

Contribution à l'étude de la population microbienne du rumen des zébus malgaches

par J. BLANCOU (*) et J. RAZAFINDRAMANANA (*)

RESUME

Cinquante prélèvements de contenu de rumen de zébus malgaches ont été analysés par méthode microbiologique.

Le dénombrement total de la micropopulation ne révèle pas de différences importantes avec celle rapportée chez les taurins. Par contre le nombre de streptocoques, lactobacilles et coliformes est inférieur à celui couramment observé chez les taurins.

INTRODUCTION

De très nombreux travaux ont été consacrés à l'étude de la microfaune et de la microflore de la panse chez les ruminants.

La plupart des résultats ont été obtenus sur taurins : ils sont résumés et analysés dans des ouvrages ou publications de base (2, 9).

Les études restent rares et fragmentaires en ce qui concerne l'analyse microbiologique du rumen des zébus, même lorsque des résultats comparés de digestibilité ont pu être établis entre taurins et zébus (6, 8).

C'est dans le but de combler cette lacune, et en espérant éclairer les différences de digestibilité observées entre ces deux dernières espèces, que nous avons entrepris ce travail.

MATERIEL ET METHODES

MATERIEL

Animaux

Nous avons effectué nos prélèvements sur

des zébus malgaches originaires de l'ouest de Madagascar, non croisés de taurins.

Les taurins sont des bœufs d'abattoir, âgés de 6 à 10 ans. Ils sont nourris uniquement sur pâturages naturels de saison sèche, dont les espèces graminéennes dominantes sont *Hyparrhenia rufa* et *Heteropogon contortus*.

Prélèvements

Le prélèvement destiné à l'analyse microbiologique est effectué au fond du sac ventral du rumen de l'animal, lors de l'éviscération.

Dans nos conditions de travail (Abattoir industriel), il s'écoule en moyenne 9 minutes entre la saignée de l'animal et le prélèvement.

Ce délai très bref ne permet aucune modification sensible de la composition en microorganismes, et nous avons donc préféré cette méthode à celle de la fistulisation ou du prélèvement du bol mérycique (3) beaucoup plus délicate et sujette à variation.

Le prélèvement a porté soit sur la phase liquide (« jus de rumen ») soit sur la phase solide du contenu stomacal : cette dernière est ensuite broyée, après addition d'un volume égal de diluant, avant analyse. Nous n'avons pas noté de différence significative dans les résultats

(*) Laboratoire Central de l'Elevage, B.P. 4, Tananarive, République Malgache.

obtenus avec ces deux types de prélèvements, rapportés au poids, ce qui est le cas chez les taurins (10).

Pour atténuer les variations individuelles, notre prélèvement est constitué par le mélange de trois prises égales dans les rumens de trois sujets différents : il est déposé aussitôt dans un récipient de faible volume bouché hermétiquement pour conserver l'anaérobiose maximale (2). Au total, cinquante prélèvements ont été effectués durant deux saisons sèches.

METHODES

Les méthodes d'analyses utilisées dans la numération et l'identification de la micropopulation du rumen sont très variées, et diffèrent beaucoup selon les auteurs (1, 4, 5, 10).

Compte tenu du but modeste de notre étude, nous n'avons retenu, pour la mener à bien, que des méthodes bactériologiques classiques, utilisant des milieux courants en microbiologie analytique (7, 11, 12).

Nous avons, pour les mêmes raisons, renoncé à l'étude exhaustive des *protozoaires* de la panse, dont nous ne donnons qu'une numération approximative globale déterminée en cellule hématimétrique (1, 13). En ce qui concerne les *bactéries* elles ont été étudiées avec les techniques suivantes :

1. Numération des bactéries

Elle est effectuée par bactérioscopie et cultures.

a) Bactérioscopie

La numération est effectuée par dénombrement moyen des bactéries colorées au Gram sur 10 champs microscopiques. Le nombre est rapporté au ml de prélèvement, par extrapolation directe, compte tenu du volume étudié et des caractéristiques de l'objectif utilisé.

- Une autre mesure est effectuée sur le prélèvement frais, sous cellule hématimétrique.

b) Cultures

- Le nombre total des bactéries est évalué par ensemencement en boîte de Pétri sur milieux gélosés (additionné de jus de rumen),

des différentes dilutions de prélèvement en « diluant universel (*) ».

- Selon que l'on veut dénombrer les bactéries aéro-anaérobies (à l'exclusion des anaérobies strictes) ou les anaérobies strictes (à l'exclusion des aérobie), l'ensemencement est incubé directement à 20 et 37°, ou à 37° mais en jarre sous vide type « Mac Intosh ».

2. Classification par groupe

a) Bactérioscopie

La coloration par la méthode de Gram permet de déterminer la proportion des bactéries par groupes morphologiques et tinctoriaux (Gram + ou -). Cette détermination se fait par mesure moyenne sur 10 champs.

b) Cultures

Notre but n'était pas l'identification séparée des espèces bactériennes, mais celle des groupes considérés classiquement comme les plus représentatifs de la microflore du rumen.

Anaérobies

- Groupe des « sulfito-réducteurs » : dénombrés sur milieu de Wilson Blair.

Aéro-anaérobies

- Groupe des « Streptocoques » : dénombrés sur gélose de Slanetz Bartley.
- Groupe des « Coliformes » : dénombrés sur gélose au désoxycholate.
- Groupe des « Bactéries fermentant ou non le lactose » dénombrées sur gélose S.S.
- Groupe des « Bactéries hémolytiques » : dénombrées sur gélose au sang.
- Groupe des « Lactobacilles » : dénombrés sur gélose de Man, Rogosa et Sharpe modifiée.
- Groupe des « Bactéries lipolytiques » : dénombrées sur gélose au Bleu de Nil.

Dans tous les cas, même si le milieu est fortement sélectif, des identifications de contrôle sont faites sur un certain nombre de colonies, par étude complète des caractères biochimiques.

(*) « Diluant universel » :
 Tryptone DIFCO, 1 g.
 Chlorure de sodium, 8,5 g.
 Eau distillée, 1 000 ml.
 (pH 7, stérilisé 20 minutes à 120°).

RESULTATS

Presque tous les résultats sont reportés sous forme de tableaux indiquant le chiffre de la micropopulation, par groupe d'égale population dans un gramme de contenu de rumen.

Numération totale de la micro-population par gramme de contenu du rumen

TABLEAU N° I

Dénombrement des protozoaires, par microscopie

Nombre de prélèvements d'égale population, par groupe de 10^4 à $10^{6,5}$	à 10^4 protozoaires/g ou moins	Aucun
	à $10^{4,5}$ /g	3
	à 10^5 /g	7
	à $10^{5,5}$ /g	28
	à 10^6 /g	12
	à $10^{6,5}$ protozoaires/g ou plus	aucun

TABLEAU N° II

Dénombrement des bactéries, par gramme, par microscopie

Nombre de prélèvements d'égale population, par groupe de 10^5 à 10^{12}	10^5 bactéries ou moins	Aucun
	10^6	4
	10^7	3
	10^8	3
	10^9	2
	10^{10}	15
	$10^{10,5}$	20
	10^{11}	3
	10^{12} ou plus	aucun

TABLEAU N° III

Dénombrement des bactéries, par culture

		En anaérobiose stricte à 37°C	En aérobiose	
			à 20°C	à 37°C
Nombre de prélèvements d'égale population, par groupe de 10^2 à 10^7	10^8 (ou +)	Aucun	Aucun	Aucun
	10^7	Aucun	1	3
	10^6	2	3	28
	10^5	17	25	15
	10^4	28	20	4
	10^3	3	1	Aucun
	10^2 (ou -)	Aucun	Aucun	Aucun

Classification des bactéries par groupe

TABLEAU N° IV

1. Groupes morphologiques et tinctoriaux : pourcentage des différentes catégories

Morphologie	Gram positifs p.100	Gram négatifs p.100
Cocci	37,6	15
Bacilles droits	17	22,4
Bacilles incurvés	7,5	0,5
Total	62,1	37,9

TABLEAU N° V

2. Groupes par genres ou activité enzymatique

Nombre de prélèvements d'égale population, par gramme.

Groupes	Absence totale	10	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷
Anaérobies sulfite réducteurs	30	15	5	néant	néant	néant	néant	néant
Lactobacilles	néant	néant	2	3	29	11	5	néant
Streptocoques	1	9	11	14	13	2	néant	néant
Coliformes	1	4	22	13	9	1	néant	néant
Bactéries fermentant le Lactose	néant	2	15	19	14	néant	néant	néant
Bactéries ne fermentant pas le Lactose	néant	néant	7	32	8	3	néant	néant
Hémolytiques	12	8	12	13	2	2	1	néant
Bactéries lipolytiques	néant	néant	1	4	28	12	5	néant

DISCUSSION

Proportion de bactéries revivifiables

Elle est relativement faible malgré la richesse des milieux utilisés. C'est ainsi que pas plus de 10⁷ bactéries aéro-anaérobies n'ont pu être cultivées à 37°, alors que la majorité des bactérioscopies indique 10^{10,5} germes, par gramme.

Variation de la micropopulation

Les chiffres de micropopulation globale, en aérobie ou anaérobie, varient peu, ce qui démontre sa relative homogénéité malgré la diversité probable des régimes individuels en élevage extensif.

En ce qui concerne les différents groupes, quelques-uns ont une homogénéité certaine (lactobacilles, bactéries lipolytiques ou fermentant le lactose), alors que d'autres sont très variables (streptocoques, coliformes, bactéries hémolytiques).

Comparaison avec la micropopulation du rumen des taurins

• *Le chiffre global* de la micropopulation déterminé chez le zébu malgache par microscopie ne diffère pas de celui observé couramment chez les taurins en ce qui concerne les bactéries (10⁸ à 10¹¹), et il est légèrement inférieur pour

les protozoaires (10⁶). Mais si l'on ne tient compte que de celui déterminé par cultures (micropopulation revivifiable sur gélose enrichie), le chiffre relevé est nettement inférieur. Ceci est logique selon KOLB (9) puisque les aliments ingérés par le zébu sont de mauvaise qualité. Par contre, la flore anaérobie stricte devrait être prédominante selon GALL (5), puisque la base de l'alimentation est plus cellulosique, or il n'en est rien.

• Les chiffres relevés pour les différents groupes sont très inférieurs à ceux observés chez les taurins en ce qui concerne la population de streptocoques, les lactobacilles et les coliformes, et un peu moins élevés en ce qui concerne les autres catégories (3, 9).

Conséquence sur la digestibilité des fourrages par le zébu

Des comparaisons effectuées sur les digestibilités respectives des zébus africains et des taurins n'ont pu démontrer aucune différence significative (6). Par contre le taux de fermentation, par kilogramme de matière ingérée, s'est avéré supérieur chez le zébu (6, 8).

Cette inégalité pourrait être le reflet des différences relevées, entre zébu et taurins, au niveau de la composition des grands groupes de bactéries qui constituent la micropopulation du rumen.

CONCLUSION

Le dénombrement de la micropopulation du rumen des zébus révèle peu de différences, globalement, avec celle des taurins.

Toutefois certaines différences, observées au niveau de la composition par groupes de bac-

téries, pourraient rendre compte de différences physiologiques entre ces deux espèces de bovins.

Ces modifications de composition bactérienne sont sans doute liées, également, à la composition de l'alimentation et au transit hydrique particuliers au milieu tropical.

SUMMARY

Contribution to the study of micropopulation of malagasy zebu cattle rumen

Fifty rumen contents, from malagasy zebu cattle, have been evaluated by microbiological methods.

The total micropopulation of rumen is not very different in zebu and european cattle as reported otherwise. But the total count of streptococci, lactobacilli and coliforms is lower in zebu.

RESUMEN

Contribución al estudio de la población microbiana de la panza de los cebues malgachos

Se analizaron por método microbiológico cincuenta muestras del contenido de la panza de cebues malgachos.

El censo total de la microprobiación no muestra diferencias importantes con la notada en los *Bos taurus*.

En cambio, el número de los estreptococos, actobacilos y coliformas es inferior al corrientemente observado en los *Bos taurus*.

BIBLIOGRAPHIE

- BOYNE (A. W.), EADIE (J. M.) et RAITT (K.). The development and testing of a method of counting rumen ciliate protozoa. *J. Gen. Microbiol.*, 1957, 17 : 414-423.
- BRYANT (M. P.). Bacterial species of the rumen. *Bact. Rev.*, 1959 (23) : 125-153.
- DAVEY (L. A.) et BRIGGS (C. A. E.). The normal flora of the bovine rumen. Bacteriological evaluation of rumen contents by the examination of the cud. *J. Agric. Sci.*, 1959 (52) : 187-188.
- DOETSCH (R. N.), ROBINSON (P. Q.) et SHAW (J. C.). Techniques employed in cultural investigations of the bacteriology of bovine rumen contents. *J. Anim. Sci.*, 1952 (11) : 536-544.
- GALL (L. S.). Some studies on the rumen microorganisms of sheep and cattle. Thesis, Cornell, 1946, 87 p.
- GRANIER (P.). Etude sur la digestibilité chez le zébu. *Terre Malgache*, 1963 (3) : 139-159.
- HOBSON (P. N.). Rumen bacteriology. Progress in nutrition and allied sciences. Cuthberston D. P. Ed., 1963, pp. 43-55.
- HUNGATE (R. E.), PHILLIPS (G. D.), HUNGATE (D. P.) et Mc GREGOR (A.). A comparison of the rumen fermentation in european and zebu cattle. Report of African Veterinary Research Organization, Muguga, Kenya. 1959.
- KOLB (E.). Physiologie des animaux domestiques. - Paris, Vigot Frères, 1965.
- MUNCH PETERSEN (E.) et JAMES (A.). A method for assessing « free living » and « attached » bacteria in rumen contents. *Zentbl. Bakt. I*, 1964 (194) : 358-364.
- WARNER (A. C. L.). I. Enumeration of rumen microorganisms. II. Some factors influencing the rumen microbial population. *J. Gen. Microbiol.*, 1962, (28) : 119-146.
- WILSON (M. K.) et BRIGGS (C. A. E.). The normal flora of the bovine rumen. I. Bacteriological methods for quantitative studies. *Vet. Rec.*, 1954 (66) : 187-188.
- WILLIAMS (P. P.) et DINUSSON (W. C.). Composition of the ruminal flora and establishment of ruminal ciliated protozoal species in isolated calves. *J. anim. Sci.*, 1972, 34 (3) : 469-474.