologie digestive du lapin 12

II. LES BESOINS NUTRITIONNELS DU LAPIN : 12

II.1. La cellulose : 12

II.2. Les matières grasses : 12

II.3.Les protéines : 12

II.4. La teneur en minéraux : 13

II.5. La teneur en vitamines : 13

III. LES BESOINS EN NUTRIMENTS DU LAPIN A DIFFERENTS AGE : 14

I. QUALITE BACTERIOLOGIQUE DE L'ALIMENT : 16

II .FLORE DIGESTIVE DU LAPIN :....16

II.1. *La* staphylococcie du lapin : 17

II.2. Infections par *Escherichia coli* chez le lapin : 17

II.3. Les entérotoximie du lapin associent à des *Closritridium* : 17

I. Matériels et lieu de réalisation de la partie expérimentale :..... ...20

I.1. lieu et durée de l'expérience 20

I.2. Matériels....20

II. METHODES : 20

II.1 Plan d'échantillonnage : 20

II.2.2 Préparation des dilutions : 23

II.3.Analyses bactériologiques....23

II.3.1. Recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale à 30° C (FAMT) : 23

II.3.2 Recherche de *Staphylococcus aureus* 26

II.3.3 Recherche et dénombrement d'*Escherichia coli* : 28

II.3.4 Recherche et dénombrement de clostridies: 32

II.4 Analyses physico-chimiques : 34

II.4.1 Détermination de la matière sèche : 34

II.4. 2. Détermination des matières azotes totales (MAT) : 35

II.4.3 Détermination des matieres minérales : 36

II. 4.4 Détermination des matières grasses : 36

III. RESULTAT ET DISCUSSION.... 38

Liste des figures :

Figure 01 : Le granulé ……05

Figure 02 : Foin de prairie……06

Figure 03 : Foin mono-plante…….07

Figure 04 : Organe es en place……...10

Figure 05: Anatomie générale du tube digestif du lapin ……..11

Figure 06 : un prélèvement ……...21

Figure 07 : Prétrempage…….....22

Figure 08 : broyage …….. 22

Figure 09 : sédimentation ……..22

Figure 10 : préparation de solution mère……22

Figure 11 : préparation des dilutions décimales…….23

Figure 12: Recherche et dénombrement de la flore mésophiles totales à 30C° **……..25**

Figure 13 : Recherche et confirmation de *Staphylococcus aureus* ……..27

Figure 14 : Recherche et dénombrement de l'E. Coli sur milieu solide…….29

Figure15 : recherche et dénombrement de l'E. Coli…….31

Figure 16 : Recherche et dénombrement de *clostridium* …….33

Figure 17 : Evaluation de FAMT contaminant l'aliment…….38

Figure 18 : Contamination des échantillons d'aliment par les *E.coli*……..*39*

Figure 19 : nombre de colonie *clostridium* dans l'aliment……..39

Figure 20 : Prévalence de *clostridium* dans l'aliment étudie……..40

Figure 21 : Prévalence de *staphylococcus spp* dans l'aliment étudie.....40

Figure 22 : Dosage de matière sèche dans l'aliment……...41

Figure 23 : Dosage de matière azoté totale (%MS)……42

Figure 24 : Dosage de MM dans l'aliment étudié (%MS)……..43

Figure 25 : Dosage de MG dans l'aliment (%MS) ……..43

Liste de tableaux :

Tableau 1: Les besoins en nutriments du lapin de différents âges. Les taux sont pour un aliment complet avec une teneur en humidité de 10%.....14

Tableau 2 : Origine et nombres des différents prélèvements …….20

Tableau 3 : Pourcentage de contamination de l'aliment par les staphylocoques ……40

Tableau 4 : pourcentage de MAT dans l'aliment (%MS) ……..41

Tableau 5 : Pourcentage de MM de l'aliment (%MS)…….42

Tableau 6 : Pourcentage de MG de l'aliment (%MS) ……43

Liste des photos :

Photo 01 : boite de dénombrement de FMAT……24

Photo 02 : boite de la recherche de S.aureus ……26

Photo 03 : boite de la recherche d'E. Coli ……28

Photo 04 : tubes de recherche de E .Coli……..30

Photo 05 : tubes de la recherche de *clostridium*……*32*

Liste des abréviations

TSE : Tryptone Sel Eau

SM : solution mère.

FAMT : la flore aérobie mésophile totale

S.aureus *: Staphylococcus aureus*

E. Coli : *Escherichia coli*

MS : matière sèche

MAT : matières azotes totales

MM : matières minérales

MG : matières grasse

Introduction générale

Introduction :

Les lapins connus comme des animaux très sensibles à de nombreux facteurs extérieurs (composition et structure de l'aliment, souche, sexe, environnement). La composition de la nourriture doit contribuer à leur santé et la prévention des maladies. La base d'une alimentation saine est de fournir des éléments nutritifs nécessaires dans de bonnes quantités et dans une forme bien acceptable. La composition de la nourriture doit aussi réduire le risque des maladies les plus courantes.

Plusieurs auteurs se sont intéresses au contenu bactériologique de l'aliment, destiné aux animaux et des matières premières le constituant mais pour des buts différents. Leurs travaux ont davantage porté sur la recherche des bactéries pathogènes notamment les entérobactéries comme *E coli* et Salmonella, ou sur l'action de la technologie de la fabrication sur la flore bactérienne aérobie de l'aliment.

Il existe une différence dans la contamination des aliments selon les procédés de fabrication. En effet, les aliments ayant subi un traitement thermique et une pelletisation (procédé de granulation de l'aliment) sont moins contaminés que ceux qui sont seulement broyés. MOSSEL 1986 estime que cette réduction varie entre 10^3 et 10^5 bactéries par gramme, selon les températures utilisées.

L'intensification de la production animale passe nécessairement par l'amélioration de l'offre fourrage, en effet les rations alimentaires doivent couvrir les besoins nutritifs a cette fin elles doivent satisfaire les différents besoins nutritifs des animaux, sans risque de toxicité et dans les meilleures conditions économique.

Dans ce contexte l'objectif de notre étude est :

- D'évaluer la qualité bactériologique et physicochimique de l'aliment commercial destiné au lapin au niveau de trois fabricants d'aliment à travers 4 élevages cunicoles dans la wilaya d'Alger et de Tizi Ouzou,
- Maitrise des techniques de recherche et de dénombrement des flores bactériennes et des techniques de dosage des paramètres physicochimiques dans l'aliment pour lapin, au niveau du laboratoire.

Chapitre 1

L’alimentation du lapin

I. Introduction

Le lapin est un herbivore, il convient de respecter sa nature. De plus, son tube digestif est très fragile et toute perturbation de la nature des aliments peut se traduire par des désordres digestifs (diarrhées, constipation). [28]

II. L'aliment :

Les aliments sont des substances végétales ou animales qui fournissent à l'organisme de l'énergie nécessaire au déroulement de tous les processus physiologiques et indispensable à la constitution et à la régénération des cellules et des tissus.

L'alimentation est extrêmement importante, car elle conditionne tous les facteurs indispensables à la vie et à la reproduction des animaux. [1]

II.1. Types d'alimentation :

II.1.1.Alimentation naturelle :

Ce type d'alimentation a tendance à disparaitre graduellement, même dans les plus petits élevages. Cette méthode prévoit l'administration des produits de la terre qui n'ont subi aucun traitement industriel. [2]

L'alimentation traditionnelle est souvent constituée par les déchets du potager ou des produits de cueillette, ramassés sur les bords des chemins. Cette technique, un peu moins onéreuse, reste grande consommatrice de temps. Elle ne peut être adoptée que pour de petits élevages à structure familiale et qui disposent d'une main-d'œuvre dont on ne chiffre pas le cout….

- **Inconvénients :**

Le premier problème qui se présente est surtout d'ordre pratique. En effet, si d'une part les produits utilisés peuvent être cultivés par l'éleveur lui-même, ce qui comporte un cout tres réduit, il faut ensuite sélectionner ces produits, les conserver et les distribuer chaque fois en quantité suffisante, d'où un gaspillage de temps considérable.

Il est évident qu'en utilisant des aliments naturels, il est difficile de calculer le pourcentage des éléments en question, on peut aussi courir le risque de distribuer des produits trop riches en certaines substances.[2]

II.1.2. Alimentation industrielle :

La méthode la plus simple pour nourrir les lapins consiste à donner des granulés, du foin et de l'eau [3]

Les aliments composés sont un mélange de divers éléments : farines d'herbes, foins, graines, complétés par des vitamines et des sels minéraux. Toutes ces substances sont broyées et traitées industriellement. [2]

Lorsque son cheptel devient plus important, l'éleveur doit plutôt distribuer en grande quantité un aliment composé et un peu d'herber comme complément si nécessaire.

- ✓ **Avantage :**

L'alimentation aux granulés présente plusieurs avantages : elle est équilibrée, les gaspillages sont évités, la présentation en granulés n'est pas irritante pour les voies respiratoires, pas de nourriture souillée ou fermentée [3].

Aliment facile à stocker et à manipuler et adapter à chaque stade de la croissance de l'animal [4]

- ✓ **Inconvénients :**

Coût d'achat souvent élevés et ne sont pas disponibles sur l'exploitation [4]

II.2. Les catégories importants du l'aliment composée du lapin :

II.2.1. Les granules:

Qu'ils soient appelés « graines », « moulée » ou « extrudés », un aliment très nourrissant et calorifique, conçus pour garantir un développement rapide des lapins d'élevage. Ils sont constitués de petits cylindres de foin compressé, d'herbe, d'autres végétaux et parfois de céréales, complétés avec des sels minéraux et des vitamines. Leur composition varie beaucoup selon le type de granulés et certains d'entre eux contiennent même du lait en poudre ou des farines animales.

Les granulés pour lapin de compagnie doivent toutefois être exclusivement composés de végétaux (foin, herbe, etc.) et contenir peu de céréales. Il faut éviter les granulés qui contiennent des produits d'origine animale (farine et lait). [5]

II.2.1.1. Formules des fabricants d'aliment granulé complet :

La composition établit la liste des substances employées pour produire l'aliment, par quantité décroissante : le premier ingrédient cité est celui qui est présent en plus grande quantité et il est suivi d'une liste d'autres ingrédients dont la proportion est inférieure. En observant cette composition, on peut effectuer un premier jugement sur la qualité du produit : en effet, si les principaux ingrédients sont des farines de céréales (riches en hydrates de carbone et pauvres en fibres) ou si les farines animales ou le lait en poudre font partie des ingrédients cités, cet aliment n'est pas adapté à un lapin.

II.2.1.2. Comment lire l'étiquette d'aliment pour lapin :

Avant d'acheter un aliment confectionné pour un lapin (en réalité des granulés, puisque aucun autre aliment n'est bon pour sa santé), il faut toujours lire l'étiquette afin de vérifier sa composition. Cette étiquette doit comporter deux types d'informations : les ingrédients utilisés et l'analyse chimique du produit. Si ces deux informations sont absentes, il est impossible de juger de la qualité du produit et il est préférable de ne pas l'acheter.[6]

Figure 01 : Le granulé

II.2.1.3. Stockage du granule :

Le stockage doit être effectué dans le locaux appropriés ; les sacs contenant les aliments ne devront pas être placés directement par terre, et seront rangés dans un local abrité et ne présentant pas trop d'humidité.

II.2.2. Le foin :

Le foin est l'aliment roi du lapin de compagnie. C'est le plus adapté à son système digestif, qui est prévu pour assimiler une nourriture pauvre et a besoin de beaucoup de fibres pour bien fonctionner, ainsi qu'à ses dents, qui poussent continuellement et ont besoin de s'user. C'est également le plus conforme à ses comportements alimentaires naturels.

Aussi c'est un aliment pauvre, est également parfaitement adapté au maintien et au développement d'une flore bactérienne adéquate dans le caecum du lapin [7]

II.2.2.1. Types de foin :

II.2.2.1.1. Le foin de prairie :

C'est le foin le plus courant, composé d'un mélange de graminées (dactyle, fromental, ivraie, pâturin des prés, fétuque des prés, houlque laineuse, …) et plus ou moins de légumineuses (luzerne, trèfle, lotier, …) et parfois d'autres plantes sauvages (pissenlit, plantain lancéolé, …).

Figure 02 : Foin de prairie

II2.2.1.2. Le foin mono-plante :

Le foin de phléole des prés est un foin assez rigide et croquant, composé de tiges assez coriaces (qui nécessite une longue mastication et riche en fibres non digestibles). Il est particulièrement recommandé pour les lapins qui souffrent de problèmes digestifs.

Le foin de dactyle aggloméré est un foin souple très apprécié de la plupart des lapins. C'est un foin pauvre en calcium, mais plus riche en protéines que le foin de phléole. Le foin de luzerne ne doit pas être utilisé pour un lapin adulte, car c'est un foin de légumineuses très riche en calcium et en protéines. Il peut toutefois être mélangé avec un autre foin.

Figure 03 : Foin mono-plante

II.2.2.2. Stockage du foin :

Le foin, comme toute autre plante séchée, doit être conservé dans un endroit sec, aéré et à l'abri de la lumière. Il ne doit pas être enfermé hermétiquement dans une boîte.

Le foin se conserve assez longtemps, mais plus le temps passe et plus il perd ses qualités nutritives (et gustatives pour le lapin). Il n'y a pas de date de péremption à proprement parler: tout dépend aussi du temps qui s'est déjà écoulé entre le moment où le foin a été récolté et le moment où vous l'avez acheté.

Il est toujours possible de recycler du foin un peu ancien, qui a jauni et qui n'est plus très appétissant pour votre lapin, en l'utilisant comme lieu de couchage (si votre lapin est parfaitement propre et n'a pas l'habitude d'uriner et de faire des crottes dans son foin) ou en le disposant par-dessus la litière, dans son bac, un peu comme de la paille.

II.2.3. L'eau :

Est un élément absolument indispensable aux lapins, surtout s'ils ne consomment que de la nourriture sèche. Un lapin boit beaucoup, surtout une mère allaitante ou en gestation. Veillez à ce que cette eau soit propre, fraiche, donc fréquemment renouvelée. [8]

III. Hygiène des aliments pour animaux :

C'est les mesures et conditions nécessaire pour se prémunir contre les dangers et garantir le caractère propre à la consommation animale d'un aliment pour animaux, compte tenu l'utilisation qui en prévue (Règlement 183/2005) [9]

III.1. Application des principes HCCP de la fabrication de prémélanges d'additifs pour l'alimentation animale :

III.1.1. Définition de HCCP : «analyse des dangers, points critique pour leurs maîtrise »

Un système qui définit, évalue et maîtrise les dangers qui sont significatifs au regard de la sécurité des aliments pour animaux.

III.1.2. Description des processus de réalisation :

- ✓ **Formulation et mise en fabrication :** opération consistant à calculer l'assemblage des intrants correspondant à l'ensemble des exigences. Cette opération est réalisée au moyen d'un logiciel spécifique et est associée le plus souvent au calcul des caractéristiques de l'étiquetage pour la formule en question.

La mise en fabrication consiste à transférer la formule soit de façon informatique, soit de façon manuelle, au niveau du site de fabrication.

- ✓ **Achats et approvisionnements :** les achats sont réalisés sur la base de critères qualitatifs déterminés à partir des exigences propres à l'entreprise, selon les intrants considérés et les bases nutritionnelles souhaitées.

Les approvisionnements organisent l'acheminement de ces intrants, en tenant compte des capacités de stockage et d'utilisation du site industriel.

- ✓ **Réception des intrants** : cette étape consiste à réceptionner les intrants et à en autoriser le déchargement par des contrôles documentaires, sensoriels et/ou analytiques.

- ✓ **Stockage/transfert :** le stockage concerne toutes les opérations de mise en stock, sous forme de sacs, big-bags……Il permettre la préservation du « produit ».

Les transferts consistent à faire circuler les « produit » d'un point de stockage ou d'utilisation à un autre point de stockage ou d'utilisation.

- ✓ **Dosage :** mesure de la quantité d'intrants à incorporer dans le prémélange. Cette mesure peut être pondérale ou volumétrique. Cette étape est gérée le plus souvent par un automatisme.

- ✓ **Mélange :** opération consistant à répartir de façon homogène les différents intrants d'une formule. Cette opération est à réaliser dans une mélangeuse adaptée.

- ✓ **Agrégation :** étape consistant à augmenter la taille des particules par différents procédés (collage par des liquides, pressage,….)

- ✓ **Conditionnement :** emballage des produit (en sacs, big-bags….) en vue d'en faciliter la manutention, la préservation et le stockage.
- ✓ **Chargement/livraison :** le chargement consiste à transférer des prémélanges de leur lieu de stockage dans le camion de livraison. La livraison consiste à acheminer et décharger le prémélange jusqu'au client.

- ✓ **Recyclage :** incorporation maitrisée des produits générés à différents stades des processus de réalisation ou des retours de produits livrés, dans le respect de la conformité des prémélanges.[9].

Chapitre 2

La digestion et les besoins nutritifs du lapin

I. L'appareil digestif :

Cet appareil assure la préhension des aliments et de l'eau, leur digestion, l'absorption des nutriments et enfin le rejet des déchets sous forme de crottes et de déchets du métabolisme protidique (urée). Il est donc formé du tube digestif constitué de différentes parties et des glandes annexes (foie, pancréas) [10]

I.1. Le tube digestif :

Le tube digestif du lapin est très long. Il mesure en moyenne 4,5 à 5 mètres de long pour un adulte pesant environ 5 kg. Il se compose d'une bouche, d'un œsophage, d'un estomac, d'un intestin grêle, d'un cæcum, d'un colon terminé par un rectum et un anus.

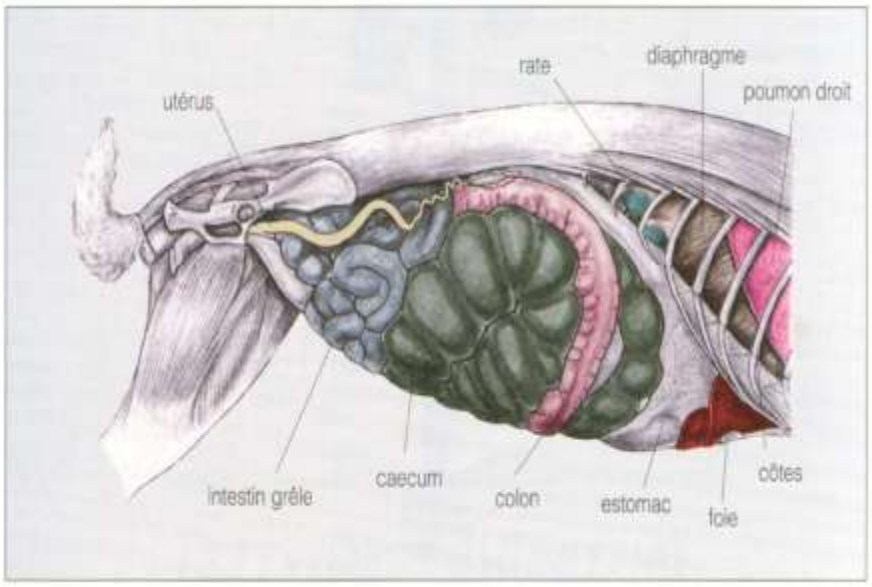


Figure 04 : Organe es en place.
(Atlas d'anatomie du lapin de R. barone, C. Pavaux, P. C. Blin, P. Cuq. Éditions. Masson ; 1972)

I.1.1. La digestion :

C'est une fonction très importante et complexe qui conditionne le développement et la croissance de l'animal. La connaissance des étapes de ce processus permet de tirer des enseignements pratiques pour optimiser votre élevage. Le lapin est un rongeur dont les dents sont à croissance continue. Il lui faut un aliment relativement dur qui permet d'user en permanence ses incisives.

Avec ses incisives, le lapin déchiquette sa nourriture en petits morceaux. Le début de la dégradation des aliments s'effectue dans le milieu acide de l'estomac puis dans l'intestin grêle, la première et la plus longue partie des intestins (environ 3,3 m chez l'adulte). A ce stade, les phénomènes digestifs ne sont possibles qu'en présence d'eau, d'où la nécessité de bien

abreuver le lapin. Ce qui reste du bol alimentaire arrive ensuite dans le cæcum, une poche terminale assez vaste qui représente environ un tiers du volume total de l'appareil digestif.

Ce réservoir renferme de nombreux organismes microbiens qui transforment le reste des aliments en substances riches assimilables par le lapin. C'est là que la cellulose est en partie dégradée. Le contenu du cæcum s'écoule ensuite dans le colon ou gros intestin (longueur 1,3 m chez l'adulte) qui produit des crottes molles le matin et des crottes dures le reste de la journée.

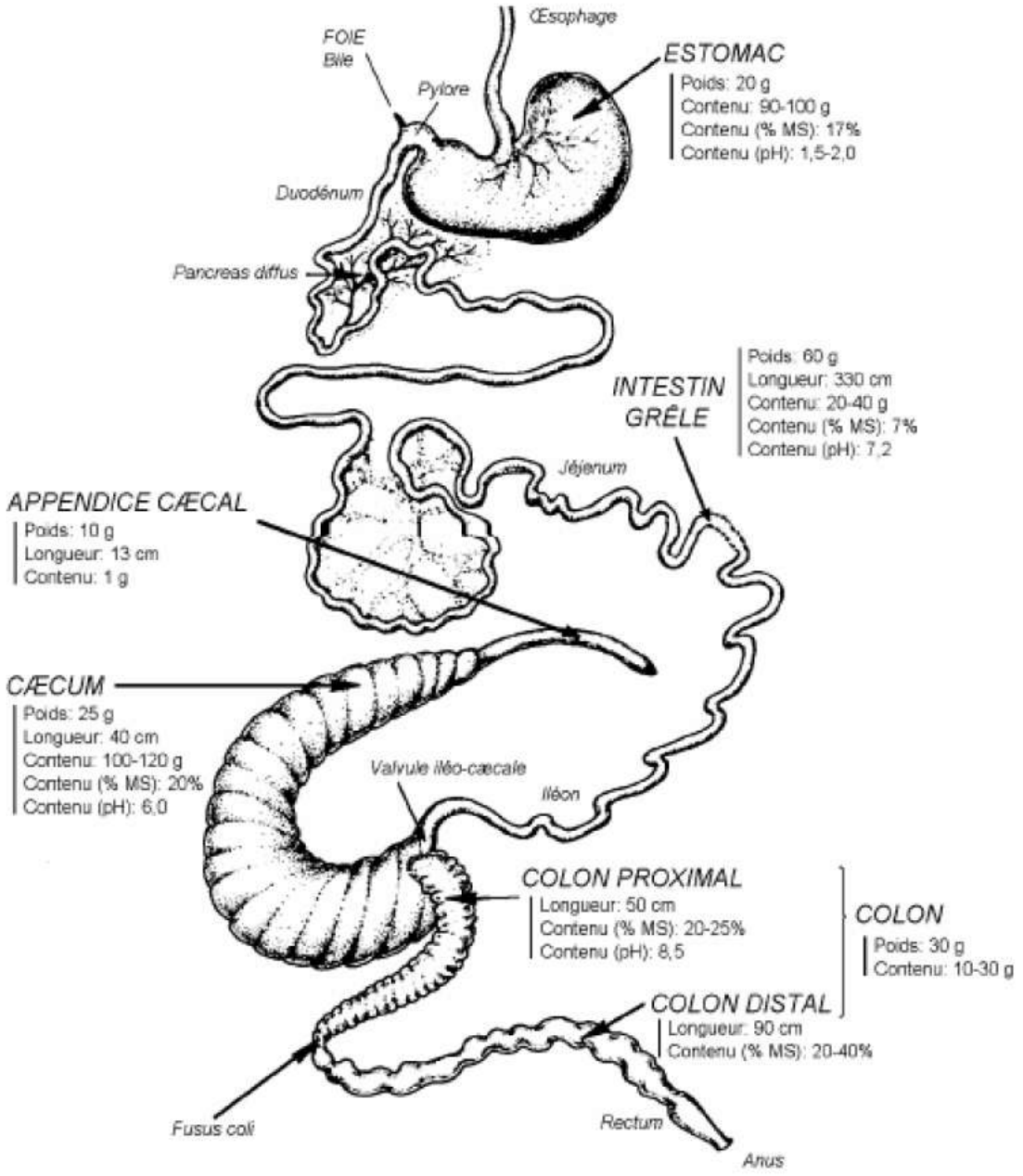


Figure 05: Anatomie générale du tube digestif du lapin (Valeurs moyennes pour un lapin néo-zélandais blanc de

2,5kg, nourri à volonté avec un aliment granulé équilibré d'après Lebas *et al,* 1997) .

I.1.2.Organisation générale de la physiologie digestive du lapin

Le lapin est un herbivore, cependant sa physiologie digestive diffère fortement de celle d'autres herbivores plus connus comme les ruminants ou le cheval.

Dans la partie antérieure du tube digestif, c'est-à-dire jusqu'à la fin de l'intestin grêle, la digestion est due, comme chez les autres monogastriques, à la sécrétion enzymatique de l'animal. Dans des conditions normales, le temps de séjour des aliments dans cette partie du tube digestif est assez court : de 2 à 4 h dans l'estomac et de 1 à 2 h dans l'intestin grêle, on peut cependant remarquer que l'estomac ne se vide jamais entièrement. La dégradation des aliments commence dès l'estomac et se poursuit dans l'intestin grêle sous l'action des enzymes pancréatiques et intestinales.

Cette digestion enzymatique est complétée dans le caecum par une digestion microbienne dépendante de l'activité de la flore cæco-colique. Les particules alimentaires y séjournent en moyenne 6 à 12 h. Les microorganismes y dégradent la cellulose et certains résidus de la digestion des protéines en acides gras volatils (AGV) qui traversent la paroi intestinale. Le contenu du caecum passe ensuite dans le colon. Il est constitué par des particules alimentaires n'ayant pas été dégradées préalablement mélangées aux secrétions digestives et par des bactéries).[11]

II. Les besoins nutritionnels du lapin :

L'alimentation fournit au lapin les éléments dont il a besoin pour sa croissance, son entretien et sa reproduction. Il est nécessaire de définir avec le plus de précision possible les exigences de l'animal. Actuellement, on connaît bien les besoins du lapin en croissance, pour les principaux éléments de la ration que nous allons étudier successivement.[12]

II.1. La cellulose :

La cellulose est un des facteurs qui conditionne l'avancement des aliments dans le tube digestif des lapins? De ce fait, elle est indispensable mais il n'en faut pas trop pour ne pas réduire la digestion des éléments nutritifs. Un excès de cellulose entraîne un transit digestif accéléré. Rapidement, l'animal ne peut plus couvrir ses besoins énergétiques. Pour les jeunes en croissance, prévoyez un aliment avec 13 à 14 % de cellulose [12]. Pour les femelles allaitantes, une teneur de 11 à 13 % est convenable. [12].

II.2. Les matières grasses :

Il y a deux fois plus d'énergie digestible dans les lipides que dans l'amidon. Mais en général, il n'est pas utile d'ajouter des matières grasses dans les aliments donnés au lapin. La ration habituelle contient environ 2,5 à 3 % de corps gras naturels, ce qui est amplement suffisant. [12].

II.3.Les protéines :

L'apport en matières azotées doit être suffisant en quantité mais aussi en qualité. Les protéines représentent environ 15 % de la ration pour les lapereaux en croissance et 16 à 18 %

pour les lapines allaitantes. Veillez à la qualité des matières azotées, c'est-à-dire à leur composition en acides aminés essentiels.

En général, les aliments complets préparés contiennent du tourteau de soja et de tournesol en quantité importante, ce qui assure un bon équilibre de la ration. Attention, si vous donnez une alimentation en forte teneur en cellulose, diminuez le taux de protéines pour éviter des risques de troubles digestifs. Quelque soit le type de nourriture, notez la réaction de vos lapins quand vous leur proposez ces différents aliments pour connaître leurs goûts. [12].

II.4. La teneur en minéraux :

Doit être assez faible. L'ensemble des minéraux nécessaires au lapin varie entre 2 et 4 % selon les cas (allaitant ou adulte). Les taux sont souvent bien plus élevés, ce qui peut laisser penser à une trop forte présence de certains minéraux et donc des risques pour la santé ou à un grand nombre d'autres substances minérales (comme la silice que l'on trouve dans le foin, les herbes ou les enveloppes de céréales) [12].

Le taux de calcium ne doit pas dépasser les 1,1 % et même être en dessous de 0,5 % pour les jeunes et les adultes. Un lapin de 2,5 kg a besoin de 500 mg de calcium par jour. En considérant qu'on lui donne 50 gr de granulés par jour, il trouve donc tout son calcium dans des granulés à 1 %, mais il a alors trop de calcium puisqu'il va également en trouver dans son foin, son eau et ses légumes. Il faut donc prendre des granulés à moins de 1% de calcium pour les lapins.

Le taux de potassium ne doit pas dépasser les 0,9 % (notamment pour les femelles allaitantes ou gestantes) et être à 0,6 % [12].

II.5. La teneur en vitamines :

Le lapin est capable de synthétiser sa propre vitamine C et ses vitamines B grâce aux micro-organismes de sa flore digestive et en remangeant ses caecotrophes (crottes molles). Cette production de vitamine C et B est suffisante pour un lapin adulte, mais il faut en apporter un peu aux lapins jeunes ou aux femelles allaitantes.

Pour tous, il faut apporter des vitamines A, D et E (que le lapin d'intérieur ne trouve que dans son alimentation) [13]

III. Les besoins en nutriments du lapin à différents âge :

Tableau 1: Les besoins en nutriments du lapin de différents âges. Les taux sont pour un aliment complet avec une teneur en humidité de 10%. [14]

Des éléments nutritifs	Croissance	Maintien	Gestation	Lactation
Protéines brutes, %	15	13	18	18
Grasses brutes, %	3	3	3	5
Cellulose brute, %	14	15	14	12
Calcium, %	0,5	0,6	0,8	1,1
Phosphore, %	0,3	0,4	0,5	0,8
Vitamine A, UI/kg	6000	10000	12000	12000
Vitamine D3 UI/kg	900	900	900	900
Vitamine E, mg/kg	50	50	50	50

COMPOSITION DE LA NOURRITURE POUR LA SANTÉ DES LAPINS REPRODUCTION DE: DIER EN ARTS 2010;12:476-479

Chapitre 3

Flore digestive et Maladie bactérienne chez le lapin

I. Qualité bactériologique de l'aliment :

L'aliment naturel contient un nombre plus ou moins élevé de bactéries et de champignons. Ces microorganismes prospèrent en présence d'humidité. Les précipitations favorisent donc la multiplication des microorganismes sur les plantes en croissance, ce qui conduit à une contamination massive des aliments fraîchement récoltés. Ces microorganismes (la microflore des champs) ne supportent pas les conditions de stockage et diminuent fortement dans les semaines qui suivent.[15]

En présence d'oxygène et d'humidité, d'autres microorganismes (la microflore de stockage), se multiplient sur les aliments stockés provoquant leur altération.

Lorsqu'ils entrent en contact avec l'air, les aliments riches en eau, sont rapidement altérés par des levures, des bactéries et des moisissures. En présence d'humidité élevée (séchage insuffisant, récipients non étanches, eau de condensation), les aliments secs sont colonisés, en premier lieu, par des moisissures. .[15]

L'aliment industrialisé est traité thermiquement est présente une qualité plus conforme le but de son utilisation est pour pouvoir améliorer l'élevage cunicole vers un élevage intensif et donc cette aliment doit répondre aux exigences et besoins de l'animal.

II .Flore digestive du lapin :

La flore bactérienne normale du lapin sain n'est pas encore très bien connue. De plus, elle varie parfois fortement d'un animal à l'autre. On peut cependant en donnerque les grandes caractéristiques :

- une flore colibacillaire peu importante : 10^2 à 10^3 UFC/g (UFC : Unité Formant Colonie) de contenu caecal.
- une absence de *Clostridium perfringens* avant la 4ème semaine puis augmentation jusqu'à 10^5-10^6 UFC/g de contenu caecal au moment du sevrage et réduction à 10^4 UFC/g environ par la suite.
- une flore anaérobie facultative représentée surtout par des streptocoques, les lactobacilles étant rares ou absents.
- une flore anaérobie stricte dominante avec en particulier le genre Bacteroides représentant 10^8 à 10^9 UFC/g de contenu caecal.

A la base de la pathologie digestive d'origine microbienne on a le plus souvent une perturbation de l'équilibre de cette flore qui aboutit à la multiplication excessive de certaines bactéries, en particulier les colibacilles et les clostridies. Cette perturbation peut être due à un élément exogène (aliment, antibiotique, stress…) ou endogène (modification du transit ou du pH intestinal) [18].

II. Pathologie d'origine bactérienne les plus importantes chez le lapin

II.1. *La* staphylococcie du lapin :

La bactérie responsable, *Staphylococcus aureus*, infecte le lapin au niveau de microlésions cutanées avant d'envahir les tissus sous-cutanés. Les principaux signes cliniques sont des pododermatites (abcès plantaires), des mammites et des abcès sous-cutanés. Moins fréquemment, des abcès peuvent se développer au niveau de différents organes tels que les poumons, le foie, le cœur, l'utérus. Des formes septicémiques sont également observées. Les signes cliniques associés aux abcès sont des baisses de production, de l'infertilité voire de la mortalité (Vancraeynest *et al* 2006). [19] [25]

II.2. Infections par *Escherichia coli* chez le lapin :

Les Colibacilles (*Escherichia coli*) sont des hôtes normaux de la flore intestinale de nombreuses espèces animales. Cependant certaines souches peuvent représenter un des agents étiologiques le plus important dans les troubles intestinaux chez les animaux. Les entérites bactériennes peuvent être dues à la présence d*'Escherichia coli* de sérotypes pathogènes (O103) ou à la prolifération anormale de colibacilles habituellement non pathogènes.

La colibacillose est l'une des plus importantes causes de pertes économiques dans le secteur cunicole. Elle est d'origine bactérienne constitue un des problèmes majeurs chez les lapins et entraine des taux de mortalité considérable.

Les lésions macroscopiques observées lors de colibacillose aiguë sont généralement limitées à la partie terminale de l'intestin grêle, au cæcum et au côlon. Le contenu intestinal est anormalement liquide et une inflammation variable de ces différents segments, parfois associée à des zones hémorragiques est visible

Par microscopie optique, on peut observer des *E. coli* attachés à la muqueuse intestinale. Sous les zones colonisées, la lamina propria est infiltrée de polymorphonucléaires. En microscopie électronique, on observe l'effacement des microvillosités et les *E. coli* sont fixés à la membrane cellulaire des entérocytes sur des formations appelées «piédestals» riches en actine (Peeters *et al* 1984, Licois *et al* 1991).[20]

II.3. Les entérotoximie du lapin associent à des *Closritridium* :

Le lapin peut héberger de nombreuses espèces de *Clostridium* (Marlier et al 2003) mais très peu d'entres elles sont reconnues comme des pathogènes primaires à l'exception de *C.spiroforme* et de *C. piliforme*. Le pouvoir pathogène réel de *C. perfringens* est toujours sujet à de nombreuses discussions.

II.3.1. *Clostridium spiroforme*

Les entérotoxémies associées à des *Clostridium* sont connues depuis longtemps chez le lapin. Elles sont caractérisées soit par une paralysie intestinale entraînant une accumulation de gaz dans l'estomac et l'intestin, soit par une entérite avec diarrhée remplaçant une constipation opiniâtre. Dans les deux cas, l'évolution habituelle est la mort des animaux.[19]

II.3.2.*Clostridium piliforme (maladie de Tyzzer)*

Clostridium piliforme est l'agent de la maladie de Tyzzer

La maladie de Tyzzer chez le lapin revêt deux formes. La forme chronique est caractérisée par une diarrhée aqueuse, des retards de croissance et une mortalité inférieure à 5%. Les cas aigus apparaissent chez des lapins, généralement après le sevrage mais peuvent aussi concerner les adultes (Le Normand *et al* 2005).[19] [24]

Partie pratique

- **.Objectif de l'étude :**

Evaluer la qualité bactériologique et physicochimique de l'aliment commercial destiné au lapin au niveau de trois fabricants d'aliment à travers 4 élevages cunicoles dans les wilayat d'Alger et de Tizi Ouzou.

I. Matériels et Méthodes :

I.1. lieu et durée de l'expérimentation

Notre étude expérimentale s'est déroulée au niveau des laboratoires de microbiologie et zootechnie de l'Ecole National Supérieure Vétérinaire d'Alger, durant la période allant du mois de février au mois de juin **2012.**

I.2. Matériels

I.2.1. Matériels de laboratoire

Pour la réalisation de notre pratique nous avons utilisé le matériel, les milieux et les réactifs usuels de laboratoire microbiologie et zootechnie [annexe I].

I.2.2. Origine et nombre des prélèvements :

Nous avons étudié 15 échantillons d'aliment pour le lapin de type granulé commercial. Les prélèvements ont été effectués au niveau de 4 élevages mais de trois fournisseurs différents à savoir : **ONAB**, fabricant de **BOUZEREAH** et fabricant de **Tizi-Ouzou** voir tableau 2.

II. Méthodes :

II.1 Plan d'échantillonnage :

Les échantillons sont prélevés à partir de sac de **25kilogramme (Kg)** à raison de 250gramme(g) dans des sachets Stomacher stériles. Le prélèvement se fait à l'ouverture du sac à l'aide de pot et gant stériles.

Tableau2 : Origine et nombres des différents prélèvements

Fournisseur	**ONAB**		**BOUZEREAH**			**TIZI OUZOU**
Elevage	**ENSV**	**souidania**	**ENSV**	**Rouïba**	**Jardin d'essai**	**TIZI***
Nombre de prélèvement	**01**	**01**	**03**	**02**	**07**	**01**
	EN1	**SB1**	**EB1, EB2, EB3**	**RB1, RB2**	**JB1, JB2, JB3, JB4, JB5, JB6, JB7**	**TZ1**

- **ONAB :** Office National d'Aliment de Bétail - **TZ :** Echantillon/ Tizi-Ouzou

- **EN :** Echantillon /ONAB/ l'élevage de l'ENSV - **SB** : Echantillon /ONAB / l'élevage de Souidania

- **EB :** Echantillon / Bouzereah/ l'élevage de l'ENSV - **RB** : Echantillon / Bouzereah / l'élevage de Rouïba

- **JB** : Echantillon / Bouzereah / l'élevage de Jardin d'essai

II.2 Préparation de l'échantillon pour l'analyse microbiologique :

II.2.1 Préparation de la suspension mère

La préparation des échantillons a été réalisée selon les directives de la norme AFNOR (NF V08-201) voir annexe IV].

Mode opératoire :

- ✓ Pesée :

10g de granule sont prélevés aseptiquement de chaque sachet de nos échantillons et introduit aseptiquement dans un Erlen Meyer stérile.

- ✓ Pré trempage :

90 ml du diluant TSE (Tryptone Sel Eau) sont ajoutés à l'échantillon, on laisser en contact le diluant et l'aliment pendant **20 minutes.**

- ✓ Homogénéisation :

L'homogénéisation a été fait à l'aide d'un broyeur (Stomacher) pendant **07 secondes.**

- ✓ Sédimentation

On laisse sédimenter **03 minute** afin qu'il est dépôt des résidus. Cette suspension constitue la solution mère qui correspond à la dilution **1/10 (SM)**

Figure 06 : un prélèvement

Figure 07 : Pré trempage

figure 08 : Homogénéisation

Figure 09 : Sédimentation

Figure 10 [6-7-8-9] : Préparation de la solution mère

II.2.2 Préparation des dilutions :

On réalise à partir de la suspension mère trois dilutions successives (10-2, 10-3 et 10-4) en progression géométrique à raison de 1/10. Cette dilution est réalisée avec le même diluant (TSE).

Figure 11 : préparation des dilutions décimales

II.3.Analyses bactériologiques

Toutes nos recherches et analyses ont été effectuées selon les normes internationales et française (**ISO et AFNORE).**

II.3.1. Recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale à 30° C (FAMT) :

- **Mode opératoire :** selon la norme **VFV 08-051(1999)**

L'ensemencement se fait en profondeur (figure n° 12).

1. Après identification des boites, on dépose stérilement 1 ml de chaque diluant (10^{-2},10^{-3} et 10^{-4}). Prendre soin de bien homogénéiser et de changer d'embout de la pipette automatique à chaque dilution.
2. On coule 12 à 15 ml de gélose PCA fondue au préalable et refroidie dans un bain d'eau à 45° C.
3. On mélange en maintenant la boite couverte sur la surface de la paillasse , on fait 6 cercles de 150 mm de diamètre environ, dans le sens des aiguilles d'une montre, puis 6 cercles dans le sens inverse, ensuite 6 aller et retours de haut en bas et 6autres de gauches à droites en prenant garde de ne pas faire d'éclaboussures, puis on laisse refroidir.
4. Une fois cette couche solide on rajoute la double couche.
5. On place les boites de Pétri retournées dans une étuve à 30° C pendant 72 heures.

- **Lecture**

On compte toutes les colonies de tailles et de formes différentes.

- **Dénombrement interprétation**

Pour interpréter les résultats, on ne doit tenir compte que des boites qui contiennent moins de 300 colonies. Le dénombrement est effectué par comptage des colonies, on fait la moyenne des deux dilutions selon la formule suivante :

$$N = \frac{\sum C}{1{,}1 \times d}$$

∑ **C :** La somme des colonies comptées sur les deux boites retenues.

d : Taux de dilution correspondant à la première dilution.

Photo 01 : boite de dénombrement de FMAT (photo personnel)

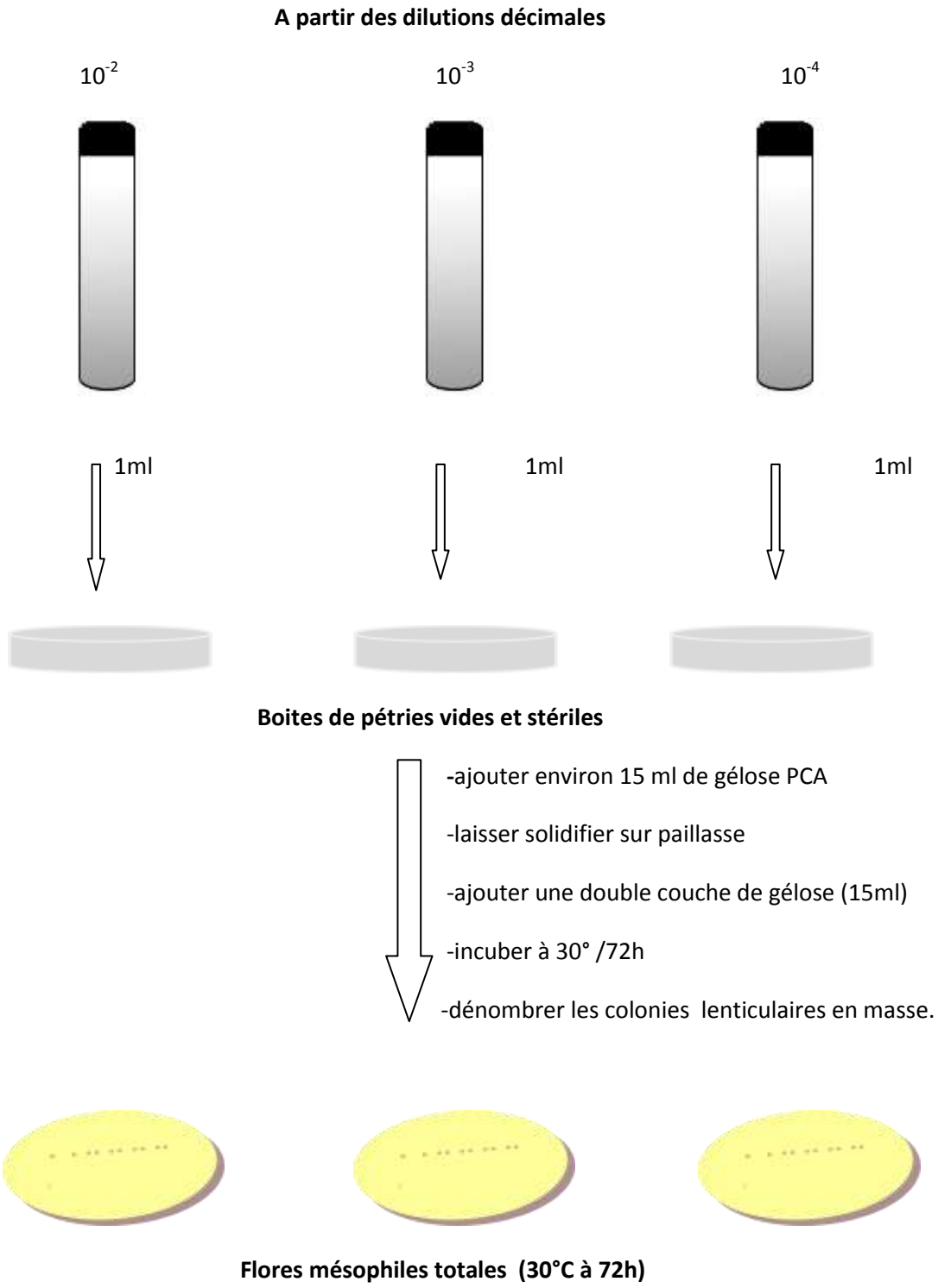


Figure 12: Recherche et dénombrement de la flore mésophiles totales à 30C°

II.3.2 Recherche de *Staphylococcus aureus*

- **Mode opératoire :** selon la norme **ISO 6888 et NF V08-057-1**

1- On transfer , à l'aide d'une micro- pipette stérile, 0,1ml des dilutions décimales, à la surface d'une boite de gélose Baird Parker additionnée d'une émulsion d'œuf et de téllurite.
2- On étale soigneusement l'inoculum avec un étaleur stérile pour chaque boite.
3- Les boites sont incubées à 37°C pendant 24h à 48h (figure N° 13).

- **Lecture**

Les colonies caractéristiques sont noires ou grises, brillantes, convexes et entourées d'une zone transparente. Ces colonies ont repiquées sur gélose nutritive inclinée, incubées à 37°C pendant 24h, puis conservées à +4°C. Les colonies ainsi isolées ont subit ensuite une étude microscopique et une confirmation biochimique.

Photo 02 : boite de la recherche de S.aureus (photo personnel)

- **Etude microscopique**

Cette étude a été réalisée par une coloration de Gram afin de déterminer l'aspect pariétal et morphologique des bactéries. Voir [annexe II]

- **Confirmation biochimique**

La réalisation de cette étape nous a permis de déterminer la présence ou l'absence des souches *S aureus* et a été effectuée par la mise en évidence des caractères suivants :

- Epreuve de la catalase
- Epreuve de la staphylocoagulase libre.

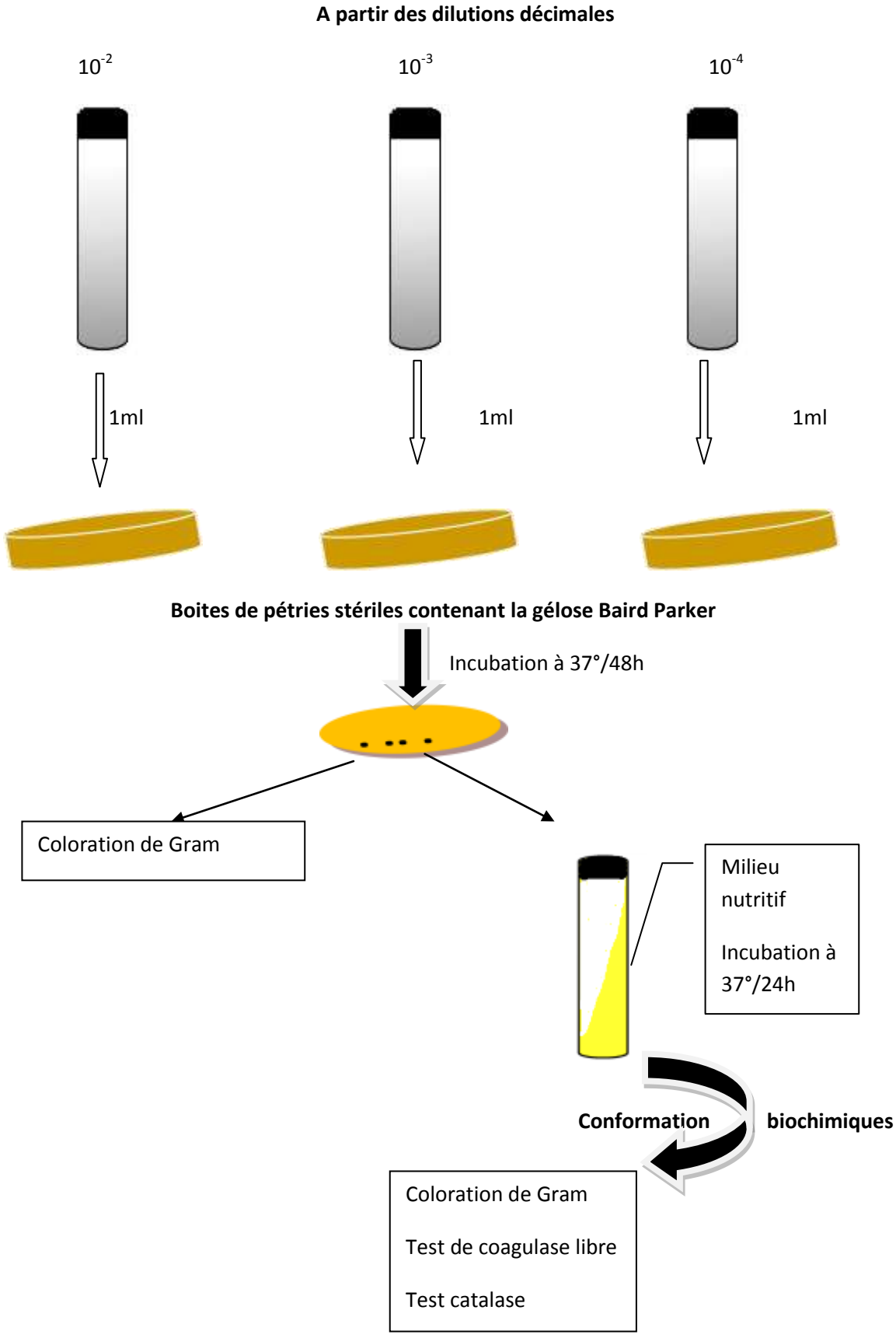


Figure 13 : Recherche et confirmation de *Staphylococcus aureus*

II.3.3 Recherche et dénombrement d'*Escherichia coli* :

Cette recherche a été réalisée sur deux types de milieu solide et liquide

1. S**ur milieu gélosé :**

Mode opératoire : selon la norme **AFNOR NF V08-06**

1-Première étape

Cette recherche a été effectuée avec la même technique d'ensemencement que la recherche et dénombrement de la FMAT à 30°C. Le milieu utilisé est la gélosé lactosé bilié au cristal violet et rouge neutre (VRBL). L'incubation des boites de Pétri a eu lieu dans une étuve à 37° C pendant 48 heures.

- **Lecture et interprétation :**

Après la période d'incubation on a procédé au comptage des colonies caractéristiques de coliformes (violacées, d'un diamètre de 0,5 mm au plus et entourées d'une zone rougeâtre due à la précipitation de la bile) pour chaque boite contenant mois de 150 colonies. Les nombres obtenus ont été interprétés selon la formule citée précédemment.

2- deuxième étape :

Suite à ce premier isolement une étape de confirmation, sur gélose éosime et bleu de méthylène (EMB), a été effectuée. Les boites ont été incubées à 37°C pendant 24h. Après incubation les colonies caractéristiques (dos de scarabée) ont été repiquées sur gélose nutritive inclinée, incubées à 37°C pendant 24h, puis conservées à +4°C. Les colonies ainsi isolées ont subit ensuite une étude microscopique (coloration de gram) et une confirmation biochimique.

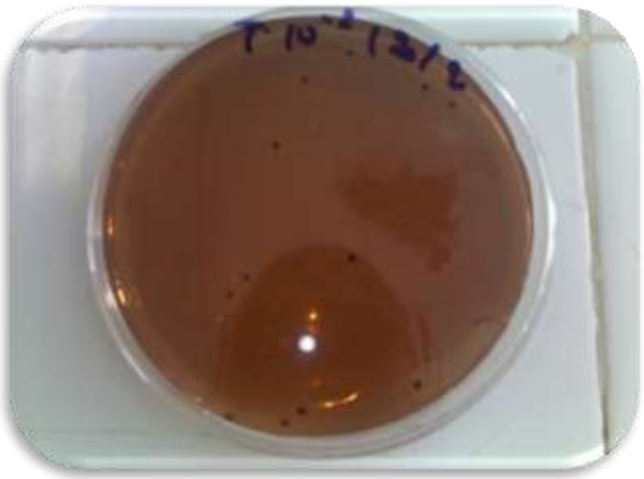


Photo 03 : boite de la recherche d'E. Coli (photo personnel)

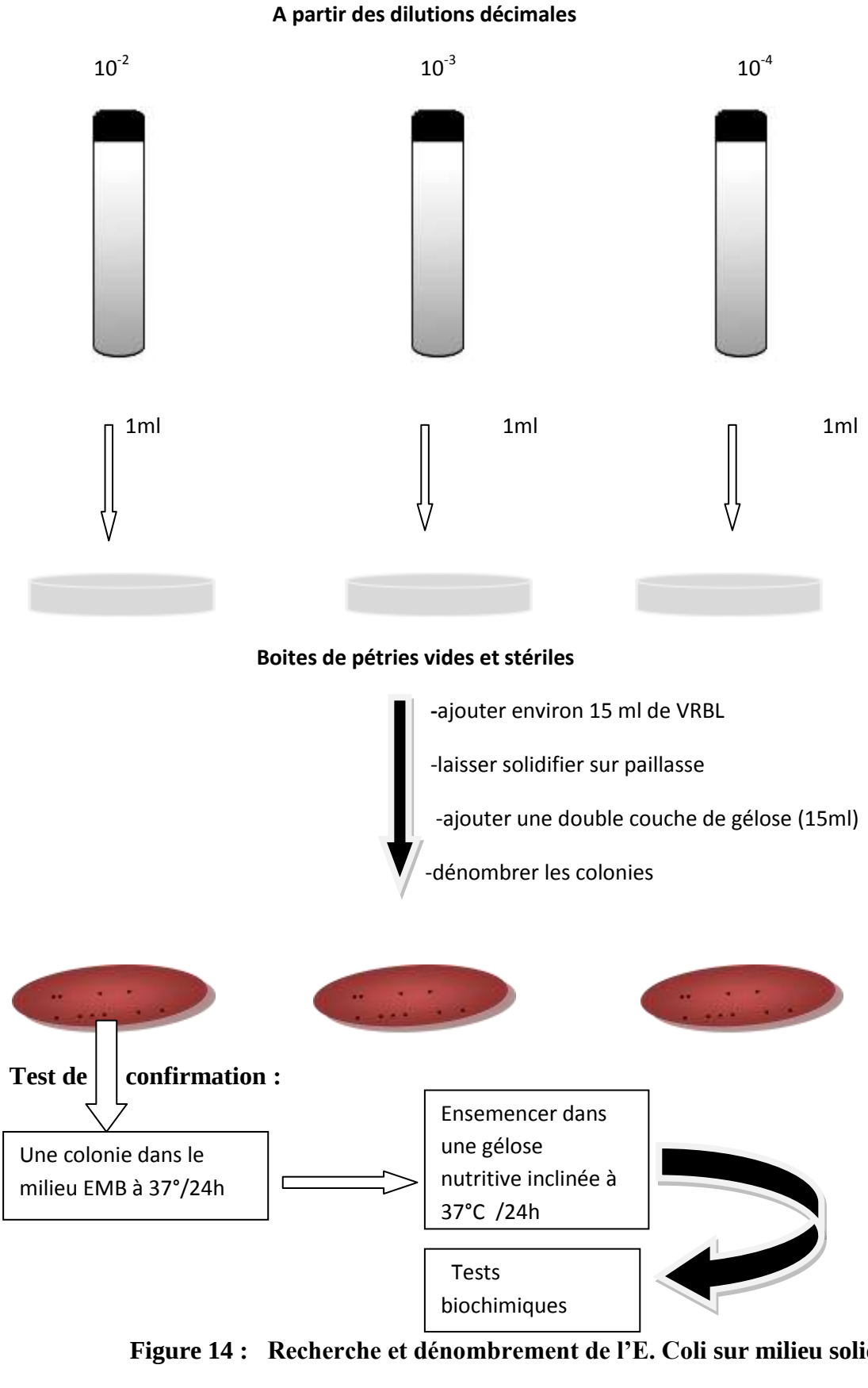


Figure 14 : Recherche et dénombrement de l'E. Coli sur milieu solide

2. Sur milieu liquide :

- **Milieu utilisé**

- Milieu BLBVB liquide
- Bouillon de l'eau péptonné exempt d'indole pour le test de confirmation

- **Technique**

- **Test de présomption**

Pour ce test on a utilisé la méthode du nombre le plus probable (NPP). On Prépare dans un portoir une série de 9 tubes contenant le milieu BLBVB, avec cloche de Durham, à raison de trois tubes par dilution. On ensemence 1ml de chaque dilution, puis mélanger soigneusement et doucement avec vortex. Incuber à 37°C pendant 24h à 48h.

- **Test de confirmation**

Ce test consiste à confirmer la présence d'*E.coli* par la production d'indole. A partir des tubes positifs on ensemence 1ml dans deux tube séparément, un tube de BLBVB liquide et un autre d'eau péptonné, incuber à 37°pondant 24h. La réaction de révélation a été faite après addition de quelques gouttes du réactif de Kovacs.

- **Lecture**

- lors du test de présomption les tubes positifs sont reconnus par la production ou non de gaz dans les cloches de Durham, la présence de trouble et le changement de l'indicateur du pH dans le milieu (couleur verte du milieu vire au jaune).

- Lors du test de confirmation les tubes positifs sont reconnus par la formation d'un anneau rouge dans l'eau péptonné exempt d'indole.

- **Interprétation**

Les tubes positifs ont été repérés d'où on a pu obtenir un chiffre caractéristique. Ce dernier est décodé selon une lecture sur la table de Mac Grady (annexe V).

Photo 04 : Milieu BLBVB pour la recherche d' *E .Coli* (photo personnel)

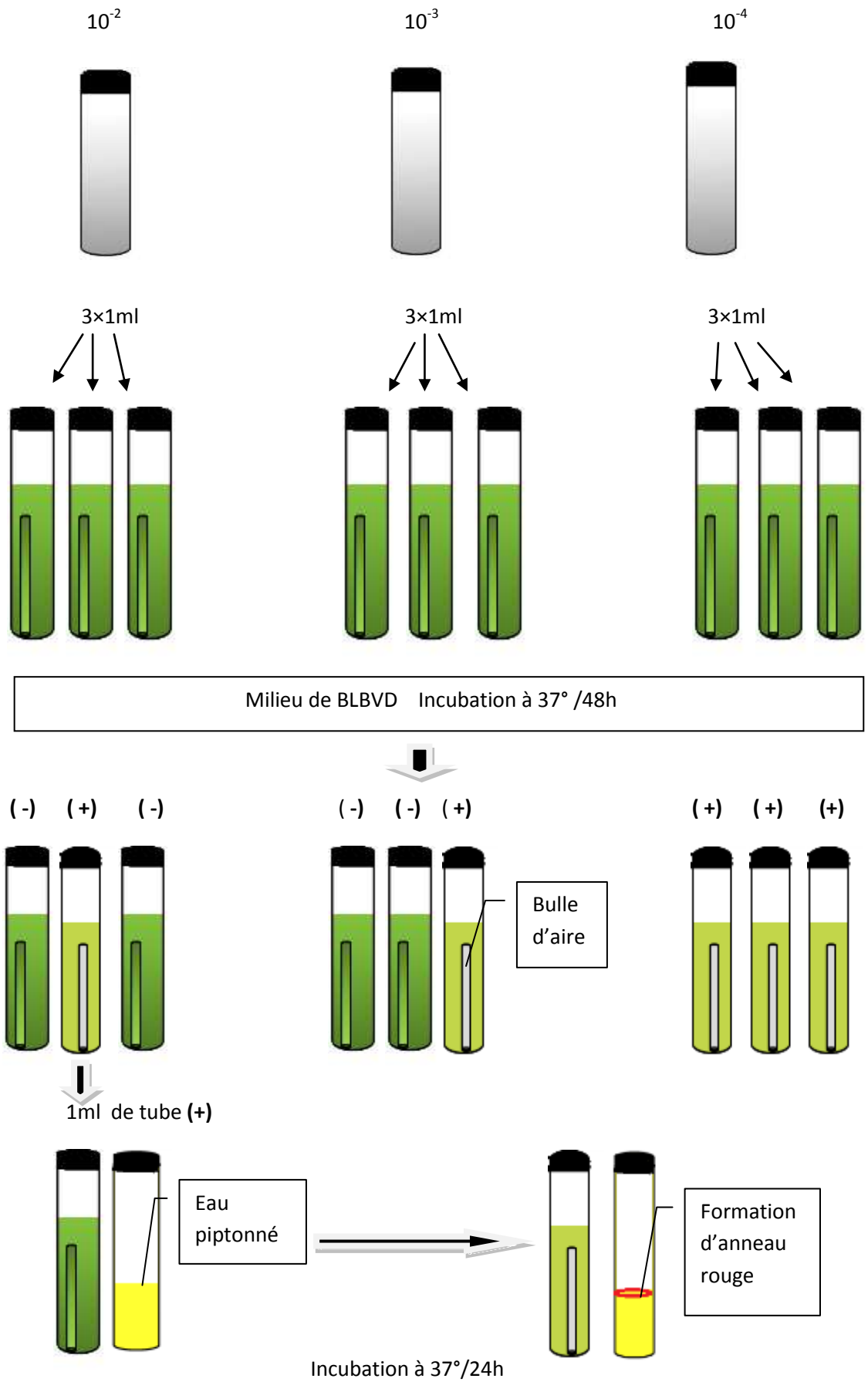


Figure15 : recherche et dénombrement de l'E. Coli

II.3.4 Recherche et dénombrement de clostridies:

Le milieu utilisé est la gélose viande foie additionnée d'alun de fer et de sulfite de sodium.

***Technique**

1- Pour réaliser cette recherche on a introduit avec une pipette automatique 5ml de la solution mère et 5ml de la solution10-2 dans un tube stérile séparément.
2- On traite thermiquement à 80°C, pendant 10mn puis on les refroidit à l'eau du robinet.
3- On rajoute la gélose viande foie à raison de 15 à 20ml dans les tubes additionnés de 1ml de sulfite de sodium et 4 gouttes d'alun de fer.
4- On incube les tubes à 37°C pendant 24 à 48h.

***Lecture**

Les spores apparaissent en noir suite à la réduction du sulfite de sodium en présence de fer en sulfure de fer. La lecture est effectuée par comptage des colonies des spores caractéristiques (colorée en noir).

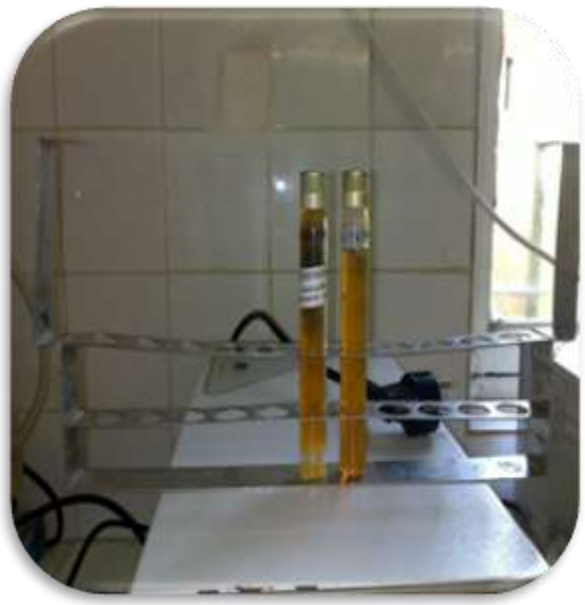
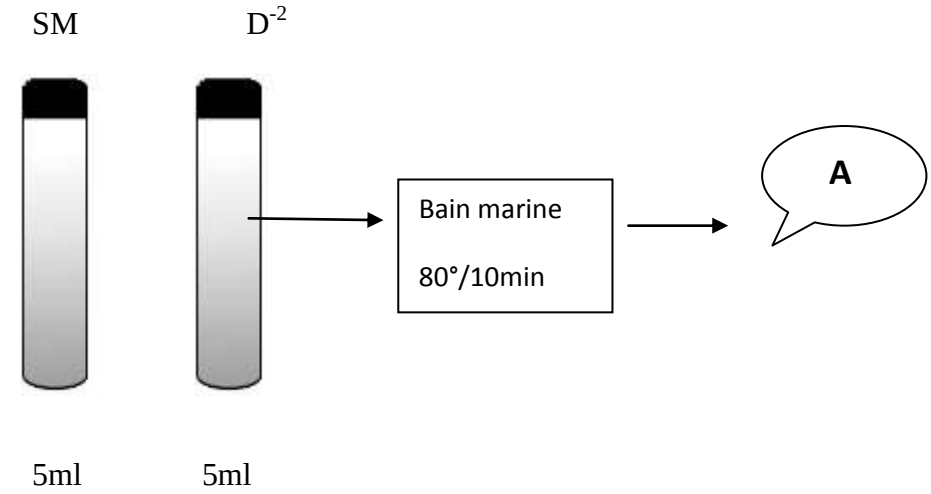
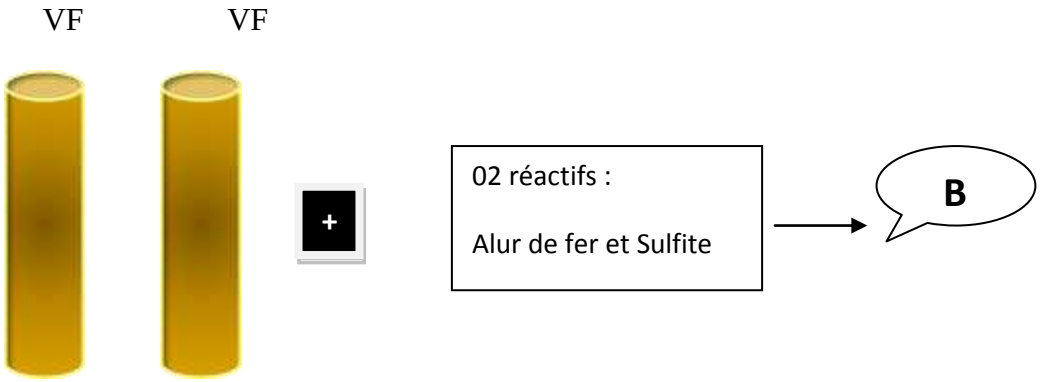


Photo 05 : Recherche et dénombrement des clostridies (photo personnel)

A partir de la solution mère et la dilution D^{-2}



Traitement thermique à 80°C/10 minute



Préparation de milieu

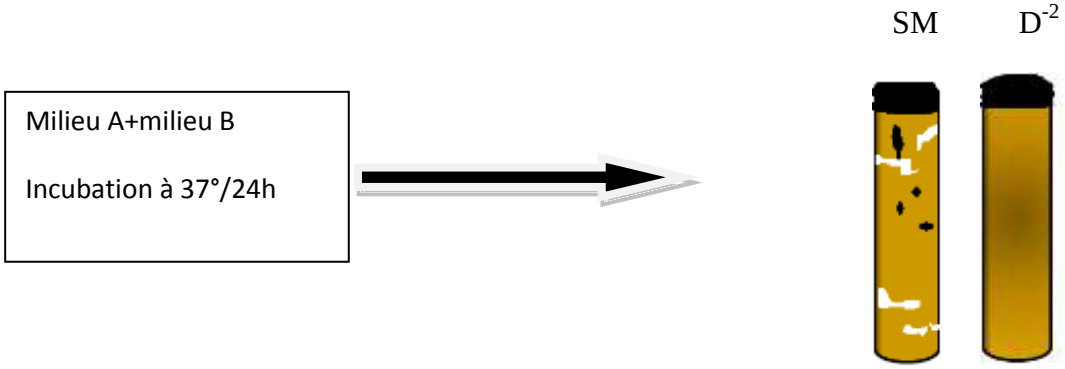


Figure 16 : Recherche et dénombrement des clostridies

II.4 Analyses physico-chimiques :

Les analyses chimiques des échantillons s'effectués au laboratoire de l'ENSV selon la méthode d'Alfort 1985.

II.4.1 Détermination de la matière sèche :

La matière sèche est la masse restante après dessiccation complète, elle est déterminée conventionnellement par le poids de ces aliments après dessiccation dans une étuve.

- **Principe :**

Evaporation de l'eau d'une prise d'essai dans une étuve à température de 103±1°C pendant 24h.

- **Mode opératoire :**

Prendre un plateau et ajouter 100g d'échantillon à analyser. Introduire le plateau dans une étuve réglée à 103 ±1°C pendant 24h.

Après ce temps, fait sortir l'échantillon de l'étuve et le pesé.

- **Expression des résultats :**

La matière sèche est exprimée en pourcentage selon la relation suivante :

Teneur en MS% = (X/Y) × 100

X : poids de l'échantillon après dessiccation (sec)
Y : poids de l'échantillon humide (frais)
MS : matière sèche

II.4. 2. Détermination des matières azotes totales (MAT) :

L'azote total est dosé par titrimétrie, après minéralisation (selon la méthode Kjeldah) et distillation. Le produit est minéralisé par l'acide sulfurique concentré en présence d'un catalyseur : l'azote organique est transformé en azote ammoniacal par lessive de soude et on le dosse après l'avoir reçu dans l'acide borique (indicateur)

- **Mode opératoire :**

  - ✓ **Minéralisation :**

Introduire dans un matras 2g d'échantillon en poudre.

Porter le matras sur le sur le support d'attaque après avoir ajouté 2g de catalyseur, et 20ml d'acide sulfurique. Chauffer à température 400°C pendant 1h jusqu'à l'obtention de coloration verte stable.

Laisser refroidir, puis ajouter peu à peu, avec précaution 200ml d'eau distillée en agitant, laisser refroidir et compléter au trait de jauge.

- ✓ **Distillation :**

Transverse 50ml du minéralisât dans le matras de l'appareil distillatoire.

Dans un bicher destine à recueillir le distillat ; introduire 20ml de l'indicateur.

Verser dans le matras contenant le minéralisât 50ml de lessive de soude. Mettre l'appareil en position de marque. Poursuivre la distillation jusqu'à récupération d'environ de 100ml de distillat.

- ✓ **Titrage :**

Titrer en retour par de l'acide sulfurique N/20 jusqu'à la réobtenions de la couleur initiale de l'indicateur.

- ➢ **Expression de résultat :**

$$Q=X \times 0.0007 \times 100/Y \times 200/A$$

Q : quantité d'azote (g)

X : descente de la burette (ml)

Y : poids de l'échantillon de départ (g)

A : volume de la prise d'essai

0.00028 : quantité en (g) d'azote correspondant à 1ml d'acide sulfurique (1/20) N

II.4.3 Détermination des matieres minérales :

Ce sont des substances résultantes de la destruction de la matière organique après incinération.

- ➢ **Mode opératoire :**

Porter au four à moufle la coupelle qui contient 2g de l'échantillon qui à servi à la détermination de la matiere sèche par dessiccation à l'étuve.

Chauffer progressivement, afin d'obtenir une carbonisation sans inflammation de la masse pendant 1h30 mn à 200°C puis à 500°C pendant 2h30mn.

L'incinération doit être poursuivie s'il y a lieu jusqu'à combustion complète du charbon formé (résidu gris cendre)

Placer la coupelle dans dessiccateur puis peser.

- **Expression des résultats :**

Teneur en MM%MS = (A×100) / (B×MS)

A : poids des cendres (g)

B : poids de l'échantillon sec (g)

MS : teneur en matière sèche en %

III.4.4 Détermination des matières grasses :
IV.

- **Principe :**

Les matières grasses des aliments sont obtenues par extraction directe au mayen d'un solvant, puis élimination du solvant par distillation et dessiccation.

Pesé du résidu.

- **Expression des résultats :**

Teneur en MG%MS= (A-B×100) / (C×MS) ×100

A : poids de ballon + résidu après l'étuve de 2h

B : poids de ballon vide

C : poids pris d'essai

MS : matière sèche

Résultat et discussion

I. Résultat de l'analyse bactériologique :

I.1 Résultats de la recherche et le dénombrement de la flore aérobie mésophile totale :

Le nombre des bactéries de la FAMT est reporté dans le tableau3, figure 17

Tableau3 : Evaluation de FAMT contaminant l'aliment

Prélèvement	RB_1	RB_2	JB1	JB2	EN1	JB3	TZ1	EB1	EB2	EB3	JB4	JB5	JB6	JB7	SB1
Nombre de FMT ($x10^3$) UFC/g	300	188	327	110	246	0	58	37	83	378	365	129	280	0	45

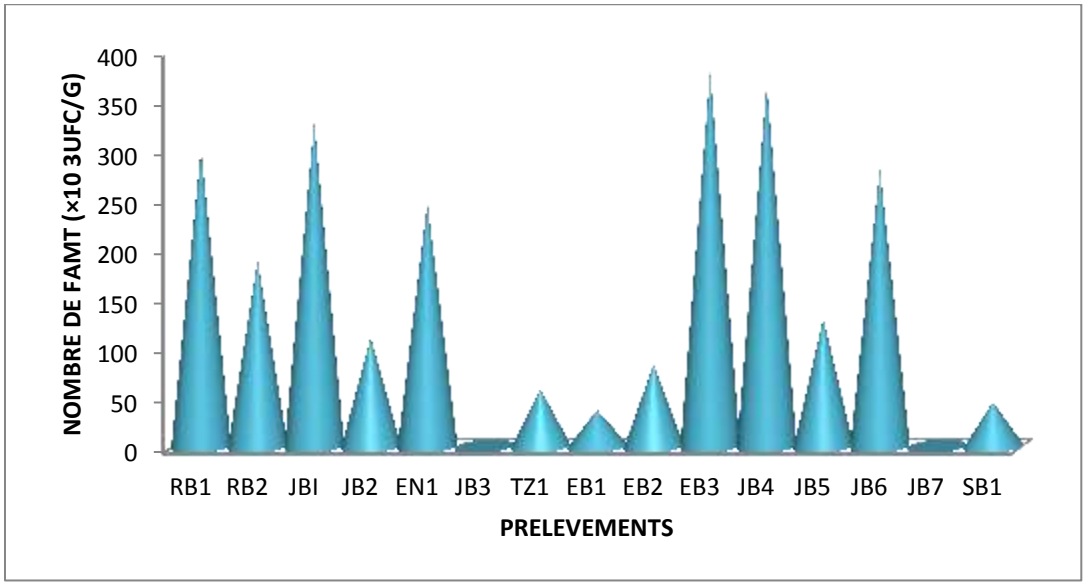


Figure 17 : Evaluation de FAMT contaminant l'aliment

La figure 17 présente évaluation de FAMT contaminant l'aliment où il y a un nombre de 378.10^3UFC/g dans l'aliment de Bouzereah et aussi bien élevé de ONAB. Un nombre de 58.10^3 dans l'aliment de Tizi-Ouzou

I .2.Résultat de la recherche et dénombrement des *Escherichia coli* :

Aucune présence d*'E. Coli* n'a été révélé après isolement et identification sur milieu VRBL. Néanmoins, la présence de plusieurs colonies de d'autres entérobactéries a été dénombrées, d'où l'intérêt de l'utilisation des milieux solides qui permettent une multiplication des bactéries sous forme de colonies qui facilite leur caractérisation sur le plan macroscopique.

Par contre, avec l'utilisation du milieu liquide un prélèvement s'est révélé positif. On a dénombré 0,4UFT/g *E. coli* dans le prélèvement EB1 par la méthode du NPP. En effet, le

milieu liquide permet une poussée et un enrichissement de la flore recherchée ce qui a aidé à mettre en évidence les bactéries dans ce type de milieu.

En conséquent, ces résultats montrent un taux de 6,66% d'*E. Coli* dans la totalité des prélèvements. L'absence de ce germe à été à un taux de 93,33% (tabeau 4,figure 18)

Tableau 4 : Pourcentage d'E. *Coli* dans tous les échantillons.

Prélèvement	Nombre	%
Présence d'E. Coli	1	6,66
Absence d'E. Coli	14	93,33
Totale	15	100

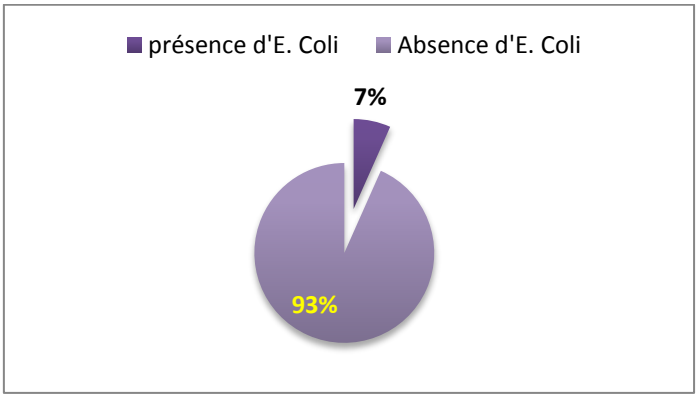


Figure 18 : Contamination de l'aliment par *E coli*

I.3. Résultats de la recherche et dénombrement des Clostridies *:*

Cinq échantillons ont été positifs pour la recherche des Clostridies avec des nombres différents (figure 19). L'absence des clostridies a été notée dans le reste des prélèvements. Ceci a montré donc un taux positif de 33,3% et un taux négatif de 66,6 (tableau 5,figure 19)

Tableau 5 : Nombre de colonie de *clostridium*

Prélèvement	RB1	RB2	JB1	JB2	EN1	JB3	TZ1	EB1	EB2	EB3	JB4	JB5	JB6	JB7	SB1
Nombre de colonie	9	0	0	0	0	0	0	2	3	8	2	0	0	0	0

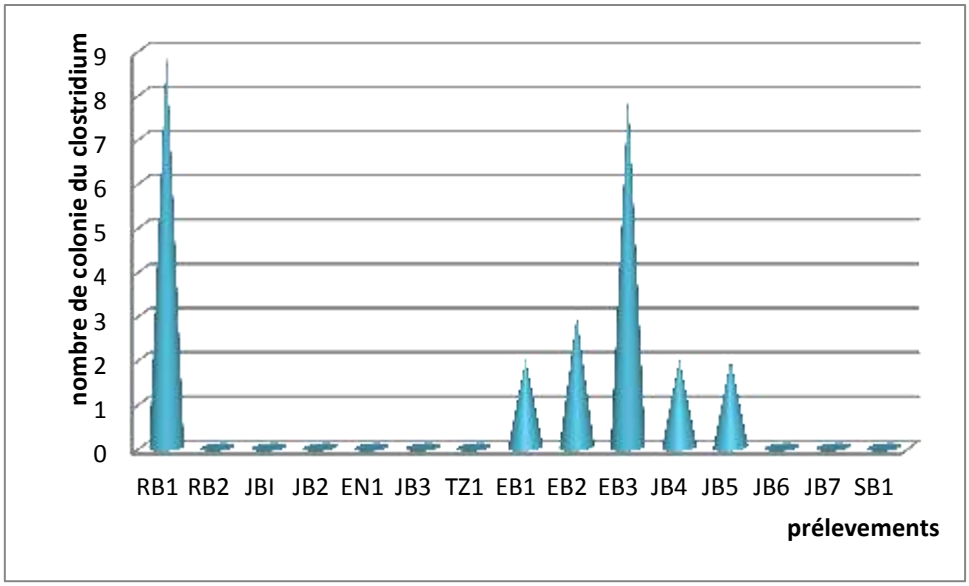


Figure 19 : Résultats du dénombrement des clostridies dans l'aliment

Histogramme présente le nombre de colonie trouvée dans chaque prélèvement où il ya un nombre de 9 dans l'aliment de RB1 et de 8 dans l'aliment de EB1. Il ya l'absence totale de colonies dans 9 prélèvements

Tableau 6 : prévalence de *clostrudium* dan l'aliment

Prélèvement	nombre	%
Présence de clostridium	5	33,33
Absence de clostridium	140	66,67
Taux	15	100

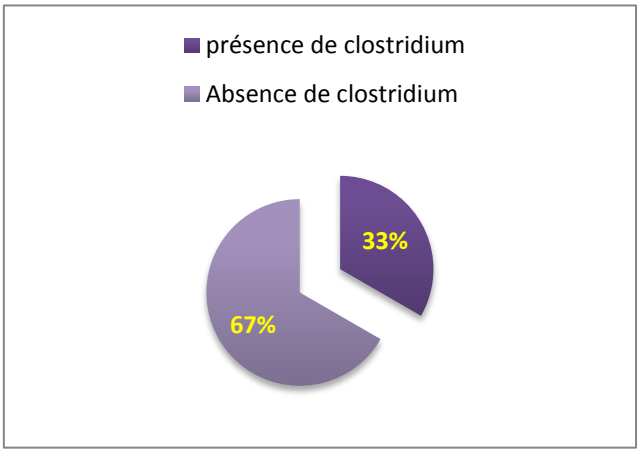


figure20 : Taux de contamination de l'aliment par les *clostridies*

I.4. Résultat de la recherche de *Staphylococcus aureus* :

Aucune présence de l'espèce *S aureus* n'a était trouvé. Mais une présence non négligeable a été remarquée concernant d'autres espèces qui non pas étaient identifiées (*Staphylococcus spp)* (tableau6 et figure21).

Tableau 6 : Pourcentage de contamination de l'aliment par les staphylocoques.

	Nombre Prélèvement	%
S aureus	0	00
Staphylococcus spp	6	40
Absence de Staphylocoques	9	60
Total	15	100

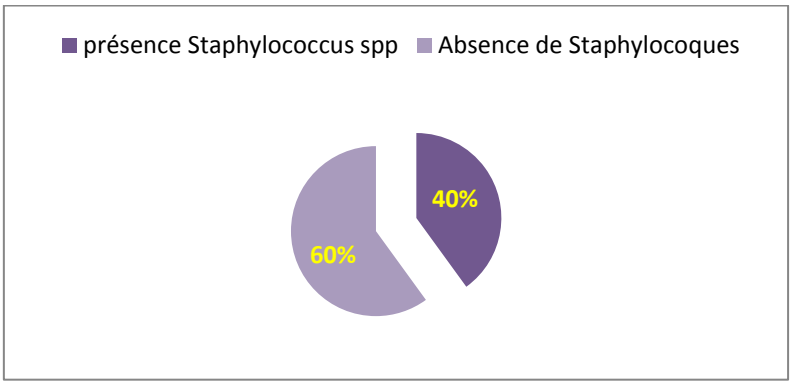


Figure 21 : Prévalence de *staphylococcus spp* dans l'aliment

II. Résultats de l'analyse physicochimique chimique :

II.1. Teneur de la matière sèche :

Le dosage en matière sèche dans tous nos prélèvements varie entre 88% à 90% (figue 22)

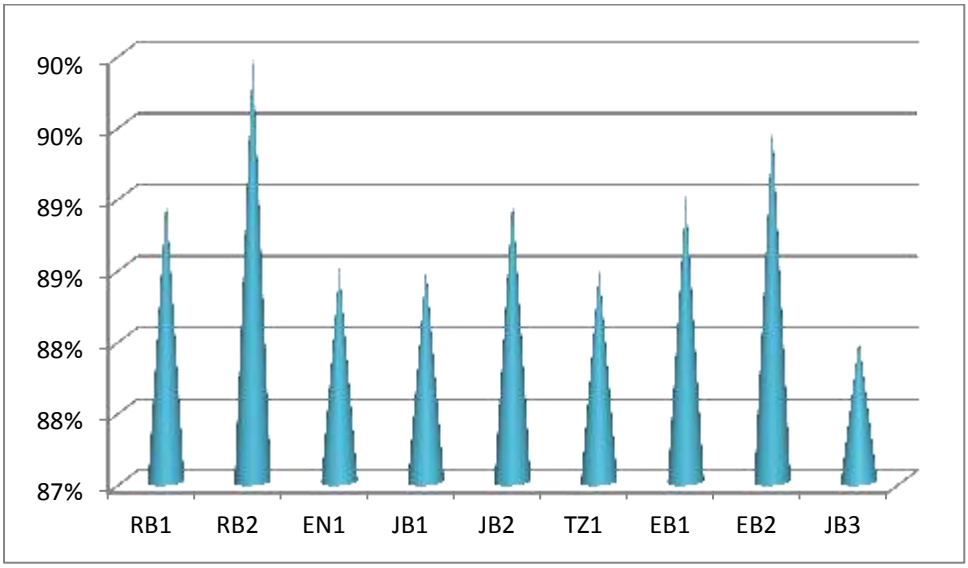


Figure 22 : Dosage de matière sèche dans l'aliment

II.2. Teneur en matière azoté totale :

Le dosage de la MAT dans l'ensemble des prélèvements est déterminé par apport au dosage de la matière sèche (figure 7)

Tableau 7: pourcentage de MAT dans l'aliment (%MS)

prélèvement	EN1	RB2	JB1	TZ1	RB2	JB2	EB1	EB2	JB3
MAT (%MS)	14,42	14,47	13,44	11,55	14,05	12,67	14,94	14,75	15.20

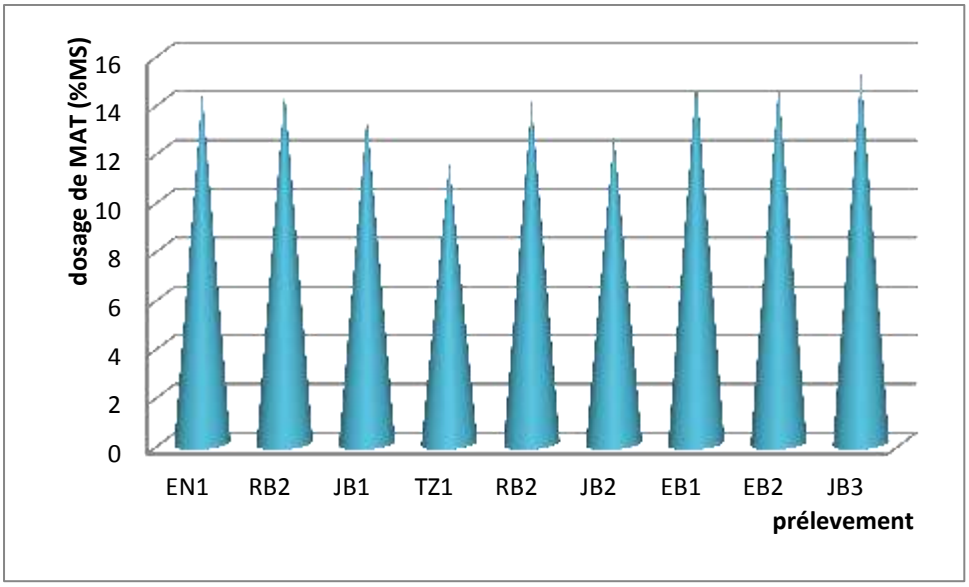


Figure 23: Dosage de matière azoté totale (%MS)

II.3. Teneur en matières minérales (MM) :

Aussi, le dosage de la MM de l'ensemble des prélèvements est déterminé parapport au dosage de la matière sèche (tableau 8 figure 24).

Tableau 8: Pourcentage de MM de l'aliment (%MS)

prélèvement	EN1	RB2	JB1	TZ1	RB1	EB1	EB2	JB3
MM (%MS)	5 ,74	11 ,86	3,28	5,09	3.14	6.93	7,48	4,51

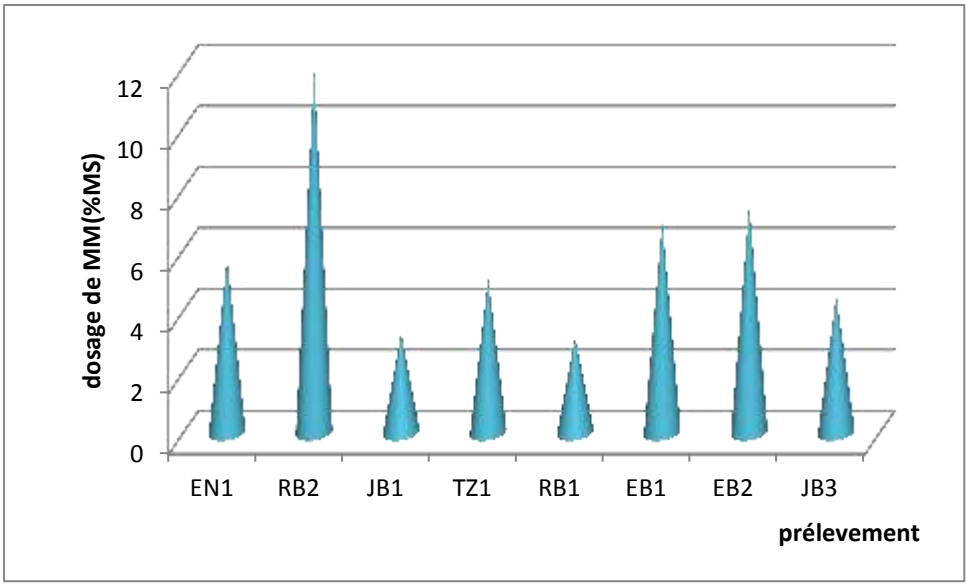


Figure 24: Dosage de MM dans l'aliment étudié (%MS)

II.4.Teneur en matières grasse :

Le dosage de la matière grasse est réalisé pour trois prélèvements d'aliment uniquement. Chacun venant d'un fournisseur différent.

Le résultat est déterminé par le pourcentage en MS (tableau 9 figure 25)

Tableau 9: le pourcentage en MS

prélèvement	EN1	EB1	TZ1
MM (%MS)	0,06	1,9	0,2

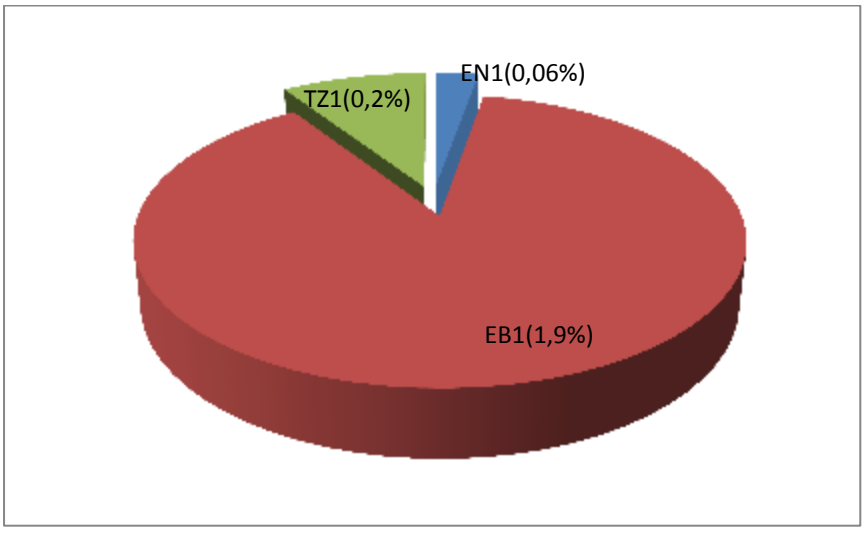


Figure 25: Dosage de MG dans l'aliment (%MS

La discussion

Un aliment répondant au besoin de tout animal doit avoir une qualité microbiologique en vigueur et un équilibre dans ses constituants physicochimique. En outre, le lapin animal très sensible au changement de plusieurs facteurs externes en premier l'aliment il serait très intéressent de lui maintenir une alimentation de qualité et équilibrée selon ses besoin.

Plusieurs, travaux ont été menés en vue de préciser le rôle de l'aliment dans la contamination de l'animal et dans la perturbation de sa croissance. En l'occurrence, il n'existe pas de valeurs maximales fixées par la législation pour ces paramètres. Pour cela on s'est basée dans notre discussion sur l'utilisation de certains travaux afin de pouvoir comparer et interpréter nos résultats préliminaires.

I.Discussion des résultats de l'analyse bactériologique:

- ✓ **Aspect méthodologique**

La prise d'échantillonnage, 1 prélèvement à l'ouverture de chaque sac d'aliment son répétition dans le temps, pourrait paraître insuffisante et donc la possibilité de sous-estimer la présence de certaine flore comme les *E coli*. Leur recherche par deux types de milieu (milieu liquide pour l'enrichissement) nous a donc semblé justifiée.

Les bactéries rencontrées par numération directe étaient en général présentes en faible quantité à l'exception de la flore aérobie mésophile totale. L'enrichissement utilisé par certains auteurs pour la recherche de ce genre de bactéries dans ce type d'aliment, a par contre montré la présence de ces bactéries de façon constante [29]

- ✓ **Qualité bactériologique**

Concernant la flore mésophile totale à 30°C nous avons trouvé le nombre le plus élevé de l'ordre 378.10^3 UFC /g, ceci indique sur la mauvaise pratique d'hygiène lors de fabrication ou conditionnement de l'aliment. Ce chiffre obtenu dans notre travail est légèrement plus inférieur à celui décrit par MICHEL GEINOZ 2011 qui est en moyenne 10^7UFC/g. Le dénombrement de cette flore reflète la qualité microbiologique générale du produit et permet d'en suivre l'évolution (pratique des normes). [30]

La recherche d'*E coli*, nous avons un taux de contamination de l'ordre de 6.66% correspondant à 1 prélèvement positif avec 0,4UFT/g. Ce faible taux peut ne pas causer de problème le jour de l'ouverture du sac d'aliment chez l'animal. Mais avec un stockage plus au moins long le risque de danger peut s'imposer avec ce type de contamination d'origine fécale le plus souvent.

La présence des clostridies avec un taux de l'ordre de 33,33% nous informe sur le manque de métrise technique lors des traitements thermiques durant la fabrication de l'aliment. Cette flore sporulante résiste à de haute température il serait impératif d'utilisé des procédés thermiques qui seront capable d'éliminé les bactéries résistantes. Il est à noter que le lapin est

très sensible à la présence de cette flore qui peut affecter sa santé avec l'apparition de diarrhées ou même de mortalité due à l'entérotoximie.

II. Discussion des résultats de la composition physico-chimique:

L'analyse chimique donne des informations sur la proportion de matière sèche, de protéine (matière azoté totale), de graisse et de matières minéraux contenus dans l'aliment de lapin

- ✓ la matière sèche :

L'analyse des résultats montre que le taux de MS (88% à 90%) est relativement semblable par apport à la recommandation pour la composition d'aliment destiné à des lapins en production intensive décrite par F.LABAS 2004

- ✓ la matière azotée totale :

La teneur en MAT dans l'aliment de Tizi-ouzou est de 11.55%, nos résultat est nettement plus bas que ceux trouvée par DIER-EN-ARTS 2010 et aussi par R.HENEFF et D.JAUVE 1988. Mais l'aliment de bouzereah (15.20%) et dans les normes préconisée par ces hauteur, qui ont décrit un taux optimal de protéine brute chez le lapin reproductrice d'environ 17%-18% et le même résultat est estimé par Sauvant et al 2002.

Néanmoins, notre résultat reste dans les normes préconisées pour les lapereaux en croissance.

En effet, Lebas et al 1998, Gidenne et al 2008 ont décrit qu'une augmentation de quantité d'un substrat azoté dans le caecum mène à une prolifération importante des bactéries potentiellement pathogène comme *Escherichia coli*. D'autre part, l'augmentation de l'apport de protéine diminue le pH au niveau du caecum ce qui pourrait favoriser la poussée des clostridies. D'où la nécessité d'équilibrer ce pH. Ceci est souvent observé en pratique courante par les éleveurs qui utilise l'acide acétique pour rééquilibre le pH dans l'appareil digestif de l'animal.

- ✓ La matière grasse :

La teneur en matière grasse dans nos aliment varie entre 0.06% à 1.9% est relativement basse par apport au résultat décrits par Sauvant et al 2002.

Par contre, les résultats obtenus par R.HENEFF et D.JAUVE 1988 montrent un taux allant de 1% à 3%. Ces auteurs estiment, si la teneur est supérieur à 3%, que le fabriquant ajoute un peu de MG pour augmenter la valeur énergétique, on peut aussi penser qu'il y a utilisation de matière première riche en matière grasse (graines de lupin, pellicule de colza ....)

- ✓ Matières minérales :

La teneur en matière minérale dans l'aliment testé est conforme selon les normes décrites par la recommandation pour la composition d'aliment destiné aux lapins en production intensive par F.LABAS 2004

Mais il reste à vérifier la quantité de chaque sel minéral à part dans l'aliment. Ce test est impératif surtout pour le dosage du calcium.

Conclusion

Conclusion :

Au terme de cette étude, consacrée à l'analyse bactériologique et physicochimique de l'aliment du lapin au niveau de trois fabricants à travers 4 élevages dans la wilaya d'Alger et de Tizi Ouzou, il est possible de proposer certains éléments de conclusion et perspectives.

Nos résultats préliminaire révèlent des taux de contamination bactérienne relativement faible par à port à ce qui a été déjà décrit par certains auteurs.

Concernant la composition chimique des échantillons, présente une teneur en MAT reste relativement bonne rependant au norme préconisée par les hauteurs.

En conséquence nos échantillons sont globalement qualifiés de satisfaisant et donc de bonne qualité. Il y a cependant toujours des cas d'exception, qui peuvent toute fois être évités grâce à un suivi régulier par les fabricants d'aliments

Il faut se garder de considérer ces faibles taux comme une garantie écartant tout risque de contamination ou de danger. En effet, ces teneurs totales ne donnent aucun renseignement sur l'évolution surtout de la flore microbienne durant un quelconque stockage.

Pour approfondir et faire suite à ce travail, plusieurs voies d'étude peuvent être envisagées comme perspectives :

- ✓ Une étude plus détaillé à prévoir sur la composition physicochimique afin d'estimer chaque composant à part,
- ✓ Evaluation de la contamination de l'aliment par les pathogène à savoir les salmonelles,
- ✓ Evaluation de la contamination de l'aliment par les moisissures et les levures,
- ✓ Evaluation de la contamination de l'aliment par les résidus toxiques (métaux lourds),
- ✓ Evaluation des niveaux de pollutions dans l'eau et leurs impacts sur nos élevages cunicoles.

D'un point de vue pratique ; une augmentation du nombre d'échantillons à étudiés. Suivre l'évolution de la multiplication bactérienne en faisant des prélèvements à plusieurs stade de la fabrication et lors des de conservation des aliments ainsi que les matières premières rentrant dans leur composition.

Annexe I

Matériels utilisée :

Nous avons utilisé le matériel courant de laboratoire est particulier, ce qui suit :

- Etuve
- Bain marine
- Autoclave
- Stérilisateur
- Microscope optique
- Tubes à essai, flacons, éprouvettes, fioles
- Boites de Pétri
- Micropipette
- Pipettes pasteurs
- Lames
- Agitateur
- Balance
- Sachées de stomachérs
- Minéralisateur
- Soxlhet
- Four (500°C)
- Distillateur.

Annexe II

- ✓ **Test de catalase :**

Sur une lame de microscope, nous avons déposé quelque goutte d'une solution de l'eau oxygéné, à l'aide d'une anse de platine, nous avons émulsionné une colonie à tester dans la goutte.

- **Lecture :**

S'il ya formation de bulle d'air, donc c'est un catalase positif.

- ✓ **Coloration de Gram :**

Mise en suspension d'une colonie dans une goutte d »eau distillée sur une lame de verre ;

Séchage à l'air libre puis fixation par la chaleur ;

Coloration par violet de gentiane pendant 1 minute ;

Traitement de la lame par le lugol 1 pendant minute ;

Rinçage à l'alcool puis à l'eau ;

Coloration par la fuscine pendant 30 seconds ;

Rinçage à l'eau, ensuite la lame est examinée par microscope optique.

- **Lecture :**

Les bactéries de forme des coques, et colorée en violet.

Les références

[1]. http://www.alimentation du lapin.com

[2].ROBERT GIANINETTI ;1984 : l'élevage rentable des lapins

[3].JEAN-CLAUDE PERIQUET. 1999 : le lapin

[4]. http://www.elevage-lapins.com/index.htm

[5].http://www.alimentation du lapin.com / index.htm (M. Avanzi)

[6].http://www .foin-et-granules-pour-le-lapin-1649.htm

[7] http://www .foin.com/index .htm

[8] http://www .foin-et-granules / comment lire l'étiquette pour l'aliment du lapin.

[9]. Journaux, Législation et réglementation, guide de bonnes pratiques hygiéniques 2010.journaux officiels. Application des principes HCCP de la fabrication de l'aliment pour animaux.

[10] SAMUEL BOUCHER ET LOIC NOUAILLE.2002 : Maladies des lapins ; 2eme édition

[11] GALLOUIN 1995 , GIDENNE ET LABAS 2005

[**12] .http://www.besoins nutritionnelles du lapin.com/index.htm.**

[13] http://www.alimentation du lapin. (Alimentation du lapin catégorie élevage du lapin lieu France.

[14] .composition de la nourriture pour la santé du lapin (Dier en arts 2010)

[15] qualité bactériologique de l'aliment, Fiche technique destinée à la pratique ; ALP actuel 2009, nº 34

[16]. Université Pierre et Marie Curie Bactériologie 2003. Bactériologie - Service de Bactériologie

[18]. Licois 1995 ; pathologie digestive d'origine bactérienne du lapin

[19].pathologie bactérienne et parasitaire : apport dans 10 dernières années cuniculture Magazine 2010

[20] CHRISTINE VERNOZY- ROZAND 2005: Escherichia coli O. 157:H7

[21] YVES LE LOIR.MICHEL GAUTIER 2010: *Staphylococcus aureus*

[22] JOSEPH6PIERRE GUIRAND et AL : pratique des normes en microbiologie alimentaire

[23] Journaux ; Guide pratique des bonne pratique poyr la fabrication d'aliments minéraux pour animaux.

[24] FURUKAWA T., FURUMOTO K., FUJIEDA M., OKADA E. 2002. Detection by PCR of the Tyzzer's disease organism (*Bacillus piliformis*) in feces

[25] LICOIS D., 1986b. La maladie de Tyzzer. *Ann. Rech. Vét.*,

[26] HERMANS K., DE HERDT P., DEVRIESE L.A., HENDRICKX W., GODARD C., HAESEBROUCK F., 1999. Colonization of rabbits with *Staphylococcus aureus* in flocks with and without chronic problems of staphylococcosis.

[27]. François LEBAS : La Biologie du Lapin Directeur de Recherches honoraire de l'INRA.

[28] Canaille.org. Site vétérinaire sur le lapin nain et le lapin bélier

[29] **BOUZIANE MOSSADEK 1980-1981 ;** recherche d'Escherichia coli résistante au l'antibiogramme dans l'alimentation distigne au volaille.

[30] Département fédéral de l'économie DFE **Station de recherche Agroscope**

Liebefeld-Posieux ALP Sécurité et qualité **ALP fait partie de l'unité ALP-Haras**