

N° d'ordre : 047

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences vétérinaires

Mémoire de fin d'études

Pour l'obtention du diplôme de Docteur Vétérinaire

THÈME

Étude de la microflore cœcale chez le lapin de souche blanche élevé dans un élevage rationnel

Présenté par :

Melle : MIHOUBI Amel

Soutenu publiquement, le 08 juillet 2024 devant le jury :

Mme CHIKHI-CHORFL.N	MCA (ENSV)	Présidente
Mme BENALI.N	MCB (ENSV)	Promotrice
Mme SAHRAOUIL	MCA (ENSV)	Co-Promotrice
Mme DJELLOUT.B	MCB (ENSV)	Examinatrice

Année universitaire 2023-2024

Déclaration sur l'honneur :

Je soussignée, MIHOUBI Amel, déclare être pleinement consciente que le plagiat de document ou d'une partie d'un document publiés sous toute forme de support, y compris l'internet, constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. En conséquence je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce mémoire.

Signature

REMERCIEMENTS

L'aboutissement de ce mémoire de Projet de Fin D'étude en médecine vétérinaire n'aurait pu se faire sans le soutien et l'encadrement de nombreuses personnes que je tiens à remercier chaleureusement.

En premier lieu, je remercie Allah de m'avoir donné patience, courage et volonté pour réussir mon mémoire.

*Je tiens ensuite à remercier vivement mes directrices de recherche **Mme N. BENALI (Maître de Conférences B)**, et **Mme L. SAHRAOUI (Maître de Conférences A)** pour m'avoir accueillie au sein de leurs laboratoires et pour m'avoir accordé leur confiance. Je suis particulièrement reconnaissante à **Mme N. BENALI** pour son encadrement précieux, ses conseils éclairés et ses encouragements constants tout au long de ce projet. Sa bienveillance et sa rigueur m'ont permis de progresser et de mener à bien ce travail de recherche.*

Mes vifs remerciements vont aux membres de jury pour avoir accepté d'examiner mon travail :

***Mme Chikhi-Chorfi**, Maître de Conférences A à l'ENSV d'Alger, d'avoir accepté la présidence du jury*

***Et Mme Djellout.B**, Maître de Conférences B à l'ENSV d'Alger, pour avoir accepté de faire partie du jury .*

*Je tiens également à remercier l'ensemble des **enseignants et chercheurs de l'École Nationale Supérieure Vétérinaire (E.N.S.V)** pour leur contribution à ma formation et pour leur soutien tout au long de mon cursus.*

Enfin, je remercie ma famille et mes amis pour leur soutien indéfectible et leurs encouragements. Ce mémoire est également le fruit de leur amour et de leur confiance.

DEDICACES

A mon cher papa Dr. Mustapha Mihoubi,

Papa, tu es mon héros et mon modèle. Ton amour pour la médecine vétérinaire et ta passion pour l'enseignement m'ont inspiré dès mon plus jeune âge. Tu as toujours été là pour me guider et me conseiller, et je te suis infiniment reconnaissant pour tout ce que tu as fait pour moi. Ce mémoire est autant le fruit de mon travail que le tien.

A ma très chère maman Salima,

Maman, tu es la femme la plus gentille et la plus aimante que je connaisse. Tu m'as encouragée et boostée depuis ma naissance, et je ne pourrais jamais te remercier assez pour tout ce que tu as fait pour moi. Tu es mon inspiration, mon pilier et ma force. Ce mémoire est autant le tien que le mien.

A mes adorables neveux Amine et Yasmine,

Amine et Yasmine, vous êtes mes petits bouts de sucre et ma source de joie infinie. Vous illuminez mes journées et me faites oublier tous mes soucis. Ce mémoire est dédié à vos sourires innocents et à votre amour pur.

A mes sœurs chéries Manel et Lilia,

Manel et Lilia, vous êtes mes meilleures amies, mes confidentes et mes rayons de soleil. Vous avez toujours été là pour moi, pour me faire rire, pour me consoler et pour me soutenir. Vous êtes mon oxygène et mon bras droit. Ce mémoire est dédié à votre amour inconditionnel et à votre présence inestimable dans ma vie.

A mes chers beaux-frères Sofiane et Oussama,

Sofiane et Oussama, vous êtes plus que des beaux-frères, vous êtes des amis et des confidentes. Vous avez toujours été là pour moi, pour me soutenir dans mes projets et pour me donner des conseils avisés. Ce mémoire est dédié à votre amitié et à votre soutien indéfectible.

A toute ma famille et à mes proches,

Je vous aime tous de tout mon cœur. Vous êtes ma force, ma motivation et ma raison d'être. Ce mémoire est un témoignage de ma gratitude envers vous tous.

A l'âme de ma grand-mère Atika et à l'âme de ma chère tante Biba,

Que Dieu les accueille dans son vaste paradis. Vous avez toujours été présentes pour moi, même après votre disparition. Votre amour et vos conseils me guident encore aujourd'hui. Ce mémoire est également dédié à votre mémoire.

Sommaire

Liste des abréviations	
Listes des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	1
Première partie : Synthèse bibliographique	
<u>CHAPITRE I : GENERALITES SUR L'ELEVAGE CUNICOLE</u>	
I. Importance de l'élevage du lapin	3
II. Situation en Algérie.....	4
<u>CHAPITRE II : L'ANATOMIE DU TUBE DIGESTIF DU LAPIN</u>	
I. Rappels d'anatomie du tube digestif.....	5
II. Microflore cæcale.....	7
<u>CHAPITRE III : L'USAGE DES ANTIBIOTIQUES EN ELEVAGE CUNICOLE ET ANTIBIORESISTANCE</u>	
III.1. Les antibiotiques.....	11
III.1.1. Historique.....	11
III.1.2. Définition.....	12
III.1.3. Mode d'action.....	13
III.1.4. Utilisation des antibiotiques chez le lapin en élevage	15
III.2. L'antibiorésistance.....	16
III.2.1. Définition.....	16
III.2.2. Mécanisme de la résistance.....	17
III.2.2.1. Mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques.....	17
a) Modification de la cible de l'antibiotique.....	17
b) Résistance par efflux actif.....	17
c) Résistance par inactivation enzymatique de l'antibiotique.....	17
d) Diminution de la perméabilité.....	18
III.2.2.2. Mécanisme génétique de la résistance.....	18
III.2.3. Conséquences de la résistance aux antibiotiques.....	18
Deuxième partie : Partie pratique	
Objectif.....	20
I. Matériel.....	20
I.1. Échantillonnage (Matériel biologique).....	20
I.2 matériel de laboratoire.....	21
II. Méthodes.....	21
II.1. Analyse microbiologique.....	21
II.1.1. mesure du pH du contenu caecal.....	21
II.1.2. Préparation des échantillons.....	21
II.1.2.1. Préparation de la solution mère.....	21
II.1.2.2. Préparation des dilutions des échantillons.....	21
II.1.3 Recherche et dénombrement d' <i>Escherichia coli</i>	22
II.1.3.1. Test de présomption sur Violet Red Bile Lactose (VRBL).....	22
II.1.3.2. Mode opératoire.....	23

II.1.3.3. Test de confirmation sur gélose éosine et bleu de méthylène (EMB).	23
II.1.3.4. Tests d'identification biochimique d' <i>Escherichia coli</i> .	24
II.1.4. Recherche et dénombrement de Lactobacilles.	27
II.1.4.1 Caractéristiques du milieu de cultures utilisé.	27
II.1.4.2. Mode opératoire.	27
II.2. Étude de l'antibiorésistance des souches d' <i>E coli</i> .	28
II.2.1. Préparation de l'inoculum.	29
II.2.2. Ensemencement de la gélose Mueller Hinton.	30
II.2.4. Application des disques d'antibiotiques.	30
II.2.5. Incubation des boites.	30
II.2.6. Lecture et interprétation des résultats.	31
RESULTATS ET DISCUSSION	
I. Résultats et discussion des Analyses bactériologiques.	32
III.1.1. Résultats de l'étude macroscopique.	32
III.1.2. Résultats de l'identification biochimique d' <i>E. coli</i> .	33
III.1.3. Résultats des dénombrement des Lactobacilles sur MRS.	35
III.2. Résultats et discussion de l'antibiorésistance.	35
Conclusion.	39
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	
Abstract	

Liste des abréviations

- AMP : Ampicilline.
- AX : Amoxicilline.
- AMC : Amoxicilline + Acide clavulanique .
- ATB : Antibiotique.
- CAPTO : Coopérative Agricole de wilaya de Tizi Ouzou.
- °C : Degré celsius.
- CMI : concentration minimale inhibitrice.
- CL : Colistine
- C : Chloramphénicol
- *E Coli* : *Escherichia coli*.
- EMB : Gélose éosine et bleu de méthylène.
- F : Nitrofurantoine
- GNI : gélose nutritive inclinée.
- g : gramme.
- GEN : Gentamicine.
- H: heure.
- H₂S : Sulfure d'hydrogène.
- ITELV : Institut Technique des Elevage.
- INRA:Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie.
- Kcal/g: kilocalorie /gramme.
- KF : Cephalotine
- L : Litre
- MRS: De Man Rogosa Sharpe.
- ml: millilitre.
- mm : millimètre.
- N : Néomycine.
- NOR : Enrofloxacin.
- nE : le nombre de colonie d'*E coli* identifiées.
- nd : le nombre de colonies caractéristiques dénombrés.

- np : le nombre de colonies caractéristiques prélevés.
- pH : Potentiel hydrogène.
- RM : Rouge de méthyle.
- T.S.E : Eau Salée Tryptone .
- TSI: Triple sugar iron.
- TR : Triméthoprome.
- TE : Tétracycline.
- VRBL : Violet Red Bile Lactose.
- VP : Voges-proskauer.
- ω3: omega 3.
- ω6: omega 6.
- 10x : l'inverse du taux de dilution correspondant.

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
01	Schéma des différents segments du tube digestif du lapin (Lebas et al., 1996).	07
02	Cæcum des lapins (photo personnelle,2023).	20
03	Lapins de souche Blanche.	20
04	Préparation des solutions mères des échantillons.	21
05	Préparation du milieu VRBL coulé dans des boîtes de Pétri (Photo personnelle,2023)	23
06	Colonies à reflets métalliques (Photo personnelle,2023)	24
07	Ensemencement des souches bactériennes à la surface de la gélose citrate de Simmons (Photo personnelle,2024)	26
08	Incubation des boîtes de pétri en aérobiose et en jarre (anaérobiose) (Photo personnelle,2023)	28
09	Préparation du milieu Mueller Hinton en boîte de Pétri (Photo personnelle)	29
10	Mesure de la turbidité à l'aide d'un densitomètre (Photo personnelle,2024)	29
11	Dénombrement des colonies sur un compteur de colonies (Photo personnelle,2023)	33
12	Aspect des colonies d' <i>E. coli</i> Sur milieu VRBL (Photo personnelle,2023)	33
13	Aspect des colonies d' <i>E. coli</i> sur milieu EMB(Photo personnelle,2023)	33
14	Résultats test indole positif (Photo personnelle,2024)	34
15	Résultats test VP- et RM+(Photo personnelle,2024)	34
16	Résultats test citrate de Simmons négatif(Photo personnelle,2024)	34
17	résultats test TSI(Photo personnelle,2024)	34
18	Résultats de l'identification biochimiques	35
19	Taux globale de sensibilité de résistance des souches étudiées aux molécules testées	37
20	Taux de sensibilité de résistance des souches étudiées aux AMPICILLINE et AMOXICILLINE	37
21	Taux de sensibilité de résistance des souches étudiées aux AMOXICILLINE+Acide CLAVULINIQUE et CEPHALOTINE	37
22	Taux de sensibilité de résistance des souches étudiées aux NEOMYCINE et GENTAMICINE	38
23	Taux de sensibilité de résistance des souches étudiées aux TRIMETHOPRIME et TETRACYCLINE	38
24	Taux de sensibilité de résistance des souches étudiées aux ENROFLOXACINE et COLISTINE	38
25	Taux de sensibilité de résistance des souches étudiées aux NITROFURANTOINE et CHLORAMPHENICOL	39

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
1a.	Flore ceacale chez le lapin (Gallois, 2006)	08
1b.	Flore ceacale chez le lapin (Gallois, 2006)	09
2	Résultats de l'étude macroscopique des germes recherchés	32
3	<i>Résultats tests biochimiques</i>	Annexe 02
4	Résultats d'antibiogramme	Annexe 03

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Actuellement, bien que le potentiel économique du lapin en Algérie soit notable, l'essor de la cuniculture reste limité. Le lapin présente en effet plusieurs atouts : sa petite taille le rend facile à manipuler, il est très prolifique avec des gestations et des périodes de lactation courtes (**Lebas *et al.*, 1996**). De plus, il est capable de convertir efficacement les protéines des plantes riches en cellulose, peu digestibles pour l'homme, en protéines animales de haute qualité nutritionnelle (**Dalle Zotte, 2014**). Sa viande est également reconnue pour sa bonne qualité organoleptique (**Combes et Dalle Zotte, 2005**).

Toutefois, malgré ces avantages, la filière cunicole en Algérie est confrontée à un obstacle majeur qui entrave son développement : la période délicate du sevrage. Ce stade constitue un moment critique où l'équilibre du microbiote intestinal, crucial pour la santé digestive des lapins, est souvent perturbé (**Salse et Raynaud, 1985**). Aussi cette période est considérée comme une adaptation de la flore au nouveau régime alimentaire. Cette perturbation est à l'origine des entérites observées durant et après le sevrage, entraînant un retard de croissance et des pertes économiques conséquentes.

Pour relever ce défi, il est primordial de conduire des recherches approfondies sur la caractérisation du microbiote intestinal des lapins élevés dans des conditions d'élevage rationnel.

Dans ce cadre, notre étude est basée spécifiquement sur l'évaluation préliminaire, de la flore intestinale chez le lapin (*E coli* et Lactobacilles). Notre méthodologie est structurée en deux parties :

La première partie consiste en une synthèse bibliographique divisée en quatre chapitres, le premier chapitre offre un aperçu général sur la cuniculture et sa situation en Algérie, le deuxième chapitre concerne l'anatomie du tube digestif et la microflore

intestinale, le troisième se penche sur l'usage des antibiotiques et enfin le quatrième chapitre examine les mécanismes de résistance chez les bactéries (Gram négatives).

La seconde partie concerne la mise en œuvre expérimentale réalisée au sein du laboratoire de microbiologie de l'École Nationale Supérieure Vétérinaire - Alger, en décrivant le protocole expérimental, la méthodologie utilisée, les principaux résultats obtenus et leur analyse.

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : GENERALITES SUR L'ELEVAGE CUNICOLE

Chapitre I. GENERALITES SUR L' ELEVAGE CUNICOLE

I. Importance de l'élevage du lapin

Le lapin européen, scientifiquement nommé *Oryctolagus cuniculus*, tire son appellation du grec ancien « Oruktês » pour fouisseur et « Lagôs » pour lièvre (**Lebas, 2000**).

Ce mammifère de la famille des Léporidés est un animal polyvalent, exploité pour diverses productions telles que la viande (issues des races Californienne ou Néo-Zélandaise), la fourrure (de la race Rex) et les poils (de la race Angora). Il est également prisé comme animal de compagnie (surtout de la race Chinchilla) ou comme sujet de recherche en laboratoire. Sa viande est réputée pour ses qualités nutritionnelles et diététiques. En raison de sa prolificité, le lapin est réputé pour sa capacité à se reproduire facilement, avec une lapine en reproduction intensive pouvant mettre bas jusqu'à 10 à 11 fois par an, générant en moyenne entre 11 et 12 lapereaux par portée, ce qui peut totaliser jusqu'à 100 à 130 lapereaux par an par femelle (**Rossilet, 2004**).

Cette espèce herbivore se distingue par sa capacité à assimiler efficacement les fourrages, convertissant ainsi les protéines végétales en protéines animales de haute valeur biologique. Contrairement à d'autres animaux tels que le poulet, le porc et le bœuf ; le lapin fixe environ 20% des protéines alimentaires ingérées (**Lebas et al.,1996**), faisant de lui un choix économiquement attractif, surtout dans les contextes de petites exploitations agricoles, notamment dans les régions en développement où la production de protéines animales est souvent limitée (**Amroun, 2018**).

L'élevage du lapin, appelé cuniculture, connaît une expansion à travers le monde, notamment en Asie et en Afrique. Que ce soit pour la production ou comme animal de compagnie, le lapin suscite également un intérêt croissant dans le domaine scientifique. Il est largement utilisé comme modèle d'étude dans divers domaines tels

que la médecine, la génétique, la physiologie et les neurosciences (**Gidenne, 2015**).

La viande de lapin présente de nombreux avantages nutritionnels, notamment sa haute teneur en protéines de haute qualité biologique, comprenant les acides aminés essentiels dans des proportions optimales, ce qui en fait une source nutritive exceptionnelle (**Salifou et al., 2013**). De plus, l'élevage du lapin est justifié par ses nombreuses caractéristiques avantageuses, telles que son cycle biologique court et sa grande prolificité (**Combes et al., 2005**). Sa productivité élevée en termes d'individus ou de poids par an et par femelle est attribuée à une ovulation continue induite par la saillie, à de courtes périodes de gestation et de lactation (**Lebas, 1981**).

II. Situation en Algérie

La région de Tizi Ouzou, au centre de l'Algérie, se démarque comme le principal centre de production de lapins dans le pays. Un projet de développement a permis d'orienter l'élevage de lapins dans cette région vers une démarche plus efficiente. L'Algérie est le deuxième pays d'Afrique en termes de production de viande de lapin avec environ 8474 t/an de viande de lapin (FAO, 2021). De plus, les producteurs de lapins utilisent des races améliorées de lapins à des fins commerciales pour augmenter la production de viande (**Berchiche et al., 2012**). Cette activité est particulièrement concentrée dans les régions de Tizi-Ouzou et de Blida, au centre du pays. Au cours des cinq dernières années, la production nationale a enregistré une évolution significative, grâce aux différents programmes et initiatives de développement et de rationalisation de cette filière.

**CHAPITRE II : L'ANATOMIE DU TUBE
DIGESTIF DU LAPIN**

Chapitre II. ANATOMIE DU TUBE DIGESTIF DU LAPIN

I. Rappels d'anatomie du tube digestif

Le système digestif du lapin est spécialement adapté à un régime herbivore, présentant des caractéristiques particulières telles que sa dentition et son cæcum développé pour la fermentation. De plus, il dispose d'un mécanisme de tri des particules par taille dans le côlon proximal afin de former des cæcotrophes (**Gidenne, 2005**). Concernant les lapins adultes (pesant de 4 à 4,5 kg), leur tube digestif mesure environ 4,5 à 5 mètres de longueur (**Lebas et al., 1996**).

La digestion chez le lapin se divise en deux phases distinctes (**Lebas et al., 1991**) ; *la première phase* implique une digestion conventionnelle où la bouche, l'estomac et l'intestin grêle jouent un rôle clé dans l'assimilation des nutriments par le sang à travers les parois du tube digestif (Figure 1). *La seconde phase*, quant à elle, est une fermentation des résidus de la première phase, principalement dans le gros intestin, en particulier dans le cæcum, où une population microbienne en symbiose avec l'animal est impliquée.

Concernant l'anatomie du système digestif, le lapin possède **une bouche** avec des dents en croissance continue et une formule dentaire spécifique (I : 2/1 C : 0/0 PM : 3/2 M : 3/3), qui le distingue des rongeurs. L'estomac, divisé en fundus, cardia et antrum, régule le passage des aliments vers l'intestin grêle par le sphincter pylorique. Le pH acide de l'estomac (entre 1,5 et 3,5) facilite la digestion, avec des périodes spécifiques d'ingestion des caecotrophes présentant un pH plus élevé le matin (**Gidenne et Lebas, 1984**).

L'intestin grêle, plus long que le reste du tube digestif, comprend le duodénum, le jéjunum et l'iléon, où la bile du foie et les enzymes pancréatiques favorisent la digestion des protéines, des lipides et des glucides. Le pH y est

légèrement alcalin grâce à la bile, avant de devenir plus acide vers la fin de l'iléon. Les particules alimentaires restent liquides principalement dans le duodénum et le jéjunum, avant d'être réparties dans le sang par les enzymes intestinales et pancréatiques.

Le cæcum, un organe volumineux qui occupe une grande partie de la cavité abdominale, est crucial pour la digestion cæcale, où les fibres alimentaires sont hydrolysées et fermentées par une flore bactérienne spécialisée. Après un séjour d'environ 1 heure 30 dans l'intestin grêle, les particules non dégradées passent dans le cæcum pour une période de fermentation prolongée, influencée par la flore bactérienne spécifique du lapin (**Gallouin, 1995; Gidenne et Lebas, 2005**).

Enfin, la digestion enzymatique chez le lapin est optimisée par une alimentation en granulés riches en matière sèche, favorisant une digestion efficace des glucides cytoplasmiques et des constituants pariétaux des plantes. Les fibres alimentaires, essentielles pour la motricité intestinale, sont digérées principalement dans le cæcum grâce aux enzymes bactériennes, produisant des acides gras volatils qui servent de source d'énergie pour le lapin (**Gidenne *et al.*, 2000**).

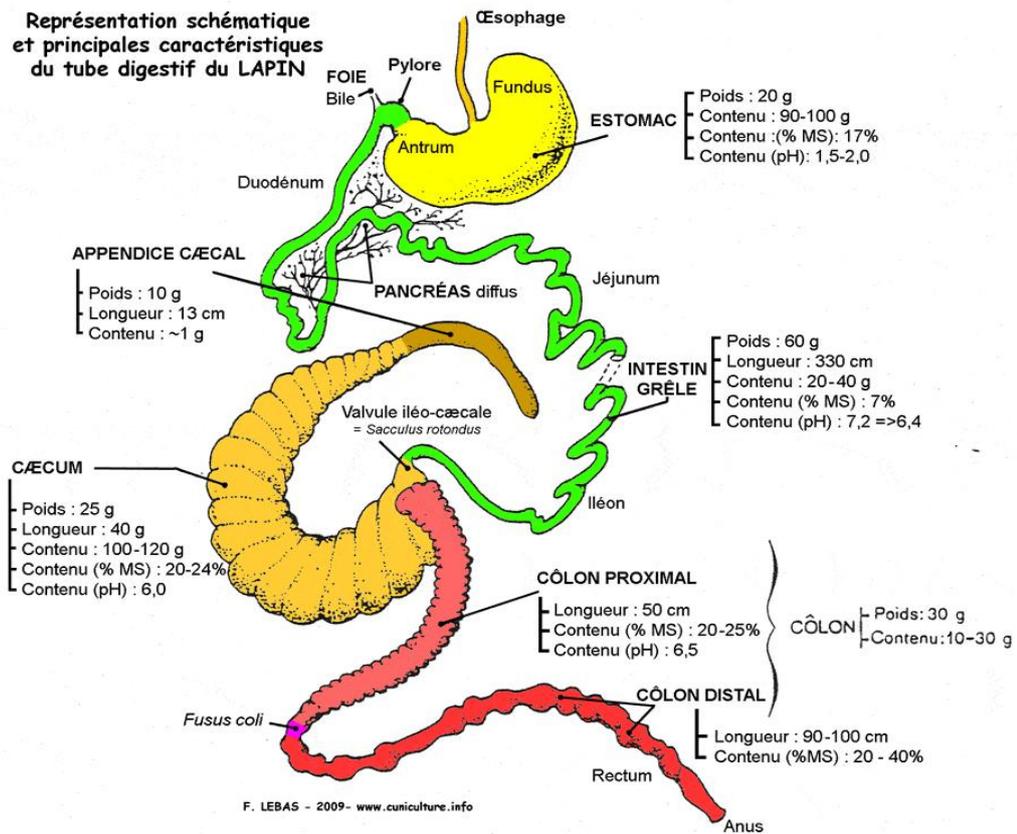


Figure1. Schéma des différents segments du tube digestif du lapin
(Lebas *et al.*, 1996)

II. Microflore cæcale

Le microbiote caecal du lapin est principalement composé de bactéries anaérobies strictes et facultatives (Tableau 1a et 1b). Les anaérobies stricts non sporulés, principalement du genre *Bacteroides*, dominent avec une densité de 10^{10} à 10^{11} bactéries par gramme (Gouet et Fonty, 1979). Ces bactéries jouent un rôle crucial dans la dégradation des fibres alimentaires. Les cellulolytiques, telles que celles de *Bactéroïdes*, apparaissent dès la deuxième semaine après la naissance des lapereaux lorsqu'ils commencent à consommer des aliments solides (Boulahrouf *et al.*, 1991), atteignant une concentration stabilisée d'environ $4,5 \times 10^6$ bactéries par gramme à partir de 25 jours d'âge.

Tableau 1a. Flore ceacale chez le lapin (Gallois, 2006)

BACTERIES ANAEROBIES - 10 ⁵ -10 ¹¹							
GRAM - NON SPORULE Bacilles		Bacteroidales 10 ⁵ -10 ¹⁰ (Boussagat et al. 2003, Lanting et al. 2000a, Zomboráczy-Kovács et al. 2000, Yanabu et al. 1999, Peasey et al. 1986, Marlowe et al. 1985)	<i>Clostridium</i>	<i>coccate</i>	Streck et al. 2001, Streck et al. 2001		
				<i>perfringens</i>	Raoupen et al. 1983		
				<i>ruviforme</i>	Boussagat et al. 1995, Padiou et al. 1986		
				<i>ovatus</i>	Streck et al. 2001		
				<i>difficile</i>	Streck et al. 2001, Padiou et al. 1986		
				<i>thermophilum</i>	Streck et al. 2001		
				<i>sporovirgatum</i>	Yanabu et al. 1999, Wang et al. 1996, Padiou et al. 1986, Torrey et al. 1985		
				<i>capillatum</i>	Streck et al. 2001, Padiou et al. 1986		
				<i>uniforme</i>	Padiou et al. 1986		
				<i>distans</i>	Padiou et al. 1986		
				<i>multicinctum</i>	Padiou et al. 1986		
				<i>fragile</i>	Yanabu et al. 1999		
				<i>ochraceum</i>	Streck et al. 2001		
				<i>Fibrobacter</i>	<i>intestinalis</i>	Boussagat et al. 2003	
					<i>succinogenes</i>	Boussagat et al. 2003	
	<i>Fusobacterium</i>	<i>novum</i>	Constant et al. 1984				
		<i>prausnitzii</i>	Wang et al. 1996				
	<i>Bifidobacterium</i>		Padiou et al. 1986				
GRAM - NON SPORULE	NON SPORULE	Bacilles	<i>Endobacterium</i>	<i>cellulosolvens</i>	Boussagat et al. 1991		
				[Yanabu et al. 1998]			
			<i>Lactobacillus</i>		[Yanabu et al. 1998]		
		Cocques	<i>Peptostreptococcus</i>	<i>productus</i>	Wang et al. 1996, Constant et al. 1984		
				<i>micros</i>	Constant et al. 1984		
			<i>Ruminococcus</i>	<i>flavescens</i>	Boussagat et al. 2003		
				<i>albus</i>	Boussagat et al. 2003		
		<i>Peptococcus</i>	<i>argens</i>	Constant et al. 1984			
		SPORULE	SPORULE	Bacilles	<i>Clostridium</i> 10 ⁷ -10 ⁹ (Lanting et al. 2000a, Yanabu et al. 1999, Toranzo et al. 1984, Peasey et al. 1986, Marlowe et al. 1985, Gossard et Tosty 1979)	<i>sporovirgatum</i>	Raoupen et al. 1983
						<i>clostridioforme</i>	Wang et al. 1996, Torrey et al. 1985
<i>coccoides</i>	Constant et al. 1984						
<i>thermophilum</i>	Constant et al. 1984						

Le microbiote intestinal ou flore commensale, est essentiel à la santé digestive en participant à la digestion des fibres et à la synthèse de certains nutriments. Il est principalement composé de bactéries mais peut inclure également des eucaryotes et des virus et varie en composition et en diversité selon plusieurs facteurs environnementaux et physiologiques (**Eckburg *et al.*, 2005 ; Chen *et al.*, 2013**).

Le déséquilibre du microbiote intestinal, connu sous le nom de dysbiose, peut résulter en une augmentation de bactéries pathogènes opportunistes, compromettant ainsi la santé digestive de l'animal (**Coudeyras et Forestier, 2010 ; Rofes, 2014**).

En somme, le microbiote caecal du lapin joue un rôle crucial dans la digestion des fibres alimentaires et est essentiel pour maintenir une santé digestive optimale, tout en étant sujet à des variations influencées par l'âge, le régime alimentaire et d'autres facteurs environnementaux.

**CHAPITRE III : L'USAGE DES
ANTIBIOTIQUES EN ELEVAGE
CUNICOLE ET ANTIBIORESISTANCE**

Chapitre III. L'USAGE DES ANTIBIOTIQUES EN ELEVAGE CUNICOLE ET ANTIBIORESISTANCE

III.1. Les antibiotiques

III.1.1. Historique

L'intérêt pour la chimiothérapie antimicrobienne a été stimulé dès la reconnaissance des microorganismes comme agents responsables de maladies infectieuses. Bien que la pénicilline ait été le premier antibiotique naturel découvert, l'utilisation thérapeutique des microorganismes existait déjà depuis longtemps. Les champignons étaient utilisés dans les cataplasmes depuis des années, et dès 1899, un produit appelé pyocyanase, extrait de *Pseudomonas aeruginosa*, était utilisé pour traiter les plaies (**Garrod *et al.*, 1973**). Alexander Fleming a isolé la pénicilline en 1928 (**Fleming, 1929**), mais initialement, il n'était pas capable de la purifier en quantités suffisantes pour une utilisation médicale. Ce n'est qu'en 1940 que Chain et ses collaborateurs ont démontré la valeur thérapeutique de la pénicilline, bien que la production restât limitée. En 1943, la collaboration entre Andrew Moyer et Robert Coghill ont permis d'augmenter considérablement les rendements de production de pénicilline. Par la suite, Raper et Fennell (1946) ont découvert une souche de *Penicillium chrysogenum* produisant des quantités encore plus importantes de pénicilline.

Après la découverte de la pénicilline, de nombreux autres antibiotiques ont été rapidement identifiés. À partir de 1940, Selman Waksman a commencé à explorer les composés antimicrobiens produits par les microorganismes du sol. En 1943, l'un de ses étudiants a découvert la streptomycine (**Schatz *et al.*, 1944**). À peu près à la même époque, René Dubos a identifié la gramicidine (**Hotchkiss et Dubos, 1941**), le premier antibiotique actif contre les bactéries à Gram positif. Peu après, la chlortétracycline, le chloramphénicol et d'autres antibiotiques ont également été découverts (**Garrod *et al.*, 1973**). Bien que beaucoup de ces premières découvertes aient produit des médicaments trop toxiques pour une utilisation humaine, elles ont néanmoins ouvert la voie à de nombreux autres médicaments. En seulement dix ans, les principales classes d'antibiotiques avaient été identifiées.

En 1962, l'acide nalidixique, un antibiotique synthétique, a été découvert. Bien que la première quinolone décrite à cette époque n'ait pas eu d'importance thérapeutique directe, des modifications ultérieures de l'acide nalidixique ont conduit à la production des fluoroquinolones. Ces dernières, comme la ciprofloxacine, la norfloxacine, l'enrofloxacine et l'ofloxacine, sont devenues essentielles pour le traitement des maladies infectieuses chez l'homme et l'animal (**Mitsuhashi, 1993**).

Depuis les années 1960, relativement peu de nouveaux antibiotiques ont été découverts. La plupart des développements ultérieurs ont impliqué des modifications chimiques des molécules existantes, améliorant ainsi la capacité des antibiotiques à détruire une plus large gamme d'agents pathogènes tout en réduisant leur toxicité et les effets secondaires.

Cependant, depuis les années 1970, seule une nouvelle classe d'antibiotiques a été introduite (**Lipsitch et al., 2002**). Une tendance récente en antibiothérapie consiste à utiliser des combinaisons d'antibiotiques ayant des mécanismes d'action différents pour accroître leur efficacité et surmonter les problèmes de résistance aux antibiotiques.

III.1.2. Définition

Le troisième dictionnaire international de Webster (1981) définit un antibiotique comme une substance produite par un microorganisme (bactérie ou champignon) qui, à faible concentration, est capable d'inhiber la croissance ou de tuer un autre microorganisme (tel qu'un germe pathogène). Le manuel bien connu de microbiologie de Brock le décrit comme

« un agent chimique produit par un organisme nuisible à d'autres organismes» (**Madigan et al., 1997**). En d'autres termes, un antibiotique est une substance antibactérienne naturelle d'origine microbienne qui peut également être synthétisée chimiquement, et qui agit de manière spécifique en inhibant la croissance d'autres micro-organismes par des mécanismes ciblant leurs processus vitaux.

Les antibiotiques sont des composés chimiques produits initialement par des micro-organismes, mais qui sont aujourd'hui également synthétisés ou semi-synthétisés. À des concentrations spécifiques, ces molécules peuvent soit inhiber la croissance des bactéries (effet bactériostatique), soit les détruire (effet bactéricide). Qu'ils proviennent de sources naturelles, semi-synthétiques ou synthétiques, les antibiotiques peuvent être classés selon leur spectre d'activité, leur mécanisme d'action, la souche qui les produit, la voie de biosynthèse ou leur structure chimique. En raison de la diversité des molécules antibiotiques, il est nécessaire de les regrouper en familles où différents produits partagent une structure chimique et un mécanisme d'action similaires.

Concernant leur utilisation dans les élevages de lapins, les antibiotiques visent principalement à maîtriser les maladies, restaurer ou maintenir le bien-être des animaux, et prévenir la transmission des agents pathogènes aux autres animaux voire à l'homme. Les affections les plus fréquemment traitées sont celles d'origine digestive et respiratoire. Dans les systèmes d'élevage intégrés, tels que ceux des volailles, des veaux ou des poissons, où les animaux sont élevés en groupe dans des installations spécifiques, les vétérinaires prescrivent souvent des traitements collectifs. En revanche, dans d'autres types de production, comme pour les animaux de compagnie, les traitements sont généralement administrés individuellement.

Les antibiotiques peuvent être utilisés de différentes manières pour atteindre des objectifs variés.

III.1.3. Mode d'action

Le mode d'action des antibiotiques diffère de celui des antiseptiques et des agents désinfectants en raison de leur spécificité très ciblée sur certaines structures des cellules bactériennes. Cette spécificité explique leur efficacité à des concentrations très faibles (**Fajardo et Martínez, 2008**). Les antibiotiques agissent sur diverses structures bactériennes, notamment :

- *La paroi bactérienne* : La majorité des bactéries sont enveloppées dans une couche

rigide de peptidoglycane (PG) qui les protège contre les pressions osmotiques externes et leur environnement. Pour survivre, les bactéries doivent continuellement synthétiser du peptidoglycane, processus facilité par les protéines de liaison à la pénicilline (PBPs), qui sont des transglycosylases et des transpeptidases. Des antibiotiques comme les pénicillines, les carbapénèmes et les céphalosporines bloquent la réticulation du peptidoglycane en inhibant la formation des liaisons peptidiques catalysées par les PBPs (**Josephine et al., 2004**). Les glycopeptides tels que la vancomycine inhibent également la synthèse du PG en se liant aux unités de PG et en bloquant l'activité des transglycosylases et transpeptidases (**Kahne et al., 2005**).

- Membrane cellulaire : Certains antibiotiques perturbent la structure et le fonctionnement de la membrane cellulaire bactérienne, provoquant des perturbations sévères dans les échanges électrolytiques avec l'environnement extérieur (**Chopra, 1998**). Par exemple, la daptomycine induit une dépolarisation de la membrane cellulaire dépendante du calcium, entraînant l'arrêt de la synthèse macromoléculaire et la perturbation de la membrane bactérienne (**Alborn et al., 1991**). Les polymyxines désintègrent la membrane cellulaire bactérienne en se liant efficacement au fragment lipidique du lipopolysaccharide à l'intérieur de la cellule bactérienne (**Falagas et al., 2010**).

- L'ADN : Les voies métaboliques pour la synthèse des acides nucléiques sont essentielles à la survie des cellules bactériennes. Les antibiotiques interfèrent avec la synthèse des acides nucléiques en bloquant la réplication ou en arrêtant la transcription. Par exemple, les quinolones inhibent l'enzyme hélicase nécessaire à la dissociation de la structure en double hélice de l'ADN, perturbant ainsi la réplication et la réparation de l'ADN bactérien (**Chen et al., 1996**). Les antibiotiques qui ciblent la synthèse d'acides nucléiques affectent également négativement l'ARN polymérase en perturbant les activités de la topoisomérase II et IV des bactéries, ce qui inhibe la synthèse de l'ARN (**Ebimicowei et Ibemologi, 2016**).

- *Synthèse protéique* : Les antibiotiques inhibent la synthèse des protéines en affectant les ribosomes bactériens. Les inhibiteurs de la sous-unité 50S (tels que l'érythromycine, la clindamycine, le chloramphénicol, le linézolide) bloquent soit l'initiation soit l'élongation de la traduction protéique en interférant avec la liaison de l'acide aminé à la chaîne peptidique croissante, perturbant ainsi la synthèse des protéines et entraînant l'inhibition ou la mort de la bactérie (**Patel et Bonomo, 2011**). Les inhibiteurs de la sous-unité 30S (comme la tétracycline, la streptomycine, la spectinomycine) bloquent l'accès des aminoacyl-ARNt au ribosome, inhibant ainsi la synthèse protéique (**Chopra et Roberts, 2001 ; Hong et al., 2014**).

- *Blocage des voies métaboliques clés* : Certains antibiotiques, comme les sulfamides et le triméthoprim, imitent les substrats nécessaires au métabolisme cellulaire des bactéries. Les enzymes bactériennes se lient à ces antibiotiques plutôt qu'aux substrats normaux, perturbant la synthèse de l'acide folique essentiel pour le métabolisme des acides nucléiques et des acides aminés. Par conséquent, les sulfamides interfèrent avec la production d'ADN et d'ARN en imitant les substrats nécessaires au métabolisme de l'acide folique (**Rees et al., 2017**).

Ces mécanismes d'action diversifiés permettent aux antibiotiques d'être efficaces contre une gamme étendue de bactéries, tout en minimisant les effets néfastes sur les cellules humaines et animales.

III.1.4. Utilisation des antibiotiques chez le lapin en élevage

L'utilisation des antibiotiques dans les élevages de lapins vise principalement à contrôler les maladies, à restaurer ou maintenir le bien-être des animaux, ainsi qu'à prévenir la propagation des agents pathogènes aux autres animaux et potentiellement aux humains, avec une attention particulière portée aux affections digestives et respiratoires. Contrairement à d'autres méthodes d'élevage intégré où les animaux sont souvent regroupés en groupes dans des installations telles que celles pour la volaille, les veaux ou les poissons, les lapins et d'autres animaux de production peuvent

recevoir des traitements individuels, similaires à ceux des animaux de compagnie **(Smith et al., 2019)**.

Cependant, l'utilisation intensive et parfois non contrôlée des antibiotiques présente des risques significatifs pour la santé publique et l'environnement. Les résidus d'antibiotiques dans la viande de lapin suscitent des inquiétudes en termes de résistance chez les humains. Des études ont montré que ces résidus peuvent persister dans les tissus et être transférés aux consommateurs humains par la chaîne alimentaire, contribuant ainsi à l'escalade mondiale de la résistance antimicrobienne **(Garcia et al., 2020)**.

Pour atténuer ces risques, la recherche actuelle explore des stratégies alternatives à l'utilisation systématique d'antibiotiques. Par exemple, des études évaluent l'efficacité des probiotiques et des prébiotiques pour maintenir la santé intestinale des lapins, réduisant ainsi la nécessité d'une utilisation excessive d'antibiotiques **(Brown et Smith, 2018)**. Ces approches visent non seulement à diminuer la résistance aux antibiotiques, mais également à promouvoir une agriculture durable et responsable.

Les résidus d'antibiotiques dans la viande de lapin constituent une préoccupation majeure en termes de résistance aux antimicrobiens. Une étude récente a révélé que ces résidus peuvent s'accumuler dans l'environnement et représenter un risque pour la santé publique **(Martinez et al., 2021)**.

Enfin, l'utilisation prolongée et parfois inappropriée d'antibiotiques chez les lapins peut favoriser le développement de résistances bactériennes. Des recherches ont établi un lien direct entre l'utilisation d'antibiotiques et l'émergence de souches bactériennes résistantes **(White et al., 2017)**.

III.2. Antibiorésistance

III.2.1. Définition

Selon **AFSSA (2006)**, une souche bactérienne est résistante à un antibiotique si elle dispose d'un mécanisme de résistance augmentant la valeur de la concentration minimale inhibitrice.

D'après **Lavigne (2007)**, une souche bactérienne est dite résistante à un antibiotique quand elle est capable de se développer en présence d'une concentration élevée

d'antibiotique.

Selon **Nauciel et Vildé (2008)**, une résistance a un antibiotique est considérée comme étant la capacité d'une bactérie de survivre à une concentration définie de cette molécule.

III.2.2. Mécanisme de la résistance

III.2.2.1. Mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques

a) Modification de la cible de l'antibiotique

Les bactéries ont la capacité de mutation d'un gène responsable de la biosynthèse de la protéine sur laquelle agit l'antibactérien. Ce dernier ne reconnaît plus sa cible et devient inactif (**Abdennebi, 2006**). L'altération des protéines de liaison aux pénicillines (PLP) par exemple, réduit l'affinité de la cible (PLP) pour les b-lactamines soit par mutation de gènes chromosomiques, soit par l'acquisition de gènes supplémentaires exprimant de nouvel PLP. Ce mécanisme de résistance est important chez les cocci à Gram positif et beaucoup plus rare chez les bactéries à Gram négatif (**Sylvie Carle, 2009**).

b) Résistance par efflux actif

Il existe chez les bactéries des systèmes permettant la non-accumulation à l'intérieur de la bactérie ; c'est l'excrétion ou efflux actif (**Alami, 2005**). L'efflux actif est un mécanisme de transport membranaire nécessitant de l'énergie qui pompe l'antibiotique de l'intérieur vers l'extérieur plus vite qu'il ne rente. Les antibiotiques exerçant leur action sur des cibles cytoplasmique seront les plus touchés (**Croize, 2005**).

c) Résistance par inactivation enzymatique de l'antibiotique

Les bactéries peuvent aussi utiliser l'inactivation enzymatique via la production d'enzymes détruisant ou modifiant l'antibiotique. Ce dernier ne peut plus se fixer sur sa cible. Cette modification enzymatique est l'un des mécanismes de résistance aux B-lactamines, macrolides, aminosides et chloramphénicol. Une résistance croisée apparaît avec ce type de mécanisme mais elle est moins élevée qu'avec le phénomène de modification de la cible de l'antibiotique (**Guérin-Faubleé, 2010 ; Collectif, 2008 ; Scott, 2009**).

d) Diminution de la perméabilité

Les porines sont des protéines formant des pores dans la membrane externe des bactéries à Gram négatif et permettant le passage de certaines molécules hydrophiles (Nauciel et Vildé, 2008). Des mutations peuvent entraîner la perte de certains porines ou les altérer et de ce fait entraver la pénétration de l'ATB (Nauciel et Vildé, 2008). Ces mutations peuvent entraîner la résistance à plusieurs familles d'ATB simultanément : bêtalactamines, aminosides, et quinolones (Denyer et Maillard, 2002 ; Nauciel et Vildé, 2008).

III.2.2.2. Mécanisme génétique de la résistance

La résistance peut être par deux voies selon Courvalin (2008) :

- Mutation dans les génomes. On parle de transmission verticale à la descendance.
- Acquisition d'information génétique étrangère, en provenance d'autres bactéries par transmission horizontal.

III.2.3. Conséquences de la résistance aux antibiotiques

Il est démontré que l'utilisation des antibiotiques est le facteur de risque le plus important dans le développement de la résistance bactérienne (Sylvie Carle, 2009). La résistance antimicrobienne comporte de graves conséquences ayant des impacts majeurs tant sur la qualité des soins et les coûts (Sylvie Carle, 2009).

L'échec thérapeutique est la conséquence pratique majeure de l'antibiorésistance (Abdennebi, 2006). La diffusion de la résistance chez les bactéries, les gènes de résistance sont transmis à la descendance par transmission verticale ou horizontale (Nauciel, Vildé, 2008).

L'apparition de souches multi-résistantes aux antibiotiques chez des bactéries pathogènes pour l'animal peut devenir un problème de santé publique, car elles peuvent ensuite être transmises à la population humaine (Sandres, 2005, Nauciel et Vildé, 2008).

L'apparition de souches de bactéries transmises par les aliments et résistantes aux antimicrobiens et qui peuvent causer des infections au sein de groupes de populations sensibles (**Abdennebi, 2006**).

PARTIE EXPERIMENTALE

Objectif

La démarche expérimentale entreprise dans notre travail a pour objectif, l'étude de la microflore cœcale chez le lapin de souche blanche élevé dans un élevage rationnel. Cette démarche portera sur estimation bactériologique dans le contenu cœcale des flores Lactobacilles et *E coli* ainsi qu'une analyse de l'antibiorésistance de cette dernière.

I. Matériel

I.1. Échantillonnage (Matériel biologique)

L'étude a été réalisée sur 21 ceacum (figure 2), prélevés des lapins abattus entre 84 et 90 jours d'âge au niveau d'un abattoir cunicole (CAPTO) à Tizi Ouzou. Ces animaux proviennent d'un élevage rationnel situé à la commune de Makouda (Wilaya Tizi-Ouzou). Il s'agit de la souche blanche, issue « D'hybrides » commerciaux importés en 1980 (figure 3). Sevrés à 35 jours d'âge et de sexe confondu, les lapins ont été placés dans des cages d'engraissement durant la période allant du 6 Décembre 2022 au 28 Février 2023. Les animaux ont été nourris à volonté avec un aliment standard commercial durant toute la période de l'engraissement. Ils n'ont reçu aucun traitement d'antibiotique.



Figure 2 : Ceacum des lapins



Figure 3 : Lapins de souche Blanche

I.2 matériel de laboratoire

L'ensemble des appareils, consommables (verrerie...), réactifs chimiques utilisés dans cette étude sont cités dans (l'annexe 01).

II. Méthodes

II.1. Analyse microbiologique

II.1.1. mesure du pH du contenu caecal

A l'aide d'un bistouri nous avons réalisé une incision médiane au niveau du cæcum. Une fois l'incision réalisée, nous avons utilisé du papier pH afin de calculer le pH du contenu cæcale.

II.1.2. Préparation des échantillons

II.1.2.1. Préparation de la solution mère

A partir des cæcums la matière fécale est prélevée et pesée dans des conditions d'asepsie à proximité d'une flamme. Nous avons pesé **10 g** d'échantillon. Ces derniers ont été broyés et dilués avec **90ml** de Bouillon T.S.E (Eau Salée Tryptone). Cette dernière constitue la solution mère (10^{-1}) (figure 4).



Figure 4 : Préparation des solutions mères des échantillons

II.1.2.2. Préparation des dilutions des échantillons

A partir de la suspension mère, des dilutions successives de 10^{-2} à 10^{-5} en progression géométrique à raison de 1/10 sont réalisées avec le diluant (T.S.E.). Ces dilutions sont obtenues en transférant à l'aide d'une micropipette une prise de 1 ml prélevée de la suspension mère 10^{-1} dans un tube contenant 9 ml de (T.S.E), puis

homogénéisée au moyen d'un vortex, cela donne la dilution 10^{-2} . Celle de 10^{-3} est obtenue par passage d'1ml de la dilution 10^{-2} au deuxième tube et ainsi de suite jusqu'à la dilution 10^{-5} .

II.1.3 Recherche et dénombrement d'*Escherichia coli*

La recherche et dénombrement d'*E coli* est effectuée selon la norme AFNOR NF V08-060 et V08-017 ; sur milieu Violet Red Bile Lactose (VRBL).

II.1.3.1. Test de présomption sur Violet Red Bile Lactose (VRBL)

✓ préparation et caractéristiques du milieu de cultures utilisé

Le milieu de culture est une préparation qui favorise la croissance rapide et prolifique des micro-organismes en leur fournissant les nutriments essentiels nécessaires à leur développement, tels que l'eau, le carbone, l'énergie, l'azote, le phosphore, les minéraux, des inhibiteurs pour favoriser la flore recherchée et des indicateurs de pH pour obtenir des bactéries caractéristiques.

✓ Principe

Le milieu VRBL est utilisé pour la détection et l'isolement des bactéries coliformes, telles que *Escherichia coli*, présentes dans l'intestin. Il contient des sels biliaries, du rouge neutre, du lactose et de l'agar, et permet de différencier les bactéries coliformes en fonction de leur capacité à fermenter le lactose.

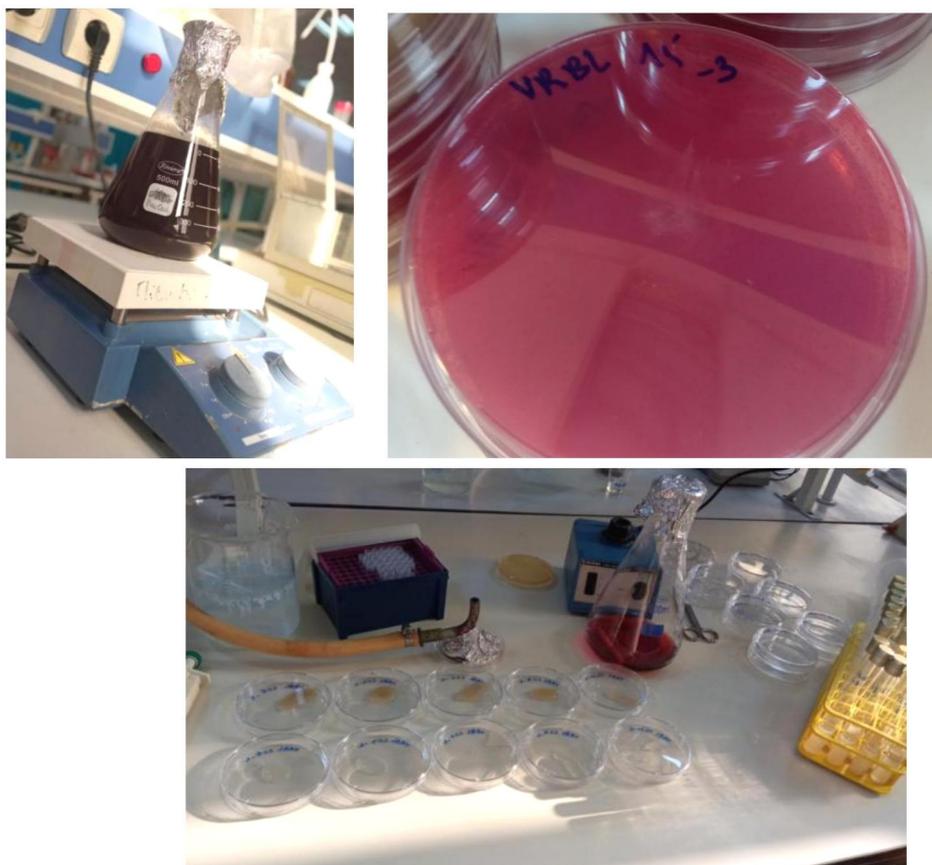


Figure 5 : Préparation du milieu VRBL coulé dans des boites de Pétri
(Photo personnelle,2023)

I.1.3.2. Mode opératoire

Selon cette norme **AFNOR**, le dénombrement d'*Escherichia coli* a été réalisé par la méthode d'ensemencement de deux à trois dilutions décimales ensemencé en profondeur sur le milieu **VRBL** en présence de la double couche, l'incubation est réalisée à 44°C pendant 48 h. Après la période d'incubation, les colonies caractéristiques (rouge-violet) sont dénombrées (**nd**).

II.1.3.3. Test de confirmation sur gélose éosine et bleu de méthylène (EMB)

Une étape de confirmation sur gélose éosine et bleu de méthylène (EMB), a été effectuée à partir de 3 à 4 colonies caractéristique sur VRBL (**np**).

L'isolement sur milieu (**EMB**) coulé en boite de Pétri compartimentée réalisé et incubé à 37°C pendant 24heures.

Les colonies ayant fait virer l'indicateur coloré du milieu EMB donnant des colonies caractéristiques (colonies à reflets métalliques) (figure 6), ont été repiquées sur gélose nutritive inclinée (GNI), incubées à 37°C pendant 24h, puis conservées à +4°C.



Figure 6 : Colonies à reflets métalliques (Photo personnelle,2023)

A partir de ces cultures pures une suite d'identification biochimique d'*E. coli* a été effectué par les tests biochimiques classiques suivant :

- Épreuve de l'uréase
- Production d'indole
- Test de VP et RM
- Utilisation du glucose, lactose, production de gaz et de H₂S.
- Utilisation du citrate se Simmons.

II.1.3.4. Tests d'identification biochimique d'*Escherichia coli*

Afin de confirmer l'identité des germes isolés et suspectés, divers tests ont été effectués :

A partir des souches caractéristiques isolées dans les géloses nutritives inclinées, nous avons réalisé des tests de confirmation biochimiques pour l'identification d'*Escherichia coli* (*nE*).

a) Test sur gélose TSI (production de gaz, H₂S, utilisation du glucose et lactose)

A l'aide d'une anse de platine stérile prélever un inoculum de la bactérie recherchée à partir de la gélose nutritive inclinée et l'ensemencer sur la pente et par

piqûre centrale dans la gélose TSI. Incuber les tubes ainsi ensemencés à 37°C pendant 24h en évitant de fermer hermétiquement les tubes afin de ne pas casser la gélose par le gaz produit par ce type de bactéries.

➤ **Lecture**

- La gélose TSI est de couleur rouge brique à pH neutre.
- La couleur noire indique la production d'H₂S par les bactéries.
- La couleur jaunâtre au fond du tube indique l'utilisation du glucose par les bactéries.
- Absence de couleur rouge en haut du tube indique l'utilisation du lactose par les bactéries.
- La formation de bulles d'air à l'intérieur du tube indique production du gaz par les bactéries.

b) **Test Urée-indole** : il comporte deux étapes successives pour la recherche de deux caractères biochimiques de ces bactéries.

1) Test de l'uréase

- Remplir les micro-tubes à raison de 1ml avec du bouillon urée-indole, à l'aide d'une anse stérile prélever un inoculum de chaque tube (GNI) et l'introduire dans le micro tubes contenant le milieu urée-indole et incuber à 37°C pendant 24h.

➤ **Lecture du test uréase**

- Un virage de l'indicateur du pH vers le rose fait référence à un résultat positif.
- Absence de virage de cet indicateur fait référence à un résultat négatif.

2) Test de la production de l'indole

- L'ensemencement et l'incubation de cette étape s'est effectuée dans le même milieu à 37°C pendant 24h.

➤ **Lecture**

- La révélation de production de l'indole est faite à la suite de l'addition du réactif kovacs.

- L'apparition d'un anneau rouge persistant fait référence à un résultat positif.
- L'absence de l'anneau rouge fait référence à un résultat négatif.

c) Test citrate de Simmons

- A l'aide d'une anse stérile prélever un inoculum de la colonie de chaque tube (GNI) et l'ensemencer à la surface de la gélose citrate de Simmons (figure 7) qui est de couleur verte.
- Incuber pendant 24 à 96 h à 37°C.



Figure 7 : Ensemencement des souches bactériennes à la surface de la gélose citrate de Simmons (Photo personnelle, 2024)

➤ Lecture

- Les tubes présentant un virage de l'indicateur du pH au bleu font référence à un résultat positif.
- Les tubes qui ne présentent pas un changement de couleur font référence à un résultat négatif.

d) Tests VP / RM

- Dans le milieu de Clark et Lubs divisé en deux tubes stériles, identifié l'un en test VP et l'autre en test RM un inoculum (GNI) à l'aide d'une anse de platine stérile a été ensemencé par simple agitation.
- Incuber à 37°C pendant 24h.

➤ **Lecture du test RM**

- Dans le tube RM ajouter quelques gouttes du rouge de méthyle, l'apparition de la couleur rouge indique un résultat positif (RM+).

➤ **Lecture du test VP**

- Dans le tube VP nous avons rajouté quelques gouttes du VP1 et du VP 2 successivement.
- Un changement de couleur au rouge indique un résultat positif (VP+).

L'absence de couleur rouge indique un résultat négatif (VP-).

✓ **Lecture et interprétation**

Suite aux tests de présomption sur VRBL et confirmation sur EMB et identification biochimique. Les nombres obtenus ont été interprétés selon la formule suivante :

$$\frac{nE * nd * 10x}{np}$$

Où : 10x : est l'inverse du taux de dilution correspondant

nE : est le nombre de colonie d'*E coli* identifiées

nd : est le nombre de colonies caractéristiques dénombrés

np est le nombre de colonies caractéristiques prélevés

Dans le cas où plusieurs boîtes ont été retenues, effectuer la moyenne des résultats.

II.1.4. Recherche et dénombrement de Lactobacilles

II.1.4.1 Caractéristiques du milieu de cultures utilisé

Le milieu MRS (De Man Rogosa Sharpe) est utilisé pour isoler et cultiver les bactéries lactiques, notamment les lactobacilles, présents dans l'intestin. Il contient des peptones, de l'extrait de viande, de la levure, du glucose, du polysorbate 80, du lactose, du sorbitol, du phosphate dipotassique, de l'acétate de manganèse et de l'agar.

II.1.4.2. Mode opératoire

Cette analyse a été effectuée selon **VIGNOLA., 2002 ; ROISSART et LUQUET., 1994.**

Nous avonsensemencé 1 ml des dilutions de 10^{-4} , 10^{-5} en double couche et en profondeur dans deux boites de Pétri contenant de la gélose MRS solide, fondue et refroidie à 47°C. Les boites de Pétri sont alors entreposées à l'intérieur d'une jarre d'anaérobiose (Figure 8) puis incubées à 45°C pendant 48 heures.

✓ Lecture et interprétation

Après la période d'incubation nous avons procédé au comptage des colonies caractéristiques. Les nombres obtenus ont été interprétés selon la formule suivante :

$$N = \sum c / 1,1 \times d$$

Où :

- **N** : nombre de germes en (UFC/g).
- **c** : nombre de colonies des dilutions retenues.
- **d** : taux de dilution de la première boite retenue.
- **1,1** : coefficient d'absorption d'erreur



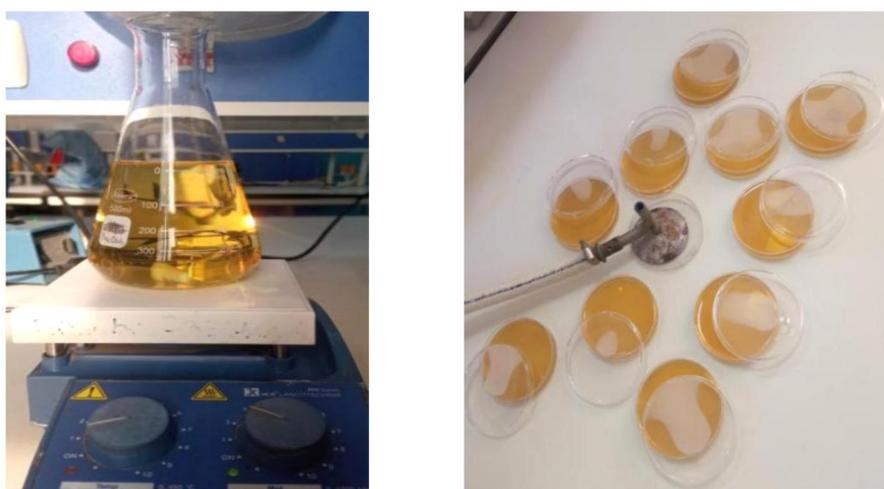
Figure 8 : Incubation des boites de pétri en aérobie et en jarre (anaérobiose)

(Photo personnelle, 2023)

II.2. Étude de l'antibiorésistance des souches d'*E coli*

Cette analyse a été réalisée par le principe de l'antibiogramme, un test de laboratoire réalisé *in vitro* pour évaluer la sensibilité d'un micro-organisme à un ou plusieurs antibiotiques.

La détermination de la sensibilité des bactéries aux ATB s'effectue par la méthode des disques, basée sur la diffusion sur gélose (Milieu Mueller Hinton) selon la méthode recommandée par l'OMS répondant aux critères définis par le CLSI et standardisées depuis 1999 en médecine vétérinaire e Algérie (OMS 2011).



Figur 9 : Préparation du milieu Mueller Hinton en boîte de Pétri
(Photo personnelle)

II.2.1. Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure sur milieu d'isolement, nous avons pris 5 à 6 colonies bien isolées et identiques. Nous avons déposé les colonies dans des tubes de 10 ml d'eau physiologique et bien homogénéisé à l'aide du vortex, pour obtenir une turbidité équivalente à celle d'un standard MC Farland 0,5 (10^7 à 10^8) on a utilisé un densitomètre (figure 10). Nous avons ajusté l'inoculum, soit en ajoutant des colonies s'il est trop faible ou de l'eau physiologique s'il est trop concentré.



Figure 10 : Mesure de la turbidité à l'aide d'un densitomètre
(Photo personnelle,2024)

II.2.2. Ensemencement de la gélose Mueller Hinton

Après préparation de l'inoculum en tube et homogénéisation sur un vortex près du bec bunsen, nous avons plongé un écouvillon stérile dans cette suspension bactérienne. Nous avons par la suite ensemencé la gélose Mueller Hinton en frottant l'écouvillon sur sa surface, en réalisant des stries serrées. L'opération a été reproduite deux fois en tournant de 60° la boîte de Pétri à chaque fois afin d'assurer une distribution homogène de l'inoculum.

II.2.4. Application des disques d'antibiotiques

Nous avons appliqué 12 disques d'ATB pour chaque souche, les molécules d'ATB ont été distribuées sur 2 boîtes de Pétri à raison de 6 disques. Ces derniers ont été déposés à l'aide d'une pince stérilisée (flambée) *in situ* avec la flamme du bec bunsen et de l'alcool (éthanol).

- Ampicilline(AMP)
- Amoxicilline(AX)
- Amoxicilline + Acide clavulanique(AMC)
- Cephalotine(KF)
- Néomycine(N)
- Gentamicine(GEN)
- Triméthoprome(TR)
- Tétracycline(TE)

- Enrofloxacin(NOR)
- Colistine(CL)
- Nitrofurantoine(F)
- Chloramphénicol(C)

II.2.5. Incubation des boîtes

Après diffusion des disques à température ambiante de quelques minutes dans les boîtes de Mueller Hinton préparées, nous avons incubé ces dernières à 37°C pendant 18 à 24h

II.2.6. Lecture et interprétation des résultats

Nous avons mesuré les diamètres des zones d'inhibition de croissance autour des disques antibiotiques. Pour savoir le degré de résistance pour chaque disque d'ATB, nous nous sommes référés au tableau de lecture « valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour les « **Enterobactéries** » (OMS 2011) voir annexe.

RESULTATS ET DISCUSSION

RESULTATS ET DISCUSSION

Après avoir réalisé notre essai qui consistait à étudier et savoir l'état de la flore digestive des lapins de souche blanche synthétique élevés dans cet élevage rationnel. Des résultats ont été enregistrés. Ces derniers seront représentés et interprétés dans cette partie.

I. Resultats et discussion des Analyses bactériologiques

I.1. Résultats de l'étude macroscopique

La confirmation des analyses microbiologiques pour la recherche des flores retenues a été réalisée selon différentes étapes, les caractérisations macroscopiques et biochimiques ont servi à l'orientation de l'identification des bactéries (tableau 2).

Un comptage des colonies a été réalisé pour chaque boîte contenant colonies caractéristiques (**figure 11**). Le dénombrement consiste à compter les colonies à l'aide d'un compteur de colonies.

Tableau 2 : Résultats de l'étude macroscopique des germes recherchés

Germes	Etude macroscopique
<i>Escherichia coli</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Colonies violettes entourées d'une zone rougeâtre sur milieu VRBL. - Colonies bleu-noir avec des reflets verts métallisés « en dos de scarabée » sur milieu EMB.
Lactobacilles	- colonies Blanches à grises lenticulaire ou arrondie.

L'étude macroscopique a révélé la présence des colonies de couleur violacée entourées d'une zone rougeâtre sur milieu VRBL (**Figure 13**). La confirmation de la pousse d'*E. coli* sur milieu EMB est obtenue par la croissance des colonies bleu-noir avec des reflets verts métallisés « en dos de scarabée » (**figure 12**).

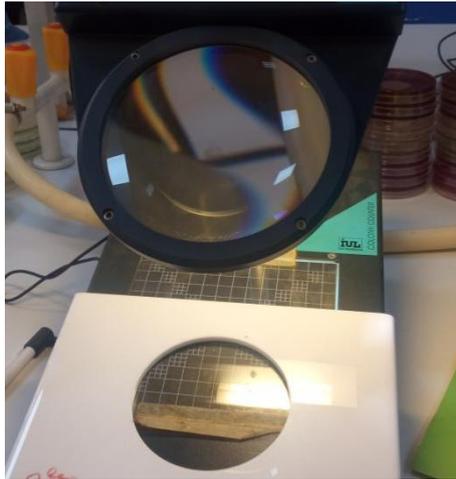


Figure 11 : Dénombrement des colonies sur un compteur de colonies
(Photo personnelle,2023)



Figure 12 : Aspect des colonies d'*E. coli* Sur milieu VRBL
(Photo personnelle,2023)

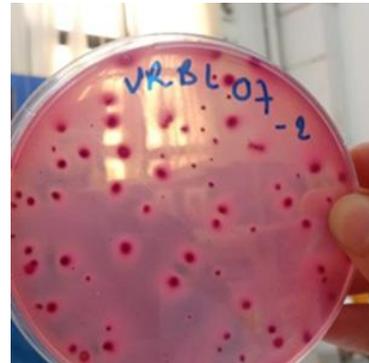


Figure 13 :Aspect des colonies d'*E. coli* sur milieu EMB(Photo personnelle,2023)

I.2. Résultats de l'identification biochimique d'*E. coli*

Suite à la suspicion sur VRBL et la confirmation macroscopique des souches sur le milieu EMB, L'identification de la bactérie *E coli* a été faite par une galerie biochimique classique voir **figures 12, 13, 14, et 15.**

Le calcul du nombre de bactéries a été réalisé en utilisant la formule mathématique citée dans matériels et méthodes.



Figure14 : Résultats test indole positif



Figure15 : Résultats test VP- et RM+



Figure16 : Résultats test citrate de Simmons négatif



Figure 17: résultats test TSI

Les résultats concernant l'estimation d'*E coli* ont révélé les chiffres allant de $3,07.10^2$ à 18.10^6 UFC/g. Ces chiffres affirment que la flore colibacillaire peut montrer une augmentation marquée en période d'engraissement qui chez certains individus ne se stabilise pas avec le nombre retrouvé chez certains individus qui ont atteint 18.10^6 UFC/g.

Cette évolution est expliquée par l'adaptation de la flore digestive au changement d'alimentation de l'allaitement à l'aliment granulé. Les chiffres varient aussi en fonction du statut immunitaire de l'individu car en engraissement les animaux viennent de différentes protéines.

Nos résultats sont légèrement plus élevés par rapport à 10^2 - 10^5 UFC/g qui sont estimés par **Padilha et al., (1995)** ; **Morisse et al., 1985**.

Vu que la modification de la flore digestive est liée au changement d'alimentation, l'aliment doit être choisi afin de maintenir un équilibre stable entre l'hôte et la microflore. Ceci pourra contribuer à prévenir toute perturbation structurale et/ou fonctionnelle de l'appareil digestif.

I.3. Résultats des dénombrement des Lactobacilles sur MRS

Les résultats concernant l'estimation des lactobacilles ont révélé les chiffres allant de **de 9 à 91 UFC/g.**

Nous relevons une faible densité de lactobacilles (**9 UFC/g**) chez plusieurs individus. Ceci est peut être du à un aliment qui n'est pas riche en fibre. Ce qui engendre un substrat non favorable pour la croissance des lactobacilles, ou bien d'autres facteurs dans l'alimentation ou l'environnement cœcal qui peuvent limiter leur prolifération (**Gidenne et Jehl, 2000**).

II. Résultats et discussion de l'antibiorésistance

Suite aux tests biochimique, 31 souches ont été identifiées et ont servi à l'étude de leur profil d'antibiorésistance.

un taux de 77.41% des souches qui ont eu un profil biochimiques identique aux standards des *E. coli*, par contre le reste qui représente un taux de 22.58% ont un profil d'autres entérobactéries différent d'*E. Coli*.

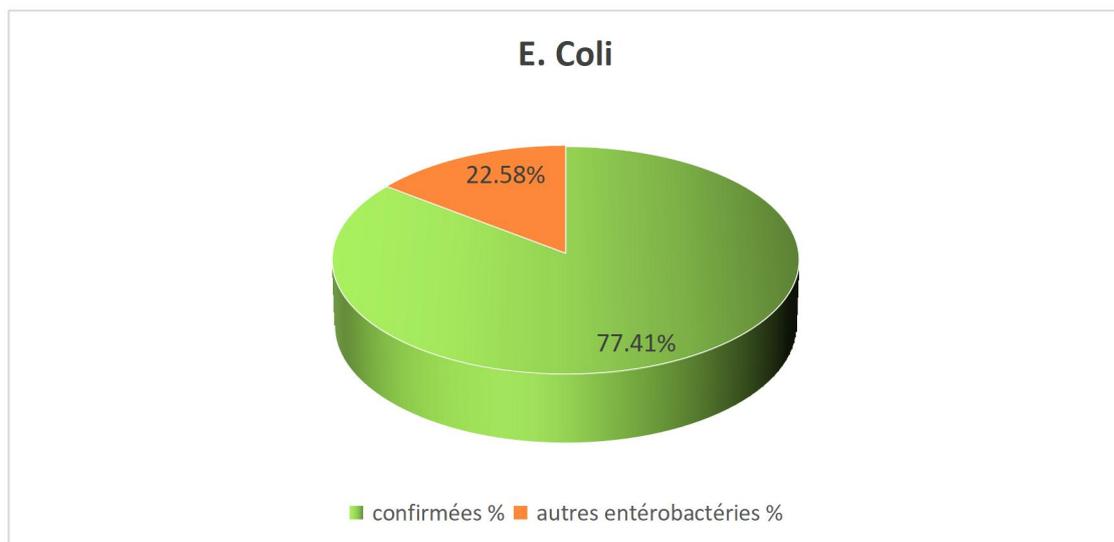


Figure 18 : Résultats de l'identification biochimiques

L'ensemble des souches d'*E coli* isolées et identifiées du caecum ont fait l'objet d'un test d'antibiogramme. Cette étape a été réalisée pour évaluer la sensibilité des différentes souches aux 12 molécules d'ATB choisies et citées préalablement.

Les pourcentages de souches classées en sensibles, intermédiaires et résistantes aux différentes molécules d'ATB testées sont illustrés dans (figures 19)

Nous remarquons un taux de sensibilité élevé concernant la majorité des molécules allant de 60% à 100%. Par contre, les souches étudiées ont montré un profil de résistance de 100% pour l'ampicilline et céphalothine. Aussi, les souches ont été résistantes pour la molécule de la tétracycline à raison de 80% des souches et pour la Triméthoprime, il était à 60%. Ceci peut s'expliquer par l'usage abusif de toutes ces molécules.

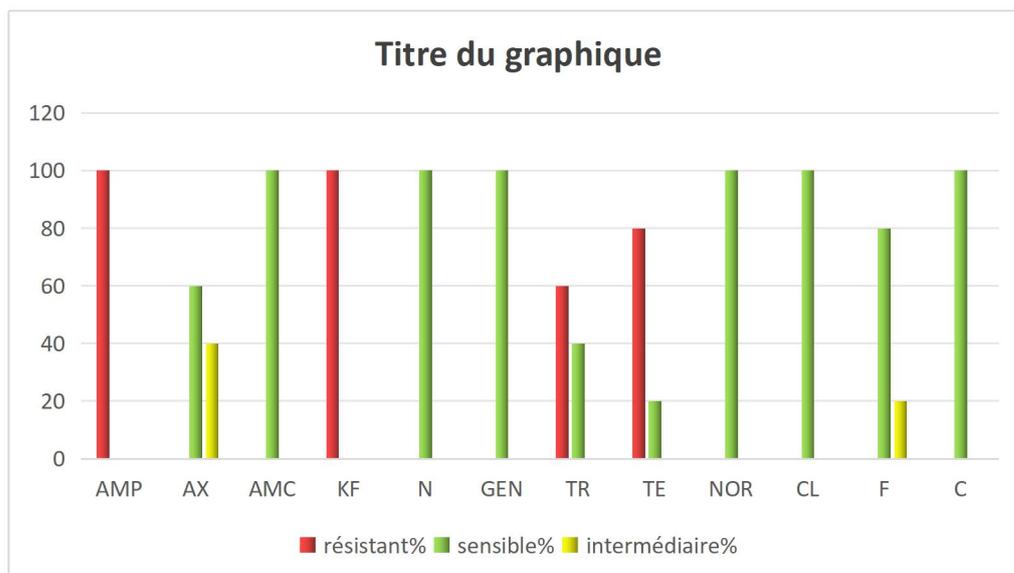


Figure 19 : Taux globale de sensibilité de résistance des souches étudiées aux molécules testées

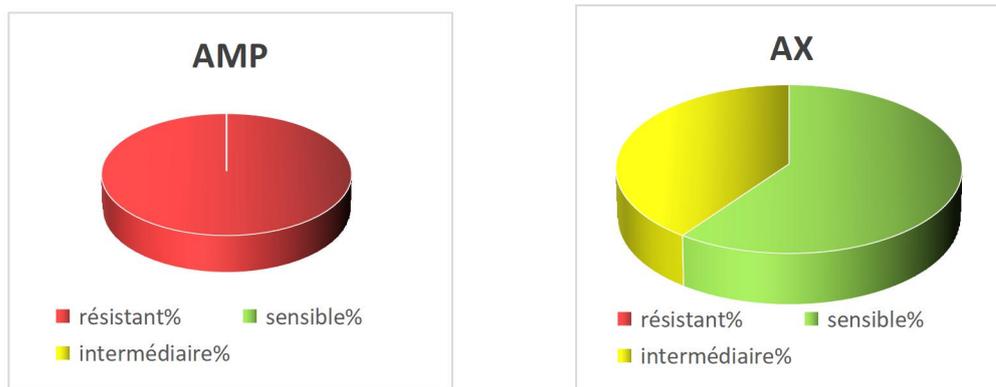


Figure 20: Taux de sensibilité de résistance des souches étudiées aux AMPICILLINE et AMOXICILLINE

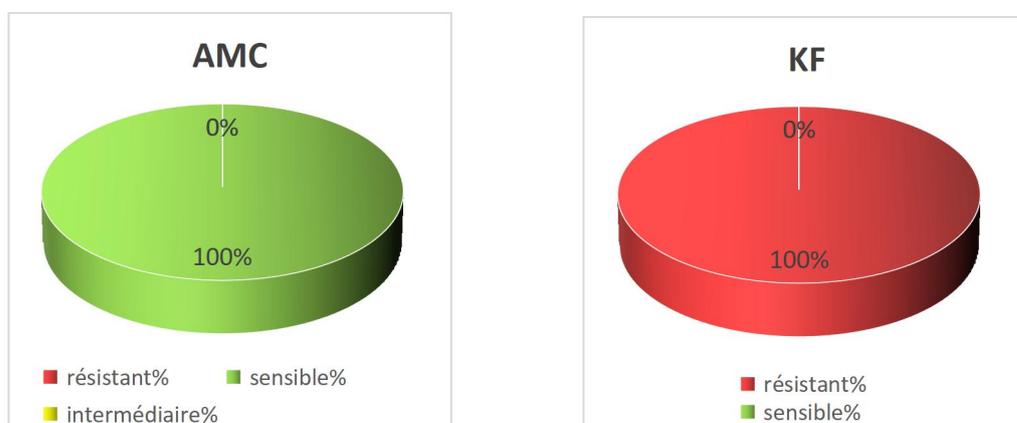


Figure 21: Taux de sensibilité de résistance des souches étudiées aux AMOXICILLINE+Acide CLAVULINIQUE et CEPHALOTINE

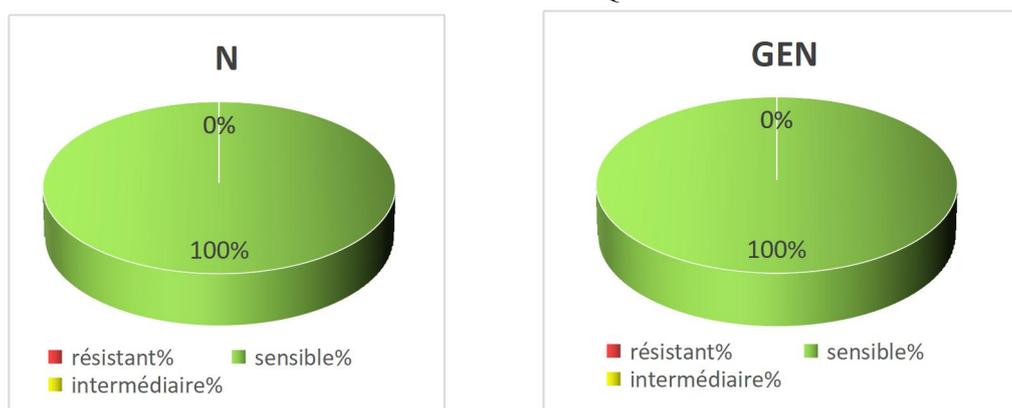


Figure 22: Taux de sensibilité de résistance des souches étudiées aux NEOMYCINE et GENTAMICINE

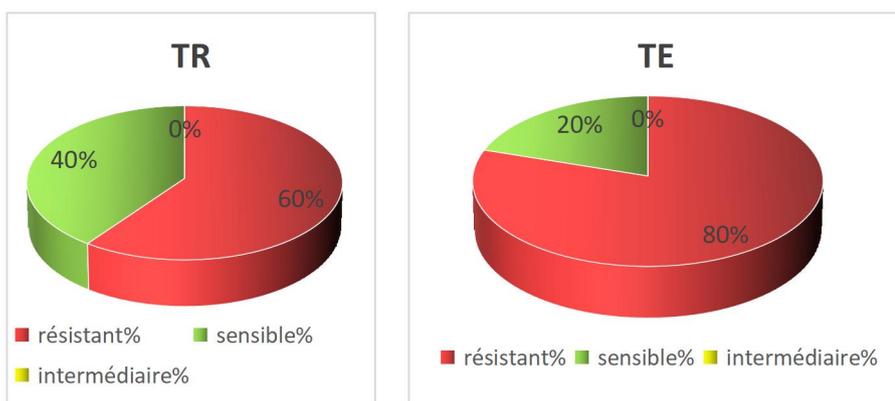


Figure 23:Taux de sensibilité de résistance des souches étudiées aux TRIMETHOPRIME et TETRACYCLINE

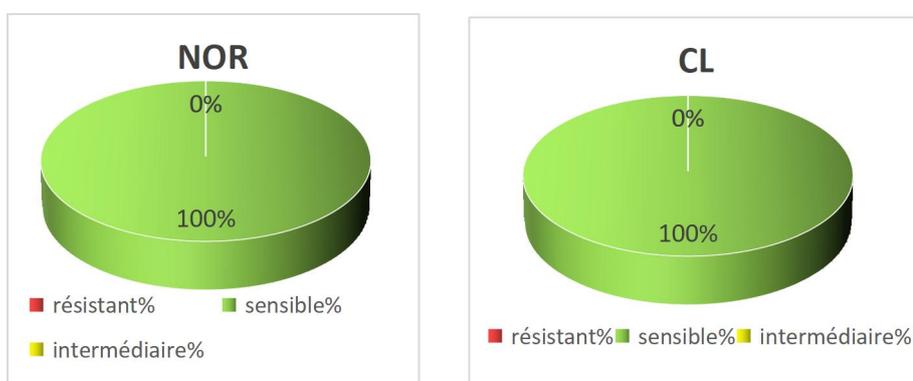


Figure 24:Taux de sensibilité de résistance des souches étudiées aux ENROFLOXACINE et COLISTINE

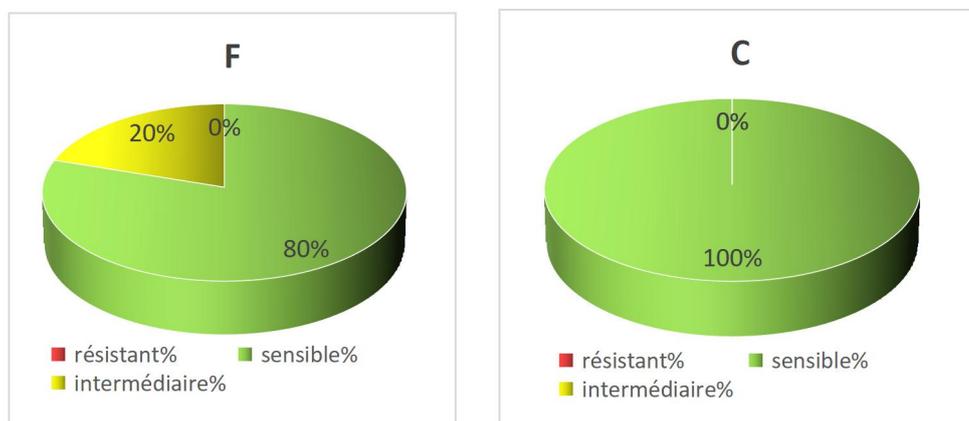


Figure 25:Taux de sensibilité de résistance des souches étudiées aux NITROFURANTOINE et CHLORAMPHENICOL

CONCLUSION

CONCLUSION

Au terme de cette étude consacrée à l'analyse bactériologique du contenu caecal chez le lapin à l'engraissement dans un élevage rationnel privé dans la wilaya de Tizi Ouzou, il est possible de conclure et proposer certaines perspectives.

A l'issue de ce travail, il s'est révélé que la flore caecale a évolué avec des taux qui sont équilibrés comparables à ce qui est cité dans la littérature.

Les résultats ont permis d'identifier *E coli* en engraissement avec un taux allant de **$3,07.10^2$ à 18.10^6 UFC/g.**

En considérant ces résultats, nous pouvons affirmer que la flore colibacillaire a été modulée par un aliment équilibré. Ceci peut être en relation avec le savoir-faire et la technicité de l'éleveur. Vu qu'il s'agit d'une exploitation modèle avec un grand cheptel de 300 femelles.

Il serait encore intéressant de voir l'évolution de la flore sur plusieurs dates allant du sevrage jusqu'à l'âge adulte afin d'estimer au mieux l'implantation de cette flore et de voir l'installation de son équilibre.

Néanmoins, en ce qui concerne l'antibiorésistance retrouvée aux Beta lactamines, tétracycline et triméthoprime révèle l'utilisation d'antibiotiques dans l'élevage.

Il est donc de plus en plus impératif de maîtriser les méthodes thérapeutiques chez ces animaux qui sont connus pour leur sensibilité prononcée à toute perturbation de leur environnement et mode de vie. Le traitement antibiotique d'un lapin n'est pas chose aisée en comparaison de celui d'autres espèces, nécessitant, outre une bonne connaissance des molécules et de leurs effets (utiles comme indésirables), une parfaite connaissance de la physiopathologie de l'animal à qui on souhaite l'administrer. La réussite de l'antibiothérapie repose sur de bonnes mesures diagnostiques, notamment par l'isolement du (des) germe(s) concerné(s), de son (leur) identification et de la réalisation d'un antibiogramme, le choix d'un antibactérien se faisant principalement en fonction de la sensibilité de l'agent pathogène suspecté.

Pour apporter un plus à ce travail, une étude plus étendue en temps et en échantillons (d'autres élevages) peut mieux aider à comprendre les difficultés en cuniculture.

REFERENCES

A

1. Amroun, T. (2018). Impact de la composition du lait sur la mortalité des lapereaux sous la mère dans deux types génétiques de lapines en Algérie: la population blanche et la souche synthétique. THÈSE DE DOCTORAT Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou. 219P.
2. AFSSA ,2006 «Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine». Rapport du groupe de travail. [En ligne]. Maisons-Alfort : AFSSA.

B

3. (Bennegadi, 2002) Bennegadi N (2002) Les entéropathies non spécifiques du lapin en croissance. Impact des facteurs microbiens et nutritionnels. Thèse de doctorat, *ENSAR, Université de Rennes*.
4. Brown K., Smith C., *et al.* "Probiotics and Prebiotics in Rabbit Farming: A Sustainable Approach". *Agricultural Sciences Journal*, 2018.

C

5. COMBES S., DALLE ZOTTE A. 2005. La viande de lapin : valeur nutritionnelle et particularités technologiques. 11èmes Journées de la Recherche Cunicole, 29-30 novembre 2005, pp 167-180.
6. Coudeyra, S., & Forestier C. (2010). Microbiote et probiotiques: impact en santé humaine. *Canadian Journal of Microbiology*, 56(8), 611-650.
7. Chopra, I. (1998). Research and development of antibacterial agents. *Curr. Opin. Microbiol.* 1, 495–501.
8. Chen, C.-R., Malik, M., Snyder, M., and Drlica, K. (1996). DNA Gyrase and Topoisomerase IV on the Bacterial Chromosome: Quinolone-induced DNA Cleavage. *J. Mol. Biol.* 258, 627– 637.
9. Courvalin, P. (2008). Predictable and unpredictable evolution of antibiotic resistance. *Journal of Internal Medicine.* 264, 4–16.
10. Chopra, I., and Roberts, M. (2001). Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev. MMBR.* 65, 232-260.

D

11. **DALLE ZOTTE A. 2014. Le lapin doit apprivoiser le consommateur. Viandes Prod. Carnés Vol 23 (6).**

E

12. **Eckburg P. B., Bik E. M., Bernstein C. N., Purdom E., Dethlefsen L., Sargent M., Relman D.A. (2005). Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*, 308(5728), 1635-1638.**
13. **Ebimiewei, E., and Ibemologi, A. (2016). Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. *Int. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Res.***

F

14. **FORSYTHE S.J., PARKER D.S., 1985. Nitrogen metabolism by the microbial flora of the rabbit. *J. Appl. Bacteriology*, 58, 363-369.**
15. **Fajardo, A., and Martínez, J.L. (2008). Antibiotics as signals that trigger specific bacterial responses. *Curr. Opin. Microbiol.* 11, 161–167.**
16. **Falagas, M.E., Rafailidis, P.I., and Matthaiou, D.K. (2010). Resistance to polymyxins: Mechanisms, frequency and treatment options. *Drug Resist. Updat.* 13, 132–138.**

G

17. **GIDENNE T. (2015). Le lapin de la biologie à l'élevage. Ed Quae.France .269p.**
18. **GIDENNE T. & LEBAS F. (2005). Le comportement alimentaire du lapin .11ème journée de la recherche cunicole. Paris ,29-30 novembre 2005.**
19. **Gidenne T & Lebas F (1984) Evolution circadienne du contenu digestif chez le lapin en croissance. Relation avec la caecotrophie. *Proc. 3rd the World Rabbit Congress* 2, 494-501.**
20. **Gidenne T, Pinheiro V & Falcao e Cunha L (2000) A comprehensive approach of the rabbit digestion: consequences of a reduction in dietary fibre supply. 64, 225-237.**
21. **Gidenne T & Jehl N (2000) Caecal microbial activity of the young rabbit : incidence of a fibre deficiency and of feed intake level. *7th World Rabbit***

Congress World Rabbit Sci., 8, suppl.1, vol. C, 223-229.

22. Gouet P & Fonty G (1979) Changes in the digestive microflora of holoxenic rabbits from birth until adulthood. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 19, 553-566.
23. GALLOIS M., LE HUEROU-LURON I., FORTUN-LAMOTHE L., LALLES J.P., GIDENNE T., 2006. Adaptability of the digestive function to an early stimulation of the solid feed intake in the young rabbit. I. Digestive potential: small intestinal enzymatic and caecal microbial activities. *Animal (sous presse)*.
24. Garrod, L.P., Lambert, H.P., O'Grady, F., and Barber, M. (1973). Antibiotic and chemotherapy (Edinburgh: Churchill Livingstone).
25. Garcia R., Martinez B., *et al.* "Antibiotic Residues in Rabbit Meat and Their Impact on Human Health". Environmental Health Perspectives, 2020.
26. Guérin-Faublée V, 2010 «Les mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques». In Journées Nationales GTV. Lille, 26-28mai 2010, SNGTV, Paris.

H

27. Hotchkiss, R. D., and R. J. Dubos. (1941). The isolation of bactericidal substances from cultures of *Bacillus brevis*. *J. Biol. Chem.* 141:155-162.

J

28. Josephine, H.R., Kumar, I., and Pratt, R.F. (2004). The Perfect Penicillin? Inhibition of a Bacterial DD-Peptidase by Peptidoglycan-Mimetic β -Lactams. *J. Am. Chem. Soc.* 126, 8122–8123.

K

29. Kahne, D., Leimkuhler, C., Lu, W., and Walsh, C. (2005). Glycopeptide and Lipoglycopeptide Antibiotics. *Chem. Rev.* 105, 425–448.

L

30. LEBAS F., COUDERT P., ROCHAMBEAU H. de, THEBAULT R.G., 1996. Le lapin : Élevage et Pathologie. (Nouvelle version révisée), FAO éd. Rome, 227pp.
31. Lebas, F. (2000). Overview of rabbit production in the World. Annual WRSA Chinese Branch Meeting, Ningbo (Chine) 22-23 Decembre 2000, 8 pp.

32. Lebas F., & Colin M. (2000). Production et consommation de viande de lapin dans le Monde Estimation en l'an 2000. *Jornadas Internacionas du Cunicultura*, 24-25.
33. Lebas F., & Fortun-Lamothe L. (1996). Effects of dietary energy level and origin (starch vs oil) on performance of rabbit does and their litters: average situation after 4 weanings. 6. World rabbit congress.
34. Lebas F., Coudert P., De Rochambeau H., Thébault R.G. (1996). Nutrition et alimentation. In : *Le lapin : Elevage et pathologie*. FAO Eds, Rome, Italie, 21-50.
35. Lebas F., Coudert P., de Rochambeau H., Thibault R. (1996). *Le lapin : élevage et pathologie*. Collection FAO : Production et santé animales, N°19, FAO, Rome, 40- 120.
36. Lebas F, Marionnet D. & Henaff R. (1991) La production du lapin. In *Association Française de Cuniculture*, pp. 206 [Lavoisier, editor].
37. Lipsitch, M., Singer, R.S., and Levin, B.R. (2002). Antibiotics in agriculture: When is it time to close the barn door? *Proc. Natl. Acad. Sci.* 99, 5752–5754.

M

38. Martinez G., Lopez D., *et al.* "Environmental Impact of Antibiotic Use in Rabbit Farming". *Environmental Science & Technology*, 2021.
39. Mitsuhashi, S. (1993). Drug Resistance in Bacteria: History, Genetics and Biochemistry. *J. Int. Med. Res.* 21, 1–14.
40. Madigan, M.T., Martinko, J.M., Parker, J., and Brock, T.D. (1997). *Brock biology of microorganisms* (Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall).

N

41. Nauciel C, Vildé JL, 2008 « Bactériologie médicale». 2 ème édition.

P

42. Padilha MTS, Licois D, Gidenne T, Carré B & Fonty G (1995) Relationships between microflora and caecal fermentation in rabbits before and after weaning. *Reproduction Nutrition Development* 35, 375-386.
43. Patel, G., and Bonomo, R.A. (2011). Status report on carbapenemases: challenges and prospects. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 9, 555–570

R

44. Rofes, C. (2014). Intérêts du microbiote intestinal et probiotiques Université Toulouse III Paul Sabatier].
45. Rees, J.R., Morris, C.B., Peacock, J.L., Ueland, P.M., Barry, E.L., McKeown-Eyssen, G.E., Figueiredo, J.C., Snover, D.C., and Baron, J.A. (2017). Unmetabolized Folic Acid, Tetrahydrofolate, and Colorectal Adenoma Risk. *Cancer Prev. Res. (Phila. Pa.)*. 10, 451– 458.

S

46. SALSE P. RAYNAUD. 1985. Étude sur la flore caecale du lapin. Essai préliminaire d'implantation précoce de la flore adulte chez le lapereau. *Ann. Recher. Vet.* 16 (4), 357-362.
47. Schatz, A., Bugle, E., and Waksman, S.A. (1944). Streptomycin, a Substance Exhibiting Antibiotic Activity Against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria.*. *Exp. Biol. Med.* 55, 66–69.

W

48. White P., Johnson S., et al. "Antibiotic Resistance in Rabbit Farming: Mechanisms and Implications". *Antibiotics Journal*, 2017.

Annexe 01

Matériel de laboratoire et appareillage

Béchers

Erlenmeyers

Éprouvette gradué

pissette

Micro-Pipettes graduées

Tubes à essai stérile à vis métallique

Boîte de pétrie.

Bistouri

Papier PH

Pince

Ciseaux

Peau stérile

Flacon stérile

anse de platine

Bec benzine

Écouvillon stérile

Embout stérile

Étuve

Réfrigérateur

Bains-marie

Agitateur

Balance électrique

Autoclaves

Compteur de cellules

Milieux de culture

Réactifs, Disques d'antibiotiques

Désinfectants

Blouses

Annexe 02

Résultats tests biochimiques

<u>date</u>		<u>glucose</u>	<u>lactose</u>	<u>gaz</u>	<u>H2S</u>	<u>VP</u>	<u>RM</u>	<u>Urée</u>	<u>indole</u>	<u>citrate</u>	<u>oxydase</u>	<u>remarque</u>
26 <i>Fév</i> 2023	<u>16.E1</u>	-	-	-	-	-	+	-	+	-		
	<u>16.E2</u>	+	+	+	-	-	+	-	+(-)	-		
	<u>16.E3</u>	+	+	+	-	-	+	-	+	-		
	<u>16.E4</u>	+	+	+	-	-	+	-	+	-		
	<u>22.E1</u>	+	+	+	-	-	+	-	+	-		
	<u>22.E2</u>	+	+	+	-	-	+	-	+	-		
	<u>22.E3</u>	+	+	+	-	-	+	-	+	-		
	<u>22.E4</u>	+	+	+	-	-	+	-	+	-		
	<u>23.E1</u>	+	+	+	-	-	+	-	+	-		
	<u>23.E2</u>	+	+	+	-	-	+	-	+	-		
	<u>23.E3</u>	+	+	+	-	-	+	-	+	-		
	<u>23.E4</u>	-	-	-	-	-	+	-	-	-		
07 <i>Mrs</i> 2023	<u>03.E1</u>	+	+	+	-	-	+	-	+	-		
	<u>03.E2</u>	+	+	+	-	-	+	-	+	-		
	<u>03.E3</u>	+	+	+	-	-	+	-	+	-		
	<u>20.E1</u>	+	+	+	-	-	+	-	+	-		
	<u>20.E2</u>	-	-	-	-	-	-	-	-(+)	-		
	<u>20.E3</u>	+	+	+	-	-	+	-	+	-		
	<u>25.E1</u>	+	+	+	-	-	+	-	+	-		
	<u>25.E2</u>	+	+	+	-	-	+	-	+	-		
	<u>25.E3</u>	+	+	+	-	-	+	-	+	-		
	<u>32.E1</u>	+	+	+	-	-	+	-	+	-		
	<u>32.E2</u>	+	+	+	-	-	+	-	+	-		
	<u>32.E3</u>	+	+(-)	+	-	-	+	-	+	-		
	<u>33.E1</u>	-	-	-	-	-	+	-	-(+)	-		
	<u>35.E1</u>	+	+	+	-	-	+	-	+	-		
	<u>35.E2</u>	+	+	+	-	-	+	-	+	-		
	<u>35.E3</u>	+	+	+	-	-	+	-	+	-		
<u>37.E1</u>	+	+	+	-	-	+	-	+	-			
<u>37.E2</u>	+	+	+	-	+	+	-	-	-			
<u>37.E3</u>	+	+	+	-	-	+	-	+	-			

Annexe 03

Résultats d'antibiogramme

SO UC HE S	am pic illi ne	am oxi cilli ne	Amoxicilli ne + Ac clavuliniqu e	cepha lotine	néom ycine	genta micin e	triméth oprime	tétrac icline	enrofl oxacin e	colisti ne	nitrof uranto ine	chlora mphéni col
CC 3E 2	R	I	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S
CC 20 E3	R	S	S	R	S	S	R	R	S	S	S	S
CC 23 E1	R	S	S	R	S	S	R	R	S	S	I	S
CC 25 E2	R	S	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S
CC 32 E3	R	I	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S

OÙ :

R: résistant

S: sensible

I: intermédiaire

Résumé

Cette étude vise à caractériser le microbiote intestinal des lapins en Algérie, en se concentrant sur les populations d'E. coli et de Lactobacilles, afin d'évaluer leur impact sur la santé digestive et la performance économique de la cuniculture locale. Elle inclut une analyse détaillée de la microflore caecale des lapins de souche blanche élevés dans un contexte d'élevage rationnel, avec une évaluation quantitative des Lactobacilles et d'E. coli, ainsi qu'une analyse de leur antibiorésistance. Les résultats montrent une augmentation significative de la flore colibacillaire pendant l'engraissement, avec des densités d'Escherichia coli atteignant jusqu'à 18×10^6 UFC/g. Ces souches ont montré une sensibilité variable aux antibiotiques, avec une résistance notable à l'ampicilline et à la céphalothine. Cette étude souligne l'importance de maîtriser les méthodes thérapeutiques pour maintenir la santé des lapins, particulièrement sensibles aux perturbations environnementales.

Mots clés: microbiote intestinal, lapins, antibiorésistance, E. coli, Lactobacilles, santé digestive, performance économique

Abstract

This study aims to characterize the gut microbiota of rabbits in Algeria, focusing on E. coli and Lactobacilli populations, in order to assess their impact on digestive health and the economic performance of local rabbit farming. It includes a detailed analysis of the caecal microflora of white rabbits raised in a rational breeding context, with a quantitative assessment of Lactobacilli and E. coli, as well as an analysis of their antibiotic resistance. The results show a significant increase in colibacillary flora during fattening, with Escherichia coli densities reaching up to 18×10^6 CFU/g. These strains showed variable antibiotic susceptibility, with notable resistance to ampicillin and cephalothin. This study highlights the importance of mastering therapeutic methods to maintain the health of rabbits, which are particularly sensitive to environmental disturbances.

Keywords: intestinal microbiota, rabbits, antibiotic resistance, E. coli, Lactobacilli, digestive health, economic performance

ملخص الدراسة

كان الهدف من هذه الدراسة هو توصيف الميكروبيوتا المعوية للأرانب في الجزائر، مع التركيز على تجمعات الإشريكية القولونية والعصيات اللبنية، من أجل تقييم تأثيرها على صحة الجهاز الهضمي والأداء الاقتصادي لتربية الأرانب المحلية. ويتضمن تحليلاً مفصلاً للميكروبات المعوية للأرانب البيضاء التي تمت تربيتها في سياق تربية عقلانية، مع تقييم كمي للعصيات اللبنية والإشريكية القولونية، بالإضافة إلى تحليل لمقاومتها للمضادات الحيوية. أظهرت النتائج زيادة كبيرة في النباتات القولونية أثناء التسمين، حيث وصلت كثافة الإشريكية القولونية إلى 18×10^6 CFU/g. أظهرت هذه السلالات حساسية متفاوتة للمضادات الحيوية، مع مقاومة ملحوظة للأمبيسلين والسيفالوثين. تسلط هذه الدراسة الضوء على أهمية التحكم في الأساليب العلاجية للحفاظ على صحة الأرانب، التي تعتبر حساسة بشكل خاص للاضطرابات البيئية. الكلمات المفتاحية: الجراثيم المعوية، الأرانب، مقاومة المضادات الحيوية، الإشريكية القولونية، العصيات اللبنية، صحة الجهاز الهضمي، الأداء الاقتصادي