



MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2024

MEMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV **Filière :** Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

M^{elle} HOCINE Nesrine et M^{elle} BANOUEH Lydia

Thème

**Evaluation de la diversité bactérienne du
microbiote intestinal chez le lapin**

« Oryctolagus cuniculus »

Soutenu le : 26/ 06 / 2024

Devant le jury :

Présidente : M^{me} MAIZI N MCA univ. de Bouira

Examinatrice : M^{me} MESSAD S MCA univ. de Bouira

Promotrice : M^{me} CHERIFI Z MCB univ. de Bouira

Co-Promotrice : M^{me} DJENADI K MCB univ. de Bouira

Année universitaire : 2023 / 2024

Remerciement

Avant tout, nous sommes reconnaissants à Allah, le Tout-Puissant et Miséricordieux, de nous avoir accordé la santé, la volonté, la patience nécessaires pour mener à bien notre formation de master.

Nous allons remercier vivement notre promotrice Mme CHÉRIFI Zakia d'avoir bien accepté de diriger ce travail, pour son écoute et son encouragement.

Nous avons l'intention d'exprimer notre sincère gratitude et nos remerciements à notre co-promotrice DJENADI Katia, dont l'assistance scientifique nous a permis de démarrer la recherche en laboratoire. Pour sa gentillesse, sa présence ainsi que pour la confiance qu'il a su nous apprécier l'aide et les précieux conseils qu'il nous a apportés tout au long de ce projet.

Nous tiens à remercier les membres de jury la présidente Mme MAIZI et l'examinatrice Mme MESSAD

Que nos amis trouvent ici le moyen de transmettre nos sincères amitiés et notre profonde gratitude de nous avoir offert un environnement de travail positif et agréable tout au long de notre chemin.

Dédicace

Je consacre ce travail modeste à mes parents, les personnes les plus chères à mon cœur, pour leur soutien tout au long de ces années et pour les efforts et les sacrifices que vous avez toujours fait pour mon éducation et mon bien-être.

Que Dieu vous bénisse.

A mon chère frère

*Toi qui m'aime et me protège, merci pour ta bonté,
ton encouragement.*

Et la bonne humeur que tu as pu m'apporter Pendant toute cette tâche, que Dieu te protège et te procure tout le bonheur qui te soit possible.

Aux mes tantes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'en accompagnaient durant mon chemin d'études supérieures.

A tous ceux et celles que j'ai rencontré surtout ma binôme Lydia et qui m'ont aidé durant 5ans des études universitaires.

N'ESRINE

Dédicace

Ma mère, qui a travaillé dur pour mon succès, grâce à son amour, son soutien, tous les sacrifices qu'elle a faits et ses précieux conseils, qu'Allah la guérie et la protège.

A mon cher père qui m'a toujours soutenu sans relâche et qui m'a aidé à devenir ce que je suis aujourd'hui, qu'Allah le garde et le protège.

Je tiens à remercier mes sœurs Hadil et Asma, ainsi que mes frères Ayoub et Idris, pour leurs encouragements et leur soutien.

À mes amis chers et à tous mes professeurs tout au long de mes études.

Lors de la promotion 2023-2024 intitulée «Microbiologie appliquée».

LYDIA

Table de matière

Remerciements

Dédicace

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale 1

Partie bibliographie 4

Chapitre I :

L'anatomie du lapin

Le Lapin *Oryctolagus cuniculus* 6

1. Anatomie générale 6

1.1 Morphologie générale 6

1.2 La description du lapin 7

1.3 La systématique 7

2. Anatomie digestive..... 8

2.1 La bouche 8

2.2 L'œsophage 9

2.3 L'estomac 9

2.4 L'intestin 9

2.5 Le cæcum 9

2.6 Le côlon 10

3. Alimentation 11

4. La Cæcotrophie 11

Chapitre II :

Le microbiote intestinal du Lapin

1. Le microbiote 15

2. La composition du microbiote intestinal 15

3. Description des principaux phylums..... 16

3.1. Phylum Firmicute 16

3.2. Phylum Bactéroïdète..... 16

3.3. Phylum Actinobactérie 16

3.4. Phylum Protéobactérie 16

4. Le microbiote de la cavité buccale 16

5. Le microbiote intestinal de lapin	17
6. La composition taxonomique du microbiote.....	19
7. Quelques bactéries présentes dans le microbiote intestinal de lapin	20

Chapitre III :

Matériel et méthode

1. Matériel.....	23
1.1. Matériel biologique.....	23
1.1. Matériel non biologique	23
2. Méthodes	24
2.1. Abattage de lapin et prélèvement des échantillons	25
2.2. Technique de dilution	26
2.3. Dénombrement de la flore mésophile totale.....	26
2.4. Isolement et Purification des isolats	27
2.5. Identification des isolats bactériens.....	28
2.5.1. Examen macroscopique	28
2.5.2. Examen microscopique	28
2.6. La détermination de la catalase.....	29
2.7. Vérification d'identité des isolats sur milieu Chromagar	29
2.8. Identification biochimique.....	29
3. Conservation des isolats.....	30

Chapitre IV :

Résultats et discussion

1. La charge bactérienne dans le tube digestif du lapin	32
2. La diversité bactérienne chez le microbiote intestinale	33
3. L'aspect macroscopique des colonies.....	33
4. les caractères microscopiques des isolats du microbiote intestinal	40

Discussion	46
Conclusion.....	49
Références bibliographie	51
Résumé	
Abstract	
ملخص	

Liste des figures

Chapitre I

- Figure n° 1** : Morphologie externe du lapin domestique adulte (GIDENNE, 2015). ... 6
- Figure n° 2** : Lapin *Oryctolagus cuniculus*.(Photo personnelle)..... 7
- Figure n° 3** : Anatomie générale du tube digestif du lapin d'après (Lebas, 2009). 8
- Figure n° 4** : Anatomie du cæcum. (Barone et *al.*, 1973) 10
- Figure n° 5** : Schéma représenté du déplacement du bol alimentaire dans le gros intestin (Lebas F., 2008) 11
- Figure n° 6** : Schéma général de fonctionnement de la digestion chez le lapin. (Lebas 2008) 12
- Figure n° 7** : Les deux types de crottes sécrétés. (Lebas, 2002) 13

Chapitre II

- Figure n° 1** : *Escherichia coli* sous le microscope optique, grossissement (X100). (Photo personnelle) 20
- Figure n° 2** : *Clostridium spp* sous le microscope optique (GX100)..... 21

Chapitre III

- Figure n° 1** : Lapin de population *Oryctolagus cuniculus* (Photo personnelle). 23
- Figure n°2** : Abattage de lapin et prélèvement des échantillons (Photo personnelle). 25
- Figure n°3** : Technique d'ensemencement en quadrant (*Marchand, G., 2011*)..... 27

Chapitre IV

- Figure n° 1** : Exemples des résultats de dénombrement après 24h de l'incubation (photo personnelle) 32
- Figure n° 2** :Diversité bactérienne sur milieu Mac Conkey.....35
- Figure n°3** :Diversité bactérienne surmilieu MRS.....35
- Figure n°4** :Exemplesdes souches pures obtenues après l'isolement. (Photo personnelle)36
- Figure n° 5** : Exemple d'observation de quelques souches obtenues après la purification. (photo personnelle) 37
- Figure n° 6** : Observation macroscopique de quelques isolats (Photo personnelle).38

Figure n° 7 : Observation microscopique des Cocci à Gram positive. (Photo personnelle)	41
Figure n° 8 : Observation microscopique des Bacille à Gram négative. (Photo personnelle)	41
Figure n° 9 : Résultat de la galerie API 20 E de la souche L1C1S2. (Photo personnelle)	44
Figure n° 10 : Résultats de la souche <i>Escherichiacoli</i> sur milieu Chrom agar. (Photo personnelle)	44

Liste des tableaux

Chapitre I

Tableau I : Classification zoologique du lapin.....	7
--	---

Chapitre III

Tableau I : Les échantillons et leurs codes.....	26
---	----

Chapitre IV

Tableau I : Diversité bactérienne sur le milieu Mac Conkey.	34
---	----

Tableau II : Diversité bactérienne sur le milieu MRS.	34
---	----

Tableau III : Examen macroscopique des souches bactériennes sur milieu Mac Conkey.	39
---	----

Tableau IV : Examen macroscopique des souches bactériennes sur milieu MRS... ..	40
--	----

Tableau V : Etude microscopique des isolats bactériens (MAC).	42
---	----

Tableau VI : Etude microscopique des isolats bactériens (MRS).	43
--	----

Tableau VII : Résultat de la galerie API 20 E de la souche L1C1S2	44
--	----

Introduction générale

Introduction Générale

L'élevage du lapin, ou la cuniculture fait partie des productions animales qui pourraient jouer un rôle essentiel dans l'approvisionnement du marché en protéine conjointement avec les autres espèces d'élevage (volailles, bovins, ovins et caprins). En Algérie, 27000 tonnes de viande de lapine sont produites chaque année. En effet, cette activité offre de multiples atouts, en plus de la prolificité du lapin et sa facilité d'élevage, elle constitue une source de protéines très appréciée par les nutritionnistes (FAOSTAT, 2013).

D'après (Lebas, 1994), l'adoption d'une cuniculture rationnée en Algérie n'a commencé que dans les années 1980. La promotion de cette activité a été lancée par l'utilisation des lapins d'hybrides (Hyplus) importés de France et les introduire dans les élevages dans l'objectif d'améliorer la productivité et les performances des lapins.

Définie comme le meilleur convertisseur de protéines végétales en protéines animales de haute valeur biologique, soit 20 %, la viande du lapin est riche en protéines, faible en gras et présentant une valeur nutritionnelle intéressante (Dalle Zotte, 2014).

De plus, le lapin est réputé pour sa prolificité, soit 51,8 lapereaux produits par femelle/an, ce qui équivaut à 130 kg de carcasse par an, bien supérieur à celui des autres animaux herbivores. (Lebas, 2007 ; Jentzer, 2008).

Par ailleurs, le lapin est également connu pour la complexité de son microbiote intestinal, contenant des bactéries, les archées, des protozoaires, des champignons et les algues. Cependant, les bactéries sont les plus courantes, avec 100 à 1000 milliards/g et plus de 1000 espèces différentes (Combes *et al.*, 2011). Pour une meilleure définition de sa composition, et une meilleure compréhension de son fonctionnement, de nombreuses études ont été réalisées en utilisant des méthodes de biologie moléculaire.

L'objectif de ce travail est de mener une étude sur le tube digestif du lapin, afin de déterminer la diversité de la microflore intestinale présente dans différentes parties de son tube digestif.



Introduction Générale

Notre étude comporte deux parties, la première est dédiée à une synthèse bibliographique portant des généralités sur le lapin la physiologie du son système digestif, son alimentation, et enfin sur son microbiote intestinal. La deuxième, expérimentale aborde le matériel et méthode, résultats et discussion et enfin une conclusion.



Partie bibliographie

Chapitre I :

L'anatomie du lapin

Chapitre I: L'anatomie de lapin

Le Lapin *Oryctolagus cuniculus*

Le lapin garenne ou lapin commun (*Oryctolagus cuniculus*) est une espèce de mammifère lagomorphe de la famille des Léporidés. L'espèce se trouve dans toute l'Europe occidentale, une petite partie de l'Europe centrale et dans L'Afrique au Nord (CORDIER Muriel et Catherine ; 2010). Elle tire son nom de grecque Oryct (qui signifie fouisseur) et lugus (signifie lièvre). D'après son nom d'espèce, il vit en cuniculi ou terriers (Jean-François Quinton ; 2010).

1. Anatomie générale

1.1 Morphologie générale

Des différences morphologiques sont constatées entre les sexes, les éléments constitutifs du corps du lapin identifiées sur la figure n° 1. Les mâles ont souvent une tête grosse et forte, ainsi qu'une structure musculaire bien développée. Les femelles ont la tête plus étroite, le corps long et le squelette plus léger (Lebas, 2012).

Un lapin de race « moyenne » adulte a une masse corporelle d'environ 5 kg et une longueur d'environ 50 cm position couchée (Gidenne T, 2015).

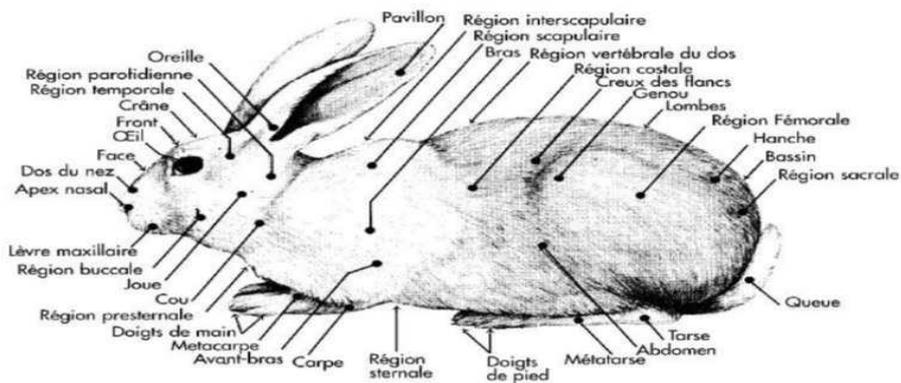


Figure n°1 : Morphologie externe du lapin domestique adulte (Gidenne, 2015).

1.2 La description du lapin

La peau du lapin, comme celle du rat, à côté de la couche de corium, il y a des vaisseaux sanguins. La partie supérieure de la tête présente les principales caractéristiques externes suivantes: Les oreilles externes, les yeux latéraux incluant l'arrière, et l'anatomie particulière de la région buccale. Le cou a un fanon qui peut développer une dermatite humide due à la bave (Brewer, 2006).

Le lapin a des yeux positionnés latéralement, ce qui permet aux lapins de visualiser un large champ : avant, arrière, vers le haut et vers le bas (Brewer, 2006).



Figure n° 2 : Lapin *Oryctolagus cuniculus*. (Photo personnelle)

1.3 La systématique

Oryctolagus cuniculus (Figure n° 2) est un lapin lagomorphe qui se différencie des rongeurs par la présence d'une seconde paire d'incisives sur la mâchoire supérieure (Tableau I) (Lebas, 2002).

Tableau I: Classification zoologique du lapin (Follet, 2003).

Règne	Animal
Embranchement	Vertébrés
Classe	Mammifères
Ordre	Lagomorphes
Famille	Léporides (lièvre et lapin)
Genre	<i>Oryctolagus</i>
Espèce	<i>Oryctolagus cuniculus</i>

2. Anatomie digestive

La longueur du tube digestif d'un lapin adulte (4 à 5 kg) ou d'un lapin subadulte (2,5 à 3 kg) est de 5 à 7,5 m. La figure n° 3 présente l'organisation et les principales caractéristiques des segments digestifs (Gidenne, T. 2015).

Il est constitué de l'œsophage, l'estomac, l'intestin grêle qui mesure de 2 m et de gros intestin ce dernier lui-même composé du cæcum et le côlon (proximal et distal), puis le rectum (Barone, 1984).

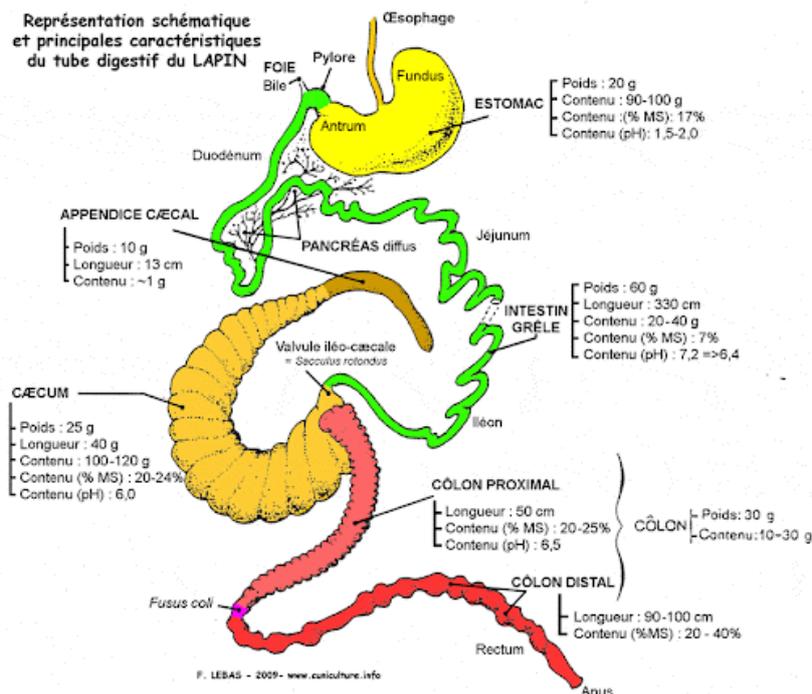


Figure n°3 : Anatomie générale du tube digestif du lapin d'après (Lebas, 2009).

2.1 La bouche

Bien que le lapin soit un lagomorphe, il a des ouvertures et une croissance continue. Un lapin adulte possède 28 dents, au sommet : 4 incisives (2 petites derrière les deux grandes), 6 prémolaires et 6 molaires. En bas : 2 incisives, 4 prémolaires, 6 molaires. Les glandes salivaires produisent une salive contenant peu d'amylase.

Les dents dans la bouche sont modérées. La salive produite par les glandes salivaires contient une petite quantité d'amylase (Gidenne T, 2015).

2.2 L'œsophage

L'œsophage sert de canal de transport de la bouche à l'estomac et mesure 12 à 14 cm chez un lapin adulte pesant environ 2,5 kg (Suckow *et al.*, 2012).

Sa paroi est constituée de trois strates de muscles striés qui vont jusqu'au cardiaque (Suckow *et al.*, 2012). Il se trouve entre la colonne vertébrale et la trachée. Le bolus alimentaire ne peut être déplacé qu'à l'estomac (Gidenne, T 2015).

2.3 L'estomac

L'estomac est composé de trois parties. Le haut est le fond d'œil, le milieu est le cardia par lequel l'œsophage pénètre et l'antra est la partie inférieure. Un lapin n'a jamais l'estomac vide. Son contenu, composé de nourriture et/ou de caecotrophes (Garreau *et al.*, 2015).

Son pH reste fortement acide (entre 1,5 et 2,0). La quantité de matière fraîche dans l'estomac d'un lapin de 9 semaines est de 90 à 120 g et le volume est de 350 à 400 m (Fallahi, 2014 ; Meredith et Flecknell, 2006).

2.4 L'intestin

L'intestin mesure environ 3 m de long et 0,8 à 1 cm de diamètre. Trois parties sont divisées : le duodénum, le jéjunum et l'iléon (Gidenne, T 2015). Au début du duodénum s'ouvre le canal biliaire qui amène la bile (sécrétée en permanence) du foie. À environ 40 cm du pylore, le canal du pancréas s'ouvre à l'extrémité du duodénum. La paroi de l'intestin grêle produit de nombreuses enzymes, qui sont ajoutées à celles produites par le pancréas (Burgaud, 2010).

2.5 Le cæcum

Le cæcum du lapin est volumineux, avec une capacité environ 10 fois supérieure à celle de l'estomac et environ 40 % de l'ensemble du tube digestif.

La paroi du cæcum est fine et lisse, de 40 à 45 cm de long et de 3 à 4 cm de diamètre (Brewer, N. R. 2006).

Le pH est proche de 6, le contenu est homogène et pâteux (20 à 23% MS). La paroi du cæcum s'invagine en forme de spirale entre 22 et 25 tours (figure n°4). Cela permet d'accroître la surface de la muqueuse en contact avec le contenu du cæcum (Garreau *et al.*, 2015).

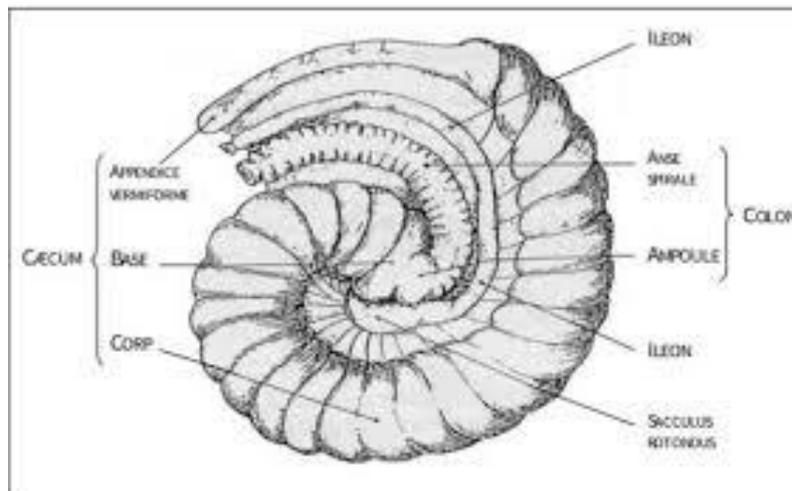


Figure n°4 : Anatomie du cæcum (Barone *et al.*, 1973).

2.6 Le côlon

Se compose de deux parties anatomiques et physiologiques : le côlon proximal a une longueur d'environ 35 cm (Carabano *et al.*, 2010), et caractérisé par la présence de haustra (petits renflements en forme de poche). Le côlon distal a une longueur de 80 à 100 cm et renferme les seuls muscles striés du tube digestif, connus sous le nom de fucus coli. La dernière partie du côlon s'appelle le rectum et se termine à l'anus. Il porte les glandes anales (Figure n°5) (Garreau *et al.*, 2015).

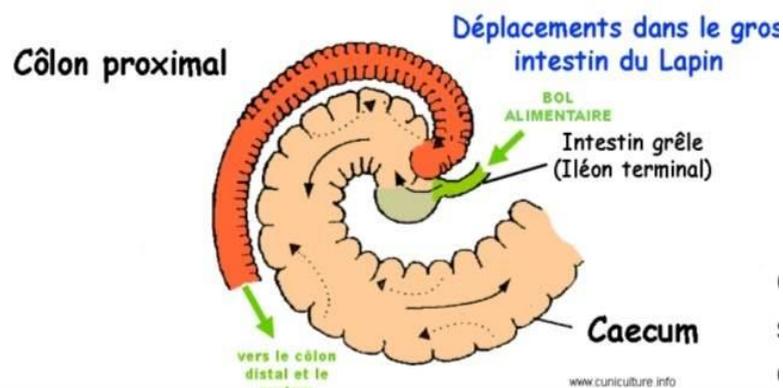


Figure n°5 : Schéma représenté du déplacement du bol alimentaire dans le gros intestin (Lebas F., 2008).

3. Alimentation

Le lapin a tendance à se nourrir régulièrement, généralement entre 25 et 35 fois par jour, y compris la nuit. En ce qui concerne la consommation quotidienne d'aliments, elle dépend du lapin et de son état physiologique (FAO et CECURI, 2018).

- ✓ Un lapin mâle reproducteur peut consommer en moyenne entre 120 et 150 g d'aliment sec par jour.
- ✓ Les lapines peuvent consommer entre 150 et 350 g d'aliments par jour.
- ✓ Les lapereaux en cours d'engraissement ont une consommation quotidienne d'environ 100 à 120 grammes (FAO et CECURI, 2018).

Une lapine allaitante consomme environ un litre d'eau par jour, tandis qu'une lapine avec ses petits peut consommer entre 1,5 et 2 litres (FAO et CECURI, 2018).

4. La Cæcotrophie

La cæcotrophie c'est un phénomène naturel chez les lapins, c'est un comportement alimentaire particulier, au cours duquel ils consomment leurs propres excréments spéciaux appelés cæcotrophes (figure n°6) (Michelland, R. *et al.*, 2007).

La caecotrophie se traduit par la sécrétion de deux sortes de selles (figure n°7) : des sécrétions durs, arrondies et sèches qui sont jetées dans la litière. (Fortun Lamothe *et al.*, 2015) et les caecotrophes qui ressemblent à une petite grappe de raisin foncé, elle est composée de petits grains mous, luisants, luisants et humides. Et sont riches en vitamines et nutriments produits par fermentation bactérienne dans le cæcum (Gidenne, T., Lebas, F 2015) et enveloppés dans une couche muqueuse dure). Les caecotrophes (fèces molles) sont éliminées régulièrement une à deux fois par jour et sont ingérées directement par l'anus (caecotrophagie; coprophagie) (Brewer, NR (2006).

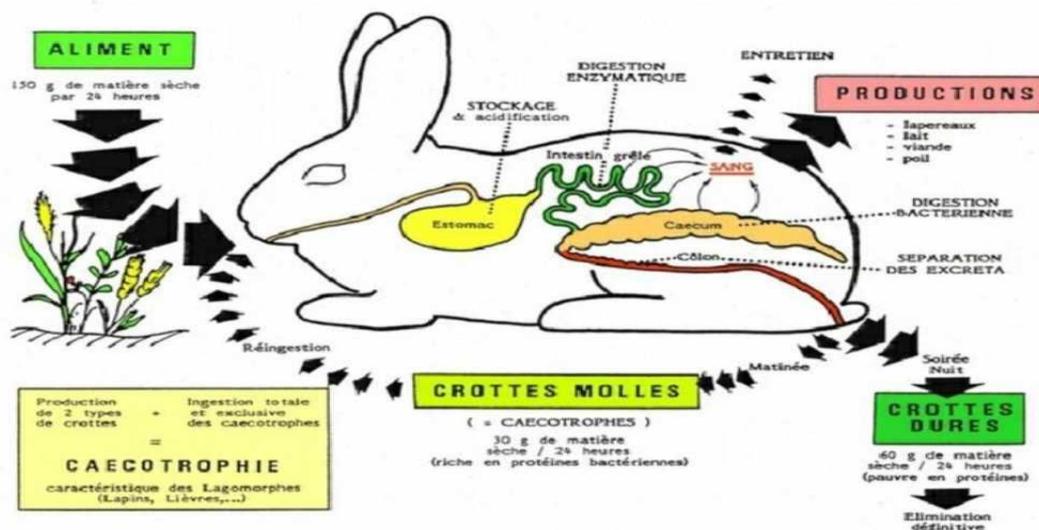


Figure n°6 : Schéma général de fonctionnement de la digestion chez le lapin (Lebas, 2008).

Les crottes dures sont essentiellement composées de fibres, tandis que les caecotrophes sont riches en protéines, en vitamines (B et K) et en minéraux. Ainsi, les protéines présentes dans les caecotrophes, qui proviennent des biosynthèses microbiennes, contribuent à environ quinze à vingt pour cent des apports azotés quotidiens (Belenguer *et al.*, 2005).

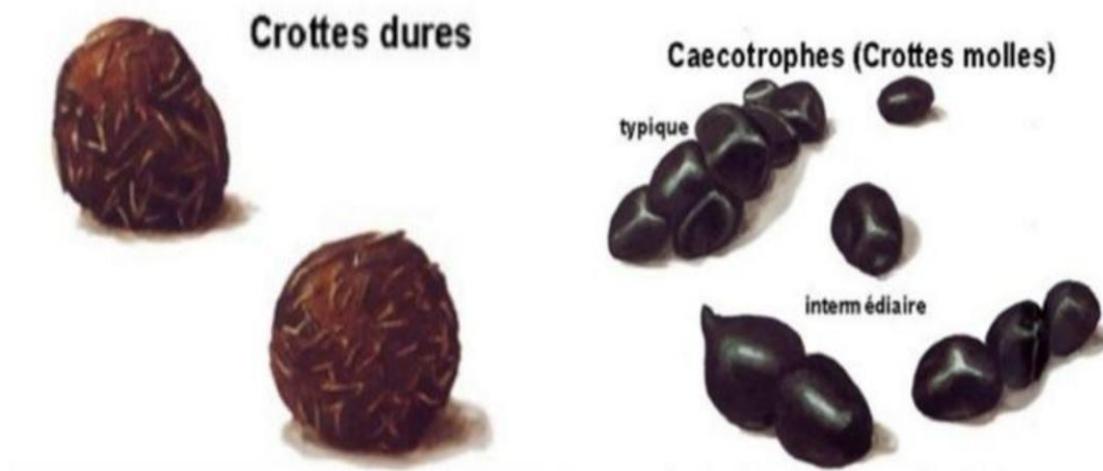


Figure n°7 : Les deux types de crottes sécrétés (Lebas, 2002).

Chapitre II :
Le microbiote
intestinal du Lapin

Chapitre II : Le microbiote intestinal du Lapin

1. Le microbiote

Le microbiote est un groupe de microbes qui vivent dans un écosystème donné. Il existe une variété de micro-biotes dans le corps, tels que dans la bouche, la peau, les poumons, les intestins...etc. (Marteau, P., & Doré, J. 2017).

Le microbiote désigne la population de micro-organismes qui réside dans des zones spécifiques du corps et établit des liens symbiotiques avec l'organisme hôte. Cet écosystème complexe joue un rôle important dans divers processus physiologiques de l'hôte (Abdel-Kafy *et al.*, 2023) tels que la digestion et l'assimilation des nutriments, le développement du système immunitaire, la perméabilité intestinale, et une protection directe et indirecte contre la prolifération de bactéries dangereuses ou pathogènes (Flint, H.J. *et al.*, 2012).

2. La composition du microbiote intestinal

Le microbiote intestinal est un écosystème complexe composé de bactéries, de virus, de champignons, de levures et d'archées. (Flint, H.J. *et al.*, 2012). Le microbiote intestinal joue un rôle important dans la physiologie de son hôte, il favorise le développement et la maturation du système digestif, il contribue à la digestion des aliments, stimule le système immunitaire et régule la réponse immunitaire, enfin, il protège l'hôte contre les colonisations pathogène (Flint, H.J. *et al.*, 2012).

L'installation des micro-organismes dans le tube digestif débute immédiatement après la naissance. Cette dernière est influencée par divers éléments, tels que l'alimentation de l'enfant, le niveau d'hygiène et la consommation de certains médicaments.

On trouve le microbiote intestinal entre la lumière du tube digestif et le mucus de la surface de l'épithélium intestinal, avec une concentration maximale dans l'intestin grêle et le côlon (Chen *et al.*, 2013). Les bactéries de microbiote intestinal sont réparties en quatre phylums: Firmicute, Bactériodete, Actinobactérie, Protéobactérie.

3. Description des principaux phylums

3.1. Phylum Firmicute :

Le plus abondant dans le microbiote intestinal est des bactéries Gram positives ; il comporte de nombreux genres tels que *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Listeria*, *Staphylococcus* et *Streptococcus* (Rajilić-Stojanović *et al.*, 2014).

3.2. Phylum Bactériodete :

C'est le groupe le plus important parmi les bacilles Gram négatifs anaérobies. Ces germes fécaux constituent une partie importante du microbiote intestinal (Wexler, H. M. 2007).

3.3. Phylum Actinobactérie :

Les Actinobactéries sont un groupe de bactéries à Gram positif avec une teneur élevée en guanine et en cytosine dans leur ADN (Anandan *et al.*, 2016 ; Ravache 2016). Les Actinobactéries sont composées de six classes, mais la plus importante est la famille des *Bifidobactériaceae* (Jungersen *et al.*, 2014).

3.4. Phylum Protéobactérie :

Sont moins abondantes dans le microbiote, et les *Entérobactériaceae*, la famille la plus représentée, comprennent une grande variété de pathogènes, tels que *Escherichia*, *Salmonella*, *Vibrio* et *Helicobacter* (Frayssinhes, 2017).

4. Le microbiote de la cavité buccale

La cavité buccale est le deuxième microbiote le plus vaste et le plus diversifié après le tractus gastro-intestinal (Jaas *et al.*, 2005 ; Yamashita et Toru Takeshita, 2017).

Le microbiote buccale est le point de départ de la digestion et joue un rôle dans le maintien de la santé bucco-dentaire et systémique. Il est composé de divers micro-organismes tels que les bactéries, les archées, les champignons et les protozoaires qui peuvent s'installer dans leurs différents habitats écologiques.

Allant des surfaces dures des dents aux tissus mous de la muqueuse buccale (Deo & Deshmukh, 2019).

Les phylums étaient représentés : les Protéobactéries (38,3%), les Firmicutes (30,5%), les Actinobactéries (26,9%) et les Bacteroidetes (4,3%).

Les bactéries les plus fréquemment isolées sont les *streptocoques* (19,8%), *Rosia spp* (17,9%), *Enterobacter spp* (7%), *Staphylococcus spp* (6,6%) et *Actinobacteria spp* (5,7%).

Ces groupes bactériens trouvés dans la cavité buccale chez le male. Chez la lapine *Neisseria spp* (5,9%) a remplacé *Actinobacteria spp* (3%) dans la flore principale (Flenghi *et al.*, 2023).

5. Le microbiote intestinal de lapin

Le microbiote intestinal du lapin est composé de champignons, de bactéries, d'archées et de protozoaires. Cependant, les bactéries sont les plus précises, avec entre 100 et 1000 milliards de micro-organismes par gramme et plus de 1000 espèces différentes (Combes *et al.*, 2011).

Dans l'intestin du lapin, la colonisation microbienne commence après la naissance, suivie d'un développement progressif du microbiote intestinal. D'abord, la flore intestinale maternelle colonise l'intestin du nourrisson (Fortun-Lamothe et Boullier, 2007). Le fœtus est normalement stérile et est contaminé à la naissance par une collection hétérogène de micro-organismes dès la naissance.

Lorsque l'ingestion d'aliments solides commence et qu'un substrat fibreux pénètre dans le cæcum, le microbiote impliqué dans la dégradation des fibres (hydrolyse de la cellulose, des xylènes, des pectines...etc.).

La composition de la communauté bactérienne chez le lapin fluctue considérablement entre la période néonatale (7 à 28 jours) et 3 semaines après le servage (49 jours) (Combes *et al.*, 2011).

Les phylums Bactéroidetes et Firmicutes sont présents en grande quantité dans le cæcum chez le lapin dès l'âge de 2 jours (Combes *et al.*, 2011).

Dans l'estomac, le nombre total de bactéries est généralement faible, il tend à augmenter avec l'âge et se stabilise entre 10^4 et 10^6 bactéries par gramme de substance. Les bactéries colonisent l'intestin grêle plus rapidement que dans l'estomac et le microbiote se stabilise entre 10^{-6} et 10^{-8} bactéries/g.

L'estomac et l'intestin grêle du lapereau sont presque stériles. Jusqu'à la fin de la première semaine de vie Au cours de la même période, la population bactérienne du cæcum montre une forte variabilité interindividuelle, fluctuant entre 10^7 et 10^9 bact/g. Au cours de la deuxième semaine le nombre des bactéries augmente pour une quantité comprise entre 10^9 et 10^{10} bact/g, Durant cette période, les bactéries anaérobies facultatives et anaérobies strictes étaient entre (10^7 et 10^{10} bact./g) (Kovacs *et al.*, 2006 ;Combes *et al.*, 2013).

Selon les méthodes moléculaires, les bactéroidetes étaient le phylum le plus fréquent dans le cæcum des lapins âgés de 14 jours (63,3 %), juste derrière les Firmicutes (29,0 %), les Protéobactéries (6,9%) et Actinobactérie (0,7 %) (Combes *et al.*, 2013).

Dès la première semaine, le cæcum contenait une flore bactérienne abondante entre (10^7 _ 10^9 g) ; par la suite, le nombre de bactéries restait élevé (10^9 _ 10^{10} g) et varie peu suivant l'âge et les échantillons.

Vers l'âge de 5 à 6 semaines, le cæcum se développe linéairement et devient l'organe le plus important du tube digestif (représentant 40 % de la masse digestif) (Gidenne *et al.*, 2008). Au même temps, la concentration de bactéries anaérobies facultatives diminue fortement (10^2 - 10^4 bactéries/g) a tend à disparaître après le sevrage (âge de 35 jours), remplacées par des bactéries fibrolytiques qui se sont développées à partir de 4 semaines d'âge. Ce renversement est observé lorsque les lapins commencent à manger les aliments solides vers l'âge de 15-20 jours (Gidenne *et al.*, 2008).

A partir de 25 jours, la population bactérienne cellulolytique a augmenté et se stabilise à $4,5 \cdot 10^6$ bactéries/g et Les bactéries pectolytiques et xylanolytiques étaient présentes dès l'âge 21 jours.

Les genres *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Streptocoques* et *Entérobactérie* (100 à 1000 fois plus faibles), constituent la population bactérienne caecale (Combes *et al.*, 2011).

Les Firmicutes présentant un pourcentage moyen de 76,28% dans les fèces suivis des Tenericutes (8,17%) et des Bacteroidetes (7,37%). Les classes prédominantes d'échantillonnage étaient les *Clostridia* (76,14 %), les *Mollicutes* (7,54 %) et les *Bacteroidia* (7,41 %). Au niveau familial, les taxons prédominants étaient les *Ruminococcaceae* (44,37%) et les *Lachnospiraceae* (36,51%) appartenant toutes deux au phylum Firmicutes (Velasco-Galilea *et al.*, 2018).

6. La Composition taxonomique du microbiote

Chez le lapin, une communauté bactérienne abondante est présente dans tout le cæcum-côlon et dans les fèces dures et molles (10^{10} à 10^{12} bactéries/g), alors que la population archaïque est accouplée à 107 copies du gène ARN 16S par gramme de contenu caecal (Combes *et al.*, 2011). Concernant les eucaryotes, l'écosystème digestif caecal du lapin semble manquer d'anaérobies champignons et protozoaires.

Le contenu caecal de lapin adulte contient 107 unités formant colonie (UFC) de bactéries cellulolytiques, (la plus identifiée c'est *Eubacterium cellulosolvens*) selon des études de culture de microorganismes. Les bactéries pectinolytiques et xylanolytiques contiennent 10^9 à 10^{10} UFC (Kimse *et al.*, 2012).

Les Firmicutes représentaient la majorité des séquences (plus de 90 %) surtout chez les lapins âgés de 9 semaines, (Lamendella *et al.*, 2012).

Les *Ruminococcaceae* et les *Lachnospiraceae* étaient des familles dominantes. Les Bactéroidetes n'en représentaient que 4 %) (Massip *et al.*, 2012).

7. Quelques bactéries dominantes dans le microbiote intestinal de lapin

➤ **Les bactéries celluloytiques** : Sont des bactéries font partie des Firmicutes, aux Bactéroidetes et aux Actinobactérie, dont les genres *Cellulomonas*, *Clostridium*, *Bacteriodes*, *Bacillus*, *Fibrobacter*, *Eubacterium* (Fonty, G *et al.*, 1988).

➤ **Les Entérobactéries**

Genre : *Escherichia coli*

C'est une bactérie intestinale appartiennent de la famille des *Enterobacteriaceae*, bacille, gram négatif (figure n° 1), et aéro-anaérobie facultatif (Adeolu, M.*et al.*, 2016).

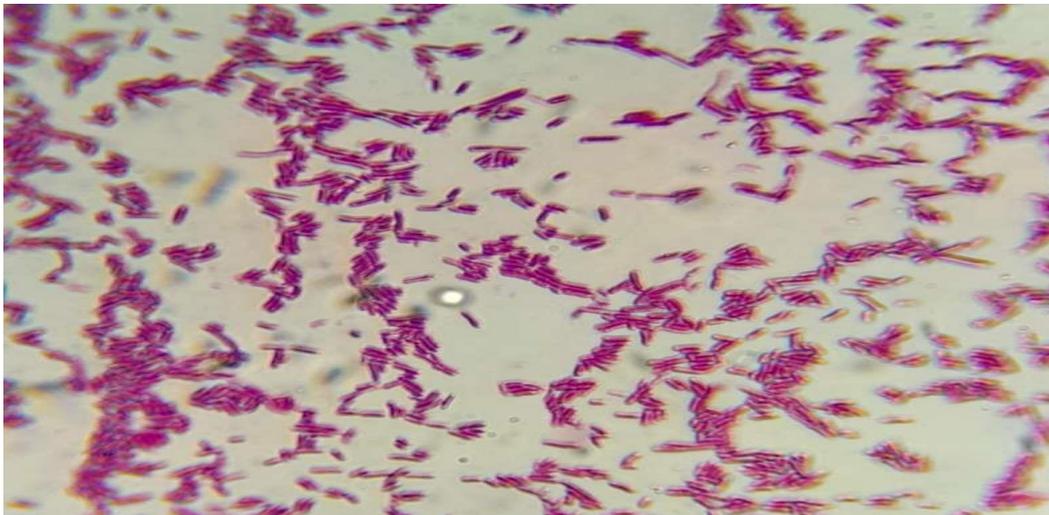


Figure n°1 : *Escherichia coli* sous le microscope optique, grossissement (X100).
(Photo personnelle)

➤ ***Lachnospiraceae***

Les *Lachnospiraceae* sont une famille de bactéries obligatoirement anaérobies et variablement sporulées dans l'ordre des Eubacteriales qui fermentent divers polysaccharides végétaux en acides gras (Boutard, Metal *et al.*, 2014).

➤ **Clostridiaceae**

Genre : Clostridium

Clostridium est un genre de bactérie strictement anaérobie et sporulées à Gram positif, dont la mobilité est généralement assurée par des flagelles périlleux (Wiegel, J. 2015).

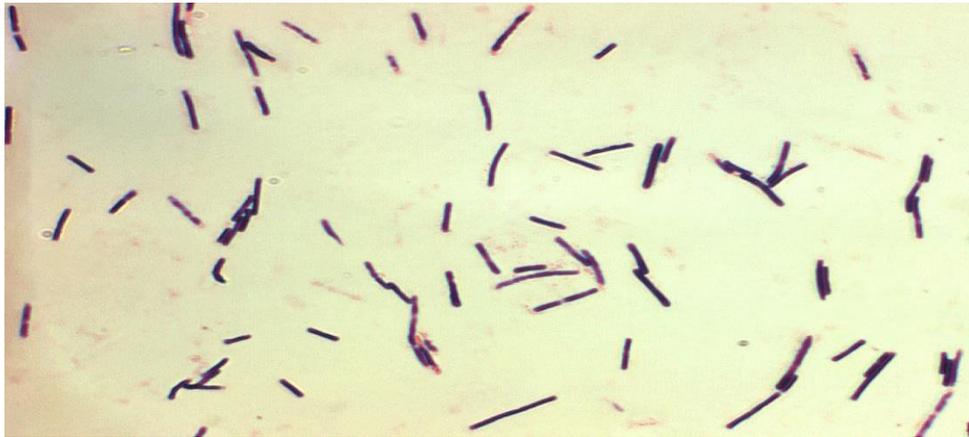


Figure n° 2 : *Clostridium spp* sous le microscope optique (GX100)

➤ **Bacteroides**

Sont des bactéries fécales de groupe anaérobies à Gram négatif, constituant une partie importante du microbiote intestinal (Wexler, H. M. 2007).

Chapitre III :

Matériel et méthode

Dans nos investigations autour de l'évaluation de la diversité bactérienne du microbiote intestinal chez le lapin « *Oryctolagus cuniculus* », nous avons procédé en premier lieu à l'identification de l'individu. Par la suite notre travail est acheminé vers le laboratoire. Nos investigations sont réalisées au niveau des Laboratoires de la Faculté de Science de la Nature et de la Vie et la Science de la Terre à l'université d'Akli Mohand Oulhadj Bouira.

Dans le laboratoire notre expérimentation est scindée en deux volets : le premier volet se base principalement sur la dessiccation de l'individu puis la récupération des portions du tissu digestif et une quantité du contenu du tube digestif. Et le second volet, se porte principalement sur l'isolement et l'identification du microbiote intestinal cultivable d'*Oryctolagus cuniculus*.

1. Matériel

1.1. Matériel biologique

Pour notre essai expérimental nous avons choisi un individu de lapin affilié à l'espèce *Oryctolagus cuniculus* de sexe mâle avec un pelage noir. L'âge de l'individu est estimé entre 8 à 9 mois. Notre individu pèse environ 1.5 kg et se caractérise d'une taille de 45cm (Figure n° 1).



Figure n°1 : Lapin de population *Oryctolagus cuniculus* (Photo personnelle).

1.2. Matériels non biologiques

- **Appareils :**

-La balance électronique/ Microscope.

-Agitateur magnétique/ barreaux magnétique.

-L'étuve/ Autoclave/ Le bain marie.

- **Les verreries :**

Utilisée pour la microbiologie a été stérilisée à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

-Béchers / L'éprouvette/ Les tubes à essais.

-Entonnoir/ Erlenmeyer de 1000ml.

-Lames et lamelle / Les boîtes de Pétris/ Les flacons.

- **Les instruments :**

-Bec bunsen/ Micropipette (embout jaune et bleu).

-Pipette pasteur/ La spatule/ L'anse de platine/ La tige métallique.

-Les écouvillons/ Les tubes à eppendorfs.

- **Réactifs :**

-Extrait de levure/ NaCl/ Tryptone.

-L'eau distillée/ L'eau physiologique/ L'eau oxygénée.

-L'éthanol/ Glycérol.

- **Milieus de culture :**

-Gélose PCA / Mac Conkey / MRS / Chromagar

-Bouillon nutritif Luria Bertani.

2. Méthodes :

2.1. Abattage du lapin et prélèvement des échantillons

Avant de faire abattre notre lapin, on a fait un prélèvement buccal avec des écouvillons. Après avoir effectué la dissection l'appareil digestif et son contenu ont été récupérés (Figure n° 2).

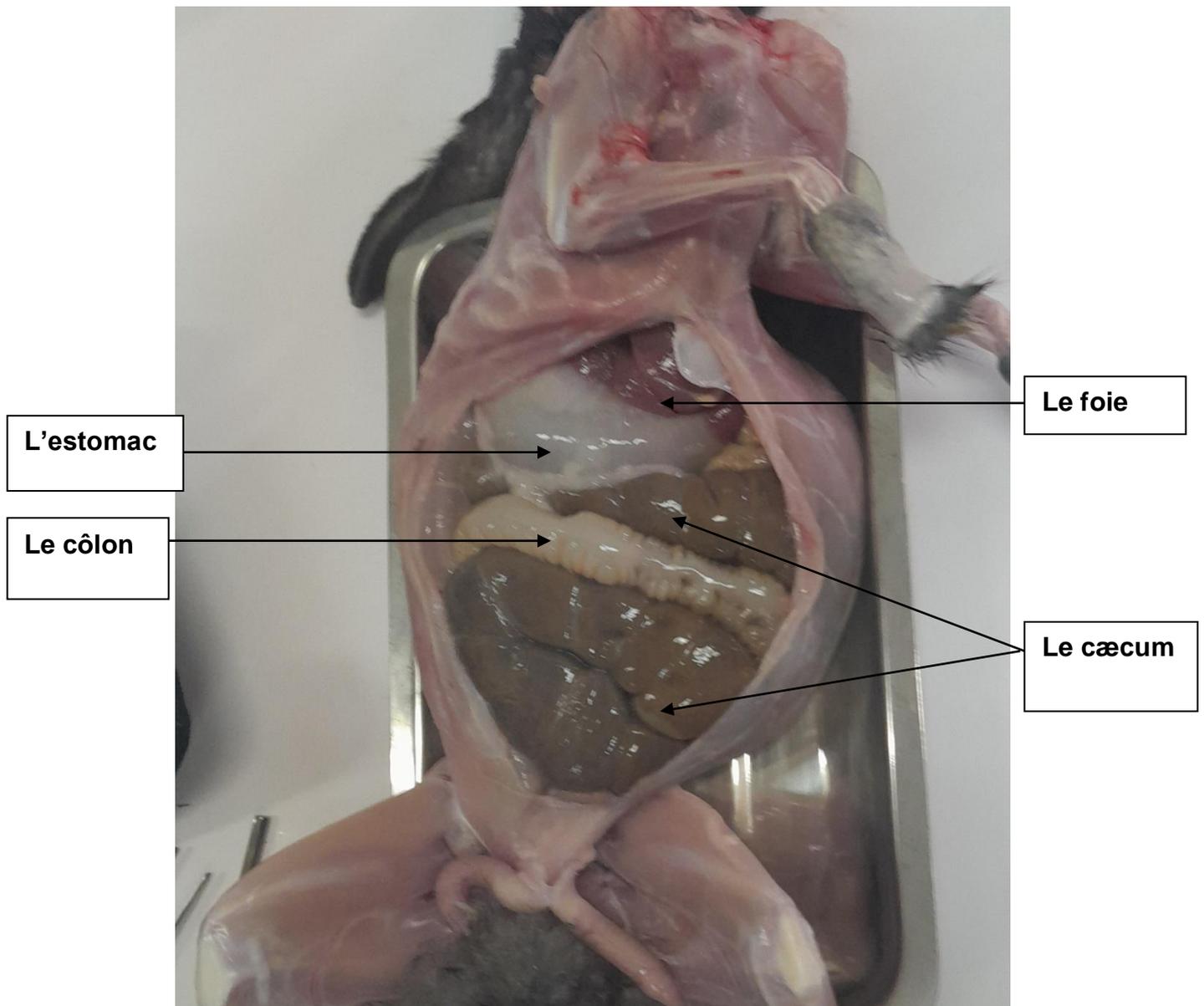


Figure n°2 : Abattage de lapin et prélèvement des échantillons (Photo personnelle).

Pour notre étude, nous nous intéressons à certaines parties du tube digestif. Cela concerne le côlon et le cæcum. Le contenu du côlon est récupéré à l'aide d'une spatule dans trois (3) tubes stériles, 1,5 g dans chaque tube. Pour le côlon et le cæcum une superficie de 1,5 cm² de chaque tissu a été prélevée et mise dans des tubes stériles (Trois (3) tubes pour chaque tissu). Avant de mettre les échantillons à 4°C, une observation macroscopique est obligatoire. Cette dernière nous permettra de savoir l'état de santé de l'individu.

Tableau I: Les codes des échantillons.

Echantillons	Codes
Côlon	L1CL1
	L1CL2
	L1CL3
Cæcum	L1C1
	L1C2
	L1C3
Contenu intestinal	L1E1
	L1E2
	L1E3
Cavité buccal	L1 B1
	L1B2
	L1B3

2.2. Technique de dilution

Un volume de 100 µl a été transféré de la suspension mère dans le premier tube, qui contenait 900 µl de l'agent diluant à l'aide d'une micropipette stérile et pour l'embout bleu utilisé dans un conteneur approprié a été jetée. Cela donne une première dilution d'ordre 10⁻¹. Ensuite, pour établir une deuxième dilution, prélever 100 µl du tube contenant la dilution 10⁻¹ et transférer-le dans un autre tube contenant 900 µl de diluant stérile. Répétez ce processus pour obtenir une série de dilutions : 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵ et 10⁻⁶.

2.3. Dénombrement de la flore mésophile totale

Dans une zone aseptique la solution mère est préparée. Chaque tube contenant l'échantillon est rempli avec 5 ml de bouillon de Luria Bertani, et la solution soigneusement mélangé et les tissus sont écrasés à l'aide d'une tige métallique.

À l'aide d'une micropipette, 100 μL de la dilution 10^{-6} ont été soigneusement placés sur la surface du milieu gélose PCA. Les gouttes de la suspension bactérienne ont été étalées à l'aide d'un râteau. Enfin, les boîtes ensemencées ont été incubées à 37°C pendant 24 heures.

2.4. Isolement et purification des isolats

A partir de la suspension mère, nous avons procédé à une série d'ensemencement sur différents milieux de culture. La technique d'ensemencement utilisé c'est la technique de stries en quadrant. Cette technique a été réalisée pour isoler les bactéries et obtenir des colonies bactériennes distinctes (former des stries très serrées sur 1^{er} quadrant, ensuite des stries sur le 2^{ème} et sur le 3^{ème} quadrant) (Lanotte, P., & Isnard, C. 2016) (Figure n° 3).

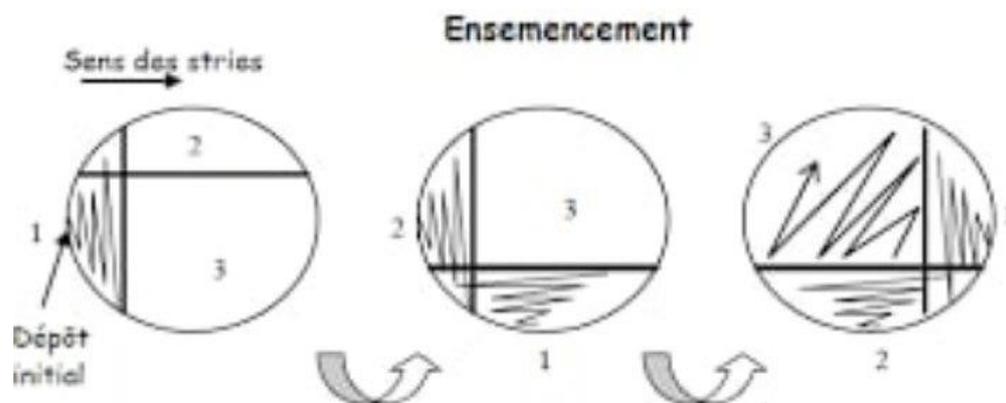


Figure n° 3 : Technique d'ensemencement en quadrant (Marchand, G., 2011).

Dans notre travail nous avons opté pour faire l'isolement et la purification sur le milieu de Mac Conkey (Merck KGaA) et le milieu MRS (de Man, Rogosa, Sharpe) (LACTOBACILLUS MRS AGAR (MRS AGAR)).

Au bout de 48 heures, on procédera à la purification des isolats. La purification se fait en effectuant des repiquages successifs sur les milieux de culture. Le processus se poursuit jusqu'à obtenir une culture homogène ou toutes les colonies sont identiques les unes aux autres.

2.5. Identification des isolats bactériens

L'identification des bactéries est établie en se basant sur l'étude de leurs caractères morphologiques suivant un examen macroscopique et microscopique par l'état frais et après coloration et divers caractères biochimiques par exemple catalase sont testés.

2.5.1 Examen macroscopique

Ce test repose sur l'observation visuelle de la culture d'isolats dans divers environnements. Les critères suivants sont pris en compte lors de l'examen macroscopique pour décrire l'apparence des colonies obtenues sur des milieux gélosés (MRS et Mac Conkey) : La dimension, la forme, la consistance, le contour, la surface...

2.5.2 Examen microscopique

a) Observation à l'état frais

Sur une lame on fait dissoudre une colonie pure et jeune dans une goutte d'eau physiologique, puis on dépose la lamelle sur la lame. Par la suite, on procède à la l'observation sous le grossissement (G X10) et (G X40) (Guillaume, 2004).

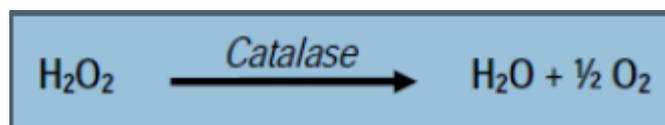
b) Coloration de Gram

C'est une coloration classique en microbiologie. Elle permet de distinguer les bactéries Gram-négatives (G-) et les bactéries Gram-positives (G+).

La démarche expérimentale débute avec une préparation de frottis de cultures bactériennes pure et jeune. Par la suite, le frottis est couvert de violet de gentiane ; laisser une minute. Rincer à l'eau distillée. En seconde étape, on ajoute le Lugol et après une minute on rince à l'eau distillé. Puis la lame est rincée avec de l'éthanol à 95%. Et en étape finale, la lame est recolorée avec de la Fushine. Après une minute d'incubation la lame est rincée à l'eau distillée. Au terme des étapes de colorations, on procédera à l'observation à l'immersion (G X100). Les bactéries Gram-positives prennent la couleur violette, ainsi que les bactéries Gram-négatives apparaissent en rose (Singleton, P. ,1999).

2.6. La détermination de la catalase

La catalase est chargée de catalyser la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et de libérer de l'oxygène. Un test important pour identifier les bactéries Gram-positives est le test à la catalase. Le test est réalisé en plaçant de jeunes colonies cultivées sur une lame de verre contenant une goutte d'eau oxygénée (H_2O_2). La formation de bulles d'oxygène indique que la bactérie possède une catalase et la réaction se déroule selon l'équation suivante (Garnier F, Denis F. (2007).



2.7. Vérification d'identité des isolats sur milieu Chromagar

Durant nos expérimentations nous avons utilisé le milieu Chromogenic UTI Agar (TM Media) comme milieu d'orientation pour les isolats à Gram négatif. Les milieux ont été incubés dans une étuve à 37°C.

2.8. Identification biochimique par la galerie API 20^E

L'API 20E est un système d'identification utilisé pour détecter les entérobactéries et autres bactéries Gram négatives à croissance facile. Le système se compose d'une galerie de 20 micro-tubes renfermant le substrat déshydraté. Les micro-tubes ont été inoculés avec des suspensions bactériennes (Murray *et al.*, 1999). Le lancement de ce test doit répondre un ensemble d'étapes, présentées ci-dessous.

- **Préparation de la galerie**

En premier lieu, il est nécessaire de réunir le fond et le couvercle d'une boîte d'incubation, puis de verser 5 millilitres d'eau distillée stérile dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide. Indiquer la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte après cela. Enfin, introduisez la galerie dans la boîte d'incubation.

- **Préparation de l'inoculum**

La culture pure et jeune de 18 à 24 heures préalablement ensemencée sur Mac Conkey, fera l'objet d'une préparation dans un volume de 10 ml d'eau physiologique stérile un inoculum bactérien à raison de 0.5 Mac Ferland.

- **Ensemencement de la galerie API 20E**

A l'aide d'une micropipette (10µl) on inocule les cupules avec la suspension bactérienne. Pour les caractères marqués ADH, LDC, ODC, H₂S, URE, inoculer le tubule avec la suspension et cupule avec de l'huile de vaseline stérile. Dans le cas des caractères encadrés VP, CIT, Gel, semer le tubule et la cupule avec la suspension.

Pour les caractères non encadrés, non soulignés, ensemencer seulement le tubule avec la suspension. Enfin la galerie est fermée et incubée à 37°C pendant. Au bout de 24 heures la galerie est lue en se basant sur des plates formes.

3. Conservation des isolats bactériens

Au terme de nos investigations les isolats sont conservés à long terme à 0-20°C, pour éventuelle élaboration de l'identification génotypique et phénotypique. Des tubes Eppendorf contenant du milieu de Luria Bertani, sont inoculés avec les isolats purs. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, ces tubes sont additionnés avec du glycérol à raison 80/20 (v/v).

Chapitre IV :

Résultats et

discussion

Au terme de nos investigations sur la diversité du microbiote intestinale d'*Oryctolagus cuniculus* des résultats sont obtenus. Ces derniers nous ont permis d'estimer la charge et la diversité bactérienne cultivable dans différentes parties du tube digestif du lapin à savoir : la cavité buccale, le côlon et le cæcum et dans le contenu du tube digestif ainsi que le contenu intestinal de l'individu.

1. La charge bactérienne dans le tube digestif du lapin

A partir des 12 suspensions mère des différents échantillons à savoir : la cavité buccale, le côlon et le cæcum et le contenu du tube digestif un dénombrement de la flore mésophile a été élaboré. Après 24- 48 heures d'incubation à 37°C, la charge bactérienne à une dilution de 10^{-6} est très importante. A cette dilution la charge de colonie formant unité dans le côlon est supérieure de 300 colonies, dans le cæcum supérieure de 300 colonies, dans le contenu intestinal entre 100 et 150 colonies et dans la cavité buccale inférieure de 10 colonies. Cette charge bactérienne est très élevée surtout dans le complexe cæcum-côlon signifie que la charge bactérienne dans la partie gastro-intestinale est importante.



L1CL1

Figure n°1 : Exemples des résultats de dénombrement après 24h de l'incubation (photo personnelle).

Parmi les boîtes comptables on ne considèrera que la boîte qui a donné un nombre de colonies compris entre 30 et 300 colonies.

Calcul du nombre de bactéries par gramme en utilisant la formule mathématique suivante :

$$N = \sum (\text{colonies}) / V_{ml} \times 1.1 \times d$$

N = Nombre d'UFC par gramme de produit initial.

Σ_c = Sommes des colonies de la boîte interprétée.

V_{ml} = Volume d'inoculum déposé par boîte (0.1 ml).

d = La dilution calculer.

Dans le cas de contenu intestinal :

$$\Sigma_c = 125 C$$

$$D = 10^{-6}$$

$$V = 0,1 \text{ ml}$$

$$N = 125 / 0,1 \times 1,1 \times 10^{-6}$$

$$N = 1136.36 \times 10^6$$

2. La diversité bactérienne chez le microbiote intestinale

Un ensemencement direct des 12 suspensions mère (constituée de LB) a été réalisée sur les milieux de culture Mac Conkey et MRS. Cette technique a permis d'isoler les bactéries à Gram négatif et des bactéries à Gram positif sur les deux milieux Mac Conkey et MRS, respectivement.

Au bout de 24 heures d'incubation à 37°C, les 12 boîtes de chaque milieu ont fait l'objet de purification. La répartition des isolats est variable sur les deux milieux d'isolement (Tableau n° I et Tableau n° II) (Figure n° 2 et Figure n° 3).

Une grande diversité est visualisée sur le milieu Mac Conkey ; un milieu sélectif pour les Gram négatif avec un nombre total de 24 isolats. Cependant, on a enregistré 13 isolats sur les boites du milieu MRS, qui est un milieu sélectif pour les Gram positif.

D'après la distribution de la diversité entre les différentes parties du tube digestif allant de la cavité buccale vers le côlon, on constate que sur le milieu Mac Conkey la proportion bactérienne des isolats est beaucoup plus importante au niveau du côlon, le cæcum ainsi que le contenu digestif. Cependant, la diversité bactérienne sur le milieu MRS suit une distribution homogène à travers les échantillons (Figure n°4 et Figure n°5).

Tableau n° I : Diversité bactérienne sur le milieu Mac Conkey.

Echantillon	Cavité buccal	Côlon	Cæcum	Contenu intestinal
Nombre d'isolat	02	08	07	07
Proportion %	08.33 %	33.33 %	29.17 %	29.17 %

Tableau n° II : Diversité bactérienne sur le milieu MRS.

Echantillon	Cavité buccal	Côlon	Cæcum	Contenu intestinal
Nombre d'isolat	04	03	03	03
Proportion%	31%	23%	23%	23%

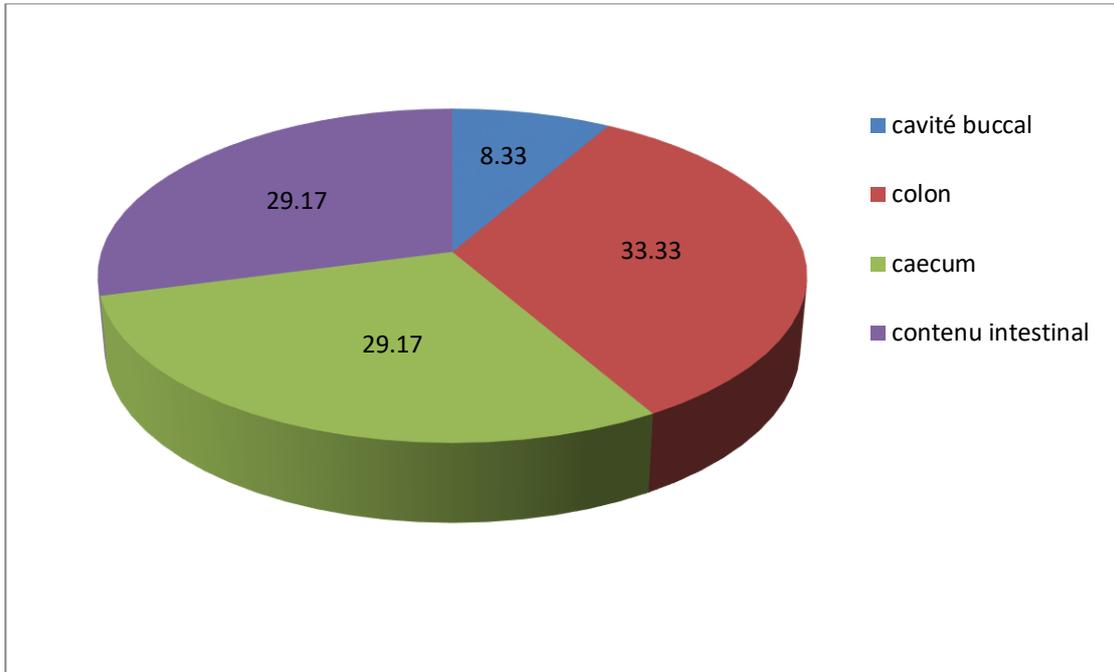


Figure n° 2 : Diversité bactérienne sur le milieu Mac Conkey.

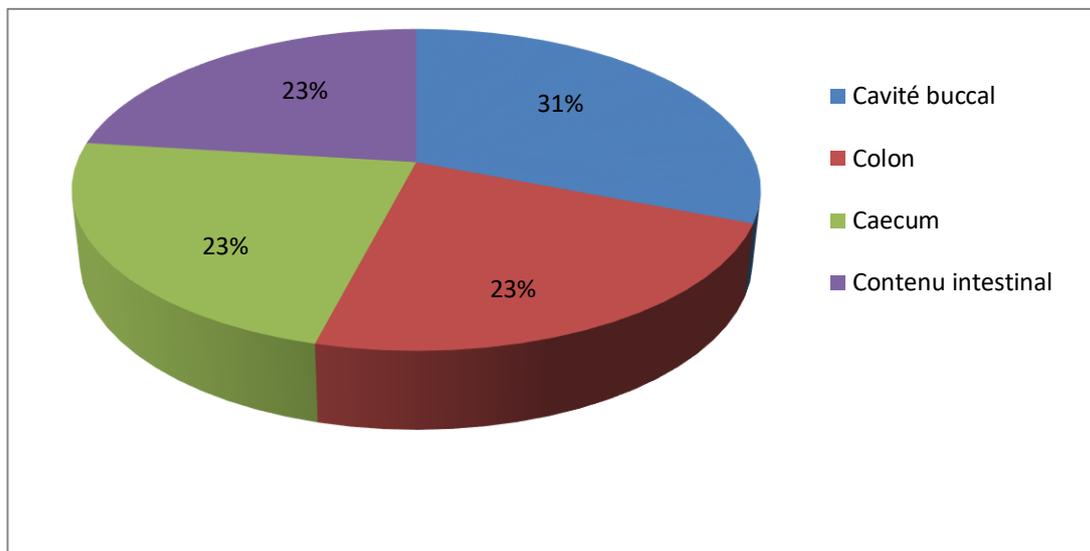


Figure n° 3 : Diversité bactérienne sur milieu MRS.

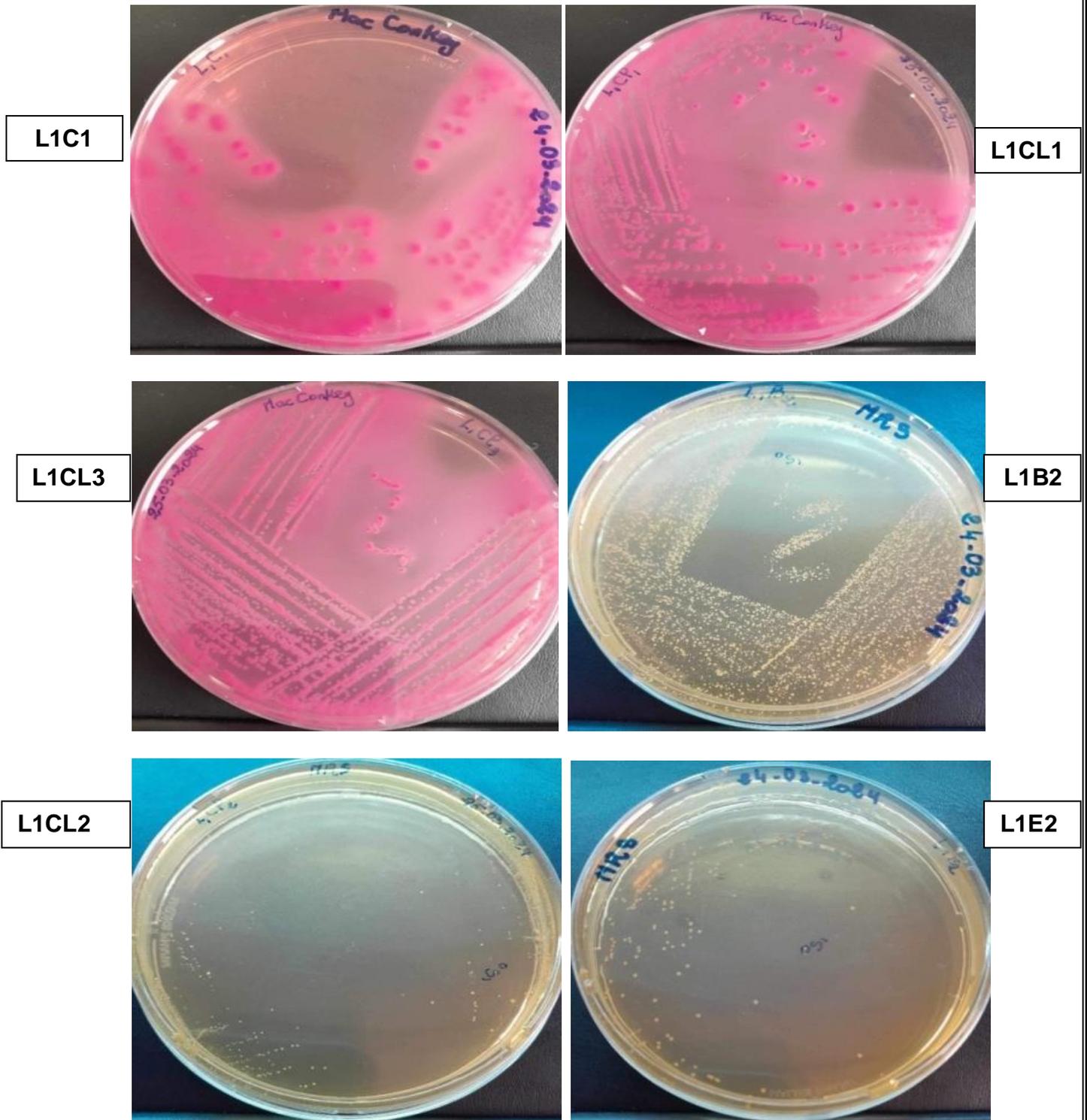


Figure n°4 : Exemples des isolats purs obtenus après l'isolement. (Photo personnelle)

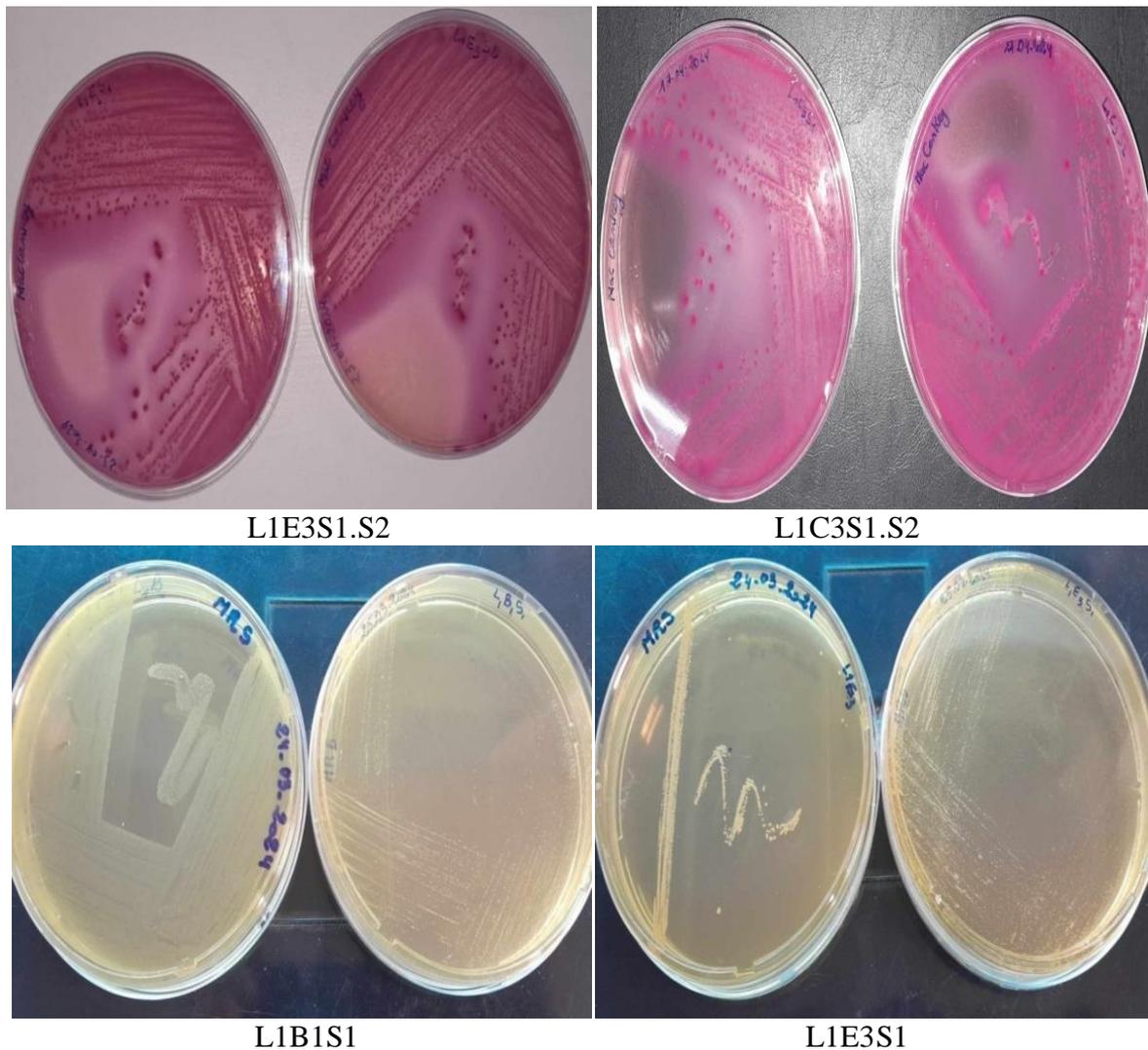


Figure n°5 : Exemple d'observation de quelques isolats obtenus après la purification.
(Photo personnelle)

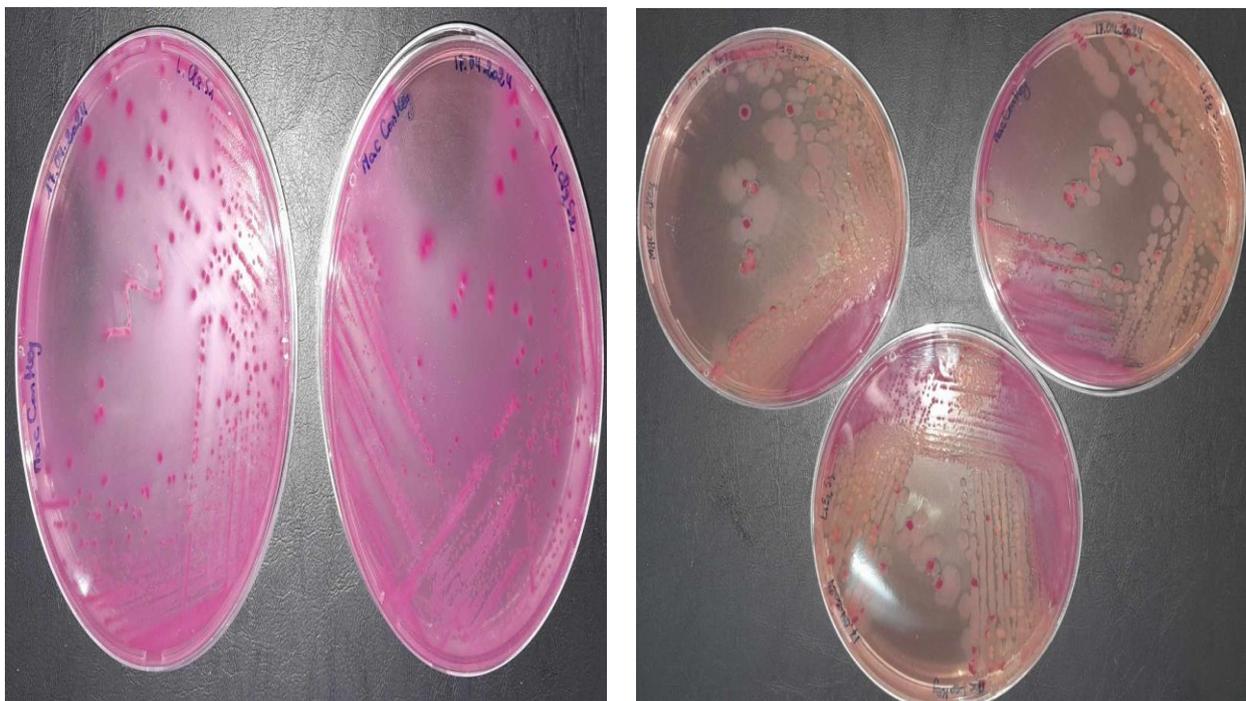
3. L'aspect macroscopique des colonies

Les colonies qui se sont développées sur les divers milieux culturels utilisés montre une diversité importante (tableau III et IV).

La plupart des isolats après l'incubation forment des colonies circulaires, bombées, lisses, de petites tailles et ponctiformes, à contour ondulé, blanches et rose, mais d'autres caractéristiques macroscopiques ont été observées, comme la forme irrégulière et de taille moyenne et grande, un relief plat et une surface rugueuse, une couleur transparente. (Figure n° 6).

L'examen macroscopique des différentes colonies du milieu Mac a révélé que la majorité des isolats (24 isolats : 7 isolats pour le cæcum, 8 pour le côlon ,7 pour contenu intestinal et 2 pour la cavité buccale.) sont circulaires, bombées, de petite taille et ponctiformes, et à contour ondulé, de couleur rose et lisse.

Et pour les isolats qui on aensemencé sur milieu MRS (13 isolats : 3 pour le cæcum, 3 pour le côlon ,3 pour le contenu intestinal et 4 pour la cavité buccal) sont de taille moyenne à grande, de forme irrégulière, plates et ont des couleurs transparentes



L1CL2S1.S2

L1E2S1.S2.S3

Figure n°6: Observation macroscopique de quelques isolats (Photo personnelle).

Tableau III: Examen macroscopique des isolats bactériens sur milieu Mac Conkey.

Ech	Type d'échantillons	Isolats	Forme	Relief	Contour	Taille	Surface	Couleur
L1C	Cæcum	C1S1	CR	Bombé	ON	M/P	Lisse	Rose
		C1S2	CR	Bombé	ON	M/P	Lisse	Rose
		C1S3	CR	Bombé	ON	M/P	Lisse	Rose
		C2S1	CR	Bombé	ON	GR/M/P	Lisse	Rose
		C2S2	CR	Bombé	ON	GR/M/P	Lisse	Rose
		C2S3	CR	Bombé	ON	GR/M/P	Lisse	Rose
		C3S1	CR	Bombé	ON	M/P	Lisse	Rose
		C3S2	CR	Bombé	ON	M/P	Lisse	Rose
L1CL	Côlon	CL1S1	CR	Bombé	ON	GR/M/P	Lisse	Rose
		CL1S2	CR	Bombé	ON	GR/M/P	Lisse	Rose
		CL1S3	CR	Bombé	ON	GR/M/P	Lisse	Rose
		CL2S1	CR	Bombé	ON	M/PF	Lisse	Rose
		CL2S2	CR	Bombé	ON	M/PF	Lisse	Rose
		CL3S1	CR	Bombé	ON	M/P	Lisse	Rose
		CL3S2	CR	Bombé	ON	M/P	Lisse	Rose
L1E	Contenu intestinal	E1S1	CR	Bombé	ON	P	Lisse	Rose
		E1S2	CR	Bombé	RG	M	Lisse	Transparente
		E1S3	CR	Bombé	ON	P	Lisse	Rose
		E2S1	CR	Bombé	ON	M	Lisse	Rose
		E2S2	CR	Bombé	ON	P	Lisse	Rose
		E2S3	IR	Plate	RG	M	RGS	Transparente
		E3S1	CR	Bombé	ON	P/PF	Lisse	Rose
		E3S2	IR	Plate	RG	P	RGS	Transparente
L1B	Cavité buccal	B1S1	IR	Plate	RG	GR/M	RGS	Transparente
		B1S2	IR	Plate	RG	GR/M	RGS	Transparente

IR : Irrégulière ; **CR** : Circulaire ; **RG**: Régulier ; **ON** : Ondulé ; **GR** : Grosses ; **M** : Moyenne ; **P** : Petite ; **PF** : Ponctiformes ; **RGS** : Rugueuses.

Tableau IV: Examen macroscopique des isolats bactériens sur milieu MRS.

Ech	Type d'échantillon	Isolats	Forme	Relief	Contour	Taille	Surface	Couleur
L1C	Cæcum	C1S1	CR	Bombé	ON	PF	Lisse	Blanche
		C2S1	CR	Bombé	ON	GR/M	Lisse	Blanche
		C3S1	CR	Bombé	ON	PF	Lisse	Blanche
L1CL	Côlon	CL1S 1	CR	Bombé	ON	M/P	Lisse	Blanche
		CL2S 1	CR	Bombé	ON	M/P	Lisse	Blanche
		CL3S 1	CR	Bombé	ON	P/PF	Lisse	Blanche
L1E	contenu intestinal	E1S1	CR	Bombé	ON	M/P	Lisse	Blanche
		E2S1	CR	Bombé	ON	M/P	Lisse	Blanche
		E3S1	CR	Bombé	ON	P/PF	Lisse	Blanche
L1B	cavité buccal	B1S1	CR	Bombé	ON	PF	Lisse	Blanche
		B2S1	CR	Bombé	ON	GR/M	Lisse	Blanche
		B3S1	CR	Bombé	ON	PF	Lisse	Blanche
		B3S2						Transparente

IR : Irrégulière ; **CR** : Circulaire ; **RG**: Régulier ; **ON** : Ondulé ; **GR** : Grosses ; **M** : Moyenne ; **P** : Petite ; **PF** : Ponctiformes ; **RGS** : Rugueuses.

4. Les caractères microscopiques des isolats du microbiote intestinal

Après la coloration de Gram, tous les isolats isolés ont été examinées au microscope optique afin de déterminer le type de Gram, son agencement et son regroupement. Les résultats de l'analyse microscopique sont présentés au Tableau V et VI.

Suivant la classification bactérienne représenté dans le Bergey's Manual, les isolats du milieu Mac Conkey peuvent être affilié à la grande famille des *Enterobacteriaceae* (Garrity, G, 2007). D'autre part les 13 isolats sur le milieu MRS sont tous affiliés au grand groupe des Gram positif et ils sont de forme cocci et immobile.

D'après ces caractères phénotypiques et la classification phénotypiques détaillée dans le Bergey's Manual, ces isolats sont affiliés au grand phylum des Firmicutes (Garrity, G. M *et al.*, 2009).

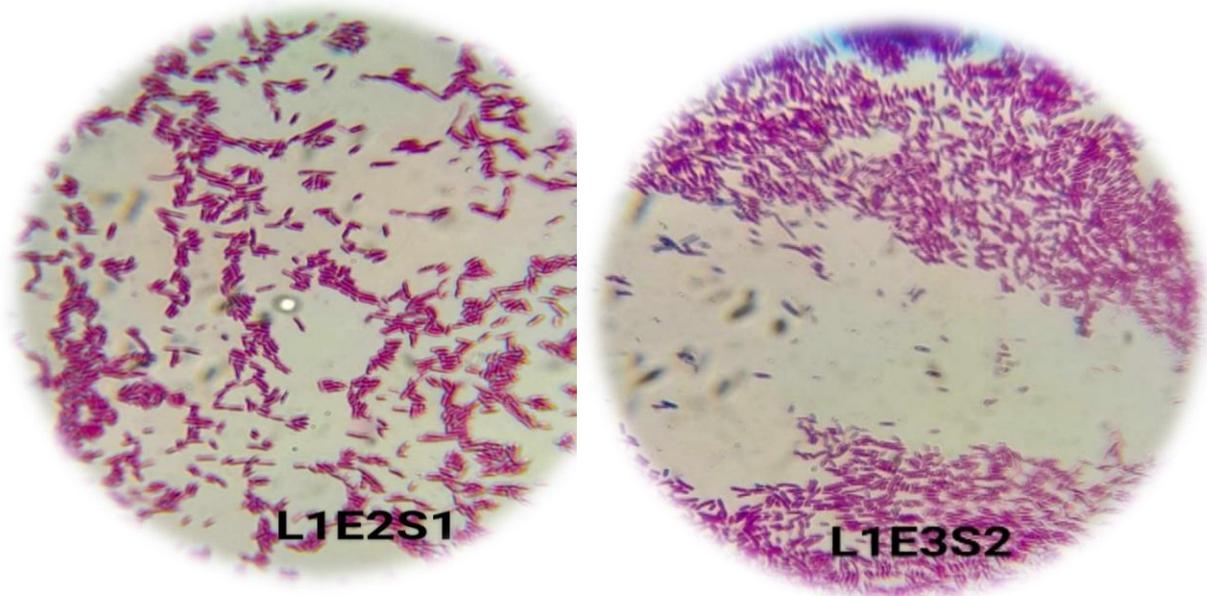


Figure n° 7 : Observation microscopique des Bacille à Gram négative. (Photo personnelle)

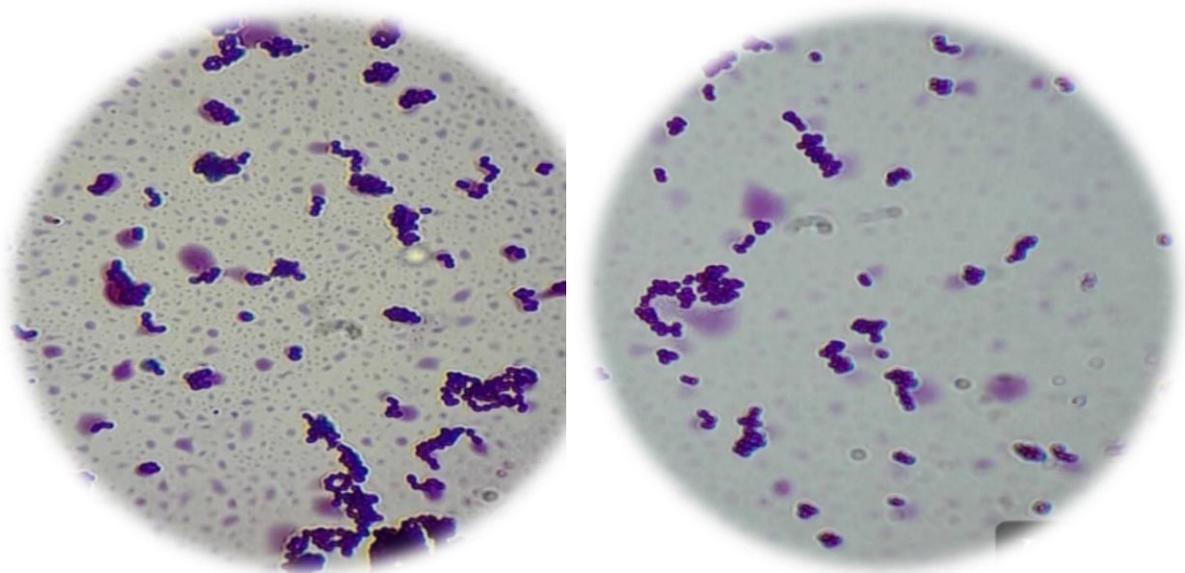


Figure n° 8 : Observation microscopique des Cocci à Gram positive. (Photo personnelle).

Tableau V: Etude microscopique des isolats bactériens (MRS).

Ec h	Type d'échantillon	Souche	Catalase	Mobilité	Gram	Forme	Regroupement
L1C	Cæcum	C1S1	+	Immobile	+	Cocci	En chaînette
		C2S1	+	Immobile	+	Cocci	Diplocoque et en chaînette
		C1S3	-	Immobile	+	Cocci	En chaînette
L1CL	Côlon	CL1S1	-	Immobile	+	Cocci	
		CL2S1	-	Immobile	+	Cocci	Isolé et diplocoque
		CL3S1	-	Immobile	+	Cocci	En chaînette et en amas
L1E	Contenu intestinal	E1S1	-	Immobile	+	Cocci	Diplocoque en chaînette
		E2S1	-	Immobile	+	Cocci	En chaînette
		E3S1	+	Immobile	+	Cocci	En chaînette
L1B	Cavité buccal	B1S1.1	-	Immobile	+	Cocci	Diplocoque et en amas
		B1S1.2	-	Immobile	+	Cocci	Isolé et en chaînette
		B2S1	+	Immobile	+	Cocci	En chaînette et en amas
		B3S1	-	Immobile	+	Cocci	En chaînette
		B3S2	-	Immobile	+	Cocci	Isolé

Tableau VI: Etude microscopique des isolats bactériens (Mac Conkey).

Ech	Type d'échantillons	Isolats	Catalase	Mobilité	Gram	Forme
L1C	Cæcum	C1S1	+	Mobile	-	Bacille
		C1S2	+	Mobile	-	Bacille
		C1S3	+	Mobile	-	Bacille
		C2S1	+	Mobile	-	Bacille
		C2S2	+	Mobile	-	Bacille
		C2S3	+	Mobile	-	Bacille
		C3S1	+	Mobile	-	Bacille
		C3S2	+	Mobile	-	Bacille
L1CL	Côlon	CL1S1	+	Mobile	-	Bacille
		CL1S2	+	Mobile	-	Bacille
		CL1S3	+	Mobile	-	Bacille
		CL2S1	+	Mobile	-	Bacille
		CL2S2	+	Mobile	-	Bacille
		CL3S1	+	Mobile	-	Bacille
		CL3S2	+	Mobile	-	Bacille
L1E	Contenu intestinal	E1S1	+	Mobile	-	Bacille
		E1S2	+	Mobile	-	Bacille
		E1S3	+	Mobile	-	Bacille
		E2S1	+	Mobile	-	Bacille
		E2S2	+	Mobile	-	Bacille
		E2S3	+	Mobile	-	Bacille
		E3S1	+	Mobile	-	Bacille
		E3S2	+	Mobile	-	Bacille
L1B	Cavité buccal	B1S1	+	Mobile	-	Bacille
		B1S2	+	Mobile	-	Bacille
		B3S1	+	Mobile	-	Bacille

Du fait qu'une grande proportion des isolats sont affiliés au phylum des Proteobactéries et la famille des *Enterobacteriaceae* et l'aspect macroscopique et microscopique de ces derniers est homogène, nous avons pris en ramdam l'isolat L₁C₁S₂ pour l'identifier en utilisant la galerie API 20^E (Figure n° 9). Au bout de 24 heures, les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau n° VI. A partir des références du catalogue d'analyses et du site UPBM le Lab nous avons obtenu 5104572, ce qui montre que cette souche correspond à *E. coli* avec un pourcentage de 99,3%.



Figure n° 9: Résultat de la galerie API 20 E de la souche L1C1S2. (Photo personnelle)

Tableau VII: Résultat de la galerie API 20 E de la souche L1C1S2

Test	ONPG	ADH	LDC	ODC	CTI	H2S	URE	TDA	IND	VP
Résultat	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Test	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
Résultat	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+

La figure n° 10 illustre l'aspect macroscopique de l'isolat L1C1S2 sur le milieu Chromagar. Les colonies sont de forme arrondie régulière et de couleur rose.



Figure n° 10: Résultats de la souche *Escherichia coli* sur milieu Chromagar. (Photo personnelle)

Discussion

Depuis la dernière décennie, le microbiome a suscité l'attention de nombreux scientifiques (Abdel-Kafy *et al.*, Hu *et al.*, 2021, Flenghi *et al.*, 2023, Velasco-Galilea *et al.*, 2018). Pour répondre à leurs curiosités scientifiques ils ont emprunté des démarches scientifiques plus performantes en se basant sur les informations moléculaires et génomiques à savoir les analyses métagénomiques et/ ou le barcoding moléculaire. Ces dernières peuvent englober à la fois l'étude de la diversité de la flore non cultivable et la flore cultivable. Cependant, on peut également suivre les méthodes de culture cellulaire sur boîtes de Pétrie. Ces dernières vont uniquement nous renseigner sur la diversité de la flore cultivable. Dans notre projet de PFE nous avons suivi la méthode classique de culture cellulaire qui nous a permis d'évaluer la diversité bactérienne de la flore cultivable chez le lapin de l'espèce « *Oryctolagus cuniculus* ». Nos résultats obtenus, se corroborent avec la diversité de la flore cultivable identifiée chez le lapin « *Oryctolagus cuniculus* » (Flenghi *et al.*, 2023, Velasco-Galilea *et al.*, 2018).

D'après Abdel-Kafy *et al.*, 2023, ils ont montré que la communauté bactérienne est présente dans tout le tube digestif du lapin, le phylum prédominant dans les échantillons de microbiote pour les deux voies intestinales (Firmicutes le deuxième plus dominant était Bactéroidetes (dans le cæcum) Suivi par Protéobactérie (le genre *Escherichia-Shigella* était également significativement plus élevé dans les échantillons de jéjunum). Conformément au fait que Firmicutes a été trouvé pour être le phylum dominant dans le microbiote du lapin, quelle que soit sa source, son âge (Abdel-Kafy *et al.*, 2023).

Bactéroidetes étaient des constituants majeurs du microbiote dans l'intestin postérieur du lapin (la grande abondance de *Bacteroides* et de *Ruminococcus* dans le cæcum des lapins), ainsi que Protéobactérie (principalement composé de membres du genre *Escherichia-Shigella*) dans l'intestin antérieur (Abdel-Kafy *et al.*, 2023).

Le cæcum du lapin héberge 80 à 96 % d'espèces bactériennes inconnues et ne contient pas de champignons anaérobies et une grande proportion d'archées. Et les micro-organismes dans la bouche étaient les plus différents de ceux de l'appareil gastro-intestinal (Hu, X., *et al.*, 2021)

Le microbiome chez l'être vivants soit humain ou animal se caractérise par une diversité importante et un mélange entre la flore cultivable qui est minoritaire et la flore non cultivable qui la dominante. D'autre part on distingue également une flore aérobie et anaérobie (Flenghi *et al.*, 2023, Velasco-Galilea *et al.*, 2018).

Conclusion

Conclusion

Cette étude visait à évaluer la composition du microbiote intestinal (le cæcum, le côlon, le contenu intestinal) et la cavité buccale du lapin.

Les isolats bactériens (38) ont été isolés et purifiés selon une méthode bactériologique traditionnelle, en utilisant deux milieux sélectifs (Mac Conkey et MRS) Après, nous avons fait l'analyse macroscopique et microscopique et nous avons caractérisé phénotypiquement leur Gram. Ce travail a permis de conclure les informations suivantes:

- La présence des bactéries de forme bacille et de Gram négatif Sur le milieu, Mac Conkey. Selon le Bergey's manual la bactérie est de la famille d'*Enterobacteriaceae* et l'espèce c'est *Escherichia coli*.

- La présence des bactéries de forme cocci et Gram positive sur le milieu MRS selon le Bergey's manual les bactéries sont de la Phylum Firmicute et la famille des *Lactobacillaceæ*.

Cette étude constitue une première étape dans la connaissance du microbiote intestinal du lapin, mais elle permet aussi de mener des recherches plus approfondies et d'utiliser d'autres méthodes telles que : Le séquençage des gènes codant pour ARNr 16 S est l'une des méthodes les plus utilisées pour identifier et caractériser une espèce bactérienne.

Enfin, nous souhaitons que nos découvertes trouvent des applications possibles dans l'identification du microbiote intestinal du lapin.

References

Bibliographies

Référence bibliographique

Abecia, L.; Fondevila, M.; Balcells, J.; Edwards, J.E.; Newbold, C.J.; McEwan, N.R. Molecular profiling of bacterial species in the rabbit caecum. *FEMS Microbiol. Lett.* 2005, 244, 111–115. [CrossRef] [PubMed]

Abdel-Kafy, E. S. M., Kamel, K. I., Severgnini, M., Morsy, S. H., Cremonesi, P., Ghoneim, S. S., ... & Shabaan, H. M. (2023). Diversity and Co-Occurrence Pattern Analysis of Cecal and Jejunal Microbiota in Two Rabbit Breeds. *Animals*, 13(14), 2294.

Adeolu, M., Alnajar, S., Naushad, S., & S. Gupta, R. (2016). Genome-based phylogeny and taxonomy of the 'Enterobacteriales': proposal for Enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 66(12), 5575-5599.

BURGAUD, A., 2010. La Pathologie Digestive Du Lapin En Elevage Rationnel.

BARONE, Robert, PAVAUX, Claude et BLIN, Pierre-Christian, 1973. Atlas d'anatomie du lapin.

Brewer, N. R. (2006). Biology of the rabbit. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 45(1), 8-24.

Ben-David, A., & Davidson, C. E. (2014). Estimation method for serial dilution experiments. *Journal of microbiological methods*, 107, 214-221.

Boutard, M., Cerisy, T., Nogue, P. Y., Alberti, A., Weissenbach, J., Salanoubat, M., & Tolonen, A. C. (2014). Functional diversity of carbohydrate-active enzymes enabling a bacterium to ferment plant biomass. *PLoS Genetics*, 10(11), e1004773.

Combes, S.; Michelland, R.J.; Monteils, V.; Cauquil, L.; Soulié, V.; Tran, N.U.; Gidenne, T.; Fortun-Lamothe, L. Postnatal development of the rabbit caecal microbiota composition and activity. *FEMS Microbiol. Ecol.* 2011, 77, 680–689. [CrossRef] [PubMed]

Référence bibliographie

Combes, S., Fortun-Lamothe, L., Cauquil, L., & Gidenne, T. (2013). Engineering the rabbit digestive ecosystem to improve digestive health and efficacy. *Animal*, 7(9), 1429-1439

Chen X., Wu Y., & Wang L. (2013). Fat resident T regs: an emerging guard protecting from obesity-associated metabolic disorders. *Obesity Reviews*, 14(7), 568-578.

Dalle Zotte., 2014. Rabbit farming for meat purposes. *Animal Frontiers* R October 2014, Vol.4, No.4

Deo, P. N., & Deshmukh, R. (2019). Oral microbiome: Unveiling the fundamentals. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 23, 122–128.

Fromont A , Tanguy M , 2001. Elevage du lapin Tome 1, Edition actualisée, Educagri 177 p

Flint, H.J.; Scott, K.P.; Louis, P.; Duncan, S.H. The role of the gut microbiota in nutrition and health. *Nat. Rev. Gastro enterol. Hepatol.* 2012, 9, 577–589. [CrossRef]

Fortun-Lamothe, L., Boullier, S. (2007) A review on the interactions between gut microflora and digestive mucosal immunity. Possible ways to improve the health of rabbits. *Livestock Science*. 107. 1-18.

Fonty, G., Forano, E., Gaudet, G., Komisarczuck, S., & Gouet, P. (1988). Données nouvelles sur les bactéries cellulolytiques du rumen. *Reproduction Nutrition Développement*, 28(Suppl. 1), 19-32.

Flenghi, L., Mazouffre, M., Le Loc'h, A., Le Loc'h, G., & Bulliot, C. (2023). Normal bacterial flora of the oral cavity in healthy pet rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Veterinary Medicine and Science*, 9(4), 1621-1626.

FOLLET, S., 2003. Dermatologie du lapin de compagnie. Thèse de Doctorat ; Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Faculté de Médecine de CRETEIL, 78p

FAO 2001. Communiqués de presses 1/57 ; organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture.

Référence bibliographie

FAO 2013.Données statistiques de la FAO, domaine de la production agricole : Division de la statistique, Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture, Site web : <http://faostat3.fao.org/download/Q/QL/E>.

Gidenne, T., Lebas, F., Savietto, D., Dorchies, P., Duperray, J., Davoust, C., &Fortun-Lamothe, L. (2015). Nutrition et alimentation. Le lapin. De la biologie à l'élevage, Quae éditions, 152-196.Gidenne T, Combes S, Licois D, Carabañ o R, Badiola I and Garcia J 2008.

Gidenne T, Combes S, Licois D, Carabañ o R, Badiola I and Garcia J 2008.Ecosystème caecal et nutrition du lapin: interactions avec la sante´ digestive. INRA Productions Animales 21, 239–250.

Garreau, H., Theau-Clement, M., &Gidenne, T. (2015). Anatomie, taxonomie, origine, évolution et domestication. Le lapin: de la biologie à l'élevage (Gidenne T., et al.), Quae, 13-32.

Garnier F, Denis F. (2007).Bactériologie médical : Techniques usuelles : Cocci à Gram positif. Masson. Chapitre 29 .251, 254.

GARREAU H., THEAU-CLEMENT M. (2015). Anatomie, taxonomie, origine, évolution

Gidenne T, Le lapin : De la biologie à l'élevage (2015)

Guillaume PY. (2004). Les tests en Microbiologie.

Garrity, G. (2007). **Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology:** Volume 2: The Proteobacteria, Part B: The Gammaproteobacteria (Vol. 2). Springer Science & Business Media.

Garrity, G. M., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., Schleifer, K. H., & Whitman, W. B. (2009). The firmicutes (Vol. 3). P. De Vos (Ed.). New York, NY, USA:: Springer.

http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/tests_microbiologie2.htm.

Référence bibliographie

Gouet, P., &Fonty, G. (1973). Evolution de la microflore digestive du lapin holoxénique de la naissance au sevrage. In Annales de biologie animale biochimie biophysique (Vol. 13, No. 4, pp. 733-735). EDP Sciences

Hu, X., Wang, F., Yang, S., Yuan, X., Yang, T., Zhou, Y., & Li, Y. (2021).Rabbit microbiota across the whole body revealed by 16S rRNA gene amplicon sequencing. BMC microbiology, 21, 1-16.

Jean-François Quinton, 2010.Nouveaux animaux de compagnie : petits mammifères. ISSN: 400993

Jaas, J. A., Paster, B. J., Stokes, L. N., Olsen, I., & Dewhirst, F. E. (2005). Defining the normal bacterial of the oral cavity. Journal of Clinical Microbiology, 43, 5721–5732.

Kimse´ M, Bayourthe C, Monteils V, Fortun-Lamothe L, Cauquil L, Combes S and Gidenne T 2012. Live yeast stability in rabbit digestive tract: Consequences on the caecal ecosystem, digestion, growth and digestive health. Animal Feed Science and Technology 173, 235–243.

Koumba k. 2010. Fréquence d'isolement des *Klebsiella* au laboratoire de bactériologie CVD du CHU Gabriel tour de 2002 à 2007.Thèse de pharmacie université de Bamako, Mali, p53.

Lebas F., 2006. Alimentation et santé digestive chez le lapin. Une journée de Formation organisée par l'ASFC et l'AFTAA. Cuniculture. 33, 63-70p.

Lebas F, 2008 : Physiologie digestive et Alimentation du lapin, Enseignement Post Universitaire «Cuniculture : génétique – conduite d'élevage – pathologie» Yasmine Hammamet (Tunisie), 16-17 avril 2008).

Lebas F., 2009.Cuniculture[en ligne], mise à jour le 8 février 2015

Lebas et colin 2000 : production et consommation de viande de lapin dans le monde estimation en l'an 2000. Jornadas Internationalisa de Cunicultura APEZ - 24 e 25 de Novembre 2000 - UTAD Vila Real, Portugal.

Référence bibliographie

Lanotte, P., & Isnard, C. (2016). Du prélèvement à la caractérisation des souches. *Bactériologie médicale: Techniques usuelles*, 15.

Marteau, P., & Doré, J. (2017). Le microbiote intestinal. *EMC-Gastro-entérologie*, 12, 1-8.

Massip K, Combes S, Cauquil L, Zemb O and Gidenne T 2012. High through put 16S-DNA sequencing for phylogenetic affiliation of the caecal bacterial community in the rabbit – impact of the hygiene of housing and of the intake level, VIIIth INRA-RR1 Symposium on Gut Microbiology. Gut microbiota: friend or foe? Clermont-Ferrand, France, p. 57.

Michelland, R., Combes, S., Cauquil, L., Gidenne, T., Monteils, V., & Fortun-Lamothe, L. (2007). Caractérisation comparée des communautés bactériennes du contenu cæcal, des cæcotrophes et des fæces dures chez le lapin adulte par CE-SSCP des gènes codant pour l'ARN16S. Proc. of 12èmes J. Rech. Cunicole, G. Bolet (Ed.), 27-28 nov., Le Mans, France, INRA-ITAVI publ. Paris, France.

Murray PV, Baron J, Pfaller MA et al. (1999). Manual of clinical microbiologie, 7ème édition, Amer. Soc. Microbial; Washing, D.C.

Marchand, G. (2011). Méthode 368-Dénombrement des bactéries et moisissures cultivables de l'air prélevées sur filtre de polycarbonate. dénombrement

Rajilić-Stojanović M., & de Vos W. M. (2014). The first 1000 cultured species of the human gastrointestinal microbiota. *FEMS microbiology reviews*, 38(5), 996-1047. doi:10.1111/1574 6976.12075

Suckow M, Stevens K, Wilson Rp (2012). The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents. Academic Press, Amsterdam, pp 157-735, IBSN 978-0-12-380920-9.1

Velasco-Galilea, M., Piles, M., Viñas, M., Rafel, O., González-Rodríguez, O., Guivernau, M., & Sánchez, J. P. (2018). Rabbit microbiota changes throughout the intestinal tract. *Frontiers in microbiology*, 9, 2144.

Référence bibliographie

Wexler, H. M. (2007). Bacteroides: the good, the bad, and the nitty-gritty. *Clinical microbiology reviews*, 20(4), 593-621.

Wiegel, J. (2015). Clostridiaceae. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-5.

Résumé

Notre étude vise à évaluer la diversité bactérienne du microbiote intestinal chez le lapin domestique, *Oryctolagus cuniculus*. Nous avons examiné différentes parties du tube digestif du lapin, notamment le cæcum, le côlon, le contenu intestinal et la cavité buccale. Pour ce faire, nous avons utilisé la méthode classique de culture cellulaire avec deux milieux sélectifs : MacConkey et MRS. Les résultats obtenus montrent une grande diversité bactérienne sur le milieu MacConkey avec un total de 24 isolats, dont 33,33 % proviennent du côlon et 29,17 % du cæcum. Selon les examens macroscopiques, microscopiques et la classification bactérienne du Bergey's Manual, ces isolats appartiennent principalement à la famille des Enterobacteriaceae. Sur le milieu MRS, nous avons enregistré 13 isolats, tous affiliés au groupe des Gram positifs, de forme cocci et immobiles. Selon la classification phénotypique détaillée dans le Bergey's Manual, ces isolats appartiennent au phylum des Firmicutes.

Mots clés : lapin domestique, microbiotes intestinal, isolats, diversité bactérienne, firmicutes, Entero bactériaceae

Abstract

Our study aims to assess the bacterial diversity of the intestinal microbiota in the domestic rabbit, *Oryctolagus cuniculus*. We examined different parts of the rabbit's digestive tract, including the cecum, colon, intestinal contents, and oral cavity. To do this, we used the classical cell culture method with two selective media: MacConkey and MRS. The results obtained show a high bacterial diversity on MacConkey medium with a total of 24 isolates, of which 33.33% come from the colon and 29.17% from the cecum. According to macroscopic and microscopic examinations and the bacterial classification in Bergey's Manual, these isolates mainly belong to the Enterobacteriaceae family. On the MRS medium, we recorded 13 isolates, all affiliated with the Gram-positive group, cocci in shape, and immobile. According to the phenotypic classification detailed in Bergey's Manual, these isolates belong to the phylum Firmicutes.

Key words: Omestic rabbit, intestinal microbiota, isolates, bacterial diversity, firmicutes, Entero bactériaceae

ملخص

كان الهدف من دراستنا هو تقييم التنوع البكتيري لميكروبات الأمعاء في الأرنب المنزلي *Oryctolagus cuniculus* قمنا بفحص أجزاء مختلفة من الجهاز الهضمي للأرنب، بما في ذلك الأعور والقولون ومحتويات الأمعاء وتجوييف الفم. استخدمنا طريقة الاستزراع الخلوي الكلاسيكية مع اثنين من الوسائط الانتقائية MacConkey و MRS. أظهرت النتائج تنوعًا بكتيريًا عاليًا على وسط MacConkey، حيث بلغ إجمالي عدد العزلات 24 عزلة، 33.33% منها جاءت من القولون و29.17% من الأعور. وفقًا للفحوصات العيانية والمجهرية والتصنيف البكتيري لدليل Bergey's، تنتمي هذه العزلات بشكل رئيسي إلى فصيلة Enterobacteriaceae. على وسط MRS، سجلنا 13 عزلة، تنتمي جميعها إلى المجموعة موجبة الجرام، وهي مكورات في الشكل وغير متحركة. ووفقاً للتصنيف الظاهري المفصل في دليل Bergey's فإن هذه العزلات تنتمي إلى شعبة Firmicutes.

الكلمات المفتاحية: الأرانب المنزلية، الميكروبات المعوية، العزلات، التنوع البكتيري، الثباتيات، البكتيريا المعوية