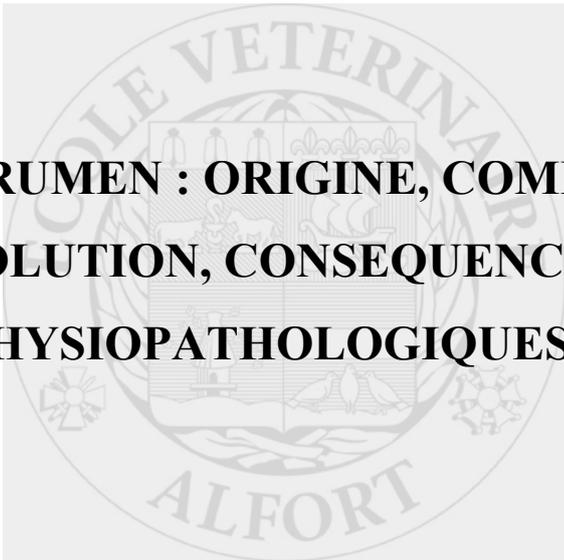


Année 2007



**FLORE DU RUMEN : ORIGINE, COMPOSITION,
EVOLUTION, CONSEQUENCES
PHYSIOPATHOLOGIQUES**

THESE

Pour le

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTE DE MEDECINE DE CRETEIL

le.....

par

Guillaume, Hervé BELBIS

Né le 18 juin 1982 à Nevers (Nièvre)

JURY

Président : M.

Professeur à la Faculté de Médecine de CRETEIL

Membres

Directeur : M. MAILLARD Renaud

Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

Assesseur : M. PONTER Andrew

Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

LISTE DES MEMBRES DU CORPS ENSEIGNANT

Directeur : M. le Professeur COTARD Jean-Pierre

Directeurs honoraires : MM. les Professeurs MORAILLON Robert, PARODI André-Laurent, PILET Charles

Professeurs honoraires: MM. BORDET Roger, BUSSIERAS Jean, LE BARS Henri, MILHAUD Guy, ROZIER Jacques

DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET PHARMACEUTIQUES (DSBP)

Chef du département : M. BOULOUIS Henri-Jean, Professeur - Adjoint : M. DEGUEURCE Christophe, Professeur

<p>-UNITE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES Mme CREVIER-DENOIX Nathalie, Professeur M. DEGUEURCE Christophe, Professeur* Mlle ROBERT Céline, Maître de conférences M. CHATEAU Henri, Maître de conférences</p> <p>-UNITE DE PATHOLOGIE GENERALE , MICROBIOLOGIE, IMMUNOLOGIE Mme QUINTIN-COLONNA Françoise, Professeur* M. BOULOUIS Henri-Jean, Professeur</p> <p>-UNITE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE M. BRUGERE Henri, Professeur Mme COMBRISSEON Hélène, Professeur* M. TIRET Laurent, Maître de conférences</p> <p>-UNITE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE Mme ENRIQUEZ Brigitte, Professeur * M. TISSIER Renaud, Maître de conférences M. PERROT Sébastien, Maître de conférences</p> <p>-DISCIPLINE : BIOCHIMIE M. MICHAUX Jean-Michel, Maître de conférences</p>	<p>- UNITE D'HISTOLOGIE , ANATOMIE PATHOLOGIQUE M. CRESPEAU François, Professeur M. FONTAINE Jean-Jacques, Professeur * Mme BERNEX Florence, Maître de conférences Mme CORDONNIER-LEFORT Nathalie, Maître de conférences</p> <p>- UNITE DE VIROLOGIE M. ELOIT Marc, Professeur * Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences</p> <p>-DISCIPLINE : PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES M. MOUTHON Gilbert, Professeur</p> <p>-DISCIPLINE : GENETIQUE MEDICALE ET CLINIQUE Melle ABITBOL Marie, Maître de conférences</p> <p>-DISCIPLINE : ETHOLOGIE M. DEPUTTE Bertrand, Professeur</p> <p>-DISCIPLINE : ANGLAIS Mme CONAN Muriel, Ingénieur Professeur agrégé certifié</p>
--	---

DEPARTEMENT D'ELEVAGE ET DE PATHOLOGIE DES EQUIDES ET DES CARNIVORES (DEPEC)

Chef du département : M. FAYOLLE Pascal, Professeur - Adjoint : M. POUCHELON Jean-Louis , Professeur

<p>- UNITE DE MEDECINE M. POUCHELON Jean-Louis, Professeur* Mme CHETBOUL Valérie, Professeur M. BLOT Stéphane, Maître de conférences M. ROSENBERG Charles, Maître de conférences Mme MAUREY Christelle, Maître de conférences contractuel</p> <p>- UNITE DE CLINIQUE EQUINE M. DENOIX Jean-Marie, Professeur M. AUDIGIE Fabrice, Maître de conférences* Mme GIRAUDET Aude, Professeur contractuel Mme MESPOULHES-RIVIERE Céline, Maître de conférences contractuel Melle VIREVIALLE Hameline, Maître de conférences contractuel</p> <p>-UNITE DE REPRODUCTION ANIMALE Mme CHASTANT-MAILLARD Sylvie, Maître de conférences* (rattachée au DPASP) M. NUDELMANN Nicolas, Maître de conférences M. FONTBONNE Alain, Maître de conférences M. REMY Dominique, Maître de conférences (rattaché au DPASP) M. DESBOIS Christophe, Maître de conférences Melle CONSTANT Fabienne, AERC (rattachée au DPASP) Melle LEDOUX Dorothee, Maître de conférences Contractuel (rattachée au DPASP)</p>	<p>- UNITE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE M. FAYOLLE Pascal, Professeur * M. MAILHAC Jean-Marie, Maître de conférences M. MOISSONNIER Pierre, Professeur Mme VIATEAU-DUVAL Véronique, Maître de conférences Mlle RAVARY Béangère, Maître de conférences (rattachée au DPASP) M. ZILBERSTEIN Luca, Maître de conférences contractuel M. HIDALGO Antoine, Maître de conférences contractuel</p> <p>- UNITE DE RADIOLOGIE Mme BEGON Dominique, Professeur* Mme STAMBOULI Fouzia, Maître de conférences contractuel</p> <p>-UNITE D'OPHTALMOLOGIE M. CLERC Bernard, Professeur* Melle CHAHORY Sabine, Maître de conférences contractuel</p> <p>- UNITE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES M. CHERMETTE René, Professeur M. POLACK Bruno, Maître de conférences* M. GUILLOT Jacques, Professeur Mme MARGNAC Geneviève, Maître de conférences contractuel</p> <p>-UNITE DE NUTRITION-ALIMENTATION M. PARAGON Bernard, Professeur * M. GRANDJEAN Dominique, Professeur Mme BLANCHARD Géraldine, Professeur contractuel</p>
---	---

DEPARTEMENT DES PRODUCTIONS ANIMALES ET DE LA SANTE PUBLIQUE (DPASP)

Chef du département : M. MAILLARD Renaud, Professeur - Adjoint : Mme DUFOUR Barbara, Maître de conférences

<p>-UNITE DES MALADIES CONTAGIEUSES M. BENET Jean-Jacques, Professeur* M. TOMA Bernard, Professeur Mme HADDAD/ HOANG-XUAN Nadia, Maître de conférences Mme DUFOUR Barbara, Maître de conférences</p> <p>-UNITE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE M. BOLNOT François, Maître de conférences * M. CARLIER Vincent, Professeur M. CERF Olivier, Professeur Mme COLMIN Catherine, Maître de conférences M. AUGUSTIN Jean-Christophe, Maître de conférences</p> <p>- DISCIPLINE : BIOSTATISTIQUES M. SANAA Moez, Maître de conférences</p>	<p>- UNITE DE ZOOTECNIE, ECONOMIE RURALE M. COURREAU Jean-François, Professeur M. BOSSE Philippe, Professeur Mme GRIMARD-BALLIF Bénédicte, Professeur Mme LEROY Isabelle, Maître de conférences M. ARNE Pascal, Maître de conférences M. PONTER Andrew, Maître de conférences*</p> <p>- UNITE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAIL ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR M. MILLEMANN Yves, Maître de conférences* Mme BRUGERE-PICOUX Jeanne, Professeur M. MAILLARD Renaud, Maître de conférences M. ADJOU Karim, Maître de conférences</p>
--	---

Mme CALAGUE, Professeur d'Education Physique

* Responsable de l'Unité

AERC : Assistant d'Enseignement et de Recherche Contractuel

Remerciements

A Monsieur le Président du jury,

Professeur de la faculté de médecine de Créteil,
Qui nous a fait l'honneur de présider notre jury de thèse
Hommage respectueux

A Monsieur le Docteur Renaud MAILLARD

Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort,
Qui m'a fait l'honneur d'accepter de diriger ce travail,
Que sa patience et sa disponibilité trouvent dans ce travail l'expression de ma grande
reconnaissance.
Sincères remerciements

A Monsieur le Docteur Andrew PONTER

Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort,
Pour sa participation bienveillante à notre jury de thèse,
Qu'il en soit vivement remercié.

Remerciements

A mes parents

Merci de m'avoir toujours fait confiance et de m'avoir toujours soutenu, même ce fameux jour où j'ai voulu tout arrêter. Je vous dois tout.

Je vous aime.

A Benjamin et Caroline

Merci d'être toujours là. Je vous aime.

A Pierre et Margaux

Mes petits amours, tonton vous aime de tout son cœur.

A Noémie

A tous les bons moments que je passe avec toi. J'espère qu'ils seront encore nombreux. Merci pour tout le bonheur que tu m'apportes.

A Christophe

Dans la vie, on a parfois la chance de rencontrer des gens qui seront toujours là. Je pense que tu es un de ceux là et que la réciproque est vraie. Merci de ton amitié.

A Hélène

Déjà 13 ans que nous nous connaissons. Le temps passe si vite. Merci de me supporter depuis tant d'années. Je te souhaite le meilleur pour la suite.

Au groupe 9

Polo, Michaël, Platane, Véro, Fanny, Marie O, Aurélie, Rodolphe, Coudy et, par adoption, Sloss. Ces deux années ensemble resteront pour moi parmi les plus belles. Nine style forever.

A Bouli

A tous ces souvenirs de la 513. Merci pour tout.

A mes poulots

Lucie, Caro, Juliette, Anne Claire, Adeline, Guillaume, Charles, Nourredin et à tous les autres. Je suis fier d'être votre ancien. « Sois courageux et fort pour soutenir l'honneur d'Alfort ».

A mes anciens, et plus spécialement à Vanessa et à Matthieu

Merci de nous avoir donné cet amour d'Alfort.

A Jeannot

Pour nous supporter tous les jours et pour ta bonne humeur légendaire.

A tous ceux que je n'ai pas encore cités, et qui comptent pour moi

Clara, Snoop, Emilie, Elodie, Romain, Matthieu, Florent, Aurélien, Thomas et tous les autres.

A tous ceux qui nous ont quittés, mémère Guiguite, pépère Jean et tonton François.

Je pense à vous.

A Arnaud Darnis

Sans toi je ne serais peut être pas sur le point de devenir docteur. Et même si nos chemins se sont éloignés, je te serais toujours reconnaissant.

A mes différents maîtres de stage : Ellen Schmitt, Jean Charles Riglet, Sébastien Azéma, Jean Luc Chatré, Gilles Martin, Matthieu Bravard, Marc Simonin et Martine

Merci de m'avoir donné le goût de la rurale et de m'avoir permis d'apprendre mon métier.

Aux membres des services de Pathologie du Bétail et de Pathologie de Reproduction de l'ENVA

Merci pour tout. C'est un plaisir que de travailler avec vous.

Flore du rumen : origine, composition, évolution, conséquences physiopathologiques

NOM et Prénom : BELBIS Guillaume

Résumé :

La flore ruminale constitue l'une des particularités de la digestion des ruminants. Sa composition varie en fonction des changements des conditions d'environnement. Pour cette raison, celle-ci varie selon les espèces de ruminants, mais aussi selon l'âge ou encore la composition de la ration. La compréhension des mécanismes de variations de la population bactérienne permet d'optimiser les performances du ruminant. Une véritable symbiose existe entre le ruminant et sa flore ruminale, principalement bénéfique pour l'animal, la flore microbienne autorisant la digestion de la cellulose, et l'apport de protéines d'origine microbienne. Néanmoins, cette symbiose est un équilibre fragile, qui peut, si l'écosystème ruminal est perturbé, se déplacer vers la production de substances toxiques. L'importance de ces anomalies de la digestion microbienne n'est pas négligeable, tant sur un plan médical que d'un point de vue économique (on pensera aux pertes engendrées par l'acidose subaiguë chez les bovins). La compréhension des variations bactériennes en fonction de l'affection observée permet d'améliorer la prise en charge de l'animal, d'un point de vue médical ou zootechnique.

La première partie de ce travail présente la composition qualitative de la flore ruminale chez les ruminants domestiques, ainsi que les variations ne s'accompagnant pas d'affections. L'installation de la flore ruminale chez le jeune est également décrite.

La seconde partie développe les variations de l'écosystème ruminal à l'origine d'affections, en insistant sur l'intervention de ces modifications dans leur pathogénie et leur physiopathologie.

Mots clés : Rumen, Flore du rumen, Biochimie, Physiopathologie, Acidose, Alcalose, Ruminant

Jury :

Président : Pr.

Directeur : Dr. R. MAILLARD

Assesseur : Dr. A. PONTER

Adresse de l'auteur :

M. BELBIS Guillaume

175, avenue du Général Leclerc – 94 700 Maisons-Alfort

Rumen flora : origin, composition, evolution, physiopathological consequences

SURNAME : BELBIS

Given name : Guillaume

Summary :

Ruminal flora is one of the characteristics of ruminants' digestion. Its composition varies according to the changes of the environmental conditions. For this reason, this one varies according to species of ruminants, but also according to the age or the composition of the ration. The comprehension of the mechanisms of variations of the bacterial population makes it possible to optimize the performance of the ruminant. A true symbiosis exists between the ruminant and its ruminal flora, mainly beneficial for the animal, the microbial flora allowing the digestion of cellulose and the protein intake of microbial origin. Nevertheless, this symbiosis is a fragile balance, which can, if the ecosystem ruminal is disturbed, move towards the production of toxic substances. The importance of these anomalies are not immaterial, as well on a medical level as from an economic point of view (one will think of the losses generated by the subacute acidosis at the bovines). The comprehension of the bacterial variations according to the affection observed makes it possible to improve the assumption of responsibility of the animal, of a point of considering medical or zootechnical.

The first part of this work presents the qualitative composition of the rumen flora in the domestic ruminants, as well as the variations which are not followed by affections. The installation of this microflora in the young ruminant is also described.

The second part develops the variations of the ruminal ecosystem at the origin of affections, while insisting on the intervention of these modifications in their pathogenesis and their physiopathology.

Keywords : Rumen, Rumen flora, Biochemistry, Physiopatholgy, Acidosis, Alcalosis, Ruminant

Jury :

President : Pr.

Director : Dr. R. MAILLARD

Assessor : Dr. A. PONTER

Author's address:

Mr. BELBIS Guillaume

175 avenue du Général Leclerc – 94 700 Maisons-Alfort

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	11
PREMIERE PARTIE : COMPOSITION ET INSTALLATION DE LA FLORE RUMINALE.....	13
I- RAPPELS D'ANATOMIE ET DE PHYSIOLOGIE DU RUMEN	13
A- Anatomie du rumen.....	13
1. Conformation extérieure	13
2. Conformation intérieure	13
3. Topographie	15
4. Structure	15
B- Conditions de milieux	17
1. L'anaérobiose	17
2. Le pH.....	17
3. La température.....	19
4. L'humidité.....	19
5. La pression osmotique.....	19
6. La motricité du complexe gastrique : réseau et rumen.....	19
6.1 Motricité des pré-estomacs.....	20
6.2 Notion de cycles moteurs des pré-estomacs.....	20
6.3 Signification	20
C- Hôtes du rumen	21
1. Les protozoaires	21
2. Les champignons.....	22
II- COMPOSITION DE LA FLORE RUMINALE	22
A- Présentation des grandes familles. Eléments de digestion microbienne	23
1. Les bactéries fibrolytiques	23
1.1 Les bactéries cellulolytiques	23
1.1.1 Les bacilles cellulolytiques	23
1.1.2 Les coques cellulolytiques	24

1.1.3	La digestion de la cellulose par les bactéries cellulolytiques.....	25
1.1.3.1	Adhésion des microorganismes ruminiaux	25
1.1.3.2	Mécanisme de digestion de la cellulose	27
1.2	Les bactéries hémicellulolytiques	29
1.3	Les bactéries pectinolytiques	29
1.4	Apport de la biologie moléculaire à la compréhension de la flore fibrolytique.....	31
2.	Les bactéries amylolytiques	31
2.1	Caractéristiques bactériologiques des principales bactéries amylolytiques	31
2.2	Mécanismes de dégradation de l'amidon par la flore amylolytique ruminale.....	34
3.	Les bactéries utilisatrices de glucides simples	35
4.	Les bactéries utilisatrices d'acide.....	37
5.	Les bactéries uréolytiques	38
6.	Les bactéries protéolytiques	39
7.	Les bactéries utilisatrices de lipides	43
8.	Les bactéries méthanogènes	45
9.	Les bactéries de grande taille	47
B-	Relations phylogénétiques des bactéries ruminales	47
C-	Diversité et variation de la flore du rumen.....	48
1.	Diversité de la flore ruminale.....	48
1.1	Diversité de la flore ruminale des ruminants domestiques	48
1.2	Diversité de la population ruminale des ruminants sauvages	49
1.3	Relations écologiques entre les microorganismes.....	51
2.	Variations non pathologiques de la flore ruminale	51
2.1	Effet de la composition de la ration	53
2.2	Effet du nombre de repas	54
2.3	Effet du jeûne et de la sous alimentation.....	55
2.4	Effet de la photopériode	56
2.5	Effet des protozoaires ruminiaux	57
2.6	Adaptation à des composés toxiques.....	57
2.7	Effet des antibiotiques	59
3.	Implications nutritionnelles.....	59
3.1	Utilisation d'additifs alimentaires antimicrobiens	59

3.2	Utilisation d'additifs microbiens.....	61
3.3	Utilisation de bactéries génétiquement modifiées.....	62
III-	INSTALLATION DE LA FLORE RUMINALE CHEZ LE JEUNE	63
A-	Etablissement de la microflore ruminale.....	63
B-	Origine de la contamination bactérienne du rumen	67
C-	Facteurs de variation de la flore ruminale du jeune	69
1.	Influence de la ration sur la flore ruminale du jeune.....	69
2.	Influence des additifs microbiens sur la flore ruminale du jeune	71

**DEUXIEME PARTIE : VARIATIONS PATHOLOGIQUES DE LA COMPOSITION
ET DE LA FONCTION DE DIGESTION DE LA FLORE RUMINALE..... 73**

I-	VARIATIONS DE LA FLORE RUMINALE. CONSEQUENCES PHYSIOPATHOLOGIQUES.....	73
A-	L'acidose lactique	73
1.	Circonstances d'apparition.....	74
1.1	Aliments à risque.....	74
1.2	Situations à risque	75
2.	Pathogénie (figure 15).....	75
2.1	Modification de la flore ruminale.....	77
2.1.1	Modification de la flore ruminale lors d'acidose aiguë.....	77
2.1.2	Modification de la composition de la flore ruminale lors d'acidose subaiguë.....	77
2.2	Modifications biochimiques du contenu ruminal.....	79
2.2.1	Accumulation de l'acide lactique.....	79
2.2.2	Accumulation des acides gras volatils lors d'acidose subaiguë.....	81
2.2.3	Autres modifications biochimiques du rumen	81
2.3	Modifications organiques.....	83
3.	Physiopathologie et symptômes associés à l'acidose ruminale	83
3.1	Syndrome de choc	83
3.2	Acidose lactique systémique	84
3.3	Troubles digestifs	85
4.	Traitement et prévention	85
4.1	Traitement	85
4.1.1	Traitement des cas aigus	85
4.1.1.1	Correction de l'acidose métabolique.....	86

4.1.1.2	Correction de l'équilibre hydro-électrique et de l'état de choc hypovolémique	86
4.1.1.3	Restauration de la flore ruminale	86
4.1.1.4	Traitements adjuvants	87
4.1.2	Traitement des cas chroniques	87
4.2	Prévention de l'acidose ruminale	87
4.2.1	Prophylaxie sanitaire	87
4.2.2	Prophylaxie médicale	89
5.	Pathologies associées et conséquences de l'acidose ruminale	91
5.1	Altération de la paroi ruminale	91
5.1.1	Ruminite mycotique	91
5.1.2	Parakératose et hyperkératose	91
5.2	Abcès hépatiques	93
5.3	Fourbure	93
5.3.1	Pathogénèse de la fourbure	94
5.3.2	Place de l'acidose ruminale	94
5.4	Nécrose du cortex cérébral	95
5.5	Prolifération bactérienne intestinale	97
5.6	Conséquences zootechniques	97
B-	L'alcalose ruminale	99
1.	Etiologie	99
2.	Pathogénie	99
2.1	Mécanismes ruminiaux conduisant à la surproduction d'ammoniaque	101
2.2	Etape hépatique	103
3.	Physiopathologie	103
3.1	Symptômes nerveux	103
3.2	Symptômes digestifs	105
3.3	Troubles métaboliques	105
C-	Météorisation spumeuse	105
1.	Etiologie	106
1.1	Etiologie de la météorisation spumeuse due aux céréales	106
1.1.1	Rôle de la flore ruminale	106
1.1.2	Rôle de la physiologie de l'animal	107
1.2	Etiologie de la météorisation aiguë au pâturage	109

1.2.1	Influence des facteurs végétaux	109
1.2.2	Influence des facteurs microbiens	109
2.	Physiopathologie	111
2.1	Inhibition de l'éructation et augmentation de la pression intraruminale.....	111
2.2	Ventilation pulmonaire et hématoxémie.....	111
2.3	Perturbations cardio-vasculaires	111
IV-	Indigestion simple	112
1.	Etiologie	112
2.	Modifications du contenu ruminal	113
2.1	Diminution de l'activité fermentaire	113
2.2	Putréfaction du contenu ruminal	115
3.	Physiopathologie	115
V-	Cétoses secondaires.....	116
II-	ANOMALIES DE LA DIGESTION MICROBIENNE. CONSEQUENCES	
	PHYSIOPATHOLOGIQUES	116
A-	Perturbation des fonctions de détoxification : exemple de l'intoxication par les nitrates-nitrites	116
1.	Etiologie	117
2.	Pathogénie	117
B-	Production de toxines dans le rumen.....	119
1.	Emphysème des regains	119
2.	Anémie hémolytique due aux choux	121
3.	Phyto-oestrogènes	121
4.	Intoxication par la dégradation de la mimosine	123
	CONCLUSION.....	125
	BIBLIOGRAPHIE	127

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Conformation extérieure du rumen, face droite.....	14
Figure 2 : Conformation extérieure du rumen, face gauche.....	16
Figure 3: Conformation intérieure du rumen	18
Figure 4: Représentation idéale de la fibre et ses composants (cellulose, microfibrilles, hémicellulose et lignine), dégradés par le complexe cellulose	26
Figure 5: Dégradation de la cellulose par les différentes enzymes cellulolytiques	30
Figure 6 : Schéma d'une coupe de <i>Fibrobacter succinogenes</i> poussant sur la cellulose, présentant les localisations des enzymes du complexe cellulasique	32
Figure 7 : Site d'action des principales enzymes hémicellulolytiques	32
Figure 8 : Devenir des protéines au sein de l'écosystème ruminal.....	40
Figure 9 : Croissance de bactéries ruminales présentant une faible activité protéolytiques sur un milieu contenant de la caséine comme seule source d'azote	42
Figure 10 : Hydrolyse de la ¹⁴ C caséine par des suspensions de bactéries ruminales présentant une faible activité protéolytique.....	42
Figure 11: Etapes clés de la transformation des lipides estérifiés d'origine végétale en acides gras saturés via la lipolyse et la biohydrogénation par les enzymes bactériennes ruminales	44
Figure 12 : Mode d'action présumé de <i>S. cerevisiae</i> sur les performances de l'animal	60
Figure 13 : Numération des bactéries cellulolytiques et méthanogéniques chez des veaux sevrés normalement ou précocement	66
Figure 14 : Numération des bactéries amylolytiques, des bactéries utilisant les lactates et des bactéries protéolytiques chez des veaux sevrés normalement ou précocement.....	68
Figure 15 : Pathogénie de l'acidose lactique ruminale	76
Figure 16 : Endotoxines	82
Figure 17 : Concentration moyenne en lactate ruminal (mmol/L) 24 heures après le début de l'introduction de concentrés chez des animaux recevant un vaccin contenant <i>S. bovis</i> et <i>Lactobacillus</i> , et chez des animaux non vaccinés.....	88

Figure 18 : Concentration en anticorps (unité/ml) dans le jus de rumen (A) et dans le sérum (B) chez des moutons non immunisés et chez des moutons immunisés avec un vaccin contenant soit des souches tuées (KSb) ou vivantes (Sb) de <i>S. bovis</i>	90
Figure 19 : Flore bactérienne isolée d'abcès hépatiques (49 abcès provenant de 28 foies) de bovins à l'engraissement.....	92
Figure 20 : Pathogénèse des abcès hépatiques chez des bovins nourris avec de grandes quantités de concentrés.....	92
Figure 21 : Etio-pathogénie de la nécrose du cortex cérébral	96
Figure 22 : Mécanisme de la chute du taux butyreux dans le lait lors d'acidose ruminale	98
Figure 23: Physiopathologie de l'alcalose ruminale.....	100
Figure 24 : Séquences impliquées dans l'hydrolyse de l'urée et dans son incorporation par les bactéries ruminales	102
Figure 25 : Etio-pathogénie de la météorisation spumeuse en élevage intensif.....	108
Figure 26 : Interactions entre les bactéries du rumen et la ration alimentaire chez les bovins	110
Figure 27 : Etio-pathogénie des cétooses secondaires	114

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Distribution des amylases entre les cellules et les milieux extracellulaires pour les espèces amylolytiques du rumen.....	36
Tableau 2 : Enzymes amylolytiques microbiennes.....	36
Tableau 3 : Bactéries isolées du rumen.....	50
Tableau 4 : Concentrations bactériennes ruminales chez les mêmes animaux nourris avec des rations riches en fourrage ou en concentrés.....	52
Tableau 5 : Quantification des bactéries ruminales pendant la transition alimentaire par l'utilisation de la PCR en temps réel.....	52
Tableau 6 : Concentrations minimales inhibitrices en Monensin, Lasalocide et Avoparcine sur les bactéries ruminales en cultures pures.....	58
Tableau 7 : Effet de l'âge de jeunes veaux buffles sur la flore bactérienne du rumen.....	64
Tableau 8 : Composition de la flore ruminale du jeune en fonction de l'alimentation.....	70
Tableau 9 : Numération des bactéries totales et des bactéries amylolytiques chez des animaux adaptés aux fourrages ou aux grains chez des bœufs chez qui une acidose subaiguë est induite.....	78
Tableau 10 : Numération des bactéries utilisant le lactate et des lactobacilles chez des animaux adaptés aux fourrages ou aux grains chez des bœufs chez qui une acidose subaiguë est induite.....	78
Tableau 11 : Concentration en acides gras volatils et ratio acétate : propionate chez des bœufs adaptés à des régimes riche en fourrages ou riche en grains, après induction d'une acidose subaiguë.....	80
Tableau 12 : Concentrations en lactate chez des bœufs adaptés à des régimes à base de fourrages ou de grains après induction d'une acidose subaiguë.....	82
Tableau 13 : Log ₁₀ du nombre (CFU/ml) de <i>S. bovis</i> et de <i>Lactobacillus</i> dans le contenu ruminal au 90 ^{ème} jour (16 heures avant l'introduction d'une alimentation contenant 90% de grains) et au 92 ^{ème} jour (24 heures après l'introduction de cette ration) chez des animaux non immunisés ou des animaux immunisés avec un vaccin contenant <i>S. bovis</i> et <i>Lactobacillus</i>	88

Tableau 14 : Signes cliniques observés chez 15 boeufs après injection de chlorure d'ammonium jusqu'à l'apparition de convulsions.....	104
Tableau 15 : Substances détoxifiées dans le rumen	118
Tableau 16 : Effet des nitrites sur la croissance des bactéries ruminales en présence d'H ₂ ...	120
Tableau 17 : Substances toxiques produites dans le rumen	122

INTRODUCTION

La fonction digestive des ruminants est caractérisée par l'existence d'une micropopulation, résidant dans les préestomacs, notamment dans le rumen. Cette micropopulation se caractérise par son extrême diversité : on y retrouve ainsi un important nombre de protozoaires, de champignons et de bactéries, cette dernière population constituant la flore du rumen. Cette population ruminale, caractéristique des ruminants, se développe au cours des premiers temps de la vie du jeune.

Le rumen peut être considéré comme un vaste écosystème, au sein duquel des modifications des conditions de milieu sont à l'origine de variation de la composition de la flore bactérienne, variations pouvant être à l'origine de l'apparition d'affections dont l'importance en médecine vétérinaire est importante.

La première partie de cette étude présentera une approche de la composition de cette flore ruminale, ainsi que les variations non pathologiques de celle-ci en fonction des conditions de milieu. Enfin, l'installation de cette population chez le jeune sera envisagée.

La seconde partie présentera les variations d'ordre pathologiques de cette flore bactérienne, ainsi que les troubles associés à ces modifications chez les ruminants.

PREMIERE PARTIE : Composition et installation de la flore ruminale

I- Rappels d'anatomie et de physiologie du rumen

A- Anatomie du rumen [9], [154]

L'estomac des ruminants occupe les 4/5 de la cavité abdominale, en dehors de la gestation. Il présente un proventricule énorme, divisé en trois compartiments : le rumen, le réticulum et l'omasum, et une portion réellement peptique, équivalente à l'estomac des monogastriques : l'abomasum.

Le rumen, encore appelé panse, est de loin le plus volumineux des réservoirs gastriques des ruminants. Il contient autour de 150 litres chez un bovin adulte, pour un poids vide proche de 7 kilogrammes.

1. Conformation extérieure (figure 1 et 2)

Le rumen à la forme d'un sac, allongé crânio-caudalement, divisé en un sac dorsal et un sac ventral par deux sillons longitudinaux qui courent à mi-hauteur : le sillon longitudinal gauche et le sillon longitudinal droit. Ces deux sillons se rejoignent caudalement pour former le sillon caudal : celui-ci, profond, sépare le cul-de-sac dorsal du rumen et le cul-de-sac ventral du rumen. Ces deux culs-de-sac sont également soulignés par l'existence de sillons verticaux qui partent, en région caudale du rumen, des sillons longitudinaux, et séparent les sacs dorsal et ventral des culs-de-sac correspondants : ce sont les sillons coronaires.

Crânialement, les sillons longitudinaux s'unissent en un sillon crânial, profond, qui délimite dorsalement l'atrium du rumen, largement ouvert sur le réticulum, et ventralement un cul-de-sac, le récessus du rumen.

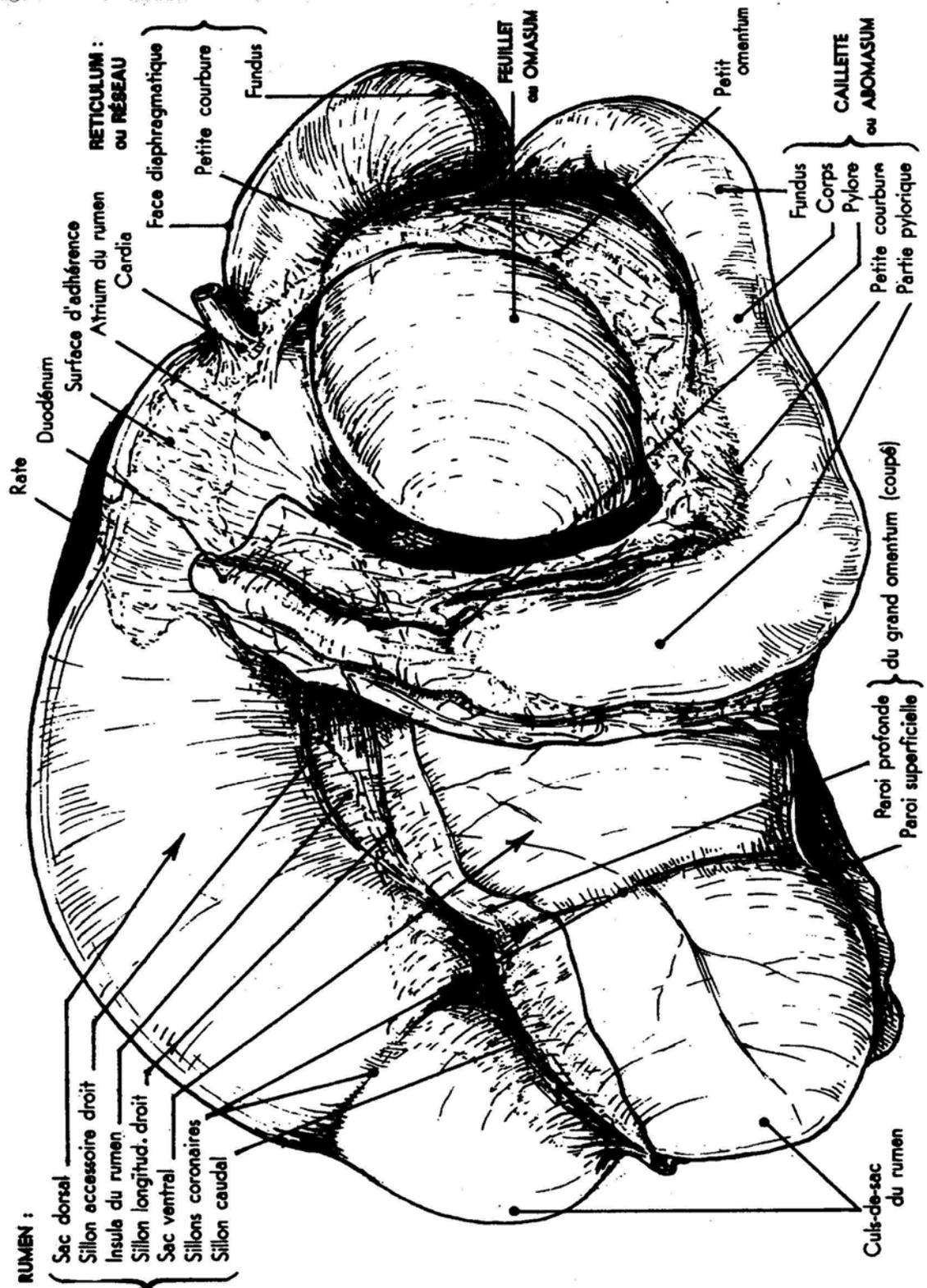
Tout le long des sillons longitudinaux s'insère le grand omentum, qui intervient dans les moyens de fixité du rumen.

Côté droit enfin existe un sillon accessoire qui part du sillon longitudinal droit et se dirige dorsalement et crânialement. Entre ces deux sillons se trouve une région particulière du rumen : l'insula du rumen.

2. Conformation intérieure (figure 3)

Les cavités du sac ventral et du sac dorsal communiquent par un très vaste orifice, l'ostium intraruminal, dont la bordure est formée par d'épais reliefs ou piliers, qui correspondent aux sillons de l'extérieur. Il existe deux piliers principaux, qui forment les bords crânial et caudal de cette

Figure 1: Conformation extérieure du rumen, face droite [9]



ouverture. Forts saillants, ils résultent de l'adossement de la paroi à elle-même autant que du renforcement de sa musculature.

On distingue ainsi le pilier caudal, le plus fort, qui correspond au sillon caudal, et de la même façon, les piliers coronaires, plus faibles, le pilier crânial, plus mince que le caudal mais très saillant, les piliers longitudinaux gauche et droit qui relient les précédents, et le pilier accessoire droit, qui délimite une zone dépourvue de papilles avec le pilier longitudinal droit, l'insula du rumen, déjà mentionnée.

Entre le rumen et le réticulum, il existe également un ostium rumino-réticulaire, large d'environ 20 cm de haut pour 15 cm de large, qui est bordé ventralement par un bourrelet charnu, le pli rumino-réticulaire.

La paroi interne du rumen est tapissée de papilles, celles-ci sont très longues (jusqu'à 1 cm) dans le sac ventral et les culs-de-sac caudaux, mais plus courtes dans le sac dorsal et presque absentes sur les piliers et dans l'insula du rumen.

3. Topographie

Le rumen se projette essentiellement du côté gauche de l'animal. Il s'y étend du 7^{ème} espace intercostal (dont il occupe le tiers inférieur) jusqu'au plis de l'aîne.

Dorsalement, il longe la région sous lombaire gauche. Ventralement, il repose sur la paroi abdominale (à partir du 7^{ème} espace intercostal) en débordant plus ou moins sur le côté droit de la ligne blanche et ce jusqu'en région prépubienne.

Crânialement, il suit la projection de la coupole diaphragmatique jusqu'au 7^{ème} espace intercostal.

Le rumen se trouve ainsi directement appliqué contre la paroi abdominale gauche depuis la ligne d'insertion du diaphragme jusqu'à l'entrée du bassin. Il est, de ce fait, accessible dans toute l'aire du flanc et de la région ventrale gauche, de l'entrée du bassin jusqu'aux limites d'insertion du diaphragme, soit le dernier, la moitié du 11^{ème} et le cinquième du 10^{ème} espace intercostal.

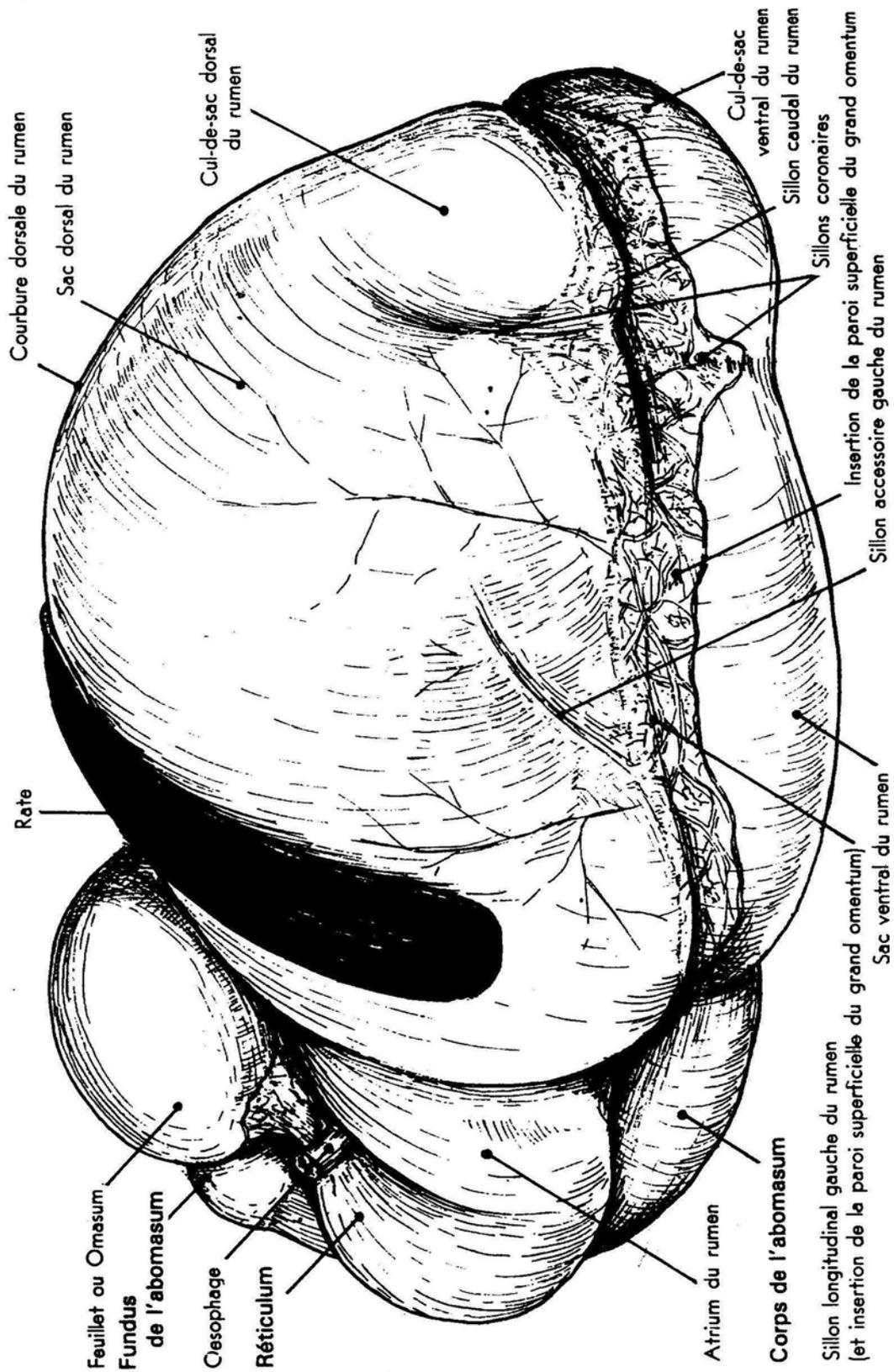
4. Structure

On retrouve dans le rumen les quatre constituants habituels de la paroi gastrique : séreuse, musculuse, sous-muqueuse et muqueuse.

La séreuse enveloppe toute la surface de l'organe, à l'exception des zones d'adhérence déjà signalées, autour desquelles elle se réfléchit sur le diaphragme d'une part, la rate d'autre part. L'adhérence à la musculuse est intime, sauf au niveau des sillons, où s'accumule entre les deux tuniques un conjonctif abondant, chargé de graisse, et où se logent les vaisseaux, les nerfs et les nœuds lymphatiques.

La musculuse est épaisse, formée de fibres lisses auxquelles se mêlent, au voisinage du cardia, quelques fibres striées prolongeant celles de l'œsophage. Elle est composée de deux plans qui résultent en fait d'un remaniement des trois ordres de faisceaux qu'on trouve au sommet du

Figure 2 : Conformation extérieure du rumen, face gauche [9]



fundus des autres espèces. Cette architecture est raccordée à celle du réseau, dont elle est solidaire : le réticulo-rumen constitue une véritable entité fonctionnelle.

La sous-muqueuse est formée d'un conjonctif lâche et assez peu abondant ; elle est mal délimitée de la *propria mucosae*.

La muqueuse n'est pourvue que d'une muscularis mucosae très mince et discontinue, qui se prolonge néanmoins par quelques faisceaux dans l'axe des papilles. La *propria mucosae* est épaisse, résistante, absolument dépourvue de glandes. Elle présente quelques amas lympho-réticulaires et se densifie en profondeur. Elle délègue d'autre part des prolongements dans toutes les papilles, dont elle fournit le support. L'épithélium est stratifié, pavimenteux, avec une couche superficielle nettement kératinisée.

Le réticulo-rumen est un fermenteur animé de mouvements qui par la division des particules alimentaires et par leur mélange facilite l'action microbienne.

B- Conditions de milieu

Le développement des microorganismes du rumen est directement dépendant des conditions physicochimiques du milieu.

1. L'anaérobiose [20]

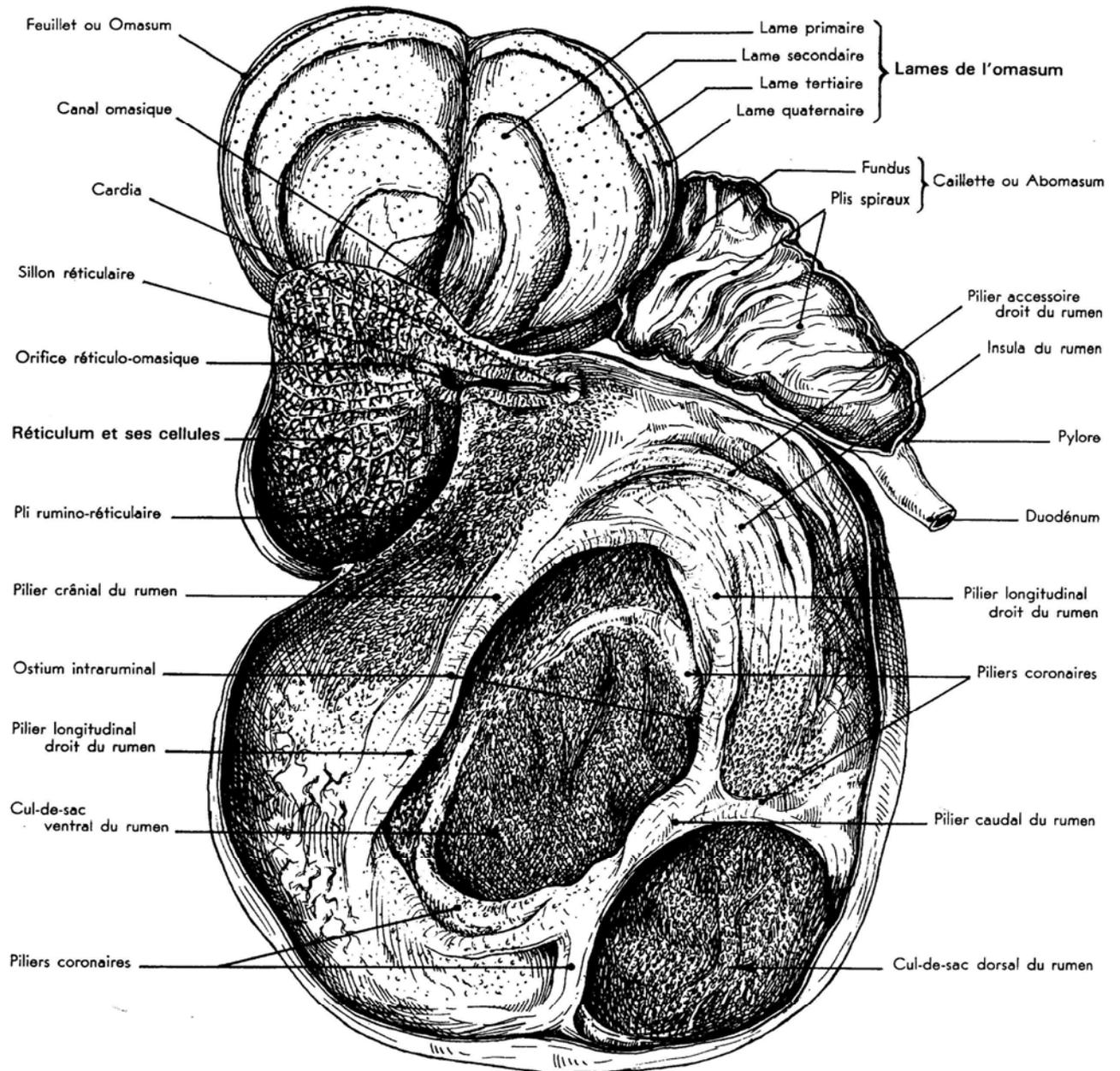
Le milieu ruminal est caractérisé par des conditions d'anaérobiose vraie. Les apports d'oxygène sont faibles (déglutition, diffusion à partir des vaisseaux des parois). Des souches de bactéries aérobies facultatives le font disparaître. Par exemple, bien qu'étant généralement strictement anaérobie, certaines souches de *Selenomonas ruminantium* sont connues pour tolérer une exposition à de faibles quantités d'oxygène. Stewart et Bryant [164] rapportent que Samah et Wimpenny ont démontré la présence d'une NADH-oxydase soluble, supposée réduire l'oxygène en eau ou en H₂O₂. Le superoxyde produit dans cette réaction serait par la suite métabolisé par une superoxyde dismutase, de sorte que l'O₂ ne représente pas 1% des gaz du sac dorsal. La teneur en CO₂ est toujours élevée (60% de la poche des gaz), celles en CH₄ de 27%, 7% en N₂, et 0.2% en H₂ [172]. La majeure partie est éliminée par éructation. Une partie est incorporée dans divers métabolismes bactériens.

Le milieu ruminal est de ce fait très réducteur, et le métabolisme des microorganismes qu'il héberge, de type fermentaire, ce qui permet la libération de composés organiques (acétate, lactate, butyrate, propionate), et non pas de gaz carbonique et d'eau comme dans le cas de la respiration.

2. Le pH [153], [20]

Le pH a un rôle prédominant dans la sélection des microorganismes du rumen et dans l'orientation des fermentations. La valeur du pH du rumen est normalement comprise entre 5,5 et 7,3 [20]. Cette marge est cependant un peu large. Le pH normal ne correspond pas à la neutralité au sens physico-chimique (7,0). Dans le rumen en fonctionnement, il apparaît des acides gras volatils (AGV), et il est normal que la réaction soit légèrement acide (par exemple de 6 à 6,8). Autour de ces valeurs, le pH peut varier sans qu'il y ait parallèlement de troubles, mais cela n'est pas pour autant la normalité. Les causes de variations les plus fréquentes du pH sont les fluctuations alimentaires. Le pH baisse dans la période postprandiale et s'élève pendant le jeûne.

Figure 3: Conformation intérieure du rumen [9]



Les éléments responsables du pH du rumen sont, pour les acides : les AGV et l'acide lactique produits par les fermentations, et pour les bases, les bicarbonates et les phosphates de la salive, ainsi que, le cas échéant, l'ammoniac venant de la protéolyse ou de l'uréolyse.

Compte tenu des quantités de ces éléments et de la valeur du pH, le pouvoir tampon est assuré essentiellement par les bicarbonates. Ceux-ci sont apportés par la salive (un bovin adulte sécrète chaque jour environ 100 litres de salive riche en bicarbonates, à pH = 8). Le pouvoir tampon n'est pas une constante. Il dépendra en grande partie de l'alimentation (qui stimule plus ou moins la production salivaire). Le pouvoir tampon est maximal dans la zone de pH <6, ce qui indique que le contenu ruminal est plus apte à maintenir sa constance dans la zone de légère acidité où il se trouve dans les conditions habituelles [20].

L'influence des variations du pH ruminal sera étudiée par la suite.

3. La température [20]

La température ruminale est supérieure d'au moins un degré par rapport à la température centrale, c'est-à-dire comprise entre 39,5°C et 40°C. Elle peut atteindre 41°C lorsque les fermentations sont très intenses mais aussi chuter de plusieurs degrés après ingestion de grandes quantités d'eau froide : de 5 à 10°C pour une à deux heures.

4. L'humidité [20]

L'humidité est en moyenne élevée (de l'ordre de 85%) ; néanmoins cette valeur n'est pas homogène dans l'ensemble du rumen.

La partie supérieure contient les éléments les plus grossiers, la partie inférieure les particules de petite taille baignant dans un milieu très liquide. L'eau du rumen représente une masse liquidienne plus importante en quantité que l'eau plasmatique et elle peut être utilisée, le cas échéant, comme réserve pour l'organisme.

L'imbibition et la désagrégation progressive des particules alimentaires s'effectuent à la faveur des contractions régulières de la paroi ruminale et des cycles méryciques.

Les apports hydriques sont assurés par l'eau ingérée et par une intense salivation.

5. La pression osmotique [20]

De l'ordre de grandeur de celle du sang, la pression osmotique varie dans une plus grande gamme de 200 à 400 mosm/l.

6. La motricité du complexe gastrique : réseau et rumen [21]

Les pré-estomacs sont animés de mouvements dont l'allure et la fréquence varient avec les phases de repos, d'ingestion, de repas ou de rumination.

6.1 Motricité des pré-estomacs

Le rumen étant fonctionnellement associé au réseau, les deux préestomacs seront étudiés ensemble.

Le réseau est animé de contractions régulières à allure biphasique : une contraction partielle (à l'origine d'une réduction de volume de moitié ou des 2/3), et une contraction totale, qui aboutit à la disparition complète de la lumière de l'organe. La contraction réticulaire se répète de manière régulière, à un peu plus d'une contraction par minute, soit environ 1 contraction pour 55 secondes.

Le rumen ne se contracte pas en masse, mais est animé de mouvements locaux propagés et coordonnés des sacs dorsaux et ventraux. Lorsque l'animal ne mange ou ne rumine pas, la fréquence des contraction est de l'ordre de 3 contractions en 2 minutes [21]. Lors de rumination ou de repas, cette fréquence augmente (passant lors de rumination à environ 5 contractions en 2 minutes, et à environ 7 contractions en 2 minutes lors de repas).

6.2 Notion de cycles moteurs des pré-estomacs

La motricité de l'ensemble réseau-rumen débute par une contraction du réseau qui s'étend ensuite au rumen. On appelle « cycle simple » un cycle dans lequel le rumen ne répond que par une unique contraction à la contraction du réseau : cette contraction est appelée D1 pour le sac dorsal, et V1 pour le sac ventral. Elle se propage d'avant en arrière.

Parfois, pour un même cycle du réseau, il y a une contraction supplémentaire de durée brève, et développant souvent une pression plus forte. Sa position vis-à-vis de la contraction du réseau est plus variable. Elle s'appelle D2 ou V2. Le cycle qui la comporte s'appelle « cycle complexe ».

6.3 Signification

Dans le rumen, il y a une stratification des matériaux. Ceux nouvellement ingérés restent en surface car ils sont de densité plus faible. Les particules dont la digestion est la plus avancée, les plus fines, sont au fond. Au-dessus de l'ensemble se trouve la poche de gaz.

Lors de l'ingestion, les aliments tombent dans le réseau. La contraction D1, dirigée de l'avant vers l'arrière, est à l'origine d'une répartition des aliments, et permet d'éviter que l'encombrement du réseau permettant que les différents transits soient réalisés. La contraction V1 est également dirigée de l'avant vers l'arrière, et assure le brassage du contenu ruminal. Les aliments sont donc repoussés vers l'arrière, et maintenus dans le rumen. Le pilier antérieur et l'atrium permettent de maintenir la masse en arrière et de dégager partiellement le réseau.

La contraction D2 est quant à elle dirigée de l'arrière vers l'avant. Elle assure le rassemblement et le rapprochement de la poche des gaz vers le cardia. Elle est suivie de l'éructation.

Les aliments cellulosiques séjournent dans le rumen aussi longtemps que nécessaire pour assurer leur digestion. Celle-ci est réalisée par la population microbienne.

C- Hôtes du rumen

La micropopulation du rumen se caractérise par son extrême diversité car l'on y trouve un important nombre de bactéries, de protozoaires et de champignons. Les microorganismes présentés dans cette partie ne comprennent pas les bactéries ruminales, qui feront l'objet d'une étude spécifique.

1. Les protozoaires [186]

La majorité des protozoaires retrouvés dans le rumen appartiennent à l'embranchement des ciliés, et représentés par deux groupes, tous les deux de la sous-classe des *Trichostomatia*. Les « holotriches » appartiennent à l'ordre des *Vestibuliferida*, et les « entodiniomorphes » à l'ordre des *Entodiniomorphidés*, sous ordre des *Entodiniomorphinés*, et famille des *Ophryoscolecidés*.

Au sein des Entodiniomorphidés, on retrouve un nombre important de genres : les genres *Entodinium* (un genre difficile à classifier sur la base de l'aspect morphologique [186]), *Eodinium* (dont l'espèce type est *Eodinium lobatum*), *Diplodinium*, *Eremoplastron*, *Eudiplodinium*, *Ostracodinium*, *Polyplastron*, *Diploplastron*, *Metadinium*, *Epidinium*, *Enoploplastron*, *Ophryoscolex*, *Epiplastron*, *Elytroplastron*.

Concernant les Holotriches, les genres rencontrés dans le rumen sont majoritairement *Isotricha* et *Dasytricha*, ainsi que, en moindre nombre, les genres *Oligoisotricha*, *Microcoetus*, *Buetschliidae*, *Parabundleia*, *Polymorphella*, *Blepharoconus* et *Paraisotricidae*. [186]

Le développement des protozoaires dépend du contact avec d'autres ruminants par la salive, l'air et la nourriture. L'établissement permanent est retardé par l'acidité liée à la fermentation d'une partie du lait passant dans le rumen. Cet établissement est complet à l'âge de 9 semaines.

L'ingestion a lieu par phagocytose dans la zone apicale non ciliée, la digestion s'effectuant dans les vacuoles ou vésicules qui en dérivent. Les Entodiniomorphes digèrent les parois cellulaires et les chloroplastes, des enzymes cellulolytiques étant retrouvées chez tous les protozoaires de cet ordre. Néanmoins, la présence de cellulases d'origine bactérienne ne permet pas d'apporter la prévue sans ambiguïté d'une origine ciliée plutôt que bactérienne [186]. Les plus gros protozoaires peuvent dégrader également l'hémicellulose.

D'autre part, les protozoaires jouent un rôle important dans l'hydrolyse de l'amidon, en ingérant les granules d'amidon et les sucres solubles, et en diminuant de ce fait l'accessibilité de ses substrats aux bactéries amylolytiques. L'importance de ce mécanisme sera étudiée plus en détail par la suite.

Les interactions avec d'autres microorganismes sont nombreuses : les protozoaires ingèrent les bactéries endogènes ou exogènes comme source de protéines pour leur synthèse cellulaire. La prédation augmente la concentration en ammoniac et de phosphate et augmente la croissance bactérienne et son efficacité car il y a plus de nutriments utilisables. La défaunation induit une augmentation du nombre de bactéries anaérobies utilisant les glucides. Les protozoaires ingèrent aussi des champignons et d'autres protozoaires pour se fournir en azote et en stérols.

La quantité de protozoaires varie rapidement avec le repas. Ils sont très sensibles à la non nutrition et peuvent disparaître en 2 à 3 jours de diète. La nourriture influence la quantité et la composition en protozoaires. Des ingestions fréquentes favorisent le développement des

protozoaires. Si l'alimentation est riche en glucides, les protozoaires croissent rapidement, puis stockent l'amylopectine assurant une fermentation graduelle qui évite la formation d'acide lactique. Le changement alimentaire doit être progressif au risque d'entraîner la mort des ciliés, sensibles au pH acide.

La nécessité des protozoaires est controversée : ils améliorent la digestibilité, uniformisent la fermentation entre les repas, et seront surtout important pour les faibles rations.

2. Les champignons [172]

Les champignons trouvés dans le rumen sont anaérobies stricts, ce qui est tout à fait exceptionnel dans le groupe des champignons, ne possèdent pas de mitochondries, pas de cytochromes et assurent uniquement la fermentation de tissus celluloseux. On décrit trois espèces qui sont *Neocallimastix frontalis*, *Piromonas communis* et *Sphaeromonas communis*. Il y a 10^3 à 10^5 zoospores par ml de milieu ruminal. Les zoospores s'attachent sur les particules de plantes déjà abîmées, le rhizoïde pénétrant dans les tissus par protéolyse.

Ils colonisent les tissus lignifiés qui restent dans le rumen, diminuent la taille des particules, cassent les structures, et dégradent des tissus mêmes très lignifiés. Les enzymes nécessaires sont extra-cellulaires.

L'activité protéolytique est assurée par des métalloprotéases, ils hydrolysent l'extensine des parois. Ils contiennent beaucoup d'acides aminés (lysine, isoleucine, phénylalanine), dont le contenu en adénine et thymine est important, et à ce titre, les protéines des champignons sont très digestibles.

Les champignons apparaissent 8 à 10 jours après la naissance chez l'agneau, donc avant l'ingestion de nourriture solide. Ils disparaissent chez 80% des agneaux nourris par des concentrés, mais se stabilisent si la nourriture est peu hydratée. Chez l'adulte, le nombre augmente si l'alimentation est riche en fibres.

Les champignons produisent une importante quantité de H_2 et sont donc associés, dans les réactions métaboliques, aux bactéries méthanogènes, bactéries consommatrices de dihydrogène [164]. Les bactéries cellulolytiques diminuent l'activité des champignons. L'élimination des champignons diminue la digestibilité et augmente la proportion de propionate [172].

Les champignons ne sont pas indispensables, parfois absents, et prennent toute leur importance avec les fourrages de mauvaise qualité.

II- Composition de la flore ruminale

La flore ruminale se caractérise par son extrême diversité, le nombre d'espèces bactériennes colonisant le rumen étant important, et présentant des activités enzymatiques variées. Le rumen d'un adulte contient environ 10^{10} cellules bactériennes par millilitre. Les seules bactéries représentent environ 50 % de la biomasse microbienne. Elle est composée essentiellement de bactéries anaérobies strictes non sporulées.

La population bactérienne du rumen a fait l'objet de nombreuses études au cours des 40 dernières années : plusieurs études ont décrit l'isolement et l'identification d'un nombre important

de souches bactériennes provenant de ruminants d'âge, de statut sanitaire, de localisation géographiques et soumis à des régimes différents. Néanmoins, ces descriptions ne permettent pas de refléter la distribution des espèces bactériennes dans le rumen, les méthodes de culture bactériennes ne permettant l'isolement que d'une faible fraction d'espèces ruminales. L'introduction de nouvelles techniques, comme l'analyse des séquences des ARN ribosomiaux (ARNr) 16S, a permis d'évaluer la diversité génétique et les relations phylogénétiques entre les microorganismes sans avoir recours aux techniques de cultures bactériennes.

Les bactéries ruminales ont été classifiées en quatre groupes, en fonction de leur environnement : (1) les bactéries vivant libres, associées à la phase liquide ruminale ; (2) les bactéries associées avec les particules alimentaires ; (3) les bactéries associées à l'épithélium ruminal ; et (4) les bactéries attachées à la surface des protozoaires [45].

A- Présentation des grandes familles. Eléments de digestion microbienne

Par le biais de techniques d'enrichissement et de cultures bactériennes, un nombre important de bactéries ruminales ont pu être isolées. Celles-ci peuvent être regroupées selon le type de substrat vraisemblablement attaqué dans le rumen. Les substrats fermentés par les espèces bactériennes ruminales étant multiples, celles-ci peuvent donc être retrouvées dans différentes niches écologiques (dégradation de la cellulose, de l'amidon, des protéines, ...).

Néanmoins, alors que certains considéraient qu'il existe 22 espèces dominantes de bactéries ruminales [97], l'utilisation d'outils de phylogénie moléculaire apporte de nouvelles perspectives.

1. Les bactéries fibrolytiques

1.1 Les bactéries cellulolytiques

Deux types de bactéries cellulolytiques sont trouvées dans le rumen : des bacilles (parmi lesquelles sont majoritairement isolées *Fibrobacter succinogenes* et *Butyrivibrio fibrisolvens*) [86], [164] et des coques (représentés par *Ruminococcus flavefaciens* et *Ruminococcus albus*).

F. succinogenes, *R. albus* et *R. flavefaciens* sont connues pour être les principales espèces cellulolytiques trouvées dans le rumen [68]. La population cellulolytique représente selon les études entre 4 et 9% de la population bactérienne du rumen [113], et peut même représenter jusqu'à 17% de cette population [110]. L'utilisation d'outils de biologie moléculaire donne des indications permettant de déterminer la composition quantitative de la flore cellulolytique. Ainsi, selon Martin *et al.* [110], ainsi que selon Weimer *et al.* [183], la population des *Ruminococci* (incluant *R. albus* et *R. flavefaciens*) issus de rumen de vaches laitières était plus importante que celle de *F. succinogenes* (avec, dans l'étude de Martin *et al.*, une prédominance de *R. albus*), alors que, chez le mouton, *F. succinogenes* est l'espèce cellulolytique majoritaire, ou tout au moins est présent en quantité équivalente aux *Ruminococci* [113].

1.1.1 Les bacilles cellulolytiques

Deux types de bactéries cellulolytiques en bâtonnet peuvent être trouvés en quantité importante dans le rumen. Il s'agit de *Fibrobacter succinogenes* (anciennement *Bacteroides succinogenes*) et de *Butyrivibrio fibrisolvens*. [86]

Fibrobacter succinogenes, décrit par la première fois par Hungate en 1950 (sous le nom de *Bacteroides succinogenes*) [164] est aujourd'hui considéré comme l'une des principales bactéries cellulolytiques [68]. En première isolement, les bactéries, Gram négatif sont principalement en forme de bâtonnets, mais apparaissent ensuite sous une forme coccoïde, en forme de citron, ou même ovale, avec un diamètre compris entre 0,8 et 1,6 µm. La plupart se présentent seules, mais de courtes chaînes, et même des formations en rosette peuvent être observées. Ses principaux substrats sont la cellulose, la cellobiose, et le glucose, alors que certaines souches fermentent également l'amidon, la pectine, le maltose et le lactose ; les principaux produits de la fermentation étant l'acétate et le succinate [164], ainsi que, en moindre quantité, de l'isovalérate, du propionate et du formate.

L'autre bacille cellulolytique souvent découvert dans le rumen est *Butyrivibrio fibrisolvens*. La forme des cellules varie d'une souche à l'autre. La largeur est comprise entre 0,4 et 0,8 µm, la longueur est généralement de 1,5 à 3 µm. Il s'agit de bactéries Gram négatif, possédant un unique flagelle polaire, et classiquement motiles. Néanmoins, des études utilisant la microscopie électronique ont révélées que les cellules bactériennes présentent une ultrastructure Gram positif [164], ce qui est également soutenu par la sensibilité aux antibiotiques ionophores, caractéristique d'une bactérie Gram positif. Plusieurs souches forment un matériel mucoïde extracellulaire [86], et certaines montrent une capsule distincte. Cette bactérie est l'une des espèces bactériennes prédominantes dans le rumen, et a été isolé à partir de contenus ruminiaux dilués au 1/10⁸ ème.

B. fibrisolvens fermente un grand nombre de sucres, avec des variations importantes en fonction des souches considérées. Ainsi, dix neuf souches cellulolytiques ont été isolées de rumen de moutons, recevant des fourrages de mauvaise qualité. [164]. Ses principaux produits de fermentation sont le formate, le butyrate et l'acétate.

En culture axénique, *B. fibrisolvens* présente normalement une activité cellulolytique inférieure à celles de *F. succinogenes* et des ruminocoques, bien que ceci puisse être due à une perte d'activité liée aux manipulations en laboratoire. L'importance de *B. fibrisolvens* dans la digestion des fibres est mal définie : si son activité est moindre par rapport aux autres bactéries fibrolytiques, le nombre important de souches de *B. fibrisolvens* détectées dans la flore associée aux fibres suggère l'importance de cette espèce bactérienne dans les mécanismes de la digestion fibrolytique.

1.1.2 Les coques cellulolytiques

Ces bactéries constituent un groupe distinct à l'intérieur des bactéries ruminales dégradant la cellulose, caractérisées par une morphologie coccoïde et un diamètre de 0,8 à 1 µm. Elles ont été cultivées en culture pure par de nombreux chercheurs, et peuvent représenter jusqu'à 84% des bactéries cellulolytiques se développant sur gélose à la cellulose.

Il existe un certain nombre de variations entre les souches individuelles. Ainsi, *Ruminococcus flavefaciens* est un coque Gram positif, non motile, d'un diamètre de 0,8 à 0,9 µm, que l'on retrouve seul ou associé par paires ou en chaînes. Un pigment jaune est produit, particulièrement durant la croissance sur cellulose [164]. La majorité des souches de *R. flavefaciens* sont cellulolytiques, bien que d'autres activités fermentaires (fermentation du xylane, de la cellobiose, activité variable selon les souches avec le sucrose, le D-xylose, le L-arabinose, le glucose, le mannose et le lactose) sont présentes chez certaines souches.

Quand à *Ruminococcus albus*, reconnu comme étant l'autre principal coque impliqué dans la digestion des parois végétales dans le rumen, il s'agit d'un coque, Gram négatif à Gram variable, cellulolytique, non motile, d'un diamètre de 0,8 à 2 μm , classiquement retrouvé sous la forme de diplocoque. *R. albus* est caractérisé par des colonies blanches, avec des cellules généralement seules, ou en chaînes courtes. Cette bactérie présente une activité cellulolytique rapide. *R. albus* fermente typiquement la cellulose, la cellobiose et le glucose, et peut fermenter un certain nombre d'autres glucides (sucrose, D-xylose, L-arabinose, fructose, mannose, lactose). Sa croissance requiert de l'ammoniac, et un (ou plus) des acides gras volatils suivant : isobutyrate, isovalérate, 2-méthylbutyrate et n-valérate [86].

Le rôle de *R. flavefaciens* dans la dégradation des parois végétales, établi suite à un certain nombre d'études sur les ruminocoques et d'autres bactéries ruminales, a été en partie élucidé par l'utilisation de la microscopie électronique à balayage. Ainsi, selon Stewart et Bryant [164], Latham *et al.* (1978) ont montré que, lorsqu'elle est mise en incubation avec des feuilles de ray gras anglais, *R. flavefaciens* colonise principalement les faces coupées de l'épiderme et des cellules du phloème. D'autre part, toujours selon Stewart et Bryant, Akin et Rigsby (1985) ont montré que la digestion de l'épiderme et des cellules des gaines périfasciculaire du parenchyme était réalisée par des bactéries attachées. Néanmoins, les bactéries ne s'attachent pas ni aux cellules du mésophylle, rapidement dégradées, ni aux vaisseaux du xylème, indigestible.

Les cellulases et xylanases de *R. flavefaciens* ont été en partie caractérisées (Pettipher et Latham, d'après [164]). Il a été démontré que l'activité polysaccharidasique est extrêmement influencée par le substrat de croissance (Williams et Withers, 1982, d'après [164])

1.1.3 La digestion de la cellulose par les bactéries cellulolytiques

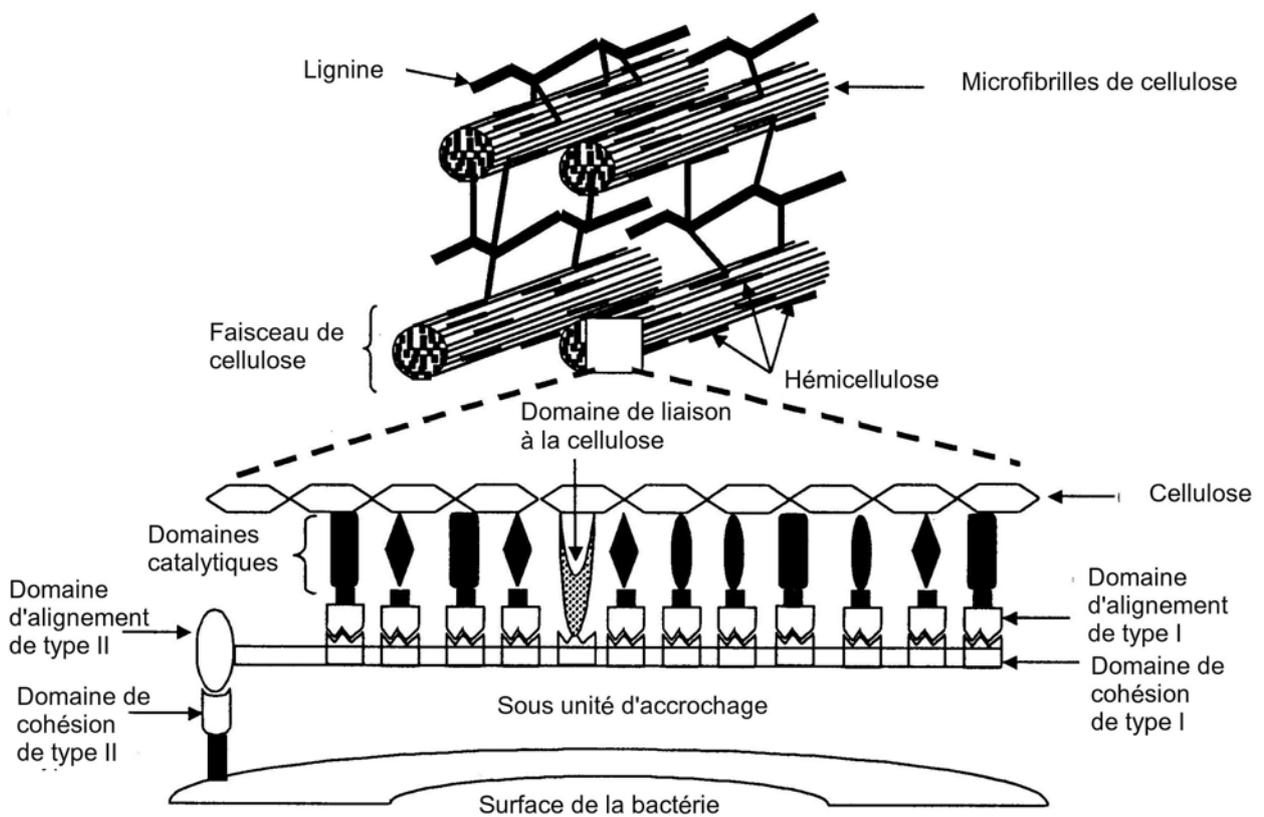
1.1.3.1 Adhésion des microorganismes ruminiaux

Les bactéries, tout comme les champignons et les protozoaires du rumen, colonisent presque toutes les parties des plantes qui pénètrent dans le rumen, à l'exception des surfaces des plantes intactes, qui ne sont colonisé par aucun microorganisme. La principale voie d'entrée de l'invasion semble se faire via les lésions de l'épiderme de la plante [38].

Les bactéries associées aux particules alimentaires sont considérées comme le groupe le plus important dans la dégradation des fibres, du fait de leur prédominance en terme de masse bactérienne, et d'activité endoglucanasique [115]. L'adhésion de la bactérie aux parois cellulaires semble être la première étape du processus de dégradation. Les principales espèces bactériennes s'attachant de la sorte sont les bactéries cellulolytiques *R. albus*, *R. flavefaciens* et *F. succinogenes*. Les espèces de *Ruminococcus* semblent s'attacher de manière lâches, alors que *F. succinogenes* présente une adhésion serrée [38].

L'adhésion de la bactérie à la cellulose au sein de l'écosystème ruminal peut être divisé en 4 phases pour les trois espèces précédemment citées : (1) transport de la bactérie non motile jusqu'au substrat. (2) adhésion non spécifique à la bactérie sur les sites disponibles de la paroi cellulaire. (3) adhésion spécifique grâce à la formation de ligands avec le substrat, formation qui pourrait être facilitée par des structures comme les cellulosomes ou le glycolalyx. (4) prolifération des bactéries attachées sur des tissus potentiellement digestibles [96]. L'adhésion bactérienne peut néanmoins être affectée par un certain nombre de facteurs, comme la nature du substrat, les facteurs environnementaux ou encore la compétition entre microorganismes.

Figure 4: Représentation idéale de la fibre et ses composants (cellulose, microfibrilles, hémicellulose et lignine), dégradés par le complexe cellulose (d'après [96])



L'adhésion de *F. succinogenes* pourrait faire intervenir deux de ses endoglucanases et sa cellobiosidase stimulée par les chlorures. Ces trois enzymes présenteraient un CBM (Carbohydrate-binding module), module se fixant aux glucides. D'autre part, selon Krause *et al.* [96], sept CBP (Cellulose Binding Protein, protéine se liant à la cellulose) sont localisés dans la membrane externe de *F. succinogenes*, et interviendrait dans le processus d'adhésion.

R. flavefaciens adhère immédiatement et de manière forte aux particules fibreuses. Krause *et al.* [96] rapportent que certaines enzymes de *R. flavefaciens* 17 (XynB, XynD, EndA, EstA) peuvent interagir entre elles, et former un complexe cellulosome-like qui pourrait être impliqué dans le mécanisme d'adhésion. Concernant l'autre ruminococque ruminal, des observations au microscope électronique ont apporté certaines preuves de l'existence d'un tel complexe chez *R. albus*. De plus, un rôle des glycoprotéines du glycocalyx est suggéré dans le processus d'adhésion de *R. flavefaciens*.

1.1.3.2 Mécanisme de digestion de la cellulose

Le complexe des enzymes cellulolytiques comprend 3 principaux types d'enzymes qui fonctionnent en synergie pour hydrolyser la cellulose cristalline. Il s'agit des endo- β -glucanases, des exo- β -glucanases (uniquement retrouvées chez des champignons anaérobiques dans le rumen) et des β -glucosidases. Le mode d'action de chaque enzyme est le suivant : les endoglucanases, 1,4- β -D-glucan glucanohydrolases et carboxyméthylcellulase scindent de manière « aléatoire » les chaînes de cellulose en glucose et en cello-oligosaccharides. Puis les exoglucanases et 1,4- β -D-glucan cellobiohydrolases réalisent une dissociation d'unités de cellobiose à partir de l'extrémité non réductrice de la chaîne. Enfin, les β -glucosidases et cellobiases réalisent l'hydrolyse de la cellulose en glucose [96]. L'inhibition par les produits terminaux, liée à une accumulation de cellobiose, est prévenue par l'action de la β -glucosidase. La figure 5 récapitule les différents mécanismes de dégradation de la cellulose par les enzymes ruminales.

F. succinogenes, *R. albus* et *R. flavefaciens* sont connues pour être les principales espèces cellulolytiques trouvées dans le rumen [68]. Chesson et Forsberg rappellent que Yu et Hungate (1979) ont isolés de *R. albus* souche 6, cultivés sur un milieu contenant du jus de rumen, 4 cellulases d'un poids moléculaire compris entre 39 000 et plus de 6×10^5 daltons, alors que Woods *et al.* ont isolé de la souche SY3 une unique endoglucanase de faible poids moléculaire (30 000 daltons), et un agrégat relié aux parois cellulaires de haut poids moléculaire ($1,5 \times 10^6$ daltons). Le poids moléculaire de l'enzyme semble être dépendant des conditions de culture bactérienne. [38]. Lorsque les bactéries étaient mises en culture sans jus de rumen, ou lorsqu'elles avaient atteint la phase stationnaire de croissance sur la cellulose, la majorité des enzymes présentes dans le milieu de culture était de faible poids moléculaire, alors que les milieux contenant du jus de rumen, ou de la cellobiose, présentaient surtout des agrégats de haut poids moléculaire. Chesson et Forsberg rapportent que Stack et Hungate (1984) ont découvert que l'acide 3-phénylpropionique, présent dans le contenu ruminal, est à l'origine chez *R. albus* d'une croissance plus rapide, et de la synthèse d'une cellulase associée à la membrane, de haut poids moléculaire. L'acide 3-phénylpropionique n'a d'effets ni sur *R. flavefaciens* ni sur *F. fibrisolvens*.

Une cellobiosidase extracellulaire, et deux β -glucosidases liées à la membrane ont été isolées de *R. albus*. [38], [96]. La cellobiosidase isolée, qui clivait la *p*-nitrophenylcellobioside en cellobiose et en *p*-nitrophenol, était un dimère avec une sous unité d'un poids moléculaire de 100 000 daltons. Elle présentait une faible activité vis-à-vis de la cellulose, et aucune fonction ne lui

a été attribuée. La β -glucosidase était quant à elle faiblement associée à la surface de la cellule. Son poids moléculaire était de 82 000 daltons. En raison de sa localisation membranaire, elle a été supposée jouer un rôle d'amélioration de la capture de la cellobiose. [38]. D'autre part, Krause *et al.* rapportent que 9 endoglucanases distinctes ont été caractérisées chez *R. albus* [96].

Les caractéristiques des cellulases de *R. flavefaciens* ont été étudiées par Pettipher et Latham (1979). Leur pH optimum est compris entre 6,4 et 6,6, alors que l'optimum de température se trouve entre 39 et 45°C. Le poids moléculaire de l'enzyme libre, issu de culture provenant de milieu défini (contenant de l'acide phénylacétique) est compris entre $2,5 \times 10^4$ et 3×10^6 daltons. L'activité cellulastique est d'abord de type associé aux cellules lors de la phase de croissance exponentielle, mais on observe une accumulation d'enzymes extracellulaires pendant la phase stationnaire. *R. flavefaciens* FD-1 possède une exoglucanase, une cellodextrinase, trois enzymes portant des domaines estérasiqes et au moins quatre glucanases. Trois des gènes codant pour ces glucanases (*celB*, *celD* et *cel E*) sont inductibles, alors que l'une des endoglucanases (*celC*) et la cellodextrinase de FD-1 (*celA*) sont exprimées « constitutivement » [96]. Les conditions de cultures ne semblent pas affecter grandement la quantité d'endoglucanases associés aux cellules. D'autre part, il semblerait que les cellulases de *R. flavefaciens* comprendraient une (des) endoglucanase(s) nécessitant un cation divalent, et une (des) enzyme(s) cellobiohydrolase-like [38].

F. succinogenes est l'une des bactéries ruminales les plus actives dans la dégradation de certaines formes de cellulose, comme les fibres de coton, ou la poudre de cellulose. Elle produit de grandes quantités d'endoglucanase et de β -glucosidases : selon Krause *et al.* [96], au moins 7 endoglucanases différentes et deux β glucosidases ont été découvertes chez *F. succinogenes* souche S85. Selon Chesson et Forsberg, plus de 60% des endoglucanases produites par des cultures de *F. succinogenes*, en phase stationnaire, poussant avec de la cellulose comme source de carbone, sont extracellulaires. Ces dernières sont présentes avec une forme de faible poids moléculaire, associés avec des structures allant de 45 000 daltons (28-38%) à de gros agrégats non sédimentables d'un poids moléculaire supérieur à 4×10^6 daltons (9-13%), et avec des fragments de membranes sédimentables (50-62%) [38]. Chesson et Forsberg rapportent que Mc Gavin et Forsberg ont isolé une endoglucanase de la fraction de faible poids moléculaire, qui présentait un poids moléculaire de 64 400 avec un pH optimal de 7, et une température optimale de 39°C. Elle clive la cellulose « gonflée par l'acide », et donne principalement de la cellootriose et de la cellobiose comme produits d'hydrolyse. Les bibliothèques génomiques ont révélé les gènes de l'endoglucanase *endB*, *celD*, *celE*, *cel F* et *cel G*. Un gène pour une β glucanase a également été cloné et caractérisé [96].

Une cellobiosidase extracellulaire, stimulés par les chlorures, et une cellodextrinase ont également été décrite chez *F. succinogenes* [96]. La fonction de la cellobiosidase extracellulaire n'a pas encore été bien caractérisé, bien que l'on sache qu'il clive les cello-oligosaccharides de C₃ à C₆, et hydrolyse lentement la cellulose « gonflée par l'acide » pour donner de la cellobiose. La cellodextrinase dégrade également les cello-oligosaccharides (C₃ à C₆), mais n'a pas d'activité sur la cellulose « gonflée par l'acide ». Selon Chesson et Forsberg [38], la cellodextrinase aurait une action d'hydrolyse des cellodextrines, qui pénétreraient dans le périplasma à travers les pores de la paroi, et produirait du glucose et de la cellobiose facilement transportable à l'intérieur de la cellule.

Bien que des souches cellulolytiques de *Butyrivibrio* ont été isolée par le passé, il semble que cette activité soit faible, en comparaison par exemple de son activité dans la fermentation du xylane. Ainsi, un petit nombre d'endoglucanases ont été décrite. Seules certaines souches produisent des cellulases. *Butyrivibrio fibrisolvens* souche H17c contient une endoglucanase, une cellodextrinase,

une β -glucosidase. L'intervention de *Butyrivibrio* dans la digestion de la cellulose est moindre en comparaison de celles de *F. succinogenes*, *R. albus* et *R. flavefaciens*.

Certaines études, basées sur l'analyse de l'effet d'une supplémentation en orge sur l'activité des enzymes celluloliques, montrent que, si les activités polysaccharidasiques diminuent en réponse à la supplémentation, les activités glucosidasiques ne sont pas systématiquement déprimées par cet apport, ce qui confirme le fait que cette activité est bien représentée dans la flore de l'écosystème ruminal [110].

1.2 Les bactéries hémicellulolytiques

L'hémicellulose, qui représente près de 37-48% des parois de la plante, présente une structure très complexe, avec le xylane présent comme l'un des principaux polymères. Les principales bactéries hémicellulolytiques sont *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Prevotella ruminicola*, ainsi que les *Ruminococci* [172]. La figure 7 présente les sites d'actions des enzymes hémicellulolytiques.

Les xylanases présentent une répartition plus large que les cellulases parmi les bactéries ruminales. Les microorganismes produisent généralement plus d'une xylanase. Ainsi, quatre gènes codant pour des endoglucanases ont été clonés et caractérisés chez *F. succinogenes* [96]. Une activité xylanase est également attribuée à *R. albus*, à *R. flavefaciens* (chez qui 4 gènes codant pour des xylanases ont été mis en évidence), *Butyrivibrio fibrisolvens* (qui est considéré comme présentant une très importante activité de dégradation du xylane) et *Prevotella* [96]. Enfin, des bactéries appartenant au genre *Eubacterium* ont été isolées du rumen, et présentaient une activité de dégradation du xylane. Il s'agit d'*Eubacterium ruminantium* (bacille court, non motile) et d'*Eubacterium xylanophilum* [164].

D'autre part, les β -glucosidases et les α -L-arabinofuranosidases sont essentielles pour la dégradation complète des fragments oligomériques produits par l'hydrolyse réalisée par les enzymes polysaccharidasiques ; elles sont distribuées de manière large au sein de la microflore ruminale. Des interactions entre les glycanases et les glucosidases hémicellulolytiques des bactéries ruminales ont été caractérisées. Ainsi, Chesson et Forsberg [38] rapportent que Greve *et al.* (1984) ont purifié une α -arabinofuranosidase et une β -xylanase à partir de *R. albus*, et ont démontré que la coopération de ces deux enzymes permettait une dégradation 5,2 fois plus rapide que les deux enzymes agissant séparément.

1.3 Les bactéries pectinolytiques

La digestion de la pectine est assurée par un certain nombre de bactéries, parmi lesquelles *Lachnospira multiparus*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Prevotella ruminicola* (selon Stewart et Bryant, l'activité fermentaire vis-à-vis du xylane et de la pectine est plus fréquente et plus importante chez les souches de *P. ruminicola* subsp. *ruminicola* que chez subsp. *brevis* [164]), *Succinivibrio dextrinosolvans*, *Treponema bryantii* et *Streptococcus bovis* [172]. Les enzymes pectinolytiques sont divisés en 2 principaux groupes : les pectinestérases, qui catalysent la dégradation du méthanol, et les enzymes de dépolymérisation, qui sont soit des hydrolases, soit des lyases.

Les souches de *Lachnospira multiparus*, pectinolytiques, se présentent sous la forme de bacilles incurvés Gram positif (bien que les bactéries se colorent fréquemment en Gram négatif, l'ultrastructure de la paroi est celle d'une bactérie Gram positif – Cheng *et al.*, 1979, d'après [164]-)

d'environ 0,5 µm de large sur 2-4 µm, motile (par l'intermédiaire d'un flagelle latéral). *L. multiparus* a été détecté en grande quantité dans le rumen de bétail nourri à l'aide de fourrages de légumineuses (Bryant *et al.*, d'après [164]). Stewart et Bryant [164] rapportent qu'au cours d'une étude sur les enzymes pectinolytiques de *L. multiparus*, Silley (1985) ont détecté une activité pectinestérasique et une pectinlyasique mais pas d'activité polygalacturonasique.

1.4 Apport de la biologie moléculaire à la compréhension de la flore fibrolytique

L'utilisation de l'analyse moléculaire de l'ARNr 16S permet de mieux appréhender les membres du consortium fibrolytique. Ainsi, Koike *et al.* [94] ont montré que la majorité des clones séquencés issus de bactéries associées aux fibres appartiennent aux phyla *Cytophaga-Flexibacter-Bacteroides* (CFB) (43%) et LGCGPB (low G+C Gram-positive bacterial) (44%). Le phylum CFB regroupe notamment, parmi les bactéries ruminales, le groupe des *Prevotella*, celui des *Bacteroides* [141]; alors qu'on retrouve dans le phylum LGCGPB des espèces telles que *B. fibrisolvans*, *S. ruminantium*, ... Les résultats de l'étude de Koike *et al.* révèlent que, étant donné le nombre important de clones retrouvés, *B. fibrisolvans* joue un rôle très important dans la dégradation des fibres dans le rumen. D'autre part, le grand nombre d'espèces de *Prevotella* retrouvées suggère que, bien que ces espèces ne dégradent pas les parois cellulaires (mais certaines souches possèdent une activité endogucanasique et xylanasique), une intervention indirecte de ces bactéries dans la dégradation des fibres, probablement en fermentant les oligosaccharides et le xylane, est probable [94].

Des interactions positives entre bactéries cellulolytiques et non cellulolytiques ont été observées *in vitro* lors de dégradation de cellulose. [65] Ainsi, Koike *et al.* ont montré que parmi les bactéries liées aux fibres, 6 clones étaient affiliés à des bactéries ruminales non cellulolytiques, telles que *Selenomonas ruminantium*, *Succinivibrio dextrinosolvans*, *S. succinovorans* et *Pseudobutyrvibrio ruminis*. Ces résultats indiqueraient que la communauté bactérienne associée aux fibres ne comprend pas que des espèces fibrolytiques mais aussi des espèces non fibrolytiques, et que la dégradation des fibres serait accélérée par les interactions entre les bactéries fibrolytiques, et les non fibrolytiques [94]. La communauté bactérienne associée aux fibres est donc composée de souches fibrolytiques et de souches non fibrolytiques, et les séquences reliées à *Prevotella* et à *Butyrvibrio fibrisolvans* forment de larges groupes au sein de l'arbre phylogénétique.

2. Les bactéries amylolytiques

2.1 Caractéristiques bactériologiques des principales bactéries amylolytiques

Un certain nombre des bactéries cellulolytiques ruminales sont également amylolytiques (comme certaines souches de *F. succinogenes*, et la plupart des souches de *B. fibrisolvans*). Les espèces non cellulolytiques – *Streptococcus bovis*, *Ruminobacter amylophilus*, *Prevotella ruminicola*, *Succinimonas amylolytica* et *Selenomonas ruminantium* – comprennent de nombreuses souches dégradant l'amidon.

Les souches de *Streptococcus bovis* rassemblent des coques ou des coccobacilles à Gram positif, immobiles, non sporulés, groupés par deux ou en courtes chaînes, aéro-anaérobies, homo fermentaire, catalase négative, poussant sur gélose MRS (milieu semi sélectif communément utilisé pour la mise en culture de bactéries produisant de l'acide lactique) sans produire de gaz, ne cultivant pas à 10 °C. [61]. D'autres part, les souches de *S. bovis* possèdent l'antigène du groupe D de Lancefield. Les colonies sont de petite taille, non pigmentées ou légèrement crème et sont alpha

hémolytiques ou non hémolytiques sur une gélose au sang frais. *S. bovis* présente une certaine capacité d'acido-résistance, même si celle-ci est inférieure à celle des lactobacilles. : ainsi on retrouve *S. bovis* à des valeurs de pH ruminal proches de 5,5-5. Si le pH décroît encore, et passe sous le seuil de 5, la persistance de *S. bovis* devient impossible [48].

Les principaux substrats fermentés par *S. bovis* sont l'amidon, certains glucides simples (maltose, cellobiose, sucrose, glucose, fructose, galactose, mannose, lactose), mais pas la cellulose. Dans des tubes de gélose à l'amidon, inoculés avec des dilutions suffisantes de contenu ruminal, et incubés à 39°C, les colonies de *S. bovis* apparaissent invariablement les premières, suivi de près par celles de *Butyrivibrio* [86]. Le principal produit de ce type de fermentation est le lactate. Néanmoins, d'après Stewart et Bryant, Russel a démontré que *S. bovis* est capable de croître en utilisant des cellodextrines dérivées de la cellulose. Ainsi, cette bactérie est capable de survivre dans le rumen d'animaux uniquement nourris de fourrage. Lorsque le régime est à base de foin, *S. bovis* croît lentement et produit essentiellement de l'acétate, du formate et de l'éthanol [144]. En présence d'amidon, il augmente sa vitesse de multiplication et dévie son métabolisme vers l'acide lactique. Cette réorientation du métabolisme est liée à un excès d'équivalents réducteurs, provoqué essentiellement par la disparition des bactéries méthanogènes dès que le pH descend en dessous de 6, ce qui est à l'origine d'une altération de la régulation cellulaire de la lactate déshydrogénase [48]. De plus, lorsque le pH ruminal devient trop faible, cette chute du pH extracellulaire entraîne une baisse du pH intracellulaire ce qui augmente l'efficacité de la lactate déshydrogénase [146].

S. bovis présente un intérêt particulier par son rôle dans le développement de l'acidose lactique chez les ruminants, domestiques mais aussi sauvages, nourris avec un excès d'amidon [164], [72]. Le rôle de *S. bovis* dans cette affection, d'abord identifié par Hungate *et al.* en 1952, a depuis été décrit avec précision (voir « acidose lactique » dans la seconde partie de ce travail), et permis la présentation d'un scénario bactériologique au développement de l'acidose lactique.

D'autres espèces bactériennes sont capables de dégrader l'amidon, notamment *Ruminobacter amylophilus*, *Succinomonas amylolytica*, *Selenomonas ruminantium* ou encore *Prevotella ruminicola*. Ainsi, *Prevotella ruminicola*, anciennement *Bacteroides ruminicola*, possède deux sous-espèces présentant une activité amylolytique : *P. ruminicola* subsp. *ruminicola* et *P. ruminicola* subsp. *brevis*. La sous-espèce *ruminicola* est exigeante en hémine et elle est divisée en 8 biovars alors que la sous-espèce *brevis*, non exigeante en hémine, est divisée en 3 biovars. [61] Il s'agit de bacilles à Gram négatif, polymorphes, de 0,8 à 1,0 µm de diamètre sur 0,8 à 8,0 µm de longueur, immobiles, non sporulés, anaérobies stricts, à métabolisme modérément fermentatif. *P. ruminicola* inclue des souches dégradant l'amidon, et d'autres inactif vis-à-vis de ce substrat. Les principaux produits de fermentation sont le succinate, l'acétate et le formate. D'après Hungate [86], *Prevotella ruminicola* représente de 6 à 19 % des colonies retrouvées sur des géloses au glucose et à la cellobiose ensemencées avec du fluide ruminal provenant d'animaux soumis à différents régimes alimentaires, et semble être plus nombreux lorsque l'animal reçoit des rations peu riches en amidon (représenterait 64% des bactéries digérant l'amidon cultivable lorsque l'animal reçoit de la paille, mais seulement 10% des bactéries amylolytiques si l'animal est nourrit avec du grain).

Ruminobacter amylophilus (anciennement *Bacteroides amylophilus*) a été décrit la première fois par Hamlin et Hungate (1956). Les souches de *R. amylophilus* rassemblent des bacilles ovales ou de longs bacilles, Gram négatif, immobiles, fermentant les sucres en produisant du succinate, de l'acétate et du formate ainsi que de très faibles quantités de lactate et d'éthanol. Ammoniac et dioxyde de carbone sont nécessaires à sa croissance. Il s'agit d'une bactérie dégradant l'amidon, qui, à l'instar des coques cellulolytiques, est incapable de digérer le glucose. Les bacilles s'attachent à

l'amidon lors de sa digestion. Les caractéristiques de cette espèce indiquent que la niche occupée dans le rumen est celle de la décomposition de l'amidon. *R. amylophilus*, classiquement présent en faible quantité, est isolé du rumen des bovins lorsque la ration est riche en amidon et il peut alors représenter jusqu'à 10 p. cent de la flore ruminale. [61]

Les souches de *Succinimonas amylolytica* se présentent sous la forme de bacilles droits ou de cocco-bacilles aux extrémités arrondies, de 1,0 à 1,5 μm de diamètre sur 1,0 à 3,0 μm de longueur, Gram-négatif, mobiles grâce à une unique flagelle, pouvant utiliser le glucose, le maltose, la dextrine ou l'amidon comme source d'énergie. [61] *S. amylolytica* est présente dans le rumen des bovins nourris avec des fibres et des grains. Cette espèce représente au maximum 6 p. cent de la flore ruminale. Aucun pouvoir pathogène n'a été attribué à cette espèce. Elle semble occuper la même niche écologique que *R. amylophilus* [86].

Concernant *Selenomonas ruminantium*, il s'agit de bacilles courbes, en forme de croissant, Gram-négatif, d'une taille de 0,9-1,1 μm sur 3-6 μm , et motile grâce à un ensemble linéaire de 16 flagelles attachés au milieu de la face concave de la cellule. La culture de *S. ruminantium* dans un milieu contenant un excès de glucose sous des conditions de phosphate limitant entraîne une disparition des flagelles, et l'apparition d'une forme spiralée. [164] Les principaux substrats attaqués par *S. ruminantium* sont le maltose, la cellobiose, le D-xylose, le L-arabinose, le glucose, le fructose, le galactose, le mannose, le lactose et le mannitol. Certaines souches sont actives vis-à-vis de l'amidon, du sucrose, du glycérol et du lactate. Les produits de fermentation majoritairement formés sont le lactate, le propionate et l'acétate, ainsi que de faibles quantités de succinate, de dihydrogène et de dioxyde de carbone [164].

2.2 Mécanismes de dégradation de l'amidon par la flore amylolytique ruminale

Au contraire des protozoaires, les bactéries amylolytiques sont trop petites pour ingérer les grains d'amidon, ou même l'amidon de haut poids moléculaire. Les bactéries doivent sécréter des amylases, produire des amylases associées à la surface, ou utiliser d'autres mécanismes à la surface de la cellule, afin d'hydrolyser l'amidon en malto-oligomères qui eux peuvent être transportés à l'intérieur de la cellule. Le tableau 1 résume la distribution des amylases parmi les bactéries ruminales. Les bactéries sont listées par espèces dans ce tableau afin d'illustrer que, à l'exception de *Ruminobacter amylophilus*, aucune ne présente une distribution de l'activité amylolytique constante. Les bactéries produisent souvent différentes enzymes amylolytiques (tableau 2).

La présence d'amylase a été montrée dans les fluides extracellulaires de certaines souches de *S. bovis*. L'analyse des types d'amylases trouvées dans ces milieux extracellulaires a montré qu'une α -amylase était rapidement détectée, mais qu'aucune pullulanase ni β -amylase ne l'étaient [95]. La présence extracellulaire de cette enzyme n'était probablement pas due au relargage suite à la lyse de la bactérie : en effet, Walker *et al.*, d'après [95], ont montré dans le même temps que la transglucosylase, enzyme intracellulaire responsable de la production de granules iodophiles intracellulaires, n'était pas présente dans le fluide extracellulaire. D'autre part, deux α -amylases liées à la cellule ont été détectées. L'une n'hydrolysait pas les granules d'amidon, et était probablement localisée dans la membrane cytoplasmique ; alors que la seconde α -amylase liée à la cellule, et l' α -amylase extracellulaire présentaient des profils semblables. Le principal produit de fermentation de l'amidon était le maltotriose [95]. D'autre part, le transport du maltose et du glucose, ainsi que la présence d'une maltase dont l'action est inductible, ont été démontrés pour la souche *S. bovis* JB1, mais la question de l'existence d'autres amylases qui cliveraient les malto-oligomères formés par l' α -amylase avant de pénétrer dans la cellule demeure toujours [95].

L'hydrolyse de l'amidon par *R. amylophilus* a également été étudiée en détail. Dans des cultures contenant de l'amidon, une activité amylasique était détectée dans les milieux de culture durant tout le cycle de croissance. La lyse cellulaire était importante pendant la phase stationnaire, et l'activité amylasique augmentait en même temps que la turbidité de la culture bactérienne diminuait (probablement due à la lyse bactérienne) [94]. Une amylase a été purifiée, présentant un pH optimum de 6,3, une température optimum de 43°C et une masse moléculaire de 92 000 daltons. L'enzyme hydrolysait l'amylose, l'amylopectine et les granules d'amidon.

Dans des études visant à déterminer la localisation des amylases dans des cellules de *Prevotella ruminicola* souche 23, B₁4 et 118B, les activités amylasiques et pullulanasiques présentent dans les milieux extracellulaires étaient variable, et généralement inférieures à 10 % de l'activité total [94] (ces valeurs ne semblent pas être liées à la lyse cellulaire). La plupart des amylases solubles sont probablement localisées dans l'espace périplasmique.

Peu d'études ont été réalisées sur la régulation de l'utilisation de l'amidon par les bactéries ruminales. Certaines ont montré que la plupart des espèces testées présentaient une activité amylasique supérieure lorsqu'elles poussaient sur un milieu contenant de l'amidon ou du maltose par rapport à un milieu contenant du glucose [94]. Néanmoins, les études examinant les mécanismes de la régulation des amylases manquent. Selon toute vraisemblance, beaucoup de bactéries ruminales synthétisent des amylases qui sont inductibles, et sujettes à une inhibition par le glucose et les autres sucres. L'exception notable pourrait être *Ruminobacter amylophilus*, qui ne fermente pas le glucose, et utilise un nombre restreint de sucres.

3. Les bactéries utilisatrices de glucides simples

Au sein de la microflore ruminale, un nombre important d'espèces bactériennes sont capables de dégrader les glucides simples (on citera par exemple *S. ruminantium*, *S. bovis*, *B. fibrisolvans*, certaines souches de *Succinivibrio dextrinosolvans* et de Ruminocoques). Néanmoins, un groupe d'espèces au sein de ce pool de bactéries fermentant les sucres, n'a pas encore été abordé : il s'agit des lactobacilles, dont l'intervention dans la compréhension de la physiopathologie de l'acidose lactique ruminale justifie que l'on s'y arrête. Ainsi, chez des animaux recevant de grandes quantités de glucides rapidement fermentescibles, les lactobacilles prolifèrent souvent, en compagnie de *S. bovis*, créant ainsi des conditions de milieu très acide [75]. Selon Stewart et Bryant [164], les deux principaux lactobacilles sont *Lactobacillus ruminis*, et *Lactobacillus vitulinus*.

L. ruminis est un bacille, motile grâce à un flagelle péritriche, Gram positif, produisant de l'acide lactique (principalement l'isomère L). Les principaux substrats attaqués sont le maltose, la cellobiose, le sucrose, le glucose, le fructose, le galactose, le mannose et le lactose. *L. vitulinus* présente un profil fermentaire proche de celui de *L. ruminis*, à l'exception près que *L. vitulinus* produit l'isomère D de l'acide lactique [164].

Les lactobacilles sont capables de persister, et de se multiplier à des valeurs de pH faible, pouvant être inférieures au seuil de 5 : il s'agit des rares bactéries ruminales acido-résistantes. Ainsi, à des valeurs de pH extrêmement faible, la flore ruminale est quasiment réduite à une monoculture de lactobacilles. [144]

D'autre part, les *Spirochaetes*, et notamment *Treponema bryantii*, présentent dans la littérature [167] une part importante au sein de la population saccharolytique. Il s'agit de bactéries en forme de

Tableau 1 : Distribution des amylases entre les cellules et les milieux extracellulaires pour les espèces amylolytiques du rumen (d'après [95])

Souche	Distribution des amylases entre :	
	Cellule	Milieu extracellulaire
		%
<i>P. ruminicola</i> 23	90	10
<i>P. ruminicola</i> B ₁₄	49	51
<i>P. ruminicola</i> 2-27	65	35
<i>P. ruminicola</i> 7-35	60	40
<i>Bifidobacterium thermophilum</i> A3	54	47
<i>B. thermophilum</i> A6	10	89
<i>B. fibrisolvens</i> A38	92	8
<i>B. fibrisolvens</i> 49	95	6
<i>B. fibrisolvens</i> 7-15	22	78
<i>B. fibrisolvens</i> 7-22	7	93
<i>S. bovis</i> A30	21	79
<i>S. bovis</i> JB1	78	22
<i>S. amylolytica</i> 2-9	10	90
<i>R. amylophilus</i> H18	59	41
<i>R. amylophilus</i> 7-6	41	59

Tableau 2 : Enzymes amylolytiques microbiennes

Enzyme	Mécanisme d'hydrolyse	Type d'amidon servant de substrat ¹			
		Granules	Amylopectine	Amylose	Oligomères ²
α -amylase	endo- α -1,4	v	+	+	+/-, v
Maltohexaohydrolase	exo- α -1,4	n.r	+	+	-
Maltotetraohydrolase	exo- α -1,4	n.r	+	+	-
β -amylase	exo- α -1,4	v	+	+	+
α -glucosidase	exo- α -1,4	-	+/-, v	+/-, v	+
Glucoamylase	exo- α -1,4	v	+	+	+
	exo- α -1,6				
Pullulanase	endo- α -1,4	n.r	+	-	-
Isoamylase	endo- α -1,4	n.r	+	-	-

¹ + : hydrolysé ; - : non hydrolysé ; +/- : taux d'hydrolyse lent par rapport à d'autres substrats ; v : dépendant de la source enzymatique ; n.r : non rapporté

² glucans avec une liaison α -1-4 présentant moins de 5 résidus glucose

bâtonnets hélicoïdaux Gram négatif, typiquement de 3-8 μm de longueur, motile. *T. bryantii* dégrade la plupart des sucres (à l'exception du fructose), la pectine et la cellobiose [164].

4. Les bactéries utilisatrices d'acide

Au sein des bactéries ruminales utilisatrices d'acides, un certain nombre d'entre elles est capable d'utiliser le lactate. De par l'importance de l'acide lactique dans la physiopathologie de l'acidose, ces espèces bactériennes seront étudiées séparément. Il s'agit principalement de *Selenomonas ruminantium*, *Megasphaera elsdenii* et *Veillonella parvula*.

Comme vu précédemment, un certain nombre de souches de *Selenomonas ruminantium* fermentent le lactate : ces souches sont placées dans une autre sous-espèce (*S. ruminantium* subsp. *lactilytica*) que celles qui ne le font pas (*S. ruminantium* subsp. *ruminantium*). [164] Les produits de fermentation du lactate sont le propionate, l'acétate et le dioxyde de carbone. *S. ruminantium* subsp. *lactilytica* requiert du n-valérate pour croître sur du glucose, mais n'en a pas besoin pour grandir sur du lactate. En cas de croissance sur du lactate, l'acide para-aminobenzoïque (PABA) et l'aspartate semblent être nécessaires.

D'autre part, Stewart et Bryant [164] rapportent que Elsdén *et al.* ont isolés des coques Gram négatifs, non motiles, d'un diamètre de 2,4 sur 2,6 μm , retrouvés par paires ou sous forme de chaînes de plus de 20 bactéries. Il s'agit de *Megasphaera elsdenii*. Cette espèce est principalement retrouvée dans le rumen de jeunes animaux, et chez des bêtes recevant des rations riches en grains, pour lesquelles la production de lactate est considérée comme importante. Les produits terminaux de fermentation varient en fonction du substrat : dans le cas du lactate, celui-ci est principalement fermenté en butyrate, propionate, isobutyrate, valérate, dioxyde de carbone et un peu de dihydrogène [164]. Cette espèce n'est pas sujette à une régulation négative de son activité par des catabolites, comme le glucose et le maltose. De ce fait, sa contribution au catabolisme du lactate augmente après la consommation de glucides solubles, qui dépriment la fermentation du lactate par *Selenomonas* et les autres bactéries utilisant le lactate [42].

La troisième bactérie impliquée dans le catabolisme du lactate est *Veillonella parvula*. Les souches de *V. parvula* se présentent sous la forme de microcoques Gram négatifs. Les bactéries sont de petite taille (0,3-0,6 μm) et non motiles. *V. parvula*, isolée du rumen, fermente le DL-lactate, le pyruvate, le L-malate, le fumarate et le D-tartrate, mais pas les sucres. L'acide succinique est décarboxylé en propionate et en dioxyde de carbone. Les principaux produits de la dégradation du lactate sont l'acétate, le propionate, le dioxyde de carbone et le dihydrogène [86]. Bien que sa capacité d'utilisation du lactate suggère un rôle dans le rumen d'animaux nourris avec des rations riches en amidon, sa contribution aux fermentations ruminales semble mineure en comparaison de *M. elsdenii* [164].

D'autre part, d'après Píknova *et al.* [138], *Mitsuokella multiacida* est également impliquée dans l'utilisation du lactate dans le rumen. Les espèces du genre *Mitsuokella* sont constituées par des bacilles immobiles, à Gram négatif, non sporulés [61]. *M. multiacida* et *S. ruminantium* sont phylogénétiquement proches, et utilisent un large éventail de substrats, incluant le lactate [169]. Chez des animaux adaptés à une ration riche en glucides fermentescibles, *S. ruminantium* et *M. multiacida* peuvent représenter une place importante de la communauté bactérienne [169].

Enfin, en raison de son importance dans la pathogénie des abcès hépatiques, il convient de décrire également *Fusobacterium necrophorum*. *F. necrophorum* est un bacille Gram négatif, non motile, non sporulé, anaérobie strict. Cette espèce bactérienne ne fermente généralement pas les

glucides, bien que certaines souches fermentent faiblement le glucose : son principal substrat est l'acide lactique, qui est fermenté principalement en acétate, butyrate et en quantité moindre en propionate [126]. Traditionnellement, *F. necrophorum* est classifié en 4 biotypes ou biovars : A, B, AB et C [171], le biotype A s'avérant plus pathogène que les autres. Ce sont les biotypes A (*F. necrophorum* subsp. *necrophorum*) et B (*F. necrophorum* subsp. *funduliforme*) qui sont le plus fréquemment isolés dans les abcès hépatiques.

Le pH optimum de fermentation du lactate est, pour la plupart des bactéries lactico-lytiques, compris entre 6 et 6,5. Seule *M. elsdenii* continue son activité détoxifiante pour des pH inférieurs à 5,5. Sa croissance n'est inhibée qu'à pH 4,8 [144]. On comprend dès lors l'intérêt majeur de *M. elsdenii* dans la régulation de l'acidose lactique, qui consomme le lactate dans la fenêtre de pH la plus critique (5 à 6). Selon Counotte et Prins, [41], *M. elsdenii* fermenterait 60 à 80 % du lactate dégradé dans le rumen dans des conditions d'alimentations normales, et représenterait 20 % des utilisateurs du lactate chez des animaux nourris avec des rations riches en concentré [129].

Les voies de fermentation du lactate sont variables en fonction du régime alimentaire. L'acétate est probablement le produit majeur. La proportion de lactate converti en propionate augmente quand la concentration en lactate augmente [111]. Le propionate est formé selon deux voies possibles, l'une par des acides dicarboxyliques dite « voie succinique », l'autre par l'acide acrylique dite « voie acrylique ». L'importance relative de ces deux voies de fermentation dépend de la proportion de concentrés et du pH du rumen. *M. elsdenii* est une des rares bactéries qui fermenteraient le lactate par la voie acrylique [41]. Pour une ration comportant foin et concentrés en part égales, 43 % du propionate et 40 % de l'acétate sont issus du lactate. Le lactate est donc un intermédiaire fermentaire essentiel.

5. Les bactéries uréolytiques

La production d'ammoniac via l'hydrolyse de l'urée par les bactéries ruminales joue un rôle important dans le métabolisme de l'azote chez les ruminants. Une activité uréasique a été détectée chez certaines espèces bactériennes isolées du rumen, telles que *Succinivibrio dextrinosolvens*, *Selenomonas* sp., *Prevotella ruminicola*, *Ruminococcus bromii*, *Butyrivibrio* sp. et *Treponema* sp. [172], [189]. Selon Wallace et Cotta [180], deux groupes bactériens dont l'importance relative est controversée se partageraient l'activité uréolytique. Tout d'abord, une population nombreuse d'anaérobies stricts avec une activité uréasique faible, dont font partis les genres suivants : *Lactobacillus*, *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium*, *Bacteroides*, *Ruminococcus*, *Butyrivibrio*, *Treponema*, *Selenomonas*, *Bifidobacterium*, *Succinivibrio*. D'autre part, on trouverait également une population nettement plus faible d'anaérobies facultatifs, et beaucoup plus spécifiquement uréolytique. Cette population est retrouvée dans le jus ruminal, mais se développe préférentiellement à la surface des cellules épithéliales du rumen et intervient certainement en priorité sur l'urée endogène qui diffuse naturellement à travers la paroi ruminale. Ces bactéries font parties des genres suivants : *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Propionibacterium* et *Corynebacterium*.

Succinivibrio dextrinosolvens est une bactérie de forme hélicoïdale (mais pouvant donner des bacilles droits ou légèrement incurvés après culture *in vitro*), Gram négatif, de 0,4 à 0,6 µm de diamètre sur 1,0 à 7,0 µm de longueur, mobile grâce à un flagelle polaire, fermentant les sucres en produisant du succinate, de l'acétate, du formate et parfois du lactate. [61].

Selon Wallace, le mécanisme enzymatique de dégradation de l'urée est une hydrolyse par l'uréase [180]. Le pH optimum de l'uréase est de 7 à 8,5, et sa température optimale est de 40°C. Les pH du rumen élevés favoriseraient donc la dégradation de l'urée, et l'alcalose ruminale rencontrée lors d'intoxication ammoniacale favorise donc l'entretien du processus pathologique en stimulant la dégradation de l'urée. Par ailleurs, le nickel et l'urée stimuleraient son activité alors que l'ammoniaque l'inhiberait [180]. L'uréase présente dans le contenu ruminal a été en partie purifiée, et semble être associée à un seul polypeptide, de faible poids moléculaire.

Concernant les souches de *Selenomonas*, Stewart et Bryant [164] rapportent que l'uréase de *S. ruminantium* a été purifiée par Hausinger (1986), et présente une masse moléculaire de 360 000 daltons (trois fois supérieure à celle des autres uréases trouvées dans le contenu ruminal), et sa sous unité une masse moléculaire de 70 000 daltons. L'enzyme contient 2 ions nickel par sous unité. Les propriétés cinétiques de l'uréase de *S. ruminantium* diffèrent, selon Wallace et Cotta, de celles des autres uréase isolées du rumen : son activité serait 20 à 30 fois supérieures à celles des autres uréases présentes [180].

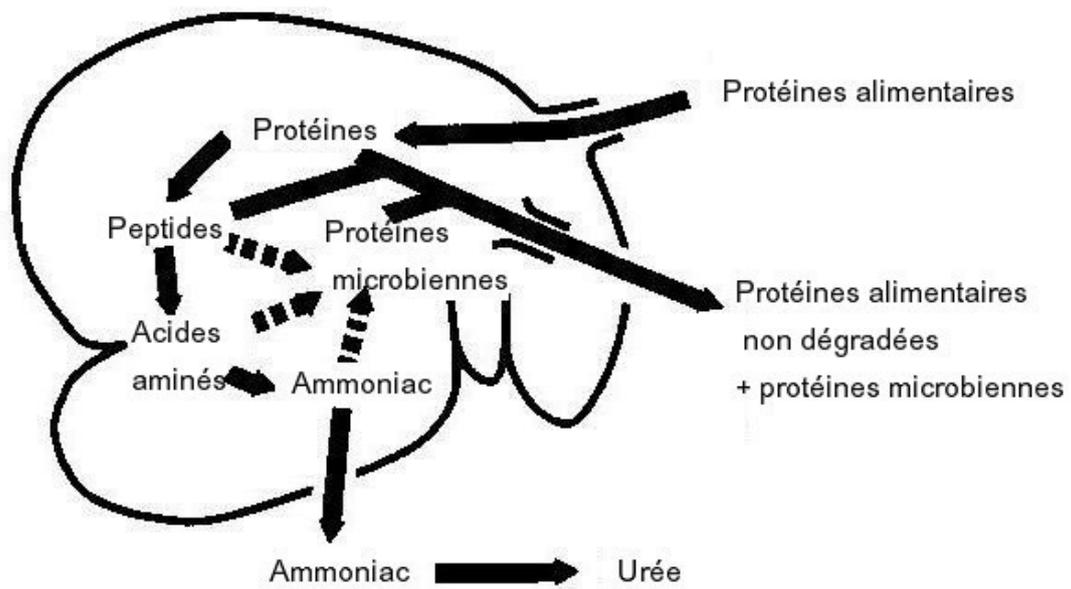
6. Les bactéries protéolytiques

Les premières études sur la flore protéolytique du rumen, dont l'isolement des principaux genres bactériens s'est avéré difficile, a permis de voir émerger deux principales notions sur cette flore : tout d'abord, ces bactéries sont, à par quelques exceptions, seulement faiblement protéolytiques. Elles n'utilisent pas les protéines comme principale source d'énergie, ou même, dans certains cas, comme source principale d'azote. De plus, une grande proportion de bactéries ruminales possède une activité protéolytique, et près de la moitié (entre 30 et 50 %) du total des bactéries viables isolées du rumen peuvent être protéolytiques [179]. Les bactéries protéolytiques appartiennent à la plupart des principaux genres, bien que les principales bactéries cellulolytiques ne semblent pas être protéolytiques. L'activité protéolytique (figure 8) de la flore du rumen, qui est au final très faible en dépit de son importance dans la nutrition, est donc due à l'activité d'un grand nombre d'espèces présentant une activité faible [179].

Les souches protéolytiques de l'ancien genre *Bacteroides* sont les bactéries protéolytiques prépondérantes sous certaines conditions d'alimentation. *Ruminobacter amylophilus*, qui possède une importante activité amylolytique, est l'une des espèces protéolytiques isolées les plus actives, et est trouvé en grande quantité lorsque l'animal reçoit une alimentation riche en amidon [180]. Des souches protéolytiques de *Prevotella ruminicola* ont été obtenues à partir de ruminants nourris au fourrage, ainsi qu'avec des régimes contenant des concentrés. Selon Wallace, *P. ruminicola* serait probablement la bactérie protéolytique la plus nombreuse, mais elle n'est pas systématiquement isolée de tous les animaux [180]. De même, des souches de *Butyrivibrio fibrisolvens* peuvent être trouvées sous certaines conditions, et peuvent même être l'organisme protéolytique prédominant isolé chez certains animaux [179]. Enfin, des souches de *Selenomonas*, *Succinivibrio*, *Lachnospira*, *Eubacterium*, *Fusobacterium* et *Clostridium* ont également été isolées sous certaines conditions.

Une attention plus particulière a été donnée aux trois espèces considérées comme les organismes protéolytiques majeurs, à savoir *B. fibrisolvens*, *R. amylophilus* et *P. ruminicola*. *R. amylophilus* peut sembler spécial à première vue, car elle ne requiert ni peptides ni acides aminés pour sa croissance [180]. De plus, il a été montré qu'une protéase est produite dans un milieu dépourvu de protéines et d'acides aminés [180]. L'excrétion d'une telle activité protéasique « gratuite » dans un écosystème compétitif comme celui du rumen a conduit Cotta et Hespell (d'après [180]) à suggérer que la fonction protéolytique de *R. amylophilus* ne serait pas une fonction

Figure 8 : Devenir des protéines au sein de l'écosystème ruminal (d'après [179])



nutritionnelle, mais permettrait plutôt une rupture des protéines structurales présentes dans les particules de céréales, afin d'exposer les granules d'amidon à l'attaque amylolytique. Au contraire, *P. ruminicola* et *B. fibrisolvens* sont capables de croître sur un milieu ne contenant que des protéines comme source azotée.

L'activité protéolytique est principalement associée aux cellules. Selon Wallace et Cotta [180], les protéases sont principalement liées aux bactéries pour *R. amylophilus*, *Eubacterium* sp. ou encore *P. ruminicola*, ainsi que chez des souches présentant une faible activité protéolytique de *B. fibrisolvens*, *S. ruminantium* et *S. bovis*. Les protéases de *R. amylophilus* et de *P. ruminicola* sont entièrement liées aux cellules pendant la phase de croissance bactérienne, puis sont largement relarguées dans le milieu pendant la phase stationnaire, comme conséquence d'une autolyse. Au contraire, des souches présentant une importante activité protéolytique de *B. fibrisolvens* produisent une protéase qui est toujours extracellulaire.

Streptococcus bovis possède une très faible activité protéasique ; il peut croître, quoique lentement, avec de la caséine comme seule source d'azote. La plupart de son activité est liée à la membrane, et de type sérine-protéase ; mais son activité la plus notable est sa leucine aminopeptidase [180]. D'autres activités peptidasiques, incluant des di- et tripeptidases, sont associées aux parois de *S. bovis*. Au final, *S. bovis* semble jouer un rôle secondaire dans la dégradation des protéines, utilisant ses exopeptidases et ses peptidases pour utiliser les produits des espèces endopeptidolytiques.

Il faut noter que les bactéries peuvent interagir de manière synergique avec les autres bactéries impliquées dans la dégradation des protéines. Des coopérations ont été observées entre *P. ruminicola* et *S. ruminantium*, *S. bovis* et *S. ruminantium*, et entre d'autres espèces [181]. Ainsi, *S. ruminantium* et *S. bovis* poussent lentement sur de la caséine en culture pure du fait de leur faible activité protéolytique. Mais lorsqu'elles sont associées, la pousse est rapide grâce à l'existence de cette coopération (figure 9 et 10).

Sales *et al.* [152] ont étudié les effets de l'ammoniac et des acides aminés sur la croissance et l'activité protéolytique de *Prevotella albensis*, *B. fibrisolvens* et *S. bovis*. La croissance de *S. bovis* et *B. fibrisolvens* étaient potentialisées par l'ammoniac et les acides aminés, et celle de *P. albensis* était réduite par rapport aux témoins avec des protéines comme seule source azotée. De plus, l'activité protéolytique de *S. bovis* et de *P. albensis* était réduite, alors que celle de *B. fibrisolvens* était améliorée. L'ammoniac semblait agir principalement sur la fraction associée aux cellules de l'activité protéolytique, alors que l'action des acides aminés n'était pas spécifique. Dans le rumen, les activités protéolytiques de *S. bovis* et de *P. albensis* seraient optimales pour des concentrations faibles en ammoniac et en acides aminés, alors que *B. fibrisolvens* nécessiterait de plus fortes concentrations.

D'autre part, les enzymes protéolytiques trouvées dans le contenu ruminal semblent être nombreuses et variées. L'utilisation d'inhibiteurs de protéases ont permis de démontrer que le type de protéase prédominant dans le rumen est du type cystéine-protéase [179]. D'autres types enzymatiques sont présents, mais de manière plus variable. On retrouve ainsi des sérine-protéases (représentant entre 0 et 41 % de l'activité totale), des métalloprotéases (9-30 %) et des aspartiques-protéases (2-15 %) [180]. Au sein des espèces protéolytiques, *P. ruminicola* produit des enzymes qui sont les plus similaires à celles retrouvées dans le contenu ruminal. Les inhibiteurs des cystéine-protéases et des sérine-protéases présentaient une activité inhibitrice forte (56-89 % et 21-43 % respectivement) [180], ce qui soulignerait l'importance des protéases du type cystéine et sérine-

Figure 9 : Croissance de bactéries ruminales présentant une faible activité protéolytiques sur un milieu contenant de la caséine comme seule source d'azote. ○ : *S. bovis* ; *S. ruminantium* ; *S. ruminantium* + *S.bovis* (d'après [179])

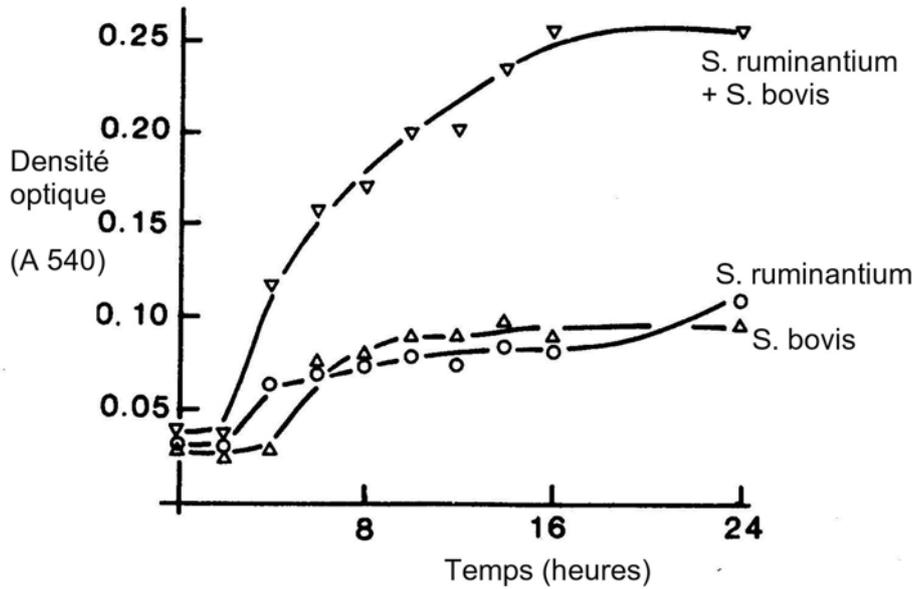
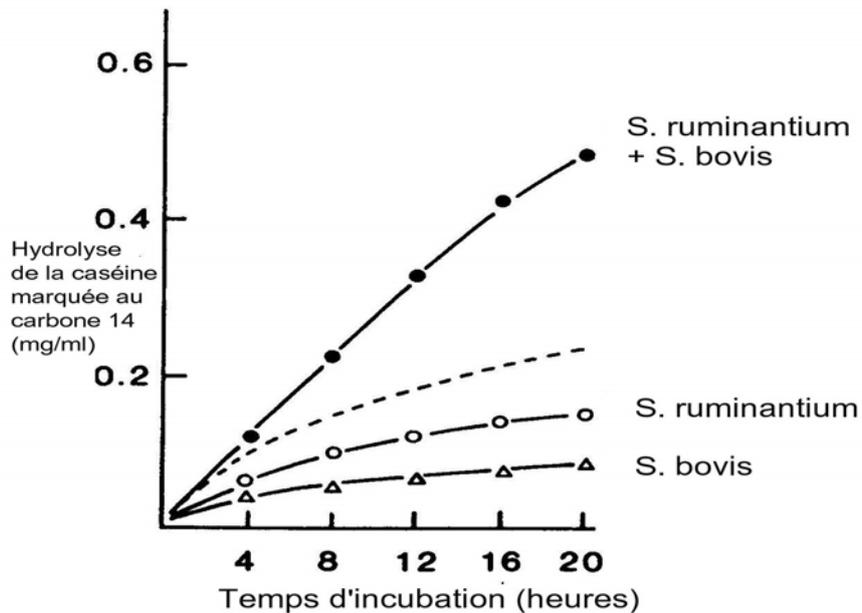


Figure 10 : Hydrolyse de la ¹⁴C caséine par des suspensions de bactéries ruminales présentant une faible activité protéolytique (d'après [179])



protéases chez cette espèce. *R. amylophilus* et la plupart des souches de *B. fibrisolvens* produiraient majoritairement des sérine-protéases.

Quant à la dégradation des peptides, le nombre d'études sur le sujet est faible. Les espèces bactériennes impliquées sembleraient être principalement *P. ruminicola* ; *Selenomonas* et *Butyrivibrio* présentent des souches capables de produire de l'ammoniac. *Megasphaera elsdenii* serait également impliquée.

L'ammoniac est la plus importante source d'azote pour la croissance des bactéries ruminales. En fonction de l'alimentation, 60 à 90% de l'azote consommé journalièrement par le ruminant est converti en ammoniac, et de 50 à 70 % de l'azote bactérien est issu de l'ammoniac. Selon Bryant et Robinson [25], 92 % des bactéries ruminales isolées pouvaient utiliser l'ammoniac comme principale source d'azote. La répartition des enzymes d'assimilation (principalement la glutamate déshydrogénase (GDH) et les enzymes des systèmes de la glutamine synthétase -GS- et du glutamate synthétase -GOGAT-) de l'ammoniac sont largement réparties au sein de l'écosystème ruminal : Joyner et Baldwin (d'après [107]) ont détecté une glutamate déshydrogénase chez 9 espèces de bactéries ruminales, qui sont considérées comme représentant près de 40 % de la population bactérienne ruminale. La GS semble également être répartie de façon large. Mais ce n'est pas le cas de la GOGAT, qui semble n'être présente que chez *S. ruminantium*.

7. Les bactéries utilisatrices de lipides

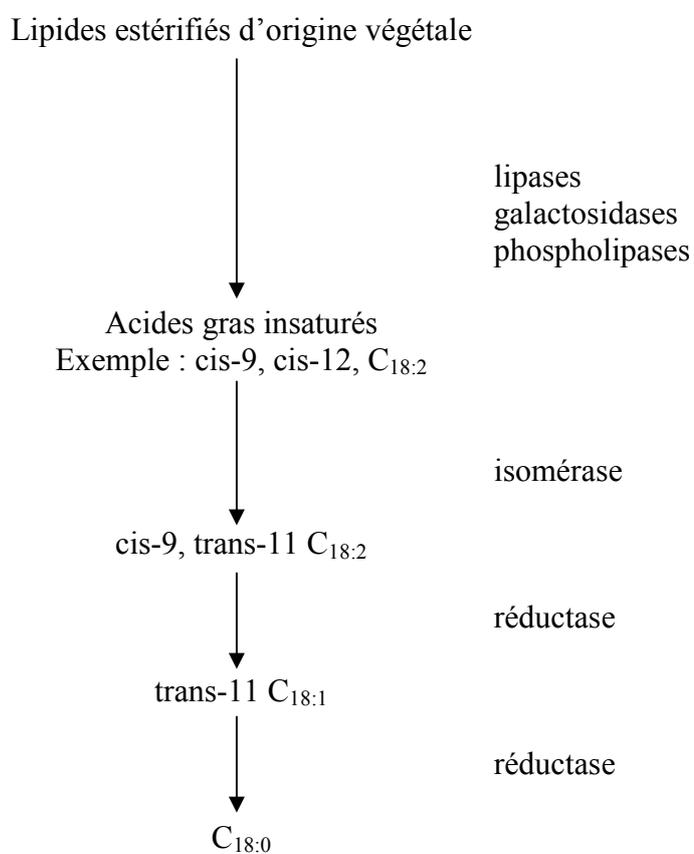
Un certain nombre de bactéries ruminales sont impliquées dans l'utilisation des lipides présents dans le rumen, comme *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Treponema bryantii*, *Eubacterium* sp., *Fusocillus* sp., *Micrococcus* sp. et surtout *Anaerovibrio lipolytica* [172]. Cette dernière est la bactérie la mieux connue pour son activité lipasique [88] Deux étapes du métabolisme des lipides sont réalisés par les bactéries ruminales : la lipolyse (notamment par *A. lipolytica*) et la biohydrogénation (figure 11)

Les souches d'*Anaerovibrio lipolytica* se présentent sous la forme de bacilles courbes, Gram-négatifs, d'une taille de 0,5µm sur 1,2-3,6 µm, normalement motile grâce à un unique flagelle polaire. Les principaux produits de fermentations dépendent du substrat. Le glycérol est fermenté principalement en propionate et en succinate, avec de petites quantités de dihydrogène et de L-lactate ; le ribose et le fructose sont fermentés en acétate, propionate et dioxyde de carbone, avec de petites quantités de succinate, de dihydrogène et de lactate ; le DL-lactate quant à lui donne principalement de l'acétate, du propionate et du dioxyde de carbone. [164] D'autre part, *A. lipolytica* est capable d'utiliser l'hydrogène extracellulaire pour réduire le fumarate en succinate, activité qui peut avoir une importance potentielle dans le rumen dans des conditions où la méthanogénèse est réduite (Henderson, 1980, d'après [164])

A. lipolytica produit une estérase liée à la bactérie, et une lipase extracellulaire [88]. Cette dernière est associée à des « bulles » membraneuses apparemment issues de la surface des bactéries. D'après Stewart et Bryant [164], Henderson et Hodgkiss (1973) ont démontré que les proportions en protéine, acide nucléique et lipides dans ses bulles sont identiques à celles des cellules viables. La lipase hydrolyse complètement les acylglycérols en acide gras libres (AGL) et en glycérol, avec une faible accumulation de mono- et diglycérides. Le glycérol est fermenté rapidement, donnant principalement de l'acide propionique comme produit final [88].

D'autre part, toujours selon Stewart et Bryant, Henderson *et al.* (1969) ont montré que la diminution de l'activité lipolytique au cours du temps, lorsque des souches sont mise en culture

Figure 11: Etapes clés de la transformation des lipides estérifiés d'origine végétale en acides gras partiellement saturés via la lipolyse et la biohydrogénation par les enzymes bactériennes ruminales (d'après [88])



avec du glycérol, est corrélé avec la chute du pH au cours de la croissance, et que cette chute d'activité peut être prévenue en maintenant le pH au dessus de 6,3.

Suite à la lipolyse, les acides gras libres insaturés sont rapidement hydrogénés par les bactéries ruminales pour donner des produits terminaux partiellement saturés. Cette biohydrogénation fait intervenir dans un premier temps une isomérase – qui n'est fonctionnelle sur des acides gras insaturés que si l'acide gras présente un groupe carboxyle libre, ce qui est le cas suite à la lipolyse [88]-, puis une réductase microbienne. Les étapes clés de la conversion de lipides provenant des végétaux en acides gras saturés sont décrites figure 11.

Pendant de longues années, l'unique bactérie ruminale connue pour être capable de réaliser cette biohydrogénation était *B. fibrisolvens*. Par la suite, d'autres bactéries possédant les enzymes capables de catalyser cette réaction ont été isolées, comme certaines souches de *Treponema*, d'*Eubacterium* ou de *Fusocillus* [180]. Néanmoins, du fait de l'absence de méthode permettant d'énumérer sélectivement les bactéries réalisant la biohydrogénation des acides gras insaturés dans le rumen, il n'est pas possible de déterminer quelles souches isolées sont représentatives de ce type de bactéries.

8. Les bactéries méthanogènes

Les méthanogènes sont des membres du domaine des Archaea, et tombent dans le règne des Euryarchaeota. Il s'agit de bactéries anaérobies strictes, représentant environ 4% des microorganismes ruminiaux [191], et peuvent être aisément distingués des autres organismes car ils produisent tous du méthane comme principal produit de fermentation. En raison du rôle du méthane dans le réchauffement de la planète et de la perte d'énergie par les ruminants par le méthane (estimée à 6% de l'énergie ingérée), un intérêt important est porté aux bactéries méthanogènes. Quelques espèces de méthanogènes ont été isolées de rumen, mais peu ont été trouvés en grand nombre, et il est probable que les principales espèces doivent être identifiées par d'autres méthodes (biologie moléculaire). Des études, basées sur la culture ou sur l'analyse moléculaire, ont montrées que les méthanogènes ruminiaux les plus communément isolés appartiennent à la famille des *Methanobacteriaceae*. Il s'agit fréquemment d'espèces appartenant au genre *Methanobrevibacter* [164]. D'autres méthanogènes appartenant à la famille des *Methanomicrobiaceae* ont été découverts chez des bovins et des ovins; tandis que des méthanogènes de la famille des *Methanosarcinaceae* ont été trouvés chez les caprins et les bovins [161]. Néanmoins, il faut noter que le statut taxonomique des méthanogènes isolés du rumen n'est pas encore parfaitement résolu, et nécessite des analyses au niveau moléculaire afin de le clarifier [185]. Enfin, les bactéries méthanogéniques présentent une grande sensibilité à des pH inférieurs à 6 [172] et disparaissent donc à des pH inférieurs à cette valeur.

Methanobrevibacter (*Mbb.*) spp. est considéré comme la principale espèce de méthanogènes ruminiaux, que ce soit par des méthodes de culture [164], ou par des analyses génomiques [157]. La souche type est *Mbb. ruminantium* M1 [61]. Décrite par la première fois par Smith et Hungate comme *Methanobacterium*, *M. ruminantium* est un coccobacille Gram positif, non motile, d'environ 0,7 µm de large, sur 1,8µm de long. Ses principaux substrats sont le dihydrogène et le dioxyde de carbone, mais le formate peut également être utilisé lorsqu'il est présent en grandes concentrations dans le rumen. *M. ruminantium* est caractérisé par une exigence en coenzyme M, spécifique aux méthanogènes [164], qui joue un rôle de porteur de groupements méthyles. D'autres souches de *Methanobrevibacter* spp. sont isolées du rumen : ainsi, on retrouve également des souches de *Mbb. smithii* et de *Mbb. thaueri* [161]. Selon Skillman *et al.* [161], *Mbb. thaueri* serait même la bactérie méthanogène prédominante chez le veau laitier au pré, bien que d'autres études

insistent sur l'importance de *Mbb. ruminantium*, et de *Mbb. smithii*, associée aux ciliés du rumen [173]

Parmi les espèces méthanogènes, on note également la place importante de *Methanomicrobium mobile*. Ainsi, selon Yanagita *et al.*, près de 54% des méthanogènes ruminiaux chez les ovins seraient des souches de *M. mobile* [191]. *M. mobile* appartient à la famille des *Methanomicrobiales*. Il s'agit d'une bacille Gram négatif, faiblement motile, ne sporulant pas, d'une taille de 0,7 µm sur 1,5 à 2 µm [137].

Une troisième espèce de bactéries méthanogènes est fréquemment impliquée dans le rumen : il s'agit de *Methanosarcina sp.* [191], qui appartient à la famille des *Methanosarcinaceae*. Il s'agit de bactéries Gram positives, non motiles, d'un diamètre de 1,5 - 2µm, qui se présentent en paquet, ou en large groupes. Les substrats utilisés pour la production de méthane incluent le dihydrogène et le dioxyde de carbone, le méthanol, les méthylamines (formés dans le rumen lors de la dégradation de la choline) et l'acétate [164].

Outre ses trois familles de méthanogènes, dont les différentes espèces précédemment citées sont considérées comme les principales bactéries méthanogènes du rumen, on peut rajouter *Methanobacterium formicicum*, *Methanonosarcina barkeri*, *Methanoculleus olentagyi*, ainsi que d'autres, découvertes grâce aux nouveaux outils de biologie moléculaire. Ainsi, des méthanogènes similaires à *Methanosphaera stadtmanae* (méthanogène résidant dans le gros intestin de l'homme) ont été détectés chez des vaches soumis à un régime à base de concentré [185], ou chez des vaches au pré [161]. Ces deux études indiqueraient que les espèces de *Methanosphaera* seraient des habitants habituels du rumen des bovins. D'autre part, certains méthanogènes détectés par analyse des séquences d'ARNr 16S ne correspondent à aucun groupe de méthanogènes déjà trouvés dans le rumen, ni déjà cultivés [185], [190], et formeraient alors un nouveau groupe de méthanogènes ruminiaux. La population de méthanogènes ruminiaux présente une diversité importante, et il n'est pas dit que les principales populations du rumen soient connues.

La littérature [173], [177] suggère un rôle important des protozoaires dans la méthanogénèse ruminale. La défaunation ou l'élimination des protozoaires de l'écosystème ruminal est associé à une diminution de la production de méthane de 30 à 45 % [177]. Il est donc fort probable qu'il existe une relation étroite entre les méthanogènes et les ciliés ruminiaux. Néanmoins, l'association ciliés-méthanogènes est encore mal comprise, même si certains auteurs ont apportés la preuve de l'existence d'adhésion. Ainsi Tokura *et al.* ont montré que, dans leurs travaux, *Isotricha spp.*, *Polyplastron multivesiculatum*, *Ophryoscolex caudatus*, et *Entodinium spp.*, isolés de rumen, sont associés à des méthanogènes (mis en évidence par autofluorescence) [173]; *O. caudatus* et *Isotricha* étant ceux où l'association était la plus importante.

Dans une autre étude, Tokura *et al.* ont conclu que les méthanogènes ruminiaux associés aux ciliés étaient physiologiquement distincts des méthanogènes vivants seuls [175]. Un certain nombre d'études indiquent que les méthanogènes appartenant à la famille des *Methanobacteriaceae* s'associent fréquemment aux protozoaires ruminiaux [173], [174]. Selon Tokura *et al.*, le groupe de méthanogènes phylogénétiquement proche de *M. smithii* semble former le groupe dominant de méthanogènes associés aux ciliés issus de rumen de moutons.

La production de méthane dans le rumen a un effet important sur les produits terminaux de fermentation, ainsi que sur le rendement en ATP. En culture pure, les bactéries ruminales peuvent parfois produire de l'éthanol et du lactate, mais ces produits sont rarement observés *in vivo* à moins que de très grandes quantités de glucides très fermentescibles ne soient ingérées. Si des

méthanogènes sont présents, les nucléotides réduites peuvent être ré-oxydées par l'hydrogénase plutôt que par une alcool- ou une lactate déshydrogénase.

La méthanogénèse implique la consommation d'hydrogène et la réduction par paliers du dioxyde de carbone [164]. Un certain nombre de substrats peuvent être utilisés pour la méthanogénèse (acétate, formate, alcools de petite taille issus de la dégradation des pectines,...), mais le dioxyde de carbone et l'hydrogène sont néanmoins les principaux substrats impliqués. Ainsi, la majorité du dihydrogène provenant de la dégradation des glucides termine en méthane.

9. Les bactéries de grande taille

D'autres bactéries, n'appartenant pas aux niches écologiques précédentes sont connues pour habiter le rumen de manière classique. Parmi ces bactéries, on retrouve des bactéries de grande taille. Celles-ci ne sont pas isolées par des méthodes de culture, mais sont fréquemment détectées lors d'examen au microscope du contenu ruminal. Les principaux organismes détectés sont notamment *Oscillospira guilliermondii* (bacille Gram négatif, motile, de 5 x 50µm) [106], *Lampropedia*, *Sarcina barkeri*, les ovales d'Eadie ou encore les ovales de Quin.

Le rôle de ces bactéries de grande taille au sein de l'écosystème ruminal est peu documenté. Les quantités d'*Oscillospira* et des formes ovales tendent à être inférieures lorsque des ciliés sont introduits, ce qui suggère une relation de type compétitive ou antagoniste entre ces microorganismes. D'autre part, *Lampropedia*, *Oscillospira* et les bactéries ovales coloniseraient les cuticules intactes de feuilles de trèfle dans le rumen, mais ne semblent pas créer de dommages à cette cuticule [164]. Mackie *et al.* [106] ont montré que les quantités les plus importantes d'*Oscillospira* relevées correspondent à la consommation de fourrages par l'animal.

B- Relations phylogénétiques des bactéries ruminales

Bien que les conditions d'anaérobiose sont hautement sélectives, les bactéries qui habitent le rumen sont très diverses, d'un point de vue taxonomique et phylogénétique. Les relations phylogénétiques entre ces microorganismes sont étudiées principalement par le séquençage des ARNr 16S. Ainsi, Stewart et Bryant rapportent que les méthanogènes ont été reconnues comme appartenant au domaine des Archaeobactéries.

Les souches vraies de *Bacteroides* appartiennent à un phylum qui contient également les bactéries du type flavobactéries et cytophaga. Ce phylum est appelé le phylum CFB pour « Cytophaga – Flexibacter – Bacteroides ». Concernant les espèces ruminales appartenant à ce phylum, seule les espèces de *Prevotella* semble appartenir à ce groupe [164], [135]. Le phylum CFB représente l'un des deux principaux phyla ruminal : selon les études, 30 % [184] voire 38 % [168] des clones obtenus peuvent être reliés à ce phylum.

Un second phylum prépondérant dans le rumen est le phylum « LGCGPB », pour « low G+C Gram-positive bacteria ». Un nombre important d'espèces bactériennes de la flore ruminale sont incluses dans ce phylum. On retrouve un certain nombre de bactéries ruminales Gram positive, notamment *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Streptococcus bovis*, mais également des Gram négatifs, comme *Selenomonas ruminantium* et *Megasphaera elsdenii*. En effet, Stewart et Bryant rapportaient que *Selenomonas ruminantium* et *Megasphaera elsdenii* présentent des séquences d'oligonucléotides d'ARNr 16S qui suggéraient des relations phylogénétiques plus proches des bactéries Gram positif que des bactéries Gram négatif [164].

Ce phylum tiens une place extrêmement importante d'un point de vue quantitatif au sein de la flore ruminale : ainsi, selon Tajima *et al.* [168], 52,4 % des séquences d'ARNr 16S issues du fluide ruminal étaient affiliées à ce phylum, alors que cette proportion était de 71,4 % pour celles issues de la « phase solide ». La prédominance des séquences reliées au phylum LGCGPB dans ces études accentue l'importance et le rôle de ce groupe dans la structure et le fonctionnement de la communauté des bactéries ruminales : en effet, la majorité des bactéries hydrolytiques, comme les *Ruminococci*, *Butyrivibrio* et *Streptococcus bovis* sont reliés à ce phylum

Les derniers phylum ruminiaux principaux, bien que d'importance quantitative moindre, sont les phylum des Spirochaetes, au sein duquel on retrouve *Treponema bryantii*, et celui des Protéobacter, avec notamment *Wolinella succinogenes*, et *Ruminobacter amylophilus* [168]

C- Diversité et variation de la flore du rumen

La diversité bactérienne au sein de l'écosystème ruminal est très importante, avec un grand nombre d'espèces présentant un nombre supérieur à 10^7 cellules bactériennes / gramme de contenu ruminal. Puisque le nombre total de bactérie est supérieur à 10^{10} cellules / gramme, les espèces dont le nombre est inférieur à 10^7 /gramme sont considérées comme une fraction mineure de la population. Il convient néanmoins d'être prudent dans l'appellation « fraction mineure », puisque même un part mineure de la population peut être importante si elle exerce un impact écologique sur les autres.

1. Diversité de la flore ruminale

1.1 Diversité de la flore ruminale des ruminants domestiques

Le rumen est un système ouvert ; si certains organismes sont fréquemment retrouvés et occupent une niche écologique (dégradation de la cellulose, production de méthane, ...), beaucoup de bactéries capable de grandir dans le rumen ne sont souvent pas considérées comme de vraies bactéries ruminales, ou n'ont été isolées qu'en peu d'occasions, sous des conditions spéciales [164]. Certains auteurs ont montré la présence d'un certain nombre de bactéries aérobies et d'anaérobies, facultatives ou strictes principalement chez les jeunes ruminants (voir III- instauration chez le jeune). Parmi les bactéries aérobies isolées de rumen, on retrouve entre autre les espèces d'*Acinetobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Alkaligenes faecalis*, *Micrococcus varians*, *Flavobacterium sp.* [64]. Parmi les anaérobies facultatives, staphylocoques et streptocoques sont les genres bactériens les plus fréquemment trouvés dans le rumen. Un certain nombre des bactéries isolées, ou observées, dans le rumen, mais non étudiées précédemment, sont présentées dans le tableau 3. Beaucoup d'autres bactéries ont été isolées, mais cette liste illustre la diversité des types et des groupes taxonomiques qui habitent le rumen, au moins lors de certaines occasions.

De plus, l'arrivée de nouvelles techniques de détection bactérienne (autre que la culture) basées sur l'analyse génétique permet de découvrir qu'un nombre important de bactéries, non isolées par des méthodes de culture, sont représentées dans le rumen. Ainsi, Whitford *et al.* [184] montré que la majorité des séquences de gènes codant pour l'ARNr 16S, issus de jus de rumen, qu'ils ont analysé représenterait des bactéries ruminales qui n'avaient jamais été isolées. Selon eux, celles-ci représenteraient au moins 27 genres ou espèces non caractérisées de bactéries ruminales. D'autres études, comme celle de Tajima *et al.* [168], donnent lieu à des résultats similaires. Un

certain nombre des séquences obtenues à partir d'ADNr 16S extrait de contenu ruminal forment des groupes indépendants, qui ne sont pas affiliables à des bactéries ruminales connues.

Edwards *et al.* [57] ont obtenu, suite à l'analyse de clones issus du séquençage d'une région spécifique du chromosome bactérien appelée ADNr 16S, les résultats suivants : seul 11 % des OTU (operational taxonomic unit) détectés dans le rumen contiennent des représentants cultivables. De plus, au sein de ce groupe, si une majorité correspondait à des bactéries ruminales connues, certaines correspondaient à des bactéries qui n'avaient pas été décrites précédemment dans l'écosystème ruminal. La grande majorité (89 %) des OTU détectés dans le rumen présentait donc une plus grande similarité avec des organismes qui n'avaient jamais été cultivés.

Au sein des méthanogènes ruminiaux, Wright *et al.* [190] ont identifié cinq nouvelles espèces de méthanogènes chez des moutons. Au sein de ces nouvelles espèces, deux présentaient des séquences avec très peu de similarité avec celles d'aucun méthanogènes cultivés. Ces séquences uniques semblaient représenter un nouveau groupe d'archae ruminales atypiques de l'environnement ruminal. Des résultats similaires ont été obtenus par Whitford *et al.* [185] et par Skillman *et al.* [161].

Koike *et al.* [94] ont analysé la communauté bactérienne associée aux fibres en étudiant les séquences des gènes codant l'ADNr 16S. Des 91 clones obtenus dans leur travail, 21 présentaient plus de 97 % de similarité avec des bactéries connues, 32 entre 90 et 97 % avec des séquences connues, alors que pour les 38 clones restants, la similarité était inférieure à 90 %. Par conséquent, la flore bactérienne associée aux fibres apparaît inclure une proportion considérable (42 % dans cette étude) de bactéries inconnues. Ces résultats suggèrent l'importance d'analyser la flore fibrolytique, puisque elle semble être composée d'une grande proportion de bactéries non décrites.

Il apparaît donc que les espèces non cultivées représentent la grande majorité des bactéries présentes dans le rumen. Certaines ne peuvent être rattachées à aucune espèce cultivée, et pourraient présenter des activités métaboliques ou digestives différentes ; et d'autres peuvent être rattachées à des bactéries dont les fonctions sont connues, et qui pourraient offrir, dans le cas des organismes fibrolytiques, de nouvelles enzymes qui pourraient être utiles à des fins biotechnologiques. Des études complémentaires permettraient d'approfondir notre connaissance de la microflore ruminale.

1.2 Diversité de la population ruminale des ruminants sauvages

En raison des différences d'environnements et d'aliments consommés, les différentes espèces de ruminants devraient présenter des populations ruminales distinctes. Seules quelques études sont disponibles sur le sujet.

La population microbienne des préestomacs des camélidés présente peu de différences avec celle des ruminants [90], [72]. Les espèces dominantes de bactéries sont les mêmes, et leur nombre diffère peu (10^{10} - 10^{11} par ml). Une étude réalisée par Morvan *et al.* [118] rapporte que les lamas hébergent une population plus abondante de bactéries acétogènes que les ruminants. Il n'y aurait pas de différences significatives dans les dénombrements de bactéries méthanogènes, de bactéries sulfato-réductrices et de bactéries cellulolytiques. La concentration des bactéries viables totales serait inférieure chez les camélidés. Néanmoins, l'absence de données basées sur la génétique moléculaire ne permet pas de mieux quantifier les différences entre les camélidés et les ruminants.

An *et al.* [3] ont comparé les compositions des flores ruminales chez le yack et chez des bovins. Ainsi, la population ruminale du yack présente un nombre plus important de souches

Tableau 3 : Bactéries isolées du rumen (d'après [164])

Propriété, niche écologique ou groupe	Espèce bactérienne
Eubacterium	<i>Eubacterium limosum</i>
Plasmid-borne urease	<i>Streptococcus faecium</i>
Dégradation des parois végétales	<i>Bacillus licheniformis</i> , <i>B. circulans</i> , <i>B. coagulans</i> , <i>B. laterosporus</i> , <i>Cellulomonas fimi</i> , <i>Clostridium longisporum</i> , <i>C. lochheadii</i> , <i>Micromonospora ruminantium</i>
Jeunes ruminants	<i>Bifidobacterium longum</i> , <i>B. circulans</i> , <i>globosum</i> , <i>B. thermophyllum</i> , <i>B. boum</i> , <i>B. ruminale</i> , <i>Propionibacterium acnes</i> , <i>Clostridium hastiforme</i> , <i>C. butyricum</i> , <i>C. perfringens</i> , <i>C. sartagoformum</i> , <i>C. lentoputrescens</i> , <i>C. malenominatum</i> , <i>C. cochlearum</i> , <i>C. oroticum</i> , <i>C. clostridioforme</i> , <i>Bacteroides corrodens</i> , <i>C. pneumosintes</i> , <i>B. capillosus</i> , <i>Peptostreptococcus intermedius</i> , <i>P. anaerobius</i> , <i>E. coli</i> , <i>Fusobacterium necrophorum</i> , <i>Alysiella filiformis</i> , <i>Peptostreptococcus productus</i>
Fixation de l'azote	<i>Bacillus macerans</i>
Utilisation de l'éthanol	<i>Clostridium kluyverii</i>
Réduction des sulfates	<i>Clostridium nigrificans</i> , <i>Desulphatamaculum ruminis</i> , <i>Desulphovibrio</i>
Protéolyse	<i>Clostridium bifermentas</i>
Milieu riche en amidon, ou acide	<i>Clostridium perfringens</i> , <i>C. butyricum</i>
Lactobacilles	<i>Lactobacillus lactis</i> , <i>L. bifidus</i> , <i>L. buchneri</i> , <i>L. cellobiosus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. acidophilus</i>
Dégradation des oxalates	<i>Oxalobacter formigenes</i> , <i>Pseudomonas oxalaticus</i>
Hydrogénation	<i>Fusocillus</i> sp.

fibrolytiques (en relation avec l'alimentation disponible, plus fibreuse de cet animal), des souches de *F. succinogenes*, *B. fibrisolvens* et de *R. flavefaciens* étant détectées. Néanmoins, aucune séquence rattachée à *R. albus* n'a été détectée. De la même façon, aucune séquence n'a pu être rattachée à *Prevotella ruminicola*, alors qu'il s'agit d'une des bactéries les plus nombreuses du rumen des ruminants domestiques. Le groupe des bactéries fibrolytiques semble différent des bactéries fibrolytiques des autres ruminants.

D'autre part, la flore du rumen du yack présente deux fois plus d'espèces non cultivées que les ruminants domestiques [3]. Si ces résultats peuvent être reliés aux faibles investigations menées chez les ruminants sauvages, des analyses phylogénétiques complémentaires portant sur ces espèces non cultivées ont montré que celles-ci forment des groupes éloignés de ceux existant chez les autres ruminants. Ceci impliquerait que certains phyla ruminiaux seraient hôtes-spécifiques.

Les connaissances des flores microbiennes des autres espèces de ruminants sont faibles. Il est néanmoins probable que, en raison des particularités environnementales, alimentaires, etc..., qui conditionnent le milieu de vie des bactéries, que la composition de la flore ruminale varie d'une espèce à l'autre, des variations inter espèces existants chez les ruminants domestiques.

1.3 Relations écologiques entre les microorganismes

De nombreuses interactions existent entre les microorganismes qui peuplent le rumen. Ces interactions correspondent à celles rencontrées dans un écosystème. Lorsque deux espèces n'ont pas d'effet l'une sur l'autre, un état de neutralité existe. Dans le cas de commensalisme, la croissance d'une espèce est facilitée par la présence de la seconde, et la croissance de la seconde n'est pas affectée par la première. Lors de mutualisme, les deux espèces tirent bénéfice de l'autre. Le terme de compétition est utilisé lorsque deux espèces dépendent du même substrat limitant, ou de la même niche écologique. Les toxicités peuvent conduire à des relations amensales, dans lesquelles une espèce est affectée par la relation, et l'autre non. Enfin, des relations de prédation existent. Il convient, pour appréhender le rumen comme un écosystème, de comprendre qu'une même espèce peut être impliquée dans plusieurs types d'interaction.

Les modifications des conditions de milieu (substrats, pH, ...) conduisent à des variations de la composition de cette flore ruminale.

2. Variations non pathologiques de la flore ruminale

L'activité de la flore bactérienne du rumen n'est pas constante, mais varie en fonction des changements de conditions d'environnement. Dans la nature, les principales causes de modification d'activité sont les changements de saison, qui modifie la profusion et la composition de la végétation. L'étude des espèces domestiques de ruminants a montré des variations diurnes de la composition de la flore ruminale [164], ainsi que des variations de la composition de cette flore en fonction de la photopériode [112]. Si certaines modifications de composition de la population bactérienne ruminale sont à l'origine de conséquences pathologiques (ces variations seront étudiées par la suite), des variations physiologiques, obtenues en réponse à un certains nombres de facteurs, existent chez les ruminants.

Tableau 4 : Concentrations bactériennes ruminales chez les mêmes animaux nourris avec des rations riches en fourrage ou en concentrés (d'après [50])

Espèce animale	N° de l'animal	Moment de prélèvement (heures après le repas)	Bactéries totales (x 10 ⁹ /ml ou g)	
			Riche en fourrage	Riche en concentré
Bovin	1	4	2,4	11,0
Bovin	2	16	11,0	18,6
Bovin	3	4-5	0,3	0,3 – 0,51
Ovin	3	0	5,6	21,0
Ovin	4	2	2,6	8,5

Tableau 5 : Quantification des bactéries ruminales pendant la transition alimentaire par l'utilisation de la PCR en temps réel (d'après [167])

Bactéries recherchées	Concentration en ADN ¹		
	Jour 0	Jour 3	Jour 28
<i>P. ruminicola</i>	29,45 ± 3,6	205,2 ± 38,4	10,94 ± 1,9
<i>P. bryantii</i>	0,284 ± 0,1	74,77 ± 14,9	2,865 ± 0,5
<i>F. succinogenes</i>	12,32 ± 0,8	0,597 ± 0,0	0,215 ± 0,0
<i>S. ruminantium</i> – <i>M. multiacida</i>	7,114 ± 1,3	60,40 ± 6,6	16,92 ± 2,7
<i>S. bovis</i>	0,232 ± 0,1	15,63 ± 2,8	0,104 ± 0,0
<i>T. bryantii</i>	0,072 ± 0,0	0,043 ± 0,0	0,011 ± 0,0
<i>E. ruminantium</i>	0,585 ± 0,1	0,042 ± 0,0	0,048 ± 0,0
<i>A. lipolytica</i>	0,137 ± 0,1	0,440 ± 0,2	0,095 ± 0,0
<i>S. dextrinosolvans</i>	0,468 ± 0,1	0,733 ± 0,1	ND ²
<i>R. flavefaciens</i>	2,891 ± 0,7	0,260 ± 0,0	0,324 ± 0,1

¹ Jour 0, avant l'expérience, les animaux sont maintenus à un régime à base de foin ; Jour 3, les animaux reçoivent une ration riche en grain depuis 3 jours ; Jour 28, les animaux reçoivent une ration riche en grain depuis 28 jours.

Les concentrations en ADN ont été mesurées en millimoles d'ADNr 16S par milligramme d'ADN ruminal total

² ND, non détecté

2.1 Effet de la composition de la ration

L'un des principaux facteurs affectant la population microbienne est la composition de la ration. On peut dans un premier temps imaginer intuitivement ce phénomène : il a été vu précédemment qu'un certain nombre de groupes bactériens, possédant des activités différentes vis-à-vis d'un certain nombre de substrats, sont présents dans le rumen. Il semblerait donc logique que, lors de prédominance d'un type de substrat, la part de cette flore microbienne, adaptée à cet élément, augmente.

Bryant et Burkey [24], ainsi que Makir et Foster [108] ont observé que le nombre des bactéries ruminales demeuraient constant avec différents types de rations, à l'exception des rations riches en concentrés.

Un nombre important d'études peut être trouvées dans la littérature qui comparent les concentrations en bactéries totales chez différents animaux nourris à l'aide de ration riches en fourrages ou riches en concentrés. En général, les concentrations bactériennes sont supérieures chez les animaux recevant la ration riche en concentrés [75]. Néanmoins, certains résultats obtenus donnent une conclusion contraire [50], les concentrations étant égales ou supérieures chez les animaux recevant de grandes quantités de fourrages. Des différences telles que le pourcentage de concentrés dans la ration, la fréquence de distribution, la quantité d'aliment, et les variations entre individus, toutes apparaissent influencer les concentrations bactériennes, et rendent les comparaisons difficiles à réaliser. Le tableau 4 présente les concentrations bactériennes trouvées chez les mêmes animaux selon qu'ils sont nourris avec des rations riches en fourrages ou en concentrés. Ces données indiquent que la concentration bactérienne tend à augmenter lorsqu'il y a une augmentation d'apport en énergie. Néanmoins, le volume du rumen peut également être influencé par le type de ration, et niveler la quantité totale de bactérie chez certains animaux nourris soumis à des variations de composition de la ration.

Le passage d'une ration contenant une large proportion de fourrages à une ration plus riche en concentré semble donc s'accompagner d'une augmentation de la concentration bactérienne. Tajima *et al.* [169] ont étudié la transition des bactéries ruminales durant l'adaptation à des régimes riches en grain en utilisant l'amplification par PCR et le séquençage de l'ADNr 16S. A J₀ (les animaux recevant du foin), 90,2 % des séquences étaient incluses dans le phylum LGCGPB, et de façon plus mineure dans les phyla CFB (3,9 %), des Protéobactéries (3,9 %) et HGCGPB (high G+C Gram positive bacteria ; 2,0 %). Six séquences du phylum LGCGPB étaient rattachées aux bactéries cellulolytiques *R. flavefaciens* et *R. albus*. A J₃ (3^{ème} jour où les animaux reçoivent l'alimentation riche en concentrés) les séquences tombant dans le phylum LGCGPB dominant toujours (72,4 %), mais est représenté par d'autres espèces. Les représentants du groupe *Selenomonas-Succiniclasticum-Megasphaera* (17,2 %), les lactobacilles (6,9 %) et *Butyrivibrio fibrisolvens* étaient présents en plus grand nombre par rapport à J₀, alors qu'aucune séquence reliée aux Ruminococci n'était détectée. Les autres phyla étaient représentés par CFB (22,4 %), qui était majoritairement représentés par des bactéries du genre *Prevotella* et HGCGPB (3,4 %), dont les séquences enregistrées étaient affiliées à *Bifidobacterium lactis*. Enfin, à J₂₈, 95 % des séquences tombaient dans le phylum LGCGPB, avec près de la moitié (46 %) reliés au groupe *Selenomonas-Succiniclasticum-Megasphaera*. Aucune séquence reliée au phylum LGCGPB n'était détectée, et le phylum CFB n'était représenté que par un seul clone. Il est également intéressant de noter qu'aucune séquence reliée à *S. bovis* n'était détectée dans aucune des 3 analyses.

Une seconde étude [167] détermine les variations des populations bactériennes lors du passage d'une ration riche en foin vers une ration riche en grains en utilisant la PCR en temps réel. Le tableau 5 présente les concentrations en ADN bactérien pour un certain nombre d'espèces de la flore ruminale en fonction du nombre de jours où les animaux reçoivent la ration riche en grains.

Le changement de ration est à l'origine d'une chute du nombre de bactéries cellulolytiques. Les quantités d'ADN de *R. flavefaciens* et *F. succinogenes* ont chuté de plus de 10 à 20 fois chez les animaux nourris au grain. De son côté, le spirochète saccharolytique *T. bryantii* présentait une cinétique similaire à celles des deux espèces cellulolytiques, ce qui semble confirmer les conclusions d'auteur qui montrait que *T. bryantii* était associée aux bactéries fibrolytiques, bien que n'ayant aucune activité de ce type. Le nombre de *P. ruminicola*, qui est supposé être la bactérie numériquement la plus importante chez les animaux recevant du foin, diminuait lorsque la ration comporte des concentrés, mais demeurait néanmoins l'une des populations prédominantes. L'autre représentant du genre, *P. bryantii*, présentait une cinétique opposée, ce qui suggère son intervention dans la dégradation de l'amidon. Ces deux espèces ont marquées une augmentation très importante au cours de la phase de transition. Les deux représentants des bactéries xylanolytiques, *E. ruminantium* et *S. dextrinosolvans* ont présenté un déclin similaire au cours du changement d'aliment, avec une impossibilité de détecter les espèces au 28^{ème} jour. Enfin, *A. lipolytica*, qui semble jouer un rôle important dans l'activité lipolytique ruminale, ne présentait pas de changements significatifs durant le passage à une alimentation à base de grain, contenant des quantités de lipides supérieures. Le groupe de bactéries le plus nombreux chez les animaux recevant la ration avec les concentrés était composé de *S. ruminantium* et *M. multiacida* (ces deux bactéries, phylogénétiquement proche, utilisent des substrats similaires, et notamment le lactate). Finalement *S. bovis*, qui est considéré comme l'espèce bactérienne jouant un rôle central dans le développement de l'acidose ruminale, présente dans cette étude des chiffres absolus bas. Comme pour les autres bactéries amylolytiques du rumen, comme les *Prevotella*, *S. bovis* a répondu au passage à l'aliment riche en concentrés par une augmentation exceptionnelle (x 67).

Martin *et al.* [110] ont étudié l'effet de la supplémentation en céréale sur l'activité fibrolytique ruminale associée à la phase solide du contenu ruminal. Les auteurs ont démontré que l'apport d'orge dans la ration ne modifiait pas la proportion des 3 espèces cellulolytiques majeures attachées aux particules végétales. Si l'orge présente un effet dépressif sur la vitesse de dégradation du foin, c'est par une diminution de l'activité fibrolytique des bactéries associées à la phase solide, et non par une modification de l'équilibre des trois espèces cellulolytiques majeures, que l'on peut expliquer ce phénomène.

2.2 Effet du nombre de repas

L'existence d'une influence du nombre de repas sur la composition de la microflore ruminale a été recherchée. Dehority et Tirabasso [51] ont étudié la composition de la flore ruminale selon la fréquence du nombre de repas. Les animaux, après une période d'adaptation au régime, recevaient leur ration quotidienne en une, six ou 24 fois ; les mesures de concentrations bactériennes étaient effectuées au jour J₁ et J₅ de l'expérimentation. La population cellulolytique n'était pas affectée par la fréquence des repas ni à J₁ ni à J₅. De la même façon, Dehority et Orpin [50] rapportent que Moir et Somers (1957) n'ont pas observé de différence entre les concentrations bactériennes lorsque les moutons étaient nourris une, deux ou quatre fois par jours. Cecava *et al.* ont obtenus des résultats similaires chez des bœufs [30].

Dehority et Orpin [50] rapportent que Warner a découvert, en utilisant des méthodes de comptage direct, que chez les moutons nourris une fois par jour, la concentration en bactéries

totales diminuait une à quatre heures après le repas, augmentait lentement jusqu'à un maximum entre 12 et 20 heures, puis diminuait graduellement jusqu'au repas suivant. Warner en a conclu que ses variations de concentration reflétaient tout d'abord la dilution initiale des aliments, par l'eau et la salive, puis l'augmentation, conséquence de la croissance bactérienne en réponse à l'apport des nutriments, qui dépasse l'effet de la dilution, et finalement la diminution finale correspond à un épuisement des substrats bactériens.

Leedle *et al.* [100] ont également utilisé des méthodes de comptage direct et de comptage des bactéries viables pour étudier les variations diurnes du nombre de bactéries ruminales dans des bovins recevant des rations riches en fourrages ou riches en concentrés en un repas quotidien. Les valeurs obtenues diminuaient après le repas ; les valeurs les plus faibles étaient observées, pour le régime riche en concentré et le régime riche en fourrage, respectivement deux et quatre heures post-repas. Les concentrations augmentaient par la suite, obtenant leurs valeurs maximales à 16 heures. Ces données sont conformes aux résultats de Warner. Les proportions les plus faibles de bactéries viables étaient obtenues deux heures après le repas (14,6 % et 14,1 %), alors que les valeurs les plus fortes étaient observées 16 heures après (respectivement 48,6 % et 73,5 % pour la ration riche en fourrage et celle riche en concentrés). Des variations des populations bactériennes fermentant les glucides (glucose, amidon, pectine, xylane, xylose et cellulose) ont été observés. Les valeurs les plus faibles observées étaient également observées deux ou quatre heures post-prandial. Le pic de concentration pour les sous-groupes utilisant le xylane ou la cellulose étaient observées à 16 heures chez les animaux recevant de grandes quantités de fourrages ; les autres sous-groupes atteignaient leur taux maximum à 12 heures, alors que tous les sous-groupes atteignaient leur valeurs maximum à 16 heures dans le groupe d'animaux nourris avec de grande quantité de concentrés.

2.3 Effet du jeûne et de la sous alimentation

Leroy [103] décrit les variations des populations bactériennes et ciliées chez des ruminants privés de toute alimentation. Après 24 heures de jeûne, les protozoaires sont moins actifs, et le nombre de bactéries diminue. Après 48 heures, les prélèvements contiennent très peu d'holotriches et peu d'oligotriches, quelques chaînettes de bactéries et quelques bactéries en groupe. Au bout de 72 heures, il n'y a plus d'holotriches, les oligotriches sont peu nombreux et presque inactifs ; le nombre de bactéries est considérablement diminué. Leroy rapporte d'autre part que, après 4 à 5 jours de privation de nourriture, une disparition totale des protozoaires et une réduction sévère du nombre de bactéries est observée.

Le jeûne est à l'origine de la disparition de toute adaptation de la micropopulation à un régime particulier. Leroy rapporte que Huhtanen *et al.* ont observé une réduction importante de la capacité de l'échantillon ruminal à digérer la cellulose dans un rumen artificiel. Le taux de 75 % en moyenne de cellulose digérée est fortement diminué après 72 heures de jeûne. De la même façon, l'activité et la capacité fermentaire du rumen atteignent en 24 à 48 heures de jeûne des valeurs nettement inférieures aux valeurs normales [103]. Selon Leroy, les expériences menées sur les effets du jeûne sur l'activité de la micropopulation ruminale mettent en évidence une baisse très nette de celle-ci.

De plus, les effets de la sous-alimentation ont également été étudiés. Ainsi, Grimaud *et al.* [77] ont de leur côté étudié les effets de la sous-nutrition chez des zébus. Une diminution de la digestibilité était observée, et étant donné que ni le temps de rétention des particules dans le rumen, ni la taille des particules ne variait avec le taux de prise alimentaire, l'hypothèse d'une diminution de l'activité microbienne a été émise.

Doreau *et al.* [52] obtiennent des résultats sensiblement différents chez des animaux consommant des quantités faibles d'aliment par rapport aux résultats précédents. Ainsi, Doreau rapporte que, dans un essai non publié de Michalet-Doreau et de Doreau, si la quantité totale de microorganismes du rumen associés à la phase solide a diminué en réponse à la réduction de l'apport de nutriment, la concentration de bactéries associées à la phase solide n'a pas été modifiée par le niveau d'ingestion.

Au final, s'il n'est pas établi que les baisses de digestibilité à bas niveau d'ingestion soient dues à une réduction de l'activité microbienne, deux hypothèses sont néanmoins susceptibles d'expliquer une diminution de l'activité microbienne. La première hypothèse implique un déficit en nutriments spécifiques des microbes. En plus d'énergie, les microorganismes ont besoin d'azote fermentescible, essentiellement sous forme d'ammoniac, mais aussi d'acides aminés. Un essai a montré une diminution de l'efficacité de la synthèse microbienne à bas niveau d'ingestion [52]. Toutefois, dans un autre essai, d'après Doreau *et al.* [52], il est apparu qu'une limitation en constituant azoté était peu probable, car la teneur en azote fermentescible n'interfère pas avec la réponse de la digestibilité à une diminution d'ingestion, et que les composés azotés du liquide ruminal ne semblent pas être en quantité limitante. D'autres composés comme le soufre et le phosphore sont connus pour limiter la croissance microbienne. Leur concentration n'a pas été mesurée dans le liquide ruminal dans des essais de sous-alimentation. On peut néanmoins supposer que le phosphore n'est pas un facteur limitant, en raison de sa teneur élevée dans la paille de riz qui est le fourrage utilisé dans l'essai de Grimaud *et al.* [77], dans des essais où la digestion a chuté à faible niveau d'ingestion.

Une seconde hypothèse a trait à une modification des interrelations entre particules et microorganismes. Doreau *et al.* [52] rappellent que Baker et Dijkstra ont proposé un modèle de dégradation de substrat incluant la surface particulaire réellement disponible pour l'attaque microbienne. Dans cette perspective, une forte sous-alimentation peut induire des modifications importantes des activités de dégradation. La faible teneur en matière sèche du contenu de rumen d'animaux sous-alimentés pourrait limiter l'attachement des bactéries aux particules en raison d'une faible probabilité de contact [53], ou de l'implication d'une modification de la viscosité du milieu. Une autre voie d'exploration de cette moindre adhésion est l'analyse du calcium soluble dans le rumen. En effet, un déficit en cet élément est connu pour limiter l'adhésion et donc la dégradation microbienne.

2.4 Effet de la photopériode

D'autres facteurs sont à l'origine de variation de la composition de la microflore ruminale. Mc Ewan *et al.* [112] ont étudié la dynamique de la population bactérienne ruminale en réponse à la photopériode. Les auteurs ont montré des modifications dans la distribution des principales espèces bactériennes, dans la concentration des acides gras volatiles à chaînes non ramifiées, et dans la concentration des acides gras volatiles totaux, alors que les taux d'ammoniac et d'acides gras volatiles chaînes ramifiées, ainsi que la population ciliées ne présentait pas de changements. Il est probable que les changements dans les taux d'acides gras volatiles soient une conséquence des changements dans la population bactérienne. Les raisons de ces modifications ne sont pas bien expliquées. Un certain nombre d'hypothèses peuvent être émises : suite aux changements hormonaux associés à la photopériode, il est possible qu'au moins un de ces éléments altérés présent dans le sang puisse traverser la paroi ruminale, influencer l'environnement ruminal et avoir un effet sur les compositions bactériennes. Il est également possible qu'un composant soit présent à

un taux limitant pour une population bactérienne. Ces hypothèses ne sont pas exclusives, et une combinaison de causes peut également expliquer le phénomène observé.

2.5 Effet des protozoaires ruminiaux

La présence des protozoaires ruminiaux affecte également de façon notable la composition de la flore bactérienne du rumen. Certaines études ont démontré que l'élimination totale des protozoaires ruminiaux entraîne une augmentation de la population bactérienne, et une diminution de la population méthanogène du rumen [170].

Ozutsumi *et al.* [134] ont étudiés les compositions en bactéries ruminales chez des animaux défaunés ou non. Le nombre d'OTU (opérationnel taxonomic unit) était inférieur chez les sujets défaunés, ce qui suggère que la diversité bactérienne était moins importante chez ses animaux. Les auteurs ont conclu, après analyse statistique, que les compositions des flores bactériennes en présence et en absence de protozoaires étaient significativement différentes. D'autres études ont montré par ailleurs que les quantités de bactéries totales, ainsi que celles des bactéries amylolytiques et cellulolytiques étaient supérieures chez des animaux défaunés, que chez les animaux présentant une faune ruminale [176]. La relation de prédation existant entre les protozoaires et les bactéries ruminales est bien connu, et donc le nombre et la composition bactérienne sont influencés par ces microorganismes.

Williams et Withers [187] ont étudié les effets de la réintroduction de ciliés chez des moutons défaunés sur la flore ruminale, ainsi que sur ses profils fermentaires. Suite à la réintroduction de protozoaires, le nombre de bactéries totales ne déclinait pas, et une légère augmentation, transitoire, du nombre de bactéries amylolytiques et xylanolytiques était observée peu de temps après le début de la refaunation. Lorsque le nombre de protozoaires devenait important, ces deux dernières populations bactériennes déclinaient.

2.6 Adaptation à des composés toxiques

L'une des caractéristiques des ruminants réside dans leur capacité à acquérir une tolérance à des concentrations croissantes de substances toxiques dans la ration. Dans certains cas, l'acquisition de cette tolérance peut être imputée à des changements dans la population microbienne ruminale, qui conduit à améliorer le rendement de la dégradation des toxines [48]. Ces variations de population peuvent être considéré comme des moyens d'adaptation aux changements environnementaux. Comme précédemment, le changement de l'environnement induit un changement adaptatif de la population bactérienne.

Cette adaptation à des composés toxiques est multiple. C'est le cas, entre autres, des oxalates. L'oxalate de sodium et de potassium sont des substances communes présentes dans les végétaux consommés par les ruminants, mais seules quelques plantes contiennent des quantités suffisantes d'oxalate pour être considérée comme toxique. Les ruminants nourris avec des quantités augmentant progressivement d'oxalate développent une tolérance à des quantités plus importantes d'oxalate, grâce à l'amélioration du rendement de dégradation de l'oxalate [48]. La capacité d'utilisation de l'oxalate comme source d'énergie est rare parmi les anaérobies ruminiaux. Cette niche écologique semble n'être occupée que par une unique bactérie, *Oxalobacter formigenes* [49]. L'augmentation progressive des quantités apportées à l'animal favorise la sélection de cette bactérie, expliquant ainsi la capacité des ruminants à s'adapter, et finalement à tolérer, des régimes contenant des quantités d'oxalate qui seraient létales pour des animaux non adaptés.

Tableau 6 : Concentrations minimales inhibitrices en Monensin, Lasalocide et Avoparcine sur les bactéries ruminales en cultures pures (d'après [164])

	Monensin ¹	Lasalocide	Avoparcine
<i>Anaerovibrio lipolytica</i>	> 48	> 48	> 50
<i>Prevotella ruminicola</i>	> 20	> 10	> 50
<i>Ruminobacter amylophilus</i>	> 48	> 48	
<i>F. succinogenes</i>	> 20	> 10	32
<i>Selenomonas ruminantium</i>	> 48	> 48	> 50
<i>Megasphaera elsdenii</i>	> 48	> 48	> 50
<i>Veillonella parvula</i>	> 48	24	> 50
<i>Lactobacillus acidophilus</i>			50 → 100
<i>L. vitulinus</i>	0,38 - 1,5 ²	0,38 – 1,5 ²	
<i>L. ruminis</i>	1,5 – 3,0	1,5	
<i>Lachnospira multiparus</i>			4
<i>Streptococcus bovis</i>	0,75 → 48 ²	0,38 – 0,75 ²	8
<i>Ruminococcus bovis</i>	0,38	0,38	16
<i>R. flavofaciens</i>	0,38	0,38	0,5
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	0,38	0,38	4.0
<i>Succinomonas amylolytica</i>	> 48	> 48	
<i>Succinivibrio dextrinosolvens</i>	> 48	> 48	

¹ : concentration minimale inhibitrice, en µm/ml

² : variation en fonction des souches testées

2.7 Effet des antibiotiques

A côté des antibiotiques utilisés comme facteurs de croissance, d'autres antibiotiques présentent des effets potentiellement néfastes sur les fermentations ruminales : c'est le cas de la chlortétracycline, de l'oxytétracycline, de la pénicilline, de l'oléandomycine et de l'érythromycine [31]. Ils inhibent la cellulolyse et la production des acides gras volatils. Les effets sont souvent les plus marqués au début de leur administration *per os* et quand l'ingestion des antibiotiques est strictement couplée à celle des aliments. D'autres part, les antibiotiques administrés par voie parentérale peuvent via la salive ou la paroi du rumen, aux doses thérapeutiques, déprimer l'activité microbienne.

Etant donné que la capacité pour les hommes de manipuler avec succès un système est directement liée à leur compréhension de ce système, il n'est pas étonnant que le rumen soit souvent considéré comme un système mystérieux. Afin d'améliorer les performances des ruminants domestiques, les chercheurs ont tenté de développer des méthodes pour manipuler la flore ruminale, et ainsi manipuler les fermentations de ces bactéries.

3. Implications nutritionnelles

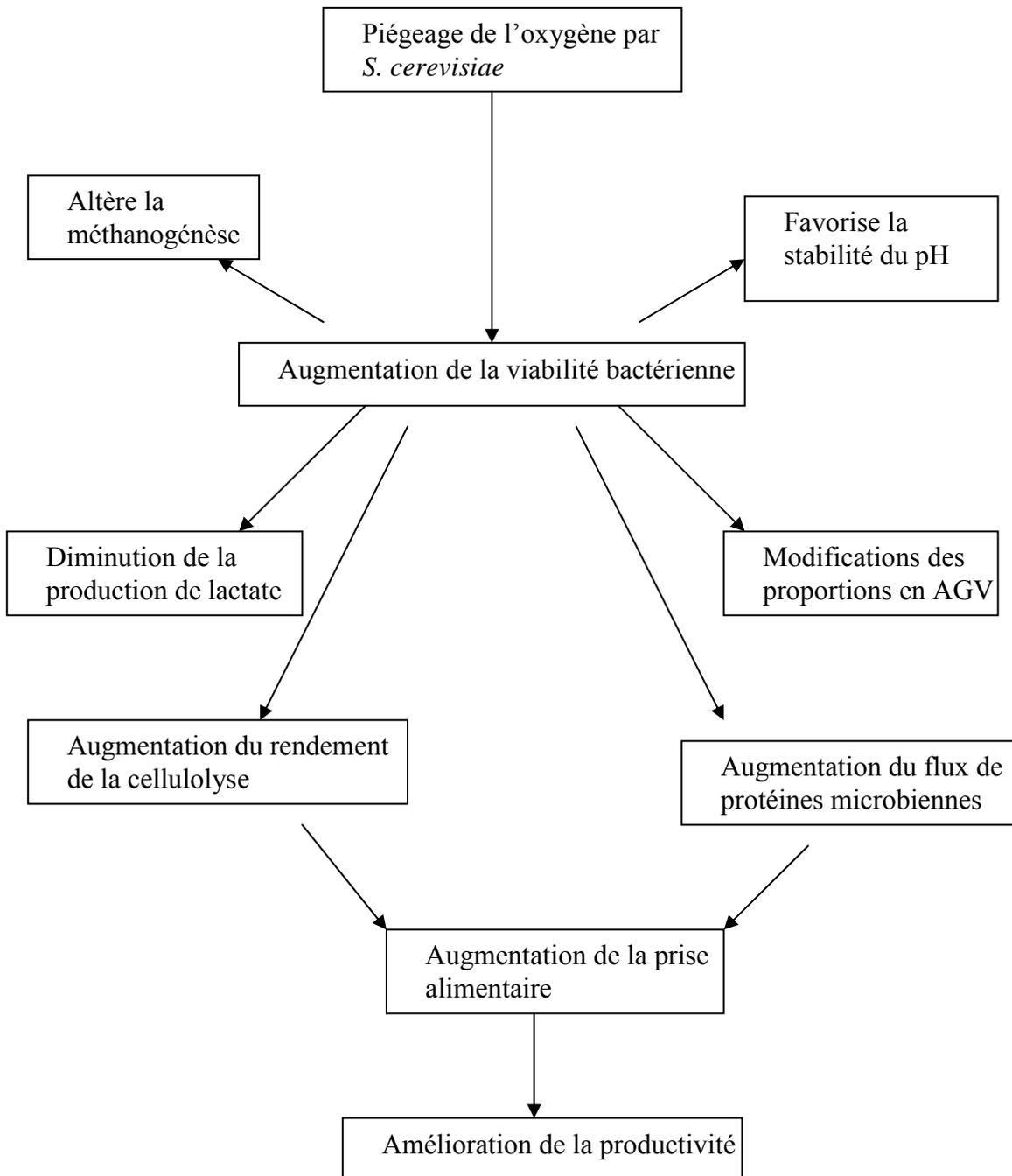
3.1 Utilisation d'additifs alimentaires antimicrobiens (tableau 6)

La recherche de méthodes permettant d'augmenter le rendement de la ration des ruminants a conduit à étudier de manière importante l'effet des antibiotiques ionophores sur la flore ruminale. Il s'agit d'antibiotiques qui tirent leur activité antibactérienne des modifications de répartition ionique qu'ils induisent. On en distingue trois types : les quasi ionophores comme la gramicidine, les ionophores neutres comme la valinomycine et les polyesters carboxyliques comme le monensin, le lasalocide, la nasarine et d'autres qualifiés d' « antibiotiques carboxyliques ionophores » [22]. Ceux des deux dernières catégories présentent une structure en longue chaîne repliable qui leur permettent de dessiner une forme en coquille, permettant de dissimuler des ions. Les ions seuls ne passeraient pas la bicouche des parois cellulaires. Dans l'enveloppe que constitue l'antibiotique, ils passent dans la cellule, ce qui sera finalement létal. L'utilisation comme facteur d'orientation de l'activité fermentaire dans le rumen résulte d'une effet de sélection des germes, les bactéries Gram positives étant détruites, d'une pression moindre sur les Gram négatifs (protégés par leur enveloppe de lipopolysaccharides), d'où la poursuite de leur activité fermentaire.

Russel et Strobel [148] rappellent les effets des antibiotiques ionophores sur les microorganismes ruminiaux. La consommation d'ionophores inhibe la méthanogénèse ruminale, mais ces antibiotiques ne sont pas particulièrement toxiques pour les méthanogènes. Lorsque de l'hydrogène est ajouté à des cultures contenant plusieurs types de bactéries ruminales et du monensin, la production de méthane augmente. Etant donné que les bactéries produisant de l'hydrogène et du formate, et que les productrices de succinate et de propionate étaient plus tolérante [33], il apparaît que la diminution de production de méthane étaient dues à une chute de la production d'hydrogène, le principal substrat des méthanogènes ruminiaux.

Les *Ruminococci* cellulolytiques, et une souche cellulolytique de *Butyrivibrio fibrisolvens* étaient particulièrement sensibles aux ionophores, mais *Fibrobacter succinogenes* était capable de pousser en présence de 2,5 µg de monensin ou de lasalocide par ml [33]. La sensibilité de certaines bactéries cellulolytiques et le long temps de réponse de *F. succinogenes* pourraient expliquer

Figure 12 : Mode d'action présumé de *S. cerevisiae* sur les performances de l'animal [182]



pourquoi les expérimentations de courtes durées ont montré *in vitro* une dépression de la digestion de la cellulose, alors que les tentatives *in vivo* n'ont pas montrée de dépression.

D'autre part, Russel et Strobel [148] signalent que *Streptococcus bovis*, bactérie proliférant lorsque de l'amidon est présent en quantité importante, est sensible au monensin, alors que *Megashaera elsdenii* et *Selenomonas ruminantium*, bactéries utilisant le lactate, sont résistantes à cet antibiotique. Les différences de sensibilités entre les bactéries produisant et celles utilisant le lactate sont conformes avec la diminution *in vivo* du lactate ruminal et l'élévation du pH ruminal.

Quant à la flore protéolytique, l'apport d'ionophores dans l'alimentation s'accompagne d'une diminution des activités de protéolyse et de désamination [127]. Il semble néanmoins qu'une période d'adaptation soit nécessaire pour observer cette diminution : l'ajout de tetrone à des cultures de *R. amylophilus* et de *P. ruminicola* n'influence pas les activités protéasiques, déaminasiques ou dipeptidasiques. Cependant, lorsque les bactéries sont adaptées à croître en présence de tetrone, la désamination des acides aminés est sévèrement inhibée. D'autre part, la flavomycine (antibiotique phosphoglycolipidique dont le mode d'action diffère des ionophores) déprime la croissance des bactéries produisant de grandes quantités d'ammoniaque, notamment *Fusobacterium necrophorum* [58]. Cet antibiotique permet donc de dévier le métabolisme en diminuant les quantités produites d'ammoniaque d'une part, et de limiter le développement de *F. necrophorum*, agent pathogène impliqué dans le développement de lésions de la paroi du rumen et dans les abcès hépatiques.

Van Nevel et Demeyer [178] ont étudié l'effet de différents antibiotiques sur les activités lipolytiques et de biohydrogénation des bactéries ruminales. Les ionophores et l'amoxicilline étaient à l'origine d'une inhibition très importante la lipolyse, alors que le lasalocide était l'unique antibiotique entraînant une diminution de la biohydrogénation. Au contraire de ces résultats, selon Stewart et Bryant [164], d'autres, obtenus lors de l'étude des effets d'antibiotiques (comme le monensin et le lasalocide) sur des cultures pures de souches de bactéries ruminales, montraient que la bactérie lipolytique *Anaerovibrio lipolytica* était peu sensible. Les protozoaires jouent un rôle mineur dans la lipolyse, mais leur croissance était diminuée lorsque des ionophores étaient ajoutés. Néanmoins, comme dans toute utilisation d'antibiotiques, des phénomènes de résistances aux ionophores sont apparus suite à leur utilisation [148]. Leur utilisation est désormais interdite en Europe.

3.2 Utilisation d'additifs microbiens

L'utilisation d'extraits de cultures microbiennes, particulièrement d'*Aspergillus oryzae* et de *Saccharomyces cerevisiae*, comme additifs alimentaires a été réalisée depuis de nombreuses années. L'élargissement de leur utilisation comme agents de manipulation des fermentations ruminales est quant à elle plus récente. Certaines études estiment que ces additifs microbiens seraient bénéfiques pour l'alimentation animale (en termes de gain de poids vif ou de production laitière) dans une proportion équivalente aux ionophores (7 à 8 % d'amélioration) [182]. Les effets sont cependant très variables.

Différents schémas ont été proposés pour regrouper en un mode d'action logique les différentes observations qui ont été réalisées sur les additifs microbiens. La figure 12 présente une séquence proposée par Wallace [182] permettant d'expliquer le mode d'action de ces levures.

L'utilisation des cultures de levures de *S. cerevisiae* s'accompagne d'une augmentation des numérations de bactéries anaérobies viables présentes dans le rumen. Des augmentations de 50 à

100% sont communes, mais des augmentations d'un facteur supérieur à 10 ont été observées. La population cellulolytique augmente en nombre, et les bactéries utilisatrices des acides sont stimulées par les acides dicarboxyliques présents [182]. Ceci explique en partie l'amélioration de la dégradation des fibres et l'augmentation de la stabilité des fermentations ruminales chez les animaux recevant des levures. Néanmoins, l'augmentation du total de bactéries viables semble être surtout le fait d'une augmentation de la proportion cellules vivantes : cellules mortes. L'action de *S. cerevisiae* semble être temps dépendant : l'ajout de cultures de levure diminuerait les variations post prandiales des fermentations ruminales [60].

Le mécanisme d'action de ces additifs est encore mal connu. Il a été proposé que *S. cerevisiae*, en consommant le dioxygène présent dans le contenu ruminal lors des différentes étapes du séjour des aliments (apport lors de la consommation de aliments et de la rumination), protègent les bactéries anaérobies de ce toxique [182]. L'activité de *A. oryzae* ferait intervenir une activité métabolique ou un intermédiaire thermolabile.

D'autre part, dans le but de réduire les risques d'acidose dans les élevages de bovins à l'engraissement, des recherches ont été conduites sur ces probiotiques. Ghorbani *et al.* [73] ont étudiés les effets de probiotiques sur la prévention de l'acidose. La consommation d'aliments contenant les additifs bactériens (*Propionibacterium* et *Enterococcus faecium*) s'accompagne d'une réduction de la taille de la population de *S. bovis* et d'une diminution de la concentration sanguine en CO₂. Il semble que certains probiotiques ont la capacité de réduire le risque d'acidose ruminale. Néanmoins, ces résultats ne sont pas obtenus pour tous les additifs testés (*S. cerevisiae*, ...) [13].

3.3 Utilisation de bactéries génétiquement modifiées

Dans le but d'améliorer la dégradation ruminale des fibres, de nombreux efforts ont été réalisés pour développer des bactéries génétiquement modifiées présentant de plus grandes capacités de dégradation des fibres. La construction de ces bactéries génétiquement modifiées est basée sur le postulat que les bactéries ruminales ne produisent pas le bon cocktail enzymatique qui permettrait de maximiser la digestion des végétaux. Par exemple, les Ruminocoques et *F. succinogenes* ne produisent pas d'exocellulases actives contre la cellulose cristalline, donc l'ajout de cette activité enzymatique pourrait améliorer leur capacité de dégradation. La transformation des trois espèces cellulolytiques majeures (*F. succinogenes*, *R. flavefaciens* et *R. albus*) n'a pas été couronnée de succès, mais cela a été possible avec *B. fibrisolvans*, *S. bovis* et *Prevotella* spp. [96]. Les modifications de *B. fibrisolvans* avec la glycosyl hydrolase s'accompagnent *in vitro* d'une amélioration de la digestibilité des fibres. Néanmoins, ceci ne lui permet pas de concurrencer *F. succinogenes* et les Ruminocoques, et au final ces souches génétiquement modifiées ne persistent pas plus de 10 à 15 jours dans le rumen [96].

Une approche alternative serait de créer des bactéries recombinantes qui puisse dégrader les fibres pour des valeurs de pH faibles. La digestion des fibres diminue chez les animaux recevant des rations riches en grains car le pH ruminal devient inférieur à 6,5, et les Ruminocoques et *F. succinogenes* sont sensibles aux pH même modérément acide. Russel et Wilson [149] estiment que l'apport d'enzymes fibrolytiques à des espèces résistantes aux acides comme *Prevotella* permettrait de créer un organisme qui serait beaucoup plus compétitif, car il serait capable d'occuper une niche écologique « acide », que les autres bactéries fibrolytiques ne peuvent pas occuper. Un certain nombre d'études ont permis de créer ce type de microorganismes, mais aucune étude *in vivo* n'a été menée [96]

L'utilisation de souches génétiquement modifiées pose un problème d'ordre éthique : ainsi, une souche de *Butyrivibrio fibrisolvens* dégradant le fluoro-acétate a été créée dans le but de détoxifier cette toxine d'origine végétale, importante en Australie. Néanmoins, en raison des risques de diffusion, notamment aux animaux sauvages, il n'a pas été possible de l'implanter [64]. Les risques, réels ou seulement perçus, de l'utilisation de microorganismes génétiquement modifiés, sans aucun doute efficaces, conditionnent et conditionneront sans aucun doute les recherches sur ce sujet.

III- Installation de la flore ruminale chez le jeune

L'une des particularités des ruminants est la présence d'une flore et d'une faune ruminale jouant un rôle prépondérant dans la digestion de l'hôte. A la naissance, le rumen est virtuellement stérile, de petite taille, avec une activité carbohydrasique faible. Un certain nombre de changements doivent donc avoir lieu afin d'atteindre les fonctions spécialisées que l'on retrouve chez l'adulte.

A- Etablissement de la microflore ruminale

Le rumen des agneaux [66] et des veaux [6] est rapidement colonisé après la naissance par une population bactérienne abondante et complexe. Au second jour de vie, Fonty *et al.* ont montrés que les bactéries, isolées de rumen d'agneaux, sont trouvées à des concentrations proches de celles observées chez les adultes, avec des espèces anaérobies strictes devenant prédominantes [67]. Cependant, les principaux genres bactériens observés chez des agneaux avant l'âge de 10 jours étaient différents de ceux des ruminants adultes [50]. Les principaux genres ou espèces trouvées étaient : *Propionibacterium acnes*, *Clostridium ramosum*, *C. chauvei*, *Clostridium* sp., *C. clostridiiforme*, *Bacteroides* sp., *Eubacterium* sp., *Peptostreptococcus productus*, *Bifidobacterium adolescentis* et *Lachnospira multiparus*.

Au cours de la première semaine de vie, la flore est principalement composée de bactéries de type coliformes (principalement *Escherichia coli*) associées à des streptocoques ; aucun lactobacille n'a été trouvé à cet âge. La concentration de coliformes (10^7 - 10^8 /g) était supérieure à celles trouvées chez l'adulte, puis chutait en dessous de 10^4 /g au cours des deux semaines suivantes [165]. Ensuite, des lactobacilles (*Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum* et certaines souches similaires à *L. brevis* prédominant au sein des lactobacilles [165]), en association avec des streptocoques sont trouvés ; et des espèces de ces deux genres persistent pendant un certain temps [56], [159]. Durant les premières semaines de vie, *Streptococcus faecium* est retrouvé comme l'espèce majoritaire de streptocoques, puis est remplacé par une variété de souches de *S. bovis*. La gamme de souches de *S. bovis* présentes diminue au fur et à mesure que l'animal grandit [165].

Bryant *et al.* [27] ont montré qu'entre 1 et 3 semaines d'âge, les bactéries capables de croître sous des conditions aérobies, ainsi que les coliformes, sont les bactéries prépondérantes. De même, les bactéries fermentant le lactate sont présentes en grande quantité chez les veaux âgés d'une à 3 trois semaines, puis diminuent pour atteindre des valeurs proches de celles chez l'adulte vers l'âge de 9-13 semaines. Ces résultats ont été confirmés par les travaux de Agarwal *et al.* [1].

Dans le même temps, selon Anderson *et al.*, on observe une augmentation progressive du nombre de bactéries anaérobies avec l'âge du jeune et le développement du rumen, alors qu'en comparaison, le nombre de bactéries anaérobies facultatives (parmi lesquelles on retrouve principalement les lactobacilles) diminue au cours des 5 premières semaines [6]. A l'âge de 6 semaines, on retrouve beaucoup de bactéries similaires à celles présentes chez l'adulte, et aux

Tableau 7 : Effet de l'âge de jeunes veaux buffles sur la flore bactérienne du rumen (d'après [150])

Espèce bactérienne	Age du veau (en semaines)				
	8	12	16	20	24
	(en pourcentage d'incidence)				
<i>Fibrobacter succinogenes</i>	15,2	15,2	11,9	11,2	4,7
<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	21,2	20,0	19,0	5,9	15,1
<i>Ruminococcus albus</i>	15,2	17,5	16,7	22,0	12,3
<i>Ruminobacter amylophilus</i>	6,1	5,0	4,8	5,9	3,8
<i>Succinomonas amylolytica</i>	3,0	2,5	4,8	5,9	3,8
<i>Lachnospira multiparus</i>	-	-	-	-	0,9
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	12,1	17,5	11,9	20,6	16,0
<i>Prevotella ruminicola</i>	6,1	5,0	4,8	2,9	13,2
<i>Selenomonas ruminantium</i>	-	-	-	1,5	1,9
<i>Succinivibrio dextrinsolvens</i>	-	5,0	-	-	0,9
<i>Streptococcus bovis</i>	18,2	10,0	23,8	17,6	16,0
<i>Eubacterium ruminantium</i>	-	-	2,4	-	3,8
<i>Lactobacillus spp.</i>	3,0	-	-	-	2,8
<i>Non-identifié</i>	-	-	-	-	4,7
<i>Megasphaera elsdenii</i>	-	2,5	-	-	-

alentours de 9-17 semaines, les bactéries prédominantes sont les bactéries typiques des ruminants adultes. L'établissement d'un nombre important d'espèces d'*Oscillospira* et de *Selenomonas* semble être reliée à l'âge de l'animal, et ne s'implante probablement pas avant l'âge de 2 mois [159]. Le tableau 7, d'après Sai Sudhakar *et al.* récapitule, chez les veaux de buffle, la composition de la flore ruminale du jeune en fonction de l'âge.

La population bactérienne cellulolytique est présente chez le veau dès l'âge de 3 jours (figure 13), et peut même être représentée en relativement grand nombre ($>10^4$ /ml) (d'après Anderson *et al.* [6]). L'augmentation de cette flore se déroule de manière linéaire avec l'âge du veau (figure 14). A l'âge de 3 semaines, le nombre de bactéries cellulolytiques était semblable au nombre observés chez l'adulte. Les principales espèces cellulolytiques rencontrées chez le jeune sont les Ruminocoques, principalement *R. albus* selon Bryant *et al.* [27], et *F. succinogenes* [67]. Les souches cellulolytiques retrouvées chez le jeunes semblent donc être les mêmes que chez l'adulte.

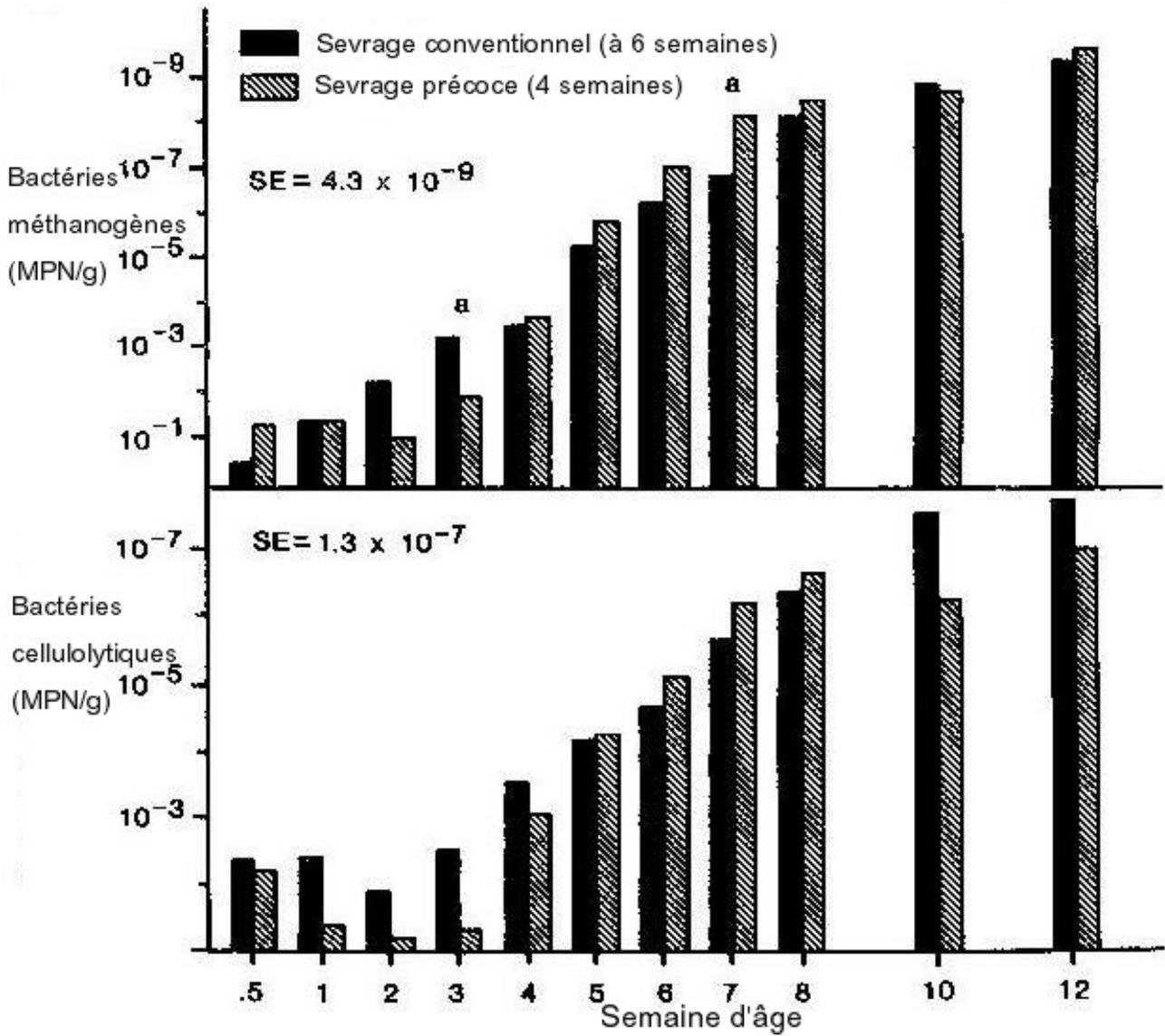
D'autre part, Fonty *et al.* [67] ont étudié le développement des fonctions digestives du rumen chez des agneaux placés en isolateurs stériles quelques jours après leur naissance. La cinétique d'établissement des bactéries cellulolytiques était plus irrégulière et moins rapide chez les agneaux isolés que chez les témoins ; de plus, les bactéries cellulolytiques étaient présentes en plus grand nombre à la fin de la première semaine chez les témoins, alors que leur nombre variait beaucoup pendant les 2 premiers mois chez les agneaux isolés. Fonty *et al.* ont attribués ces fluctuations à un écosystème moins stable. De plus, ils ont conclu que les espèces bactériennes qui colonisent le rumen immédiatement après la naissance, lorsque l'organe n'est pas encore fonctionnel, jouent un rôle essentiel en établissant un biotope favorable à l'établissement des souches cellulolytiques.

Comme les bactéries cellulolytiques, les méthanogènes s'implantent rapidement (dès 3 jours) chez le jeune. Selon Skillman *et al.* [160], la population de méthanogènes atteint 10^4 méthanogènes par gramme à une semaine, et augmente pour atteindre le chiffre de 10^8 - 10^9 par gramme à l'âge de 3 semaines. La figure 13 présente l'évolution selon le type de sevrage de la population méthanogène en fonction de l'âge. *Methanobrevibacter* spp. principalement, et *Methanobacterium* spp. dans une moindre mesure, est impliqué dans la colonisation initiale du rumen du jeune, ce qui suggère que les principaux méthanogènes trouvés dans le rumen des adultes s'établissent rapidement après la naissance, avant que les fonctions ruminales ne se développent.

Les bactéries amylolytiques et protéolytiques augmentent de manière linéaire avec l'âge du veau (figure 14). La population protéolytique représenterait 1 à 2 % de la population anaérobie totale jusqu'à l'âge de 10 semaines, puis augmente pour en représenter 10 % à 12 semaines [6]. Quant à la flore amylolytique, le nombre de ses représentants est plus important chez des animaux subissant un sevrage précoce.

La communauté bactérienne se trouvant sur les parois du rumen s'établit rapidement après la naissance chez l'agneau [165]. La composition de cette population bactérienne se modifie également avec l'âge de l'animal. Mueller *et al.* [119] ont distingués 24 types morphologiques de bactéries adhérentes à la paroi du rumen chez des agneaux âgés de une à dix semaines, mais seulement sept, présents chez l'agneau et chez l'adulte, pouvaient être considérée comme des membres « autochtones » de la communauté épimurale. L'utilisation de la culture bactérienne a montré que la majorité de ses organismes étaient anaérobies, et la plupart des bactéries isolées appartenaient à des genres déjà isolés du contenu ruminal [119]. De nouvelles souches ont été trouvées, et d'autres ont été détectées dans des proportions différentes de celles trouvées dans le jus de rumen. La complexité de la flore augmente avec l'âge de l'animal. Ainsi, à l'âge d'une semaine,

Figure 13 : Numération des bactéries cellulolytiques et méthanogéniques chez des veaux sevrés normalement (âge : 6 semaines) ou précocement (âge : 4 semaines) [6]



Streptococcus bovis était la bactérie dominante, avec d'autres bactéries comme *Clostridium ramosum*, *Bacteroides sp.* et *Bacteroides fragilis* [119]. A deux semaines, *S. bovis* diminuait, et *Bacteroides sp.* devenait prédominante. *Butyrivibrio fibrisolvens* était également retrouvées en grand nombre. A quatre semaines, *Bacteroides sp.* n'était plus isolée, mais à la place *Lactobacillus ruminis* et *Selenomonas ruminantium* étaient dominants. A six semaines, *S. ruminantium* était co-dominante avec *Prevotella ruminicola*. Trois autres microorganismes, *B. fibrisolvens*, *Ruminococcus albus* et *Streptococcus sp.* étaient trouvés en nombre important. Enfin, à l'âge de 8 semaines, la flore bactérienne devenait plus complexe, et aucune espèce ne prédominait clairement [119]. Les changements observés dans la flore épimurale étaient apparemment reliés à une combinaison de facteurs potentiellement influençant : changement de la morphologie de la papille, modification de la teneur en oxygène, du contenu alimentaire et des taux d'acides gras volatils [119].

Au final, il apparaît que le rumen est colonisé immédiatement après la naissance par une grande variété de bactéries, incluant des aérobies et des anaérobies facultatifs. Beaucoup d'entre elles survivent, si survie il y a, dans le rumen des adultes en petit nombre. Ces organismes sont supposés modifier l'environnement ruminal en épuisant l'oxygène présent, et ainsi en créant des conditions permettant l'établissement des bactéries anaérobies strictes. Il est probable que la plupart de ces colonisateurs précoces sont opportunistes, mais leur présence illustre la difficulté de définir une « vraie » flore ruminale chez le jeune.

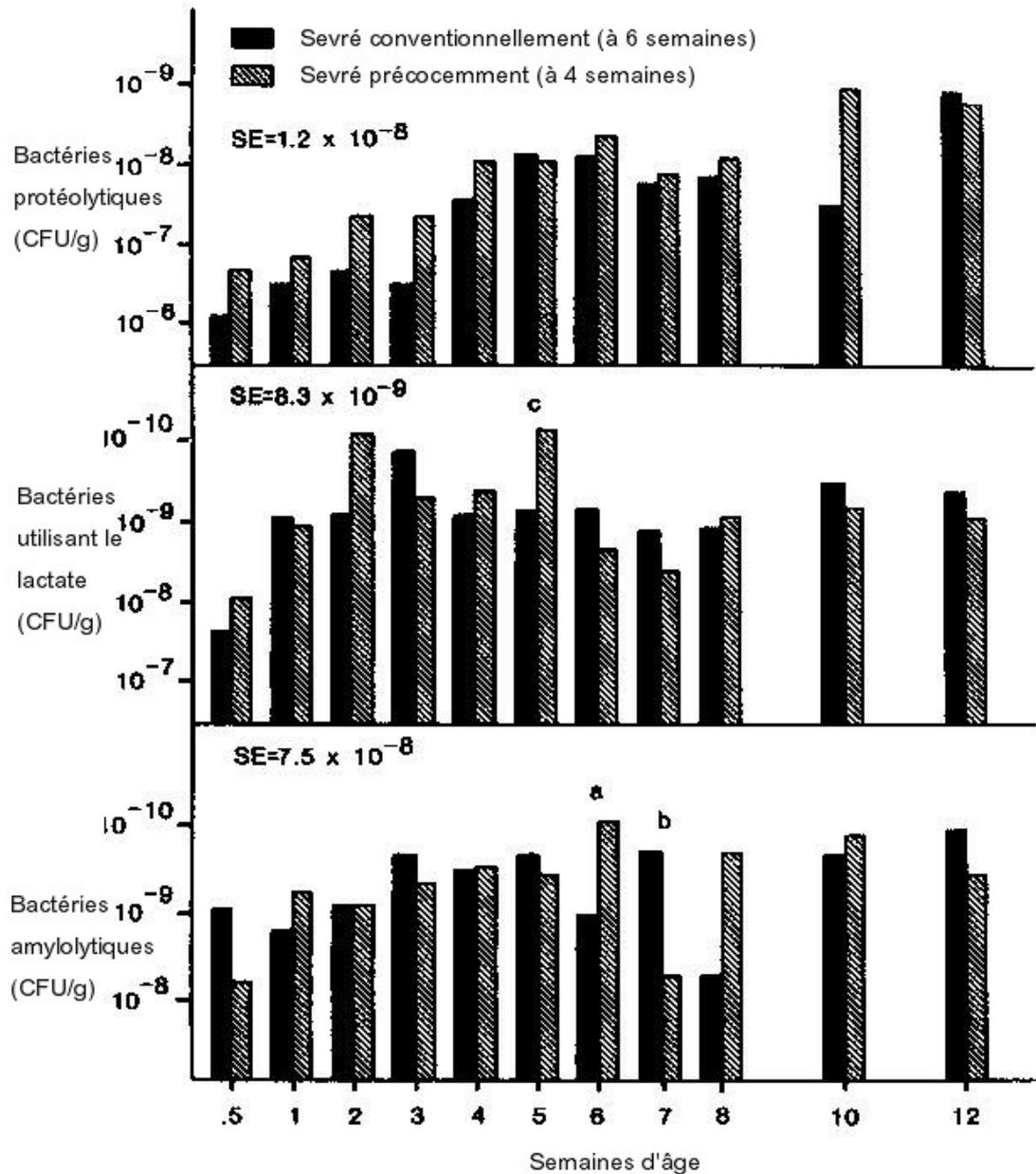
B- Origine de la contamination bactérienne du rumen

La source de la population bactérienne ruminale est importante. Les coliformes, streptocoques et lactobacilles se trouvent dans l'environnement de l'animal. Le développement des bactéries commence à la parturition par le vagin, la salive de la mère, mais aussi par le couchage, l'environnement, les autres animaux et la nourriture. Un certain nombre d'études ([67], Males d'après [50]), au cours desquelles des agneaux ont été placés en isolateurs stériles juste après la naissance (souvent naissance par césarienne pour éviter la contamination lors du part), ont montré que la population bactérienne de ces agneaux étaient alors atypique, contenant de grandes proportions d'aérobies et anaérobies facultatifs, ainsi que de nombreux anaérobies stricts, parmi les moins fréquemment trouvés dans le rumen. Le contact avec les réservoirs des bactéries ruminales semble jouer un rôle important dans la constitution de la microflore ruminale. Ainsi, Eadie et Mann [56] rapportent que Ziolecki et Briggs ont montré que, s'il existe des changements des types de streptocoques ruminiaux au cours de la croissance de l'animal, les lactobacilles ne semblent pas suivre la même tendance, et que l'inoculation semble jouer un rôle important dans leur développement.

Les bactéries ruminales les plus typiques, anaérobies, n'ont pas de réservoirs extérieurs connus en dehors du rumen. Néanmoins, Mann a montré que certains anaérobies stricts peuvent demeurer viables dans l'air à une distance importante de l'hôte [56]. Cet argument, ainsi que le fait que des populations bactériennes ruminales normales peuvent se développer chez des animaux, sans population de ciliés, logés dans la même pièce mais isolés et à distance d'autres ruminants, montre que les bactéries ruminales peuvent être transférées sans contact direct [56]. Même les microorganismes les plus grands, comme *Oscillospira* et *Selenomonas sp.* peuvent se développer chez des ruminants isolés, mais l'établissement d'un nombre important de ces organismes apparaît être relié à l'âge de l'animal, et ne commencerait pas avant l'âge de 2 mois [1].

Il semble que le rumen de l'adulte soit la principale source de la flore ruminale du nouveau-né. Néanmoins, si la source de certaines bactéries ruminales typiques trouvées chez des veaux ou

Figure 14 : Numération des bactéries amylolytiques, des bactéries utilisant les lactates et des bactéries protéolytiques chez des veaux sevrés normalement (à l'âge de 6 semaines) ou précocement (à l'âge de 4 semaines) [6]



des agneaux isolés n'est pas connue, il est possible, selon Stewart *et al.* [165], que certaines aient pour une origine une source non ruminant. Certains groupes bactériens typiques du rumen ont été trouvés dans le tractus gastro-intestinal de non ruminants, tels que les rongeurs.

C- Facteurs de variation de la flore ruminale du jeune

L'importance de la flore microbienne sur les performances de l'animal a conduit à étudier un certain nombre de conduite d'alimentation et d'additifs nutritionnels, afin de faciliter, et accélérer l'implantation d'une population de bactéries proche de celle des ruminants adultes.

1. Influence de la ration sur la flore ruminale du jeune

Il apparaît que le développement de la flore ruminale est soumis à l'effet du régime alimentaire. Ainsi, les séquences précédemment cités ont été définies chez des jeunes nourris au lait et à l'aide de fourrages, avec de faibles quantité de concentrés, et subissant un sevrage dit « conventionnel ». Ainsi, Singh *et al.* [159] ont étudié l'établissement de la microflore et de la microfaune ruminale selon que les veaux reçoivent une alimentation à base de lait (groupe 1), ou à base de lait et d'aliment pré-sevrage (calf starter, riche en concentré, groupe 2). Singh *et al.* ont ainsi montré que le remplacement de l'alimentation lactée par une alimentation solide à un âge jeune entraîne un changement rapide de la population bactérienne juvénile vers une population plus adulte. Jusqu'à l'âge de 6 semaines, la seule flore présente (qualifiée de « grain flora » par les auteurs) était proche de celle décrite précédemment. Une « seconde » flore se développe par la suite, rappelant la flore microbienne « adulte ». Celle-ci apparaît plus rapidement (à 45 jours chez tous les veaux, et même à 30 jours chez certains) chez les animaux du groupe 2 que chez les veaux du premier groupe (apparition à 90 jours). Il semblerait que ce soit la ration plutôt que l'âge qui gouverne les flux de bactéries ruminales du type juvénile vers un type adulte. Des résultats identiques ont été obtenus en fournissant aux veaux du jus de rumen frais, ou une alimentation contenant des végétaux [159].

Sai Sudhakar *et al.* [150] ont étudié l'effet de l'utilisation de lactoreplaceur et d'aliment starter chez des jeunes buffles (tableau 8). Chez les veaux nourris au lait, l'incidence des Ruminocoques était de 23,6 %, alors que, chez les animaux nourris avec du lactoreplaceur ou avec de l'aliment starter, elle était de 35,5 et 36 % respectivement. La population de *F. succinogenes* était également supérieure en nombre chez les animaux nourris avec le lactoreplaceur par rapport aux témoins. Les souches cellulolytiques étaient prédominantes dans le rumen des animaux non nourris au lait dans cette étude.

Les animaux rapidement sevrés (nourris avec des aliments « pre-starter ») présentent une flore ruminale qui diffère de celle des jeunes ruminants nourris au lait, ainsi que de celle des adultes recevant une alimentation à base de fourrage. On retrouve généralement dans ces cas là des concentrations en lactobacilles plus importantes que chez les animaux sevrés de façon conventionnelles, peut être du fait de la forte quantité de substrats très fermentable dans l'aliment premier âge [6]. Eadie et Mann [56] rapportent que l'on retrouve une tendance aux chutes de pH chez les veaux sevrés plus jeunes, du fait de l'accumulation des produits acides, engendrés par la dégradation de l'amidon. Il est possible qu'à l'âge de 5 semaines, les capacités tampon dans le rumen soient meilleures, et que le problème se trouve réduit.

Tableau 8 : Composition de la flore ruminale du jeune en fonction de l'alimentation (d'après [150])

Espèce bactérienne	Type d'aliment			Global
	Lait entier	Lactoreplaceur	Aliment pré-sevrage	
(Pourcentage d'incidence)				
<i>F. succinogenes</i>	9,1	13,0	8,9	10,4
<i>R. flavefaciens</i>	10,0	15,0	24,5	14,9
<i>R. albus</i>	13,6	21	13,9	16,3
<i>R. amylophilus</i>	6,4	1,0	6,3	4,5
<i>S. amylolytica</i>	6,4	1,0	5,2	4,2
<i>M. elsdenii</i>	0,9	-	-	0,4
<i>C. lachheadii</i>	-	1,0	-	0,4
<i>C. longisporum</i>	-	-	3,8	1,0
<i>L. multiparus</i>	-	1,0	-	0,3
<i>B. fibrisolvans</i>	17,3	21	8,9	7,6
<i>P. ruminicola</i>	11,3	2,0	8,9	7,6
<i>S. ruminantium</i>	1,8	-	1,3	1,0
<i>S. dextrinosolvans</i>	2,7	-	-	1,0
<i>S. bovis</i>	13,6	21,0	16,4	16,9
<i>E. ruminantium</i>	0,9	2,0	2,5	1,7
<i>Lactobacillus</i> spp.	2,7	1,0	-	1,4
Non identifiée	2,7	-	2,5	1,7

Eadie, Hobson et Mann [56] ont comparé le développement des microorganismes ruminiaux chez un veau sevré à l'aide d'une ration contenant du fourrage et des concentrés, avec un veau témoin recevant une ration de sevrage riche en concentré. Des dénombrements importants de lactobacilles coïncidaient avec des valeurs importantes du nombre de *M. elsdenii*. Ceci démontre une interrelation entre les bactéries ruminales, *M. elsdenii* étant connue pour être une bactérie utilisatrice du lactate. Les valeurs importantes de lactobacilles persistaient pendant une certaine période lorsque les quantités de concentrés demeuraient importantes, et diminuaient lorsque l'animal consommait une part de fourrage. D'autre part, Eadie et Mann [56] rapportent que Lengemann et Allen ont montré, chez des veaux pour qui la consommation de fourrage est retardée, que la flore ruminale présente des quantités supérieures d'aérobies que chez les témoins consommant du fourrage. Cependant, lorsque du fourrage devient disponible, l'animal en consomme rapidement de grandes quantités et très rapidement la flore bactérienne devient comparable à celle des témoins. Ainsi, la population bactérienne des jeunes sevrés précocement ne semble pas avoir un effet durable sur la flore ruminale.

2. Influence des additifs microbiens sur la flore ruminale du jeune

Les effets de différents additifs microbiens sur la flore ruminale de jeunes ruminants ont été étudiés. Les deux additifs microbiens usuellement utilisés sont *Lactobacillus spp.* (qui agiraient principalement dans l'intestin, par compétition avec les pathogènes, et contrôlant ainsi la diarrhée), et *Saccharomyces cerevisiae*. *Saccharomyces cerevisiae* stimule les microorganismes ruminiaux, afin d'obtenir un écosystème microbien plus efficace. Chaucheyras-Durand et Fonty [32] ont étudié l'effet de cette levure sur l'implantation des bactéries cellulolytiques, et sur le développement des activités fermentaires dans le rumen d'agneaux gnotobiotiques. Les bactéries cellulolytiques inoculées aux agneaux (*F. succinogenes*, *R. albus* et *R. flavefaciens*) se sont implantées plus précocement en présence de cet additif. De plus, leur population s'est maintenue à un niveau plus élevé, même lorsque les conditions physico-chimiques du milieu étaient modifiées. Enfin, chez ses agneaux, les activités spécifiques des enzymes fibrolytiques étaient plus élevées, et la dégradation in sacco de la paille de blé augmentée. Ces données suggèrent que *Saccharomyces cerevisiae* peut stimuler le développement de la microflore cellulolytique et favoriser l'activité microbienne dans le rumen de jeunes ruminants. Pour expliquer par quels mécanismes cette levure peut stimuler la croissance des bactéries cellulolytiques, plusieurs hypothèses sont avancées. Ainsi, cette stimulation pourrait se faire par les nutriments fournis par les levures (par analogie avec l'effet probiotique de *S. cerevisiae* sur les champignons). La capacité des souches vivantes de *S. cerevisiae* d'utiliser l'oxygène pénétrant dans le rumen pourrait également être impliqué, les souches cellulolytiques étant particulièrement sensibles à la présence d'oxygène. L'addition de cette levure permettrait de maintenir des caractéristiques physico-chimiques dans le rumen compatibles avec les besoins des bactéries cellulolytiques. Des résultats proches ont été obtenus lors d'études sur l'influence d'un autre additif, *Aspergillus oryzae* [14]. Le nombre de bactéries anaérobies, hémicellulolytiques, et pectinolytiques était supérieur chez les animaux recevant une alimentation contenant l'additif que chez les témoins ; la population cellulolytique tendant également à être supérieure.

Il existe un autre intérêt à favoriser l'implantation de la flore ruminale : en effet, certains auteurs pensent que la flore est impliquée dans le développement du rumen et de ses fonctions digestives. Ainsi, Fonty *et al.* [67] ont conclu de leur étude que les espèces bactériennes qui colonisent le rumen immédiatement après la naissance prépareraient les processus digestifs qui affectent la dégradation des aliments riches en ligno-cellulose, et les fermentations qui impliquent leurs produits de dégradation.

DEUXIEME PARTIE : Variations pathologiques de la composition et de la fonction de digestion de la flore ruminale

I- Variations de la flore ruminale. Conséquences physiopathologiques

A- L'acidose lactique

L'acidose lactique ruminale (par opposition avec l'acidose chlorhydrique, secondaire au reflux abomaso-ruminal de HCl) est la conséquence de la consommation de régime riche en glucides rapidement et hautement fermentescible (GRHF) par les ruminants (qui sont adaptés à digérer et à métaboliser principalement des rations à base de fourrages) qui stimulent une certaine population bactérienne et dévient la digestion microbienne vers la production d'acides, en particulier de l'acide lactique [23]. La consommation de ration dont la proportion en concentrés augmente progressivement tend à augmenter la production lactée. Néanmoins, les gains à court terme sur la production laitière sont souvent, en partie ou totalement, gommés par les répercussions à long terme sur la santé de la vache.

Les circonstances d'apparition, l'évolution, les symptômes et lésions permettent de distinguer une large palette d'entités cliniques, avec aux deux extrémités l'acidose lactique aiguë et l'acidose lactique chronique, et l'acidose subaiguë située entre ces deux entités.

L'acidose lactique aiguë survient lors de consommation brutale et sans adaptation d'une grande quantité de GRHF. Il s'agit dans certains cas d'une véritable intoxication. La réponse clinique est très variable, de la simple indigestion avec diarrhée spontanément curable, au choc hypovolémique avec acidose métabolique, fréquemment léthal. Parallèlement, le pH du rumen varie de 5,5-5 à 4,5-4, cette chute étant non compensée.

L'acidose subaiguë est définie comme des périodes de diminution modérée du pH ruminal (5,5-5) [98], dont la durée est située entre l'acidose aiguë et chronique. L'acide lactique ne s'accumule pas particulièrement chez les animaux présentant une acidose ruminale subaiguë, la diminution du pH ruminale semblant plutôt liée à l'accumulation des acides gras volatils (AGV) [131].

Les conséquences de l'acidose ruminale sur la santé de la vache sont multiples. Ainsi, l'acidose ruminale, qu'elle soit subaiguë ou chronique, est à l'origine de troubles lésionnels (fourbure, abcès hépatique, nécrose du cortex cérébral, ruminite, ...) et/ou fonctionnels (anorexie, chute du taux butyreux). Si l'importance de l'acidose aiguë est essentiellement médicale, l'acidose ruminale subaiguë est extrêmement pénalisante économiquement (cette entité pathologique

coûterait à l'industrie laitière américaine entre 500 millions et 1 milliard de dollars [98]). Enfin, l'acidose ruminale peut également concerner directement la santé humaine. Des pH ruminiaux et intestinaux liés à une augmentation de la consommation de GRHF augmenterait le risque d'excrétion fécale d'*Escherichia coli* tel que le sérotype 0157 :H7 [147]

1. Circonstances d'apparition

Un régime alimentaire, riche en GRHF, est nécessaire mais souvent insuffisant pour expliquer la survenue d'une acidose lactique. En revanche, les conditions de distribution et d'ingestion sont souvent déterminantes.

1.1 Aliments à risque

De très nombreux aliments sont à l'origine d'acidose lactique, avec néanmoins des capacités d'induction très différentes, démontrées expérimentalement [163]. Les différences sont liées d'une part à la quantité de glucides susceptibles d'être dégradés et d'autre part à la vitesse de fermentation. L'intensité et la rapidité des fermentations microbiennes dépendent de la composition chimique et de la présentation des aliments.

Les aliments à risque sont caractérisés chimiquement par une grande richesse en glucides cytoplasmiques de réserve. Les aliments les plus fréquemment mis en cause sont les aliments riches en amidon (céréales) ainsi que ceux riches en glucides solubles (fruits, mélasse, betterave). Selon Cullen *et al.* [44], les glucides hydrosolubles génèrent *in vitro* du lactate plus rapidement que les fractions insolubles. La fermentescibilité des amidons dépend de leur origine (fermentescibilité supérieure pour le blé et l'orge par rapport au maïs et au sorgho), du mode de conservation et du stade végétatif (fermentescibilité des grains de céréales immatures et ensilés par rapport aux grains secs). La production *in vitro* de lactate décroît selon l'échelle suivante : orge - blé > pulpe de citron > pulpe de betterave - maïs > maïs très humide > sorgho [44].

D'autre part, dans certains ensilages, la présence d'acide lactique préformé contribue à acidifier le rumen. Ainsi, dans l'ensilage de maïs, les teneurs en acide lactique (normalement comprise entre 8 et 12 % MS) sont d'autant plus importantes que l'humidité est élevée [155] : la teneur en acides organiques de l'ensilage (lactique et acétique principalement) est très variable en fonction des conditions de conservation - de 300 à plus de 1000 mM/kg de la matière sèche ingérée (MSI). Ces valeurs correspondent à peu près à 10 % des AGV qui sont produits par le même ensilage au cours de sa digestion ruminale.

Différents traitement des aliments augmentent le risque d'acidose. Ainsi, la réduction de la taille des particules alimentaires accroît les possibilités d'attaque microbienne, et donc la vitesse de dégradation. La durée de mastication (lors de l'ingestion et de la rumination) diminue, avec pour conséquence une moindre insalivation, et donc une réduction des substances tampons arrivant dans le rumen [155]. D'après Sauvart *et al.* [155], la taille moyenne des particules d'une ration doit être supérieure à 4 mm, sachant que l'incertitude sur ce critère est grande. Pour les grains de céréale, le risque d'acidose s'élève dans le sens grain aplati, farine grossière, farine fine. La cuisson des amidons, l'éclatement des grains augmente l'intensité de leur digestion ruminale, de manière plus marquée chez les bovins que chez les ovins.

1.2 Situations à risque

Une consommation excessive et soudaine de GRHF conduit l'acidose lactique, mais le plus souvent les quantités ingérées ne sont excessives que relativement aux capacités d'utilisation de la microflore ruminale.

Dans certains cas, l'ingestion peut être qualifiée d'accidentelle (bovins qui s'échappent et accèdent aux réserves de concentrés, erreur de distribution du vacher). La flore ruminale, totalement inadaptée à ce brusque apport en GRHF, est dépassée, et il s'ensuit une acidose lactique aiguë. En dehors de ces cas, liés au hasard, on peut distinguer deux situations à risque étroitement liées à la technique d'élevage.

Les périodes de transition alimentaire, avec passage d'une faible proportion à une forte proportion de concentrés dans la ration, sont potentiellement dangereuses. L'augmentation des apports en concentrés peut être trop rapide et insuffisamment étalée dans le temps pour permettre l'adaptation de la population ruminale [98]. Ainsi, selon Grohn et Bruss [78], les risques sont maximaux, chez les femelles laitières, dans les 6 à 8 premières semaines post partum et à un moindre degré dans les 3 dernières semaines ante partum. Environ les 2/3 des cas d'acidose surviendraient, toujours selon Grohn et Bruss, dans les 2 premiers mois de lactation. Dans les élevages d'engraissement, la période à risque est celle du démarrage [144].

D'autre part, les situations où la part des aliments concentrés est dominante (pouvant représenter entre 40 et 70 % de la matière sèche ingérée (MSI) chez les vaches laitières, 60 à 90 % de la MSI chez les taurillons) sont à la limite de l'équilibre physiologique. Dans ce cas, l'irrégularité des approvisionnements en cours de journée favorise l'apparition d'acidose chronique. La consommation séparée des fourrages et des concentrés, la distribution non fractionnée des sources de GRHF provoque des à-coups fermentaires [144]. Ainsi, selon Wolter [188], l'apport de concentrés, chez des vaches laitières produisant plus de 6 à 7 000 kg de lait par an, seulement 2 fois par jour en salle de traite est susceptible d'altérer la productivité et de conduire une acidose latente.

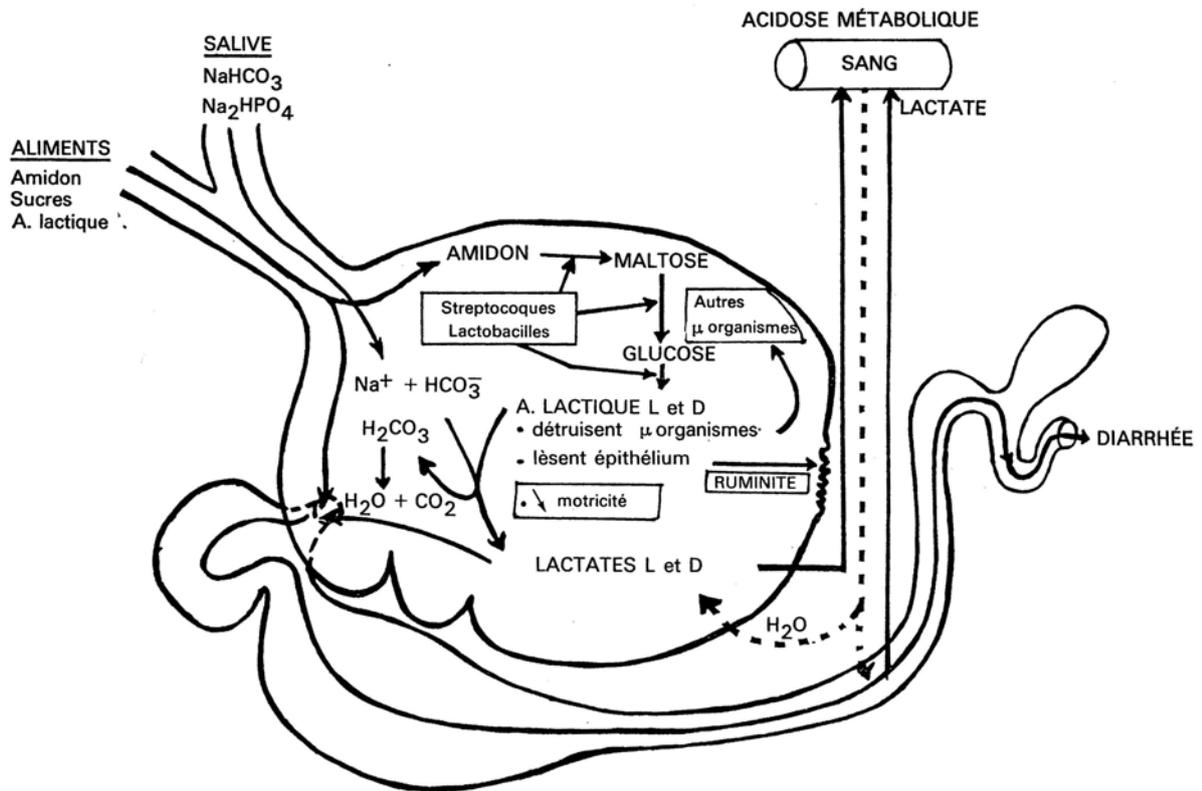
Dans ces situations à risque, des variations de consommation, même modérées, liées au comportement alimentaire sont susceptibles d'avoir des répercussions néfastes. Ainsi, on peut obtenir des cas d'acidoses chez des animaux, habitués à une ration riche en grain, ayant subi une période de jeûne à l'origine d'une modification des fermentations ruminales [71], [103]. D'autres facteurs, comme le refroidissement, la saison estivale, tendent à augmenter les quantités consommées [79]. D'autre part, dans les lots d'animaux, la modification de la structure sociale du groupe conduit le dominé à accroître son ingestion quand on enlève le dominant.

Si les facteurs d'origine animale (salivation, niveau d'ingestion) ne sont pas négligeables dans la physiopathologie de l'acidose ruminale, les interactions entre la population microbienne et son substrat glucidique (nature, quantité, régularité de l'approvisionnement) paraissent dominantes.

2. Pathogénie (figure 15)

En réponse aux modifications engendrées par l'apport excessif de GRHF, ou par l'implication des différents facteurs favorisant le développement d'acidose, un certain nombre de modifications, de la composition de la flore ruminale, du contenu biochimique ou du milieu physique ruminal, surviennent, à l'origine du développement des signes associés à l'acidose.

Figure 15 : Pathogénie de l'acidose lactique ruminale [23]



2.1 Modification de la flore ruminale

2.1.1 Modification de la flore ruminale lors d'acidose aiguë

Lors d'acidose aiguë, un certains nombres de modifications de la flore ruminale sont observés en réponse à l'abaissement du pH. Dans un premier temps, à pH inférieur à 6, les protozoaires disparaissent et avec eux leur fonction de stockage intermédiaire de l'amidon, donc d'étalement dans le temps de sa fermentation. Suite à la diminution du pH, on observe également une réduction de la diversité de la microflore ruminale : les méthanogènes et les bactéries cellulolytiques, sensibles au pH bas, disparaissent pour des pH inférieurs à 5,5, alors que les gram-positifs se multiplient (*S. bovis*, lactobacilles) [117], [144].

De la même façon on assiste à une réduction de la diversité des espèces bactériennes capables de produire du lactate (*Ruminobacter amylophilus*, *Succinomonas amylolytica*, *Ruminococcus*, *Butyrivibrio*) [144]. Au fur et à mesure que le pH décroît, *Streptococcus bovis* devient dominant grâce à sa tolérance aux pH faibles. Toutes ces bactéries sont hétéro-fermentaires, et modifient leur métabolisme parallèlement à la décroissance du pH. De la production de divers AGV à pH supérieur à 6, les fermentations s'orientent vers la production de lactate pour des pH plus faibles. L'acide lactique, qui est un acide environ 10 fois plus puissant que les AGV (pKa de 3,1 pour l'acide lactique, compris entre 4,71 et 4,87 pour les AGV) devient dominant. Si les mécanismes de contrôles s'avèrent dépassés, le pH diminue de plus en plus, ce qui est à l'origine d'une inhibition progressive des différentes familles de bactéries lactico-lytiques (*M. elsdenii* est inhibée pour un pH de 4,8 [42], les autres bactéries lactico-lytiques sont inhibées pour des valeurs supérieures de pH) qui transforme normalement l'acide lactique produit par la microflore ruminale. Celui-ci a donc tendance à s'accumuler dans le rumen, entraînant un cercle vicieux d'abaissement du pH ruminal.

Lorsque le pH ruminal devient très faible ($\text{pH} \leq 5$), *S. bovis* et les utilisateurs de lactate sont inhibés et disparaissent au profit de lactobacilles [163] qui présentent une capacité d'acidorésistance. Les lactobacilles constituent jusqu'à 90 % de la flore totale pour des valeurs de pH de 4 à 4,5 [54]. On observe également pour ces valeurs de pH la multiplication de levures acidorésistantes.

La différence de sensibilité au pH des bactéries ruminales peut être expliquée par des différences dans la régulation des pH intracellulaires. Lorsque le pH extracellulaire de *F. succinogenes* par exemple, bactérie sensible aux pH acides, diminue, le pH intracellulaire demeure relativement stable, mais l'augmentation du gradient transmembranaire de pH conduit à une augmentation logarithmique des protons [147]. Au contraire, pour les bactéries plus résistantes aux pH acides (*S. bovis*, *P. ruminicola*, *S. ruminantium*) « autorisent » une diminution du pH intracellulaire, se protégeant ainsi d'une accumulation de protons.

2.1.2 Modification de la composition de la flore ruminale lors d'acidose subaiguë

L'enchaînement d'événements précédemment décrit peut être plus ou moins complet, en fonction de la quantité d'amidon ou de sucres disponibles. S'il est complet lors d'acidose aiguë, il reste incomplet lors d'acidose chronique ou subaiguë.

Lors d'acidose subaiguë, on observe une augmentation de la population amylolytique, au détriment des méthanogènes et des cellulolytiques [75], [144]. Le nombre de *S. bovis* diminue, alors

Tableau 9 : Numération des bactéries totales et des bactéries amylolytiques ($\times 10^9$ /gramme de matière sèche) chez des bœufs adaptés aux fourrages ou aux grains après induction d'une acidose subaiguë (d'après [75])

Heure de prélèvement (h)	Animaux adaptés aux fourrages		Animaux adaptés aux grains	
	Bactéries totales	Amylolytiques	Bactéries totales	Amylolytiques
0	2,5	2,1	2,6	3,7
12	4,8	4,6	4,9	5,1
24	9,6	7,2	7,8	8,2
36	11,6	9,2	12,6	8,8
48	9,7	9,7	14,5	13,3
60	8,1	8,0	17,0	14,8
72	8,0	8,3	16,5	15,8

Tableau 10 : Numération des bactéries utilisant le lactate et des lactobacilles ($\times 10^8$ /gramme de matière sèche) chez des bœufs adaptés aux fourrages ou aux grains après induction d'une acidose subaiguë (d'après [75])

Heure de prélèvement (h)	Animaux adaptés aux fourrages		Animaux adaptés aux grains	
	Lactobacilles	Utilisatrice de lactate	Lactobacilles	Utilisatrice de lactate
0	0,5	7,6	5,0	16,0
12	0,8	20,7	7,3	18,2
24	3,7	12,8	8,0	46,2
36	6,1	27,6	24,1	51,5
48	6,8	47,1	13,8	31,3
60	8,0	29,7	23,5	57,8
72	12,7	39,9	17,7	50,9

que le nombre de lactobacilles, ainsi que celui des bactéries lactico-lytiques, augmente lors d'acidose subaiguë. Les tableaux 9 et 10 reprennent les variations des populations totales, amylo-lytiques, utilisant le lactate et des lactobacilles chez des boeufs adaptés à un régime riche en fourrage ou en grain, chez qui une acidose subaiguë a été induite.

Les variations observées lors d'acidose subaiguë sont similaires à celles observées lors de l'adaptation à une alimentation riche en grain. Il est donc possible de faire un parallèle entre ces deux cas. Les variations observées juste après le passage à une alimentation riche en GRHF lors de l'adaptation à ce régime correspondent aux variations de la flore bactérienne observées lors d'acidose subaiguë [167]. L'utilisation de la PCR permet de quantifier ces variations. Ainsi, au 3^{ème} jour suivant le passage à l'alimentation riche en concentrés (qui correspondrait à un cas d'acidose subaiguë), on observe une diminution du nombre des représentants des populations fibro-lytiques (*R. flavefaciens*, *F. succinogenes*, *E. ruminantium*, *S. dextrinosolvens*). Dans le même temps, le nombre de bactéries appartenant au genre *Prevotella* et de *S. bovis* augmentait, de même que le nombre de bactéries lactico-lytiques.

2.2 Modifications biochimiques du contenu ruminal

Parallèlement aux variations de la microflore ruminale on observe dans le cas d'acidose lactique une modification du contenu biochimique du rumen. Cette variation est intimement liée à celle des bactéries ruminales, et en est à la fois la cause et la conséquence.

2.2.1 Accumulation de l'acide lactique

La diminution du pH lors de 8 premières heures de l'acidose ne serait pas due à une augmentation de la quantité d'acide lactique, mais à une augmentation de la production des autres acides gras [153].

Si l'acidose se poursuit, la concentration d'acide lactique atteint un pic 7 à 24 heures après la surconsommation de GRHF puis décline. Les isomères L et D sont formés dans les mêmes proportions pour des concentrations en lactate de 100 à 500 mOsm/L et pour des pH inférieur à 5 [144]. La concentration du lactate dans le rumen dépend de 4 facteurs : la production, l'utilisation microbienne, l'absorption lymphatique ou sanguine et l'évacuation vers l'aval du tube digestif. L'absorption n'influe significativement sur la concentration que pour les valeurs de pH les plus faibles (inférieur à 5-5,5). Si les deux derniers facteurs ne doivent pas être négligés, il semble néanmoins que l'accumulation initiale du lactate soit principalement liée, suite à la consommation de grandes quantités de GRHF, à un déséquilibre entre la production et de la consommation de cet acide, le lactate étant un intermédiaire servant la production d'AGV.

Aux valeurs physiologiques de pH, et jusqu'à des valeurs de 5 à 5,5, les germes capables de produire du lactate sont variés. Comme vu précédemment, la majorité de ces bactéries (*R. amylophilus*, *S. amylolytica*,...) diminuent en nombre lorsque le pH diminue, pendant que *S. bovis* devient dominant. En réponse aux grandes quantités d'amidon présente dans le rumen (apport alimentaire et disparition des capacités de stockage des protozoaires ruminiaux), la lactate déshydrogénase de *S. bovis* va être activée, permettant la production de lactate aux dépens de l'acétate. La production d'acide lactique devient alors un exutoire pour les protons intracellulaires, cette production étant l'un des seuls mécanismes de contrôle du pH intracellulaire [41]. Lorsque le pH ruminal atteint des valeurs inférieures à 5, on observe parallèlement une chute du pH intracellulaire. Cette chute du pH inhibe la production de pyruvate par la pyruvate formate lyase, et stimule l'activité de la lactate déshydrogénase. La formation de lactate augmente alors

Tableau 11 : Concentration en acides gras volatils et ratio acétate : propionate chez des bœufs adaptés à des régimes riche en fourrages ou riche en grains, après induction d'une acidose subaiguë (d'après [75])

Heure de prélèvement ^a	Adapté au fourrage							Adapté au grain						
	Ace ^c	Pro ^c	Ibut ^c	But ^c	Ival ^c	Val ^c	AP ratio ^c	Ace ^c	Pro ^c	Ibut ^c	But ^c	Ival ^c	Val ^c	AP ratio ^c
0	72,8	13,5	1,6	8,9	2,3	1,0	5,5	62,7	19,1	1,2	13,8	2,2	1,0	3,8
12	56,6	24,0	1,4	14,9	2,0	1,1	2,4	54,2	26,9	0,9	14,7	2,1	1,3	2,1
24	54,0	24,1	1,1	17,7	2,0	1,1	2,4	54,6	26,5	1,0	14,8	2,1	1,0	2,1
36	47,3	32,5	0,6	16,8	1,4	1,4	1,5	44,3	36,4	0,6	15,5	1,6	1,7	1,3
48	46,6	29,1	0,6	19,3	1,4	3,1	1,6	41,1	37,7	0,2	15,2	1,0	4,8	1,1
60	43,5	26,2	0,5	23,6	1,2	5,0	1,7	35,4	39,4	0,3	17,1	0,9	7,0	0,9
72	40,5	30,9	0,5	19,8	1,0	7,4	1,4	35,7	41,4	0,4	14,6	0,8	7,2	0,9
SE ^b	2,1	2,3	0,1	0,16	0,2	0,8	0,3							

^a : prélèvements effectués 0, 12, 24, 36, 48, 60 et 72 heures après la prise alimentaire

^b : erreurs standards, liées aux méthodes d'analyse

^c : Ace = acétate ; Pro = propionate ; Ibut = isobutyrate ; But = butyrate ; Ival = isovalérate ; Val = valérate. AP ratio : ratio acétate : propionate

inexorablement. La diminution du pH suit donc une spirale auto-entretenu, et contribue à créer une niche écologique favorable aux lactobacilles.

D'autre part, alors que la production d'acide lactique par les bactéries ruminales est favorisée, son utilisation est diminuée lorsque le pH ruminal diminue. Le pH optimum de fermentation du lactate est de 6 à 6,5 pour la plupart des bactéries, seule *M. elsdenii* étant capable de poursuivre son activité fermentaire pour des pH inférieurs à 5,5. Ce mécanisme régulateur se trouve rapidement dépassé lors d'acidose aiguë, ce qui favorise l'accumulation de lactate ruminal.

Les deux isomères du lactate, L et D, sont produits. Lorsque la flore lactico-lytique est éliminée (pour des pH inférieurs à 5), l'évolution se fait vers la formation d'un stock de D-L lactate. Celui-ci n'est pas métabolisé par les bactéries, et devra être métabolisé par le ruminant (l'isomère D n'est pratiquement pas métabolisé), ou éliminé par les fèces. Cette accumulation est également à l'origine d'une augmentation de l'osmolarité ruminale, qui passe d'une valeur de 280 mOsm/L à près de 400 mOsm/L [140]. Cette augmentation de l'osmolarité est à l'origine d'un appel d'eau depuis la circulation systémique, entraînant hémococoncentration, déshydratation, choc hypovolémique et diarrhée.

Contrairement à l'acidose lactique aiguë, l'acide lactique ne s'accumule pas de la même manière dans le liquide ruminal chez des animaux atteints d'acidose subaiguë [131]. Néanmoins, des pics transitoires du lactate ruminal de 20 mM peuvent être découverts si l'on mesure fréquemment la concentration ruminale en lactate au cours de la journée [91].

2.2.2 Accumulation des acides gras volatils lors d'acidose subaiguë

Goad *et al.* [75] ont observés chez des bœufs que, suite à l'induction d'une acidose subaiguë chez des animaux adaptés à un régime riche en fourrage ou riche en concentrés, parallèlement à une diminution du pH à des valeurs de 5-5,5, les concentrations en acides gras volatils augmentaient, alors que les concentrations en lactates demeuraient normales (inférieures à 5,5 mM) (tableau 11 et 12). La diminution du pH ruminal chez les vaches laitières présentant une acidose subaiguë serait plutôt liée à une accumulation des acides gras volatils seule, et non à une accumulation d'acide lactique [131].

2.2.3 Autres modifications biochimiques du rumen

D'autres modifications biochimiques ruminales, autre que l'apparition de l'acidité, apparaissent en conséquences des perturbations de l'équilibre bactérien. Le relargage d'endotoxines bactériennes (figure 16) a été démontrée. Ainsi, Nagaraja *et al.* [124] ont démontré que des bœufs nourris avec des régimes contenant de fortes proportions de concentrés présentaient des concentrations de lipopolysaccharides (LPS) dans le liquide ruminal supérieures à celles de bœufs nourris uniquement avec du foin. D'autres résultats [76] ont montré que la concentration en LPS augmentait de manières significatives pendant les périodes de consommation de grains par rapport à celle de consommation de foin. Il est probable que l'acidose subaiguë mène à une augmentation de la lyse des bactéries Gram négatives, ce qui augmenterait la concentration ruminale en LPS, et initierait la réponse inflammatoire. L'observation d'une thrombopénie et d'une augmentation des prostaglandines plasmatiques E₂ et F sur une vache en acidose aiguë est cohérente avec un syndrome inflammatoire initié par des endotoxines [4]. Leur pouvoir toxique serait néanmoins plus faible que celui des LPS d'*E. coli* ou de *Salmonella* [144]. L'existence de lésions pariétales du rumen favoriserait leur absorption.

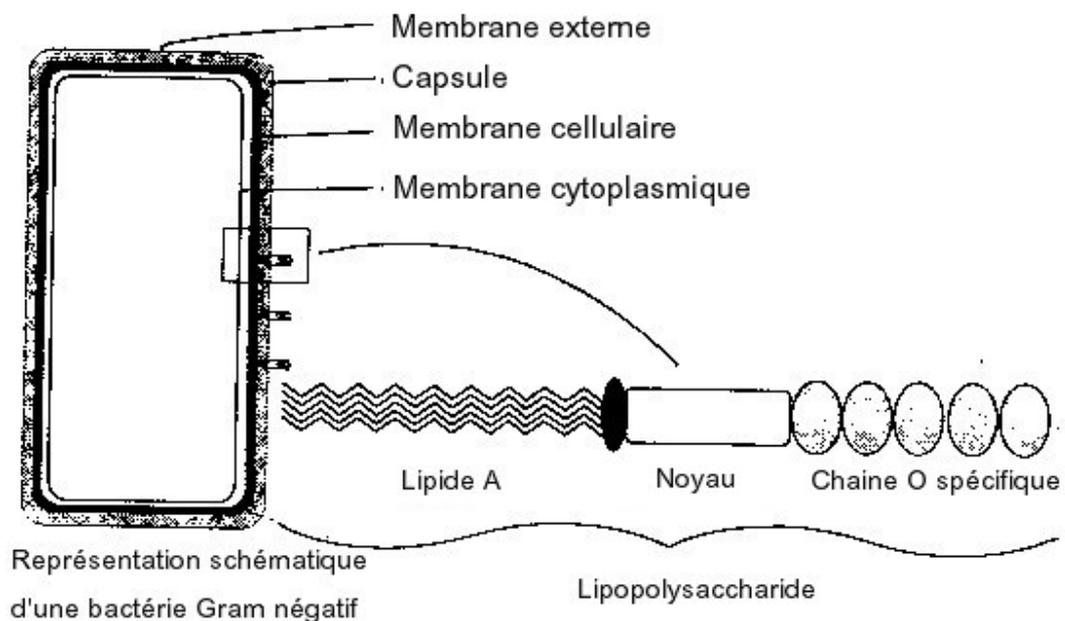
Tableau 12 : Concentrations en lactate chez des bœufs adaptés à des régimes à base de fourrages ou de grains après induction d'une acidose subaiguë (d'après [75])

Heure de prélèvement, heures	Adapté aux fourrages			Adaptés au grain		
	Acide lactique			Acide lactique		
	Total, mM	L (+), %	D (-), %	Total, mM	L (+), %	D (-), %
0 ^a	0,1	83	17	0,5	80	20
12	0,4	72	28	0,2	76	24
24	2,3	59	41	2,2	64	36
36	1,7	68	32	3,3	59	41
48	2,7	72	28	2,2	70	30
60	3,1	69	31	1,5	72	28
72	4,9	72	28	4,3	65	35
SE ^b	1,4	6	6			

^a: prélèvements effectués 0, 12, 24, 36, 48, 60 et 72 heures après la prise alimentaire

^b: SE : erreurs standards

Figure 16 : Endotoxines (d'après [5])



Une augmentation de la concentration en histamine est également rapportée lors d'acidose [166], [8]. Parallèlement, la concentration plasmatique en histamine augmente également au cours de l'acidose lactique. De la même manière que les LPS, des lésions ruminales causées par l'acidité ruminale permettent l'absorption de l'histamine. L'histamine peut être produite par décarboxylation de l'histidine par certaines espèces de lactobacilles [143].

2.3 Modifications organiques

L'effet nocif de la baisse du pH se traduit par des perturbations ruminales, affectant l'intégrité de l'épithélium ruminal (ruminite dans les cas aigus, parakératose dans les cas chroniques). L'inflammation pariétale est observée dans toutes les formes d'évolution de la maladie. Elle est probablement due à l'action caustique des acides, en particulier de l'acide lactique. Sur rumen isolé, les échanges électrolytiques (absorption nette du sodium et du chlorure) sont perturbés à pH 4,8. L'intensité de ces modifications est accrue par l'action conjuguée du pH, du lactate et de l'hyperosmolarité [70].

La présence d'histamine ruminale lors d'acidose a également conduit à suspecter l'intervention de cette molécule dans l'apparition des lésions ruminales. Néanmoins, des études ont montré que l'histamine n'intervenait pas dans ce mécanisme, où seule l'acidité ruminale semble jouer un rôle [8].

3. Physiopathologie et symptômes associés à l'acidose ruminale

L'acidose lactique ruminale se caractérise par une altération de la paroi ruminale et par des modifications microbiennes et biochimiques du contenu ruminal. L'altération de la paroi ruminale favorise l'absorption des produits de la fermentation bactérienne, principalement le lactate, ainsi que d'autres produits (endotoxines, histamine, ...) susceptibles de provoquer des troubles généraux.

Trois entités cliniques peuvent être distinguées lors d'acidose aiguë : un syndrome de choc, une acidose métabolique et des troubles digestifs

3.1 Syndrome de choc

La littérature retient deux mécanismes complémentaires du syndrome de choc : celui d'un choc hypovolémique, et l'intervention des endotoxines.

L'accumulation ruminale des deux isomères de l'acide lactique s'accompagne d'une augmentation de l'osmolarité ruminale, qui passe d'une valeur de 280 mOsm/L à près de 400 mOsm/L [140]. L'eau quitte alors les secteurs extra-cellulaires et intracellulaires pour s'accumuler dans le rumen. La « perte » d'eau corporelle correspond à 8,1 % du poids vif, dont 60 % d'origine extracellulaire. Des conséquences générales et digestives sont observées en réponse à cette déshydratation. Celle-ci est à l'origine de l'instauration d'un choc hypovolémique, responsable, du moins en partie, des symptômes de dépression, de tachycardie et d'anurie. Sur le plan sanguin, la déshydratation se traduit par une hémococoncentration.

La présence d'endotoxines a été démontrée dans le liquide ruminal lors d'acidose [76], mais la place réellement occupée par ces endotoxines est encore mal connue. Ainsi, Nagaraja *et al.* [123] ont reproduit un choc en administrant par voie intraveineuse des endotoxines. Si l'acidose favoriserait le passage, vraisemblablement grâce aux lésions pariétales du rumen, du contenu ruminal vers la circulation systémique, la réponse clinique semble être variable : certains animaux

s'en accoutumeraient, alors que d'autres développeraient une réponse inflammatoire généralisée induite par les endotoxines, avec par exemple une diminution de la motricité des préestomacs, une leucopénie, ... [5] Des investigations sur le rôle des endotoxines dans la physiopathologie de l'acidose ruminale sont néanmoins encore à mener.

3.2 Acidose lactique systémique

L'acidose métabolique se caractérise par une diminution du pH sanguin et de la réserve alcaline, et par une hyperlactatémie. Le contenu ruminal est la principale source du lactate plasmatique. L'absorption du lactate digestif est possible par diffusion dans le rumen. La diffusion ne concerne que les molécules non ionisées : compte tenu du pKa de l'acide lactique (3,1), l'absorption est très réduite à pH 5,5, et augmente d'autant que le pH diminue. Bide [16] a montré que les concentrations en lactate dans le rumen de taurillons à l'engrais se révélèrent assez élevées pour donner des doses toxiques dans le sang. L'apparition de l'acidose métabolique s'explique par la quantité d'acide lactique absorbée par unité de temps : en effet, si cette vitesse est supérieure à celle d'intervention des systèmes tampons sanguins, l'acidose métabolique s'installe. Au lactate d'origine digestif va s'associer le L lactate tissulaire (provenant de l'hypoxie tissulaire consécutive au choc hypovolémique). L'acide lactique dans le sang se dissocie pour donner un proton et du lactate [144].

D'autre part, l'intervention d'autres acides que l'acide lactique, tels que l'acide succinique et l'acide butyrique pourraient participer aux symptômes généraux si les concentrations ruminales et les vitesses d'absorption sont suffisamment rapides [16]

Cao *et al.* [29], lors d'induction expérimentale d'acidose lactique chez des chèvres adultes, ont noté qu'une alcalose métabolique précédait, chez ces animaux, l'établissement de l'acidose lactique. Ce phénomène est probablement lié au fait que dans les premières heures, l'acide lactique provenant du rumen est métabolisé dans le foie en HCO_3^- , qui vient augmenter la concentration sanguine en bicarbonate.

Le proton issu de la dissociation de l'acide lactique est directement à l'origine de l'acidose sanguine. Cette acidose, si elle est intense, s'accompagne d'une diminution du pH [142] et d'une augmentation de la concentration en lactate du liquide cérébro-spinal [136] : l'acidose explique en partie les symptômes généraux de dépression [142].

L'élimination du lactate sanguin se fait par 3 voies : l'oxydation en CO_2 , la néoglucogenèse et l'excrétion rénale. La production de CO_2 et de glucose est 2 à 4 fois plus élevée pour le L lactate que pour le D-lactate. Les enzymes permettant l'oxydation du L lactate (les L-lactate déshydrogénase) sont largement distribuées dans le cytosol de tous les tissus des animaux. Le D lactate par contre doit passer la membrane mitochondriale avant d'être oxydé par la D-2-hydroxy-acide déshydrogénase [48]. L'activité de cette dernière est globalement faible chez les ruminants adultes, ce qui explique que l'acide D lactique produit lors de l'acidose soit dégradé plus lentement, et donc que celui-ci s'accumule dans le compartiment sanguin [54].

Si le D-lactate atteint de fortes concentrations dans le système sanguin, son oxydation diminue, et son excrétion rénale est favorisée. Le seuil d'élimination du D- lactate est 50 % de celui du L- lactate [129]. L'élimination du D-lactate est donc relativement dépendante de l'intégrité de la fonction rénale : aussi, l'hypovolémie avec la chute de la pression artérielle qui diminue la filtration glomérulaire contribue-t-elle à l'accumulation du D-lactate dans le compartiment sanguin.

Les mécanismes compensateurs de l'acidose métabolique expliquent un certain nombre de symptômes. La fréquence et l'amplitude respiratoire augmentent pour éliminer les excès de CO₂ ; l'urine s'acidifie jusqu'à des valeurs de 5 par élimination des protons, et du fait de la présence de l'isomère D du lactate [23]. La quantité d'urine est diminuée, sa densité augmentée. Il est possible d'y trouver une teneur augmentée en protéines, en dérivés de la bilirubine, en corps cétoniques, en glucose et en acide lactique.

3.3 Troubles digestifs

Les troubles digestifs associés à l'acidose sont dominés par deux symptômes majeurs : l'arrêt de la motricité des pré-estomacs, et la diarrhée.

La diminution de la motricité réticulo-ruminale semble liée à l'activation de chémorécepteurs épithéliaux situés dans la paroi du rumen. Cette activation a lieu lorsque les quantités d'acides gras volatils dépassent un certain seuil, la stimulation de ces récepteurs entraînant une inhibition centrale de la motricité [43]. L'acide butyrique est le facteur d'activation le plus important : il active 41 récepteurs, l'acide acétique 33, l'acide propionique 22 et l'acide DL lactique seulement 13, dont 6 nécessitent une concentration de 200 mM. Le jus de rumen prélevé lorsque la motricité ruminale est altérée excite 37 récepteurs sur 43, alors que le jus de rumen provenant d'un animal sain n'en active aucun. Malgré les fortes quantités d'acide lactique présentes dans le rumen lors d'acidose, cet acide n'est pas responsable de l'hypomotricité ruminale : l'action de l'acide lactique serait indirecte, par la diminution du pH, permettant une augmentation de la fraction non ionisée des acides gras volatils.

D'autre part, une seconde hypothèse ferait intervenir l'effet de l'acide lactique au niveau du duodénum sur l'hypomotricité ruminale. Ainsi, l'injection intra duodénale d'acide lactique inhiberait la motricité au niveau central, par le biais de la cholecystokinine ou de la sécrétine (Huber, 1976, d'après [144]).

La diarrhée est un symptôme fréquemment observé lors d'acidose ruminale. L'appel d'eau associé à l'accumulation de lactate dans le rumen d'une part, et le passage d'acide lactique et de glucides dans la lumière intestinale d'autre part, sont à l'origine d'une diarrhée osmotique. De plus, une entérite bactérienne peut également apparaître, et compliquer cette diarrhée osmotique, le passage de substrats non digérés du rumen vers l'intestin favorisant la croissance d'une flore bactérienne, en particulier *E. coli* [2].

4. Traitement et prévention

La mise en place de la thérapeutique dépend du type d'acidose rencontré, et sera différent selon qu'il s'agisse d'une forme chronique ou d'une forme aiguë.

4.1 Traitement

4.1.1 Traitement des cas aigus

Lors d'acidose ruminale aiguë, un traitement d'urgence s'impose. Il a pour but de corriger l'acidose intra ruminale et de prévenir la production d'acide lactique, de rétablir l'équilibre hydroélectrique et de maintenir le volume sanguin, de restaurer la flore bactérienne, de rétablir la motricité du rumen et de lutter contre les complications.

4.1.1.1 Correction de l'acidose métabolique

Dans les cas sévères, avec un tableau clinique composé d'un décubitus, d'une hypothermie, d'une dépression sévère, d'une distension ruminale importante, d'une tachycardie (110 – 130 battement par minute – bpm) et d'un pH ruminale de 5 ou inférieur, une ruminotomie est indiquée. Le rumen est vidé, nettoyé en utilisant un siphon, et l'apport de jus de rumen (10 à 20 litres) est réalisé, avec quelques poignées de foin. La ruminotomie permet de corriger l'acidose ruminale, et l'utilisation d'un agent alcalinisant n'est alors pas nécessaire [140]. Une majeure partie de l'acide lactique et des substrats permettant sa formation est enlevée. L'administration orale ou intraruminale de molécules telles que l'oxyde de magnésium ou l'hydroxyde de magnésium après l'évacuation de la totalité du contenu ruminal peut être à l'origine d'une alcalose métabolique.

Dans des cas moins sévères, où les animaux atteints sont toujours debout, mais présentent malgré tout des symptômes de dépression, de tachycardie (90 – 100 bpm), une distension ruminale modérée, et pour lesquels le pH est compris entre 5 et 6, une alternative à la ruminotomie est le lavage ruminal, si le matériel nécessaire est disponible. Un tube en caoutchouc de 25 à 28 mm de diamètre est introduit dans le rumen, et de l'eau chaude est pompée à l'intérieur jusqu'à ce qu'une distension de la fosse paralombaire gauche ne soit observée, moment où le rumen est alors capable de se vidanger grâce à la gravité. Le rumen peut être quasiment totalement vidangé après 10 – 15 irrigations [140]. Si le lavage gastrique est réussi, l'apport d'agents alcalinisants n'est pas nécessaire, mais la correction de l'acidose systémique doit être réalisée.

Néanmoins, selon les circonstances (intoxication d'un grand nombre d'animaux, matériel non disponible, ...), la ruminotomie ou le lavage ruminal peuvent ne pas pouvoir être réalisés. L'administration orale d'agents alcalinisants, comme le carbonate de magnésium ou l'hydroxyde de magnésium est alors indiquée [82]. Ils doivent être mélangés à 8 à 12 litres d'eau chaude, et introduit via un tube directement dans le rumen. Les doses initiales, d'1 g/kg de poids vif, peuvent être suivi de doses plus faibles répétées à 6 et 12 heures d'intervalle.

4.1.1.2 Correction de l'équilibre hydro-électrique et de l'état de choc hypovolémique

L'acidose systémique est traitée par l'apport par voie intraveineuse de bicarbonate de sodium 5% à la quantité de 5 L pour un animal de 450 kg, sur une période d'environ 30 minutes. Ceci permettra la correction de l'acidose systémique. Cette perfusion est suivi de celle d'une solution de bicarbonate de sodium isotonique (1.3 %), à la dose de 150 ml/kg de poids vif sur les 6-12 heures suivantes.

D'autre part, chez un bovin adulte en état de choc hypovolémique, on peut administrer 1 litre par 25 kg de poids vif et par heure, soit 20 litres en une heure pour un bovin de 500 kg. En raison de la gravité de la déshydratation, le débit d'administration des solutés peut être de 10 à 12 litres par heure.

4.1.1.3 Restauration de la flore ruminale

L'acidose ruminale s'accompagne d'une modification significative de la microflore ruminale, notamment une perte de la population cellulolytique. La reconstitution de la flore ruminale en utilisant du jus de rumen provenant d'animaux sains est alors indiquée [140]. Un abattoir est la meilleure source de contenu ruminal, mais il est également possible d'obtenir d'animaux vivants, en récupérant directement dans la bouche, au cours de la rumination, le bolus régurgité.

Le jus de rumen peut également être prélevé par siphonage du rumen à l'aide d'une tubulure insérée dans le rumen via la bouche ou d'un système de pompage sous vide. De meilleurs résultats sont obtenus si 20 à 30 litres d'eau sont pompés dans le rumen, permettant l'écoulement du jus de rumen par gravité [140]. Le contenu ruminal ainsi prélevé est administré par drenchage, ou alors directement dans le rumen après vidange ruminale si une ruminotomie est réalisée. Des doses répétées de jus de rumen peuvent être réalisées selon les besoins. Des préparations commerciales contenant des extraits de fluides ruminiaux asséchés sont disponibles, et apportent certaines bactéries ainsi que les substrats nécessaires à leurs activités.

Cette restauration de la flore ruminale, également appelée transfaunation, est une thérapie applicable à d'autres affections ruminales, comme l'indigestion simple, ...

4.1.1.4 Traitements adjuvants [140]

L'acidose, notamment l'acidose subaiguë, est souvent à l'origine de complications (fourbure, abcès hépatique, etc...), qu'il convient de prévenir lors du traitement de l'acidose ruminale. Les traitements adjuvants regroupent l'utilisation d'antihistaminique (pour prévenir la fourbure), de parasympathomimétiques pour stimuler la motricité ruminale, ou encore celle de thiamine ou de levure pour stimuler le métabolisme de l'acide lactique [105]. L'efficacité de ses traitements additifs est difficile à évaluer, et il semble peut probable qu'aucun d'eux ne soit d'une importance grandissime.

4.1.2 Traitement des cas chroniques

Le traitement consiste essentiellement à favoriser la restauration d'une population microbienne normale dans le rumen en apportant ad libitum un fourrage grossier de bonne qualité. Cet apport d'éléments grossiers rétablira une sécrétion salivaire normale qui, par son pH alcalin et son pouvoir tampon représente le facteur physiologique principal de l'équilibre acido-basique dans le rumen

Pour accélérer le rétablissement de l'animal, l'administration de 2 à 4 litres de jus de rumen est particulièrement recommandée. On peut également employer le jus de rumen lyophilisé, traitement de choix pour l'acidose chronique, à la dose de 3 g par jour, 5 jours consécutifs [23].

4.2 Prévention de l'acidose ruminale

4.2.1 Prophylaxie sanitaire

Si l'acidose lactique aiguë, principalement liée à des accidents, ne présente pas d'importantes mesures de prévention à mettre en place (protection des réserves de concentrés, vigilance dans la distribution des concentrés, ...), un certain nombre de mesures sanitaires sont préconisées pour lutter contre l'acidose subaiguë. L'apport de rations suffisamment riches en fibres, permettant une mastication et une insalivation suffisante des aliments, est préconisé.

D'autre part, l'apport des concentrés dans la ration doit se réaliser graduellement, afin d'assurer une période d'adaptation graduelle à ce régime. Certains auteurs [140] préconisent, chez les bovins à l'engraissement, de commencer par apporter de petites quantités en grains (de l'ordre de 8 à 10 g/kg de poids vif), et d'augmenter cette quantité de 10 à 12 % tous les deux à quatre jours. Le désavantage de cette méthode est que les animaux dominants du groupe risquent une

Figure 17 : Concentration moyenne en lactate ruminal (mmol/L) 24 heures après le début de l'introduction de concentrés chez des animaux recevant un vaccin contenant *S. bovis* et *Lactobacillus*, et chez des animaux non vaccinés [158].

En blanc, les concentrations en L-lactate, en noir, en D-lactate

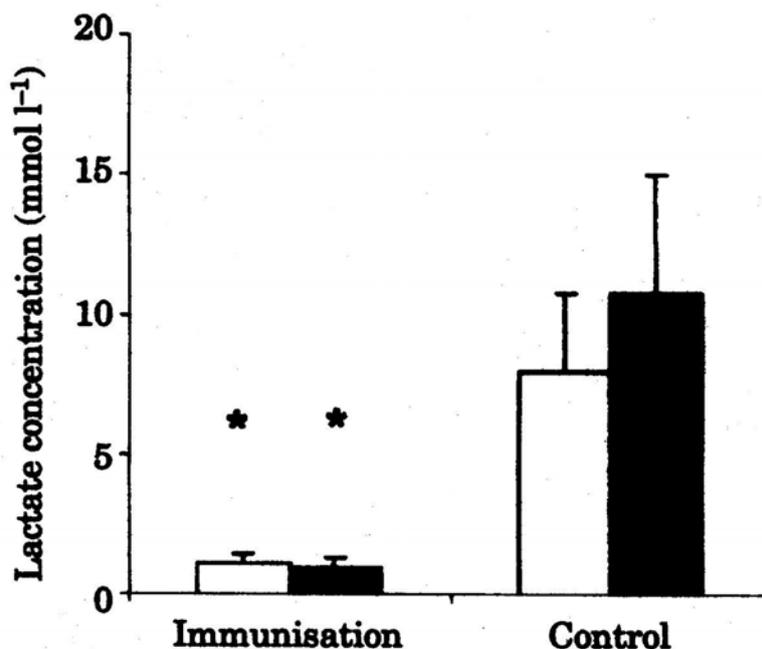


Tableau 13 : Log₁₀ du nombre (CFU/ml) de *S. bovis* et de *Lactobacillus* dans le contenu ruminal au 90^{ème} jour (16 heures avant l'introduction d'une alimentation contenant 90% de grains) et au 92^{ème} jour (24 heures après l'introduction de cette ration) chez des animaux non immunisés ou des animaux immunisés avec un vaccin contenant *S. bovis* et *Lactobacillus* [158]

	Immunisés	Contrôle
<i>S. bovis</i>		
J ₉₀	3,69	5,68
J ₉₂	7,78	9,11
<i>Lactobacillus</i>		
J ₉₀	3,07	3,70
J ₉₂	6,33	8,23

par rapport aux prévisions. Une autre méthode proposée [140] consiste à proposer une ration complète, composée de 50-60 % de fourrage et de 40-50% de grains, comme ration de départ pendant 7 à 10 jours, et de mesurer la réponse. Si les résultats sont satisfaisants, le taux de fourrage est diminué par palier de 10 % tous les deux à quatre jours, jusqu'à atteindre une valeur de 15 %.

L'incorporation de substances tampons, comme du bicarbonate de sodium dans une proportion de l'ordre 1 à 2 %, ou de la bentonite de sodium, dans la proportion de 2 à 3 % peut être réalisée [140].

4.2.2 Prophylaxie médicale

L'utilisation d'antibiotiques ionophores pour prévenir l'acidose ruminale a été particulièrement documentée dans le passé [122], [120]. Leur action est restreinte aux bactéries Gram positif, et présentent donc une activité sur *S. bovis*. Ainsi, *S. bovis* est sensible au monensin [145].

Lors d'utilisation d'antibiotiques ionophores, la flore ruminale impliquée dans la pathogénie de l'acidose ruminale varie : l'apport d'antibiotiques à des animaux pendant leur période d'adaptation à des régimes à base de concentrés s'accompagne d'une diminution du nombre de lactobacilles, ainsi que du nombre de *S. bovis* [40]. De plus, ils préviennent l'augmentation de la concentration en *Fusobacterium necrophorum* observée chez les témoins.

La salinomycine, le monensin et le lasalocide ont été comparés pour leurs effets protecteurs, et la salinomycine semble être l'antibiotique pour lequel l'activité de prévention de l'acidose ruminale est la plus importante [140]. Le monensin semble ne pas avoir d'effet sur le pH ruminal sur des animaux chez qui une acidose subclinique a été induite, ce qui impliquerait que le monensin n'a pas d'effet sur l'acidose subclinique [132]

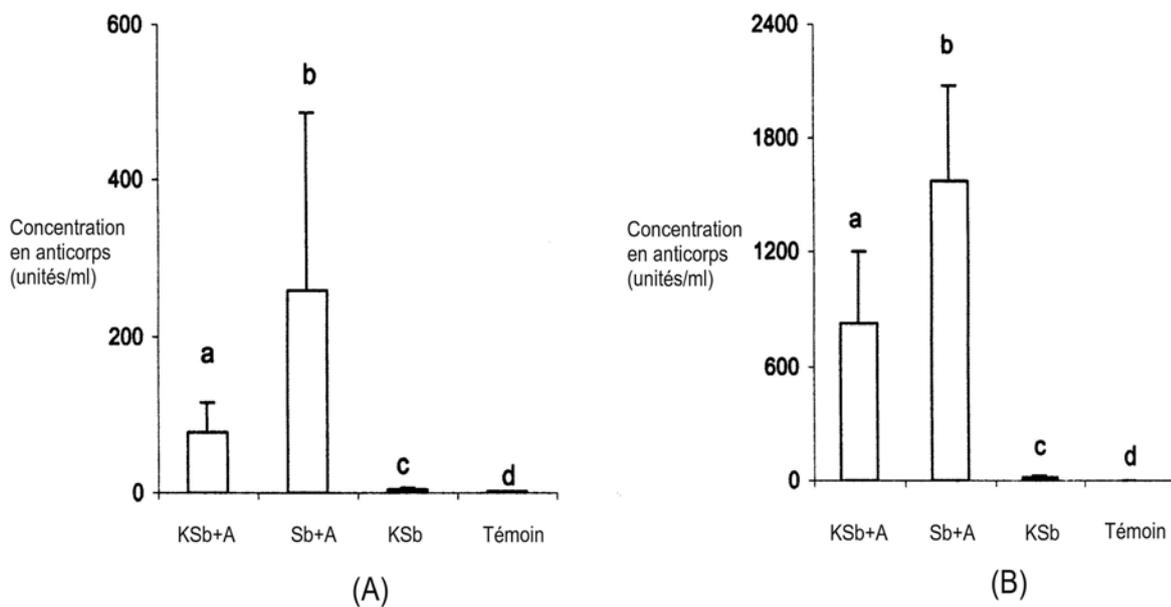
Néanmoins, cet usage des antibiotiques est de plus en plus remis en question, en raison des problèmes de transmission d'antibiorésistance. Ceci conduit à la recherche d'autres méthodes de prévention de l'acidose ruminale, telle que l'élaboration de vaccins.

D'autres essais, impliquant des supplémentations en bactéries et / ou en levures de l'aliment ont été développés [13], [73]. Néanmoins, les résultats sur la prévention de l'acidose ruminale sont contrastés : certains probiotiques semblent avoir un effet sur l'acidose ruminale, alors que d'autre non.

Des essais ont été développés pour déterminer la capacité de vaccins, vivants ou tués, à réduire l'acidose lactique via la stimulation de la production d'anticorps spécifiques des bactéries produisant de l'aide lactique, *S. bovis* et *Lactobacillus* [74], [158].

Shu et al. [158] ont étudié l'efficacité du contrôle de l'acidose ruminale grâce à l'utilisation d'un vaccin contenant les souches *S. bovis* Sb-5 et *Lactobacillus* LB-27. Les concentrations en lactate, et le nombre de bactéries présentes chez les témoins et les animaux immunisés sont présentées respectivement par la figure 17 et le tableau 13. Une différence significative est observée 92 jours post-immunisation entre les concentrations en lactate chez les témoins et les immunisés, la concentration étant significativement inférieure chez les immunisés. De la même façon, la

Figure 18 : Concentration en anticorps (unité/ml) dans le jus de rumen (A) et dans le sérum (B) chez des moutons non immunisés et chez des moutons immunisés avec un vaccin contenant soit des souches tuées (KSb) ou vivantes (Sb) de *S. bovis* [74]



KSb+A : les animaux ont reçu 1 ml de suspension de bactéries (10^{10} bactéries/ml) tuées associée à un adjuvant

Sb+A : les animaux ont reçu 1 ml de suspension de bactéries (10^{10} bactéries/ml) vivantes associée à un adjuvant

KSb : les animaux ont reçu 1 ml de suspension de bactéries (10^{10} bactéries/ml) tuées non associée à un adjuvant

concentration en *S. bovis* et en lactobacilles était significativement inférieure chez les animaux vaccinés. Ces résultats signifient que l'acidose lactique a été réduite grâce à la vaccination contre *S. bovis* et les lactobacilles. Ces résultats sont en adéquation avec ceux d'autres études [74].

La vaccination permet de diminuer l'acidose lactique, avec une augmentation de la consommation d'aliment par rapport à des animaux atteints de cette pathologie, et une diminution de la sévérité de la diarrhée. D'autre part, l'immunisation permet de réduire la prolifération des bactéries produisant du lactate [74].

Deux types de vaccins ont été testés, un vaccin tué et un vaccin vivant. Les pH ruminiaux les plus élevés, les prises alimentaires les plus élevées et les diarrhées les moins sévères ont été observés chez les groupes immunisés avec un vaccin vivant, par rapport aux groupes recevant le vaccin tué. La figure 18 présente les concentrations en anticorps dans le jus de rumen et dans le sérum selon le type de vaccin administré. La réponse en anticorps induite par un vaccin à *S. bovis* vivant est supérieure à celle du vaccin à *S. bovis* tué.

5. Pathologies associées et conséquences de l'acidose ruminale

L'acidose ruminale, notamment sa forme subclinique, est régulièrement associée à d'autres pathologies. La compréhension des mécanismes physiopathologiques de ces différentes pathologies permet de déterminer les liens existants entre ces différentes entités pathologiques.

5.1 Altération de la paroi ruminale

5.1.1 Ruminite mycotique

Comme vu précédemment, toutes les formes d'évolution de l'acidose ruminale s'accompagnent d'une inflammation de la paroi ruminale, due à l'action caustique de l'acide lactique. Lorsque l'acidose se prolonge, des lésions érosives et inflammatoires se développent. L'acidose ruminale est alors à l'origine d'une importante destruction de la muqueuse ruminale, qui favorise la croissance du champignon *Mucoraceus spp.*, ainsi que d'autres champignons (*Absidia*, *Rhizopus*). La dégradation de la muqueuse ruminale permet à ses organismes d'envahir la sous muqueuse de la paroi ruminale [89]. Ces organismes fongiques ont une prédilection pour les artérioles, initiant une vasculite sévère, résultant en une thrombose et un infarctus de la paroi ruminale. Les lésions peuvent être si sévères que l'on peut aboutir à une nécrose transmurale complète de la paroi ruminale. La muqueuse ruminale, dévitalisée, permet l'entrée de bactéries et de champignons, ainsi que de substances toxiques (histamine, endotoxines, ...) dans la paroi ruminale, et par conséquent, dans la circulation porte.

5.1.2 Parakératose et hyperkératose

L'hyperkératose (développement de la couche cornée) et la parakératose (hyperplasie de la couche épineuse) avec coloration noirâtre des papilles ruminales sont une conséquence très fréquente lors d'acidose chronique, et coexistent avec les lésions de ruminite. L'augmentation de la taille des papilles est à rapporter à une irritation prolongée ainsi qu'à une action stimulatrice sur la muqueuse des acides gras volatils, notamment du propionate et du butyrate. La faible fibrosité des aliments impliqués interviendrait aussi directement par un effet mécanique de moindre usure. Aucune manifestation clinique n'est liée à cette lésion, et la diminution de l'absorption des acides gras volatils d'une part, et des performances d'autre part, est controversée.

Figure 19 : Flore bactérienne isolée d'abcès hépatiques (49 abcès provenant de 28 foies) de bovins à l'engraissement (d'après [125])

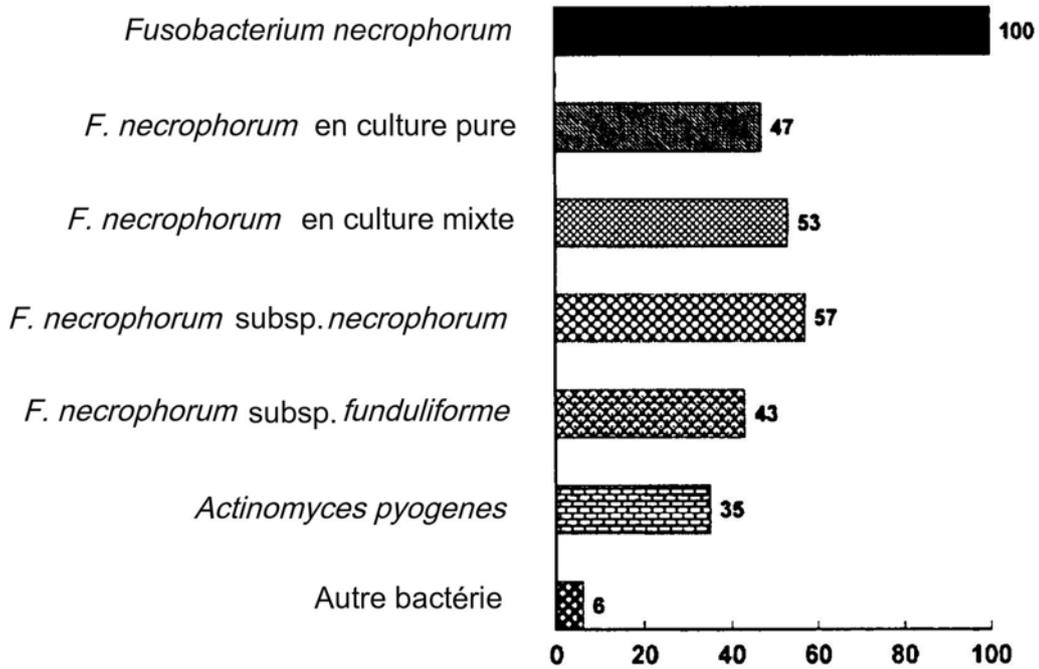
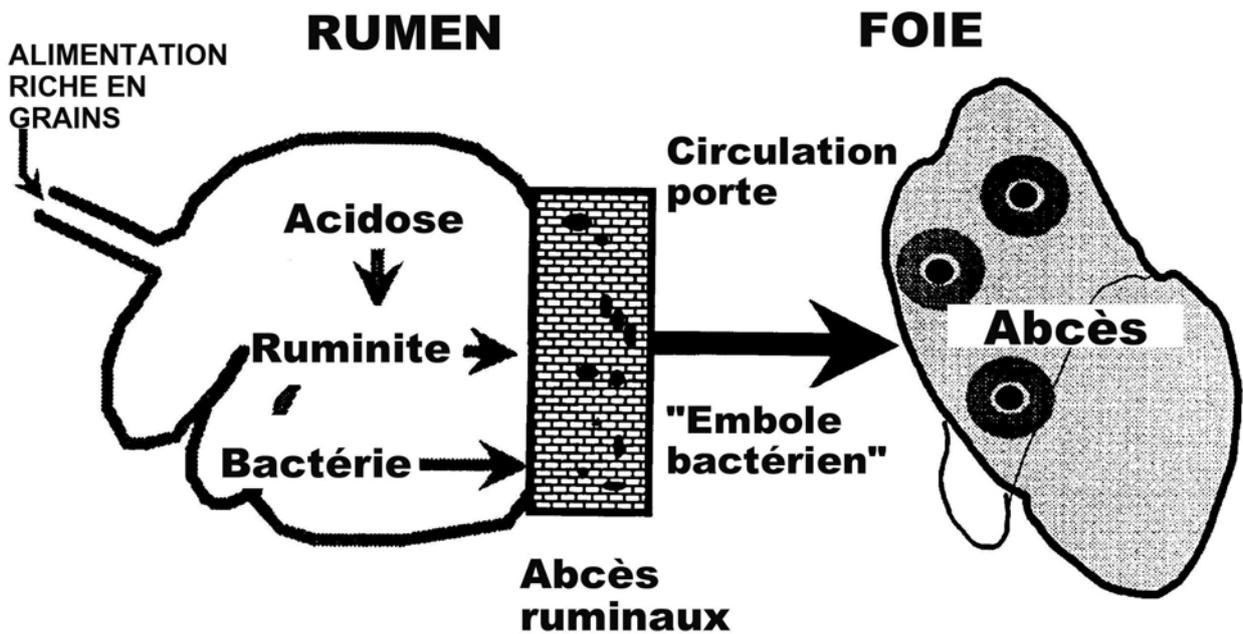


Figure 20 : Pathogénèse des abcès hépatiques chez des bovins nourris avec de grandes quantités de concentrés (d'après [125])



5.2 Abscès hépatiques

Les abcès hépatiques, fréquents chez les bovins à l'engraissement, sont souvent associés dans la littérature aux complications d'épisodes d'acidose, et notamment à la ruminite acidotique. Cette pathologie hépatique est la première cause de saisie de foie aux Etats-Unis, ce qui souligne son importance économique [125].

L'étiologie de cette pathologie fait intervenir des bactéries habituelles de la flore ruminale, notamment *Fusobacterium necrophorum*. Selon les études, l'incidence de *F. necrophorum* dans les cultures bactériennes issues d'abcès hépatique varie de 81 à 100 % [125]. Ce sont les biotypes A (*F. necrophorum* subsp. *necrophorum*) et B (*F. necrophorum* subsp. *funduliforme*) qui sont le plus fréquemment isolés dans les abcès hépatiques. S'il est parfois isolé seul, il est néanmoins souvent associé à d'autres bactéries anaérobies, ou à des bactéries anaérobies facultatives [156]. Les autres bactéries isolées incluent *Actinomyces pyogenes* (second germe le plus souvent mis en cause [99]), *Bacteroides* spp., *Clostridium* spp., *Pasteurella* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. et d'autres bactéries, Gram positive et Gram négative, non identifiées [125]. La figure 19 présente la flore bactérienne isolée de 49 abcès hépatiques.

L'apparition d'abcès hépatiques est secondaire à un premier foyer d'infection dans la paroi ruminale. Cette paroi, endommagée en raison de l'acidité du contenu rumen lors d'acidose, devient réceptive à l'invasion et la colonisation par *F. necrophorum*. Une fois la colonisation effectuée, *F. necrophorum* peut alors gagner la circulation sanguine, ou causer des abcès de la paroi ruminale, et relarguer par la suite des embolus septiques dans la circulation porte. Les bactéries de la circulation porte sont filtrées par le foie, conduisant à son infection et à la formation d'abcès (figure 20)

Les facteurs de virulence de *F. necrophorum* jouent sans nul doute un rôle déterminant dans la pénétration et la colonisation de l'épithélium ruminal, ainsi que dans l'établissement et le développement de l'infection du foie. Son activité protéasique, son activité dermonécrotique ainsi que l'effet cytotoxique de ses leucotoxines sur les cellules ruminales pourrait favoriser la pénétration et la colonisation de la paroi du rumen. *F. necrophorum* échapperait à la phagocytose, très importante dans le foie, grâce à ses leucotoxines et ses LPS endotoxiques, et la synergie avec des bactéries anaérobies facultatives permettraient l'apparition de condition d'anaérobiose strict nécessaire à sa croissance [125].

La découverte d'abcès hépatiques n'est généralement qu'une trouvaille d'abattoir, les animaux atteints, qu'il s'agisse de centaines de petits abcès ou de quelques abcès de grande taille, ne présentent que très rarement des signes cliniques. Occasionnellement, on peut observer une douleur abdominale, ou la rupture d'un abcès superficiel peut s'accompagner d'une infection massive d'autres organes, et de la mort (exemple : thrombose de la veine cave postérieure). Les performances de l'animal sont diminuées : la prise alimentaire, le gain de poids et le rendement de la carcasse décroissent [125], même si la variation des performances de animaux peut aller de 0 % [81] à une diminution de l'efficacité alimentaire de 9,7% [19].

5.3 Fourbure

La fourbure, ou pododermatite aseptique diffuse, est caractérisée par une inflammation aseptique du pododerme survenant suite à la suite de troubles métaboliques. L'étiologie et la pathogénie de cette affection ne sont pas encore précisément connues ou restent encore discutées, mais on admet l'origine multifactorielle de cette pathologie. De nombreux facteurs (logement, gestion du vêlage, ...) ont été identifiés comme intervenant dans l'étiologie de cette pathologie. Au

sein de ces facteurs, les troubles alimentaires ont été identifiés comme une composante clé du développement de fourbure, et plus particulièrement la consommation de quantité croissante de GRHF, qui donne naissance à la mise en place d'un état acidosique [129].

5.3.1 Pathogenèse de la fourbure

Le mécanisme de développement de la fourbure peut se diviser en quatre phases [129]. La première phase est associée à un trouble métabolique systémique. Cette phase est une conséquence du pH ruminal, et par conséquent du pH systémique. La diminution du pH systémique active un mécanisme vasoactif qui augmente le pouls digité et le flux sanguin total. Des endotoxines et de l'histamine, dont les concentrations augmentent lors d'acidose ruminale, peuvent être relarguées dans le torrent sanguin, à l'origine de troubles vasculaires périphériques, à l'origine d'œdème et d'hémorragies, et cause le développement d'un certain nombre de shunt artérioveineux non physiologiques, à l'origine de l'augmentation de la pression sanguine.

La seconde phase, marquée par des dommages mécaniques, est une conséquence des troubles vasculaires précédents. Une fois l'œdème apparu, l'ischémie consécutive favorise l'instauration de shunts artérioveineux. De plus, des traumatismes, un stress, permettent la libération d'hormones et de molécules augmentant le développement de ces shunts. En réponse à ces événements, la pression sanguine continue d'augmenter dans la partie la plus basse du pied.

De plus, l'ischémie consécutive est à l'origine d'une diminution des apports en nutriments et en oxygène du pododerme et de l'épithélium germinatif (producteur de corne), à l'origine de la production d'une corne de moindre qualité, puis à un arrêt par endroit de cette production [17]. Si les troubles vasculaires perdurent, des lésions du pododerme et de l'épiderme surviennent, provoquant le désengrènement de la jonction derme-épiderme, à l'origine de la rotation de la phalange distale dans l'étui corné.

La quatrième phase est caractérisée par l'apparition des lésions du pododerme, qui ne seront visibles que quelques semaines plus tard (environ 6 semaines) [17].

5.3.2 Place de l'acidose ruminale

Des épisodes de fourbure ont été induits expérimentalement chez des bovins, en les alimentant avec des rations riches en glucides : l'apparition de symptômes évocateurs de fourbure (inconfort en station debout, douleur au niveau des onglons, boiterie, renforcement du pouls digité), ainsi que l'apparition de lésions podales survenant quelques temps après ont été observés [17]. De même, des études [104] ont montré que, dans un cheptel laitier nourri avec une ration restreinte en fourrages, 68 % des vaches présentaient des symptômes de fourbure clinique au vêlage, et 64 % de ces mêmes vaches avaient des ulcères de sole deux mois après, alors que pour le cheptel témoin (même quantité de concentré, mais accès libre aux fourrages), ces valeurs étaient respectivement de 8 et 8 %. Ceci démontre l'existence de relations entre les situations à risque d'acidose ruminale et la survenue de fourbure. Néanmoins, cette relation est encore confuse, et mal caractérisée.

Plusieurs hypothèses ont été étudiées pour expliquer par quel mécanisme l'acidose ruminale peut favoriser l'instauration de fourbure. Tout d'abord, l'acidose ruminale serait à l'origine d'une perturbation de la perfusion périphérique. Les modifications digestives faisant suite à l'acidose ruminale (hypomotilité ruminale, stase, ruminite) favorisent la pénétration de toxines et d'agents vaso-actifs à travers la paroi ruminale (endotoxines, histamine). Une fois la circulation sanguine atteinte, ils peuvent alors provoquer des troubles vasculaires au niveau du pododerme, et donc

induite un épisode de fourbure [129]. De plus, les conditions favorables à la libération de *F. necrophorum* lors d'acidose permettent à cette bactérie de gagner le foie (à l'origine d'abcès hépatiques, voir suite). Les processus dégénératifs associés à cette chaîne d'évènements sont également source de libération d'histamine.

D'autre part, l'appel d'eau intraruminal secondaire à l'augmentation de la concentration en acide lactique est à l'origine d'une diminution de volume du secteur extracellulaire. Cette déshydratation extracellulaire est ensuite à l'origine de troubles de la circulation périphérique, renforçant par le fait l'action des substances vaso-actives au niveau du pododerme.

Un autre mécanisme proposé implique une diminution de la biotine. La biotine joue un rôle essentiel dans l'intégrité de la paroi du sabot, et donc dans le développement de la fourbure [17]. Elle est produite dans les conditions physiologiques par les microorganismes ruminants mais un environnement acide pourrait altérer cette production. Midla *et al.* [114] ont montré qu'une supplémentation en biotine diminuait les lésions de la ligne blanche

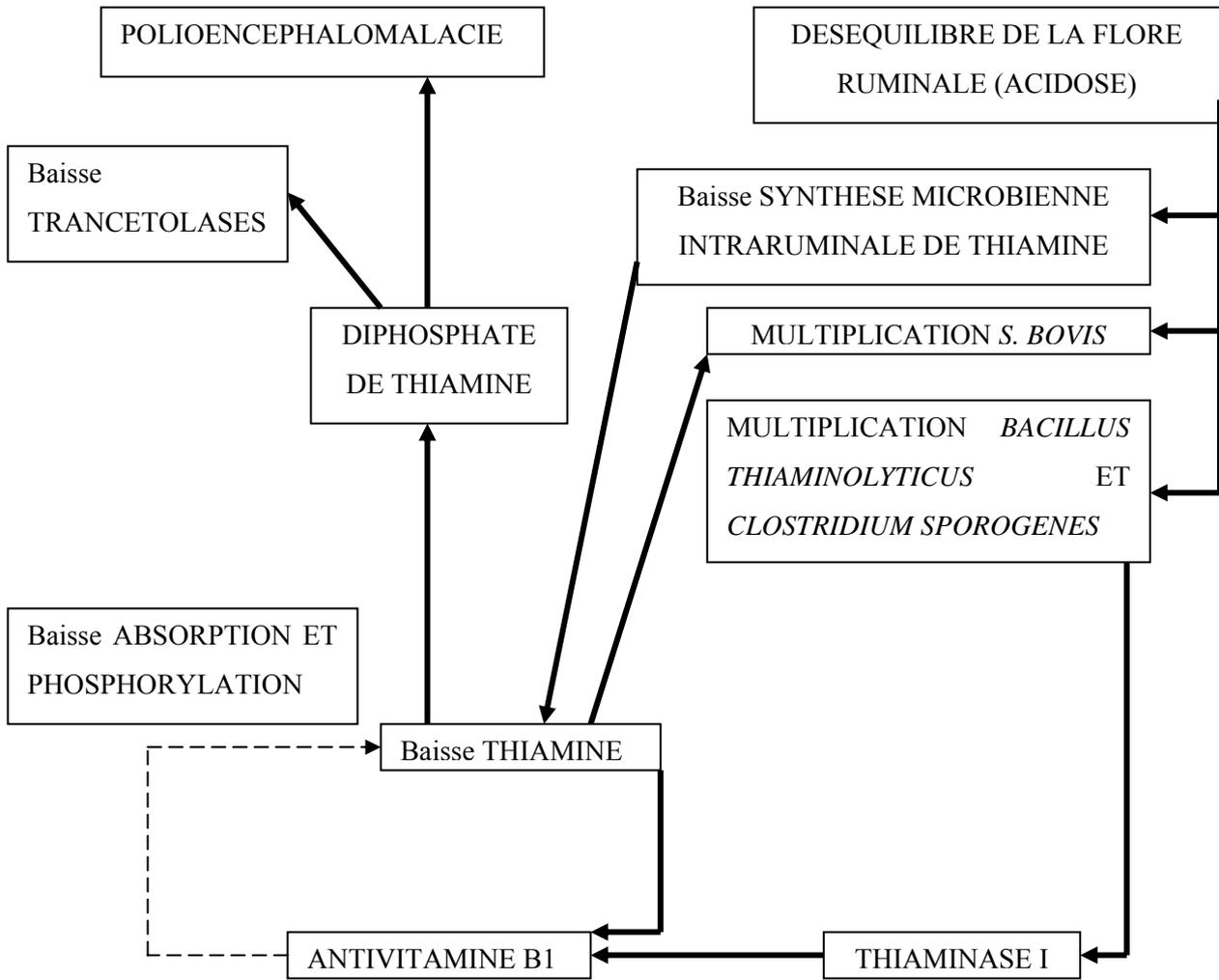
Enfin, des études ont mis en évidence l'influence de *S. bovis* dans la pathogénèse de la fourbure chez des chevaux soumis à des régimes riches en glucides [121], [139]. Comme chez les ruminants, la consommation de grandes quantités de glucides rapidement fermentescibles s'accompagne d'une modification de la flore caecale, avec prolifération de *S. bovis* [121], d'une diminution du pH et d'une altération de la paroi caecale. La réponse à cette ingestion rapide de grandes quantités d'amidon présente donc des similarités avec celle observées chez les ruminants. Les résultats des études précédentes suggèrent que l'augmentation rapide du nombre de *S. bovis* dans le caecum et le colon, observée en parallèle lors de fourbure induite par de grandes quantités de glucides, pourrait être la cause directe de l'instauration de la fourbure, via la production d'une (de) exotoxines capables d'activer des métallo protéinases matricielles (MMP) présentes dans la structure lamellaire. Une fois activée, ces MMP peuvent dégrader des composants clés des complexes hémidesmosome de la membrane basale, séparant au final la membrane basale de l'épiderme. Ces études pourraient être intéressantes dans la compréhension de la fourbure bovine, la bactérie produisant l'acide lactique étant associé à cette pathologie. Néanmoins, l'absence d'études similaires chez les ruminants ne permet pas pour l'instant de savoir si ce mécanisme est également valable pour la fourbure chez les ruminants [15].

5.4 Nécrose du cortex cérébral (figure 21)

La nécrose du cortex cérébral (NCC) est souvent associée à l'acidose ruminale, sans que l'on puisse établir un lien de causalité indiscutable. La NCC est due à une carence en vitamine B1, ou thiamine, chez les ruminants. Si l'existence d'une telle carence lors d'acidose ruminale a été bien documentée [46], les mécanismes à l'origine de cette carence ne sont pas encore connus avec certitude. La thiamine est synthétisée par les bactéries ruminales. Pour expliquer sa carence, un rôle important est dévolu aux thiaminases ruminales, d'origine bactérienne. Néanmoins, le rôle précis de ces thiaminases est difficile à préciser, car ces enzymes ruminales sont souvent présentes sans que des signes cliniques ne soient observés [69]. La thiaminase de type I clive la molécule de thiamine et substitue au cycle thiazol une base azotée qui sert de co-substrat : il en résulte la production d'un analogue de la thiamine qui, en retour, bloque l'activité de la thiamine. La thiaminase de type II quant à elle détruit la thiamine. Enfin, le pH optimum d'activité de la thiaminase I est de 5, ce qui correspond aux valeurs faibles observées lors d'acidose ruminale.

Il existe, au sein du rumen, un équilibre complexe entre la production et la destruction de la thiamine, qui dépend de la flore ruminale. Il est probable que la NCC survienne lorsque le taux de

Figure 21 : Etio-pathogénie de la nécrose du cortex cérébral [23]



destruction de la thiamine excède les capacités de production microbienne ou les apports alimentaires, appauvrissant du fait les réserves de l'animal. L'acidose ruminale prédisposerait à la NCC en favorisant le développement des germes capables de produire des thiaminases de type I, en particulier *Clostridium sporogenes* et *Bacillus thiaminolyticus*, qui ont été isolées de rumen d'animaux atteints de NCC [69]. Néanmoins, aucune preuve n'a pu être apportée quant à leur implication réelle dans la pathogénie de la NCC.

5.5 Prolifération bactérienne intestinale

L'entérotoxémie est une complication fréquente de l'acidose ruminale chez toutes les espèces de ruminants. L'arrivée dans l'intestin d'un substrat glucidique ayant échappé à la dégradation ruminale favorise la multiplication des clostridies [2]. Les toxines des clostridies provoquent les lésions vasculaires et dégénératives qui caractérisent les entérotoxémies.

D'autre part, l'acidose ruminale favoriserait la présence d'*E. coli* O157 : H7 : tout comme les clostridies, la multiplication des colibacilles est favorisée par l'arrivée de glucides non digérés dans le gros intestin. Lorsque les *E. coli* sont présents en faible quantité (comme à l'état physiologique), les fermentations acides du colon, à pH 2, suffisent à tuer tous les colibacilles présents. Ces fermentations acides ne sont plus suffisantes lorsque les animaux sont nourris avec d'importantes quantités de grains, et un nombre important de souches d'*E. coli* O157 : H7 peuvent survivre. La prolifération de cette bactérie, à l'origine de pathologies extrêmement grave chez l'homme, est donc favorisée par les états d'acidose ruminale [147].

5.6 Conséquences zootechniques

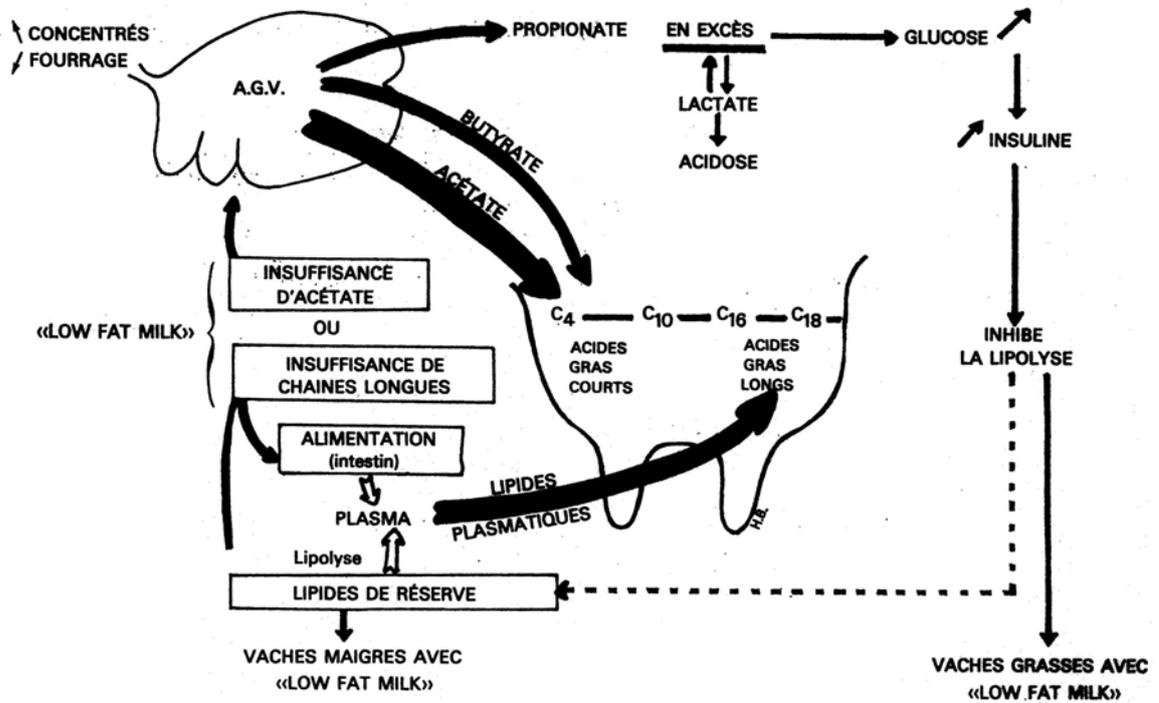
L'acidose ruminale, plus particulièrement sa forme subaiguë, est caractérisée par un certains nombres de conséquences zootechniques, qui contribuent à considérer cette pathologie comme une pathologie d'importance économique.

Ainsi, une chute du taux butyreux du lait d'animaux atteints d'acidose ruminale subaiguë, ou de formes autres que la forme aiguë, a été souvent décrite [93]. Cette chute du taux butyreux est liée aux proportions relatives d'acétate et de propionate : les fermentations ruminales, lorsque le pH ruminal diminue, ne sont plus orientées vers une production majoritaire d'acétate, mais vers une production équivalente d'acétate et de propionate. Lorsque le ratio acétate : propionate descend en dessous de 2 : 1, on observe une diminution du taux butyreux, l'acétate étant le principal précurseur de la matière grasse du lait. Par ailleurs, l'acide propionique est, par le biais de la néoglucogenèse, le principal précurseur du glucose sanguin. Lorsque la concentration en propionate, et donc secondairement en glucose, augmente, on observe un accroissement de la sécrétion d'insuline qui inhibe la lipolyse : il s'agit du syndrome « low fat milk » [23] (figure 22)

Une étude estime les pertes liées à l'acidose subaiguë à 400-475 \$ par vache et par an, dans une étude menée sur 500 vaches laitière [98]. Cette estimation est basée sur l'observation d'une chute de production laitière de 3 kg par vache et par jour, et à une diminution des taux de matière grasse et de protéine, respectivement de 37 à 34 g/kg et de 29 à 28 g/kg.

Des chutes d'ingestion sont fréquemment rapportées dans un contexte d'acidose subaiguë. Leurs conséquences sont importantes, à l'origine de baisses de performances. Mais surtout, les conséquences sont supérieures chez les vaches laitières en post partum où les diminutions d'appétit prédisposent aux cétooses et à l'infertilité. Ces baisses d'appétit, concomitantes expérimentalement

Figure 22 : Mécanisme de la chute du taux butyreux dans le lait lors d'acidose ruminale [23]



de l'hypomotricité ruminale, pourraient être due à des mécanismes communs. L'infusion d'acide lactique dans le duodénum stimulerait ainsi la production de la cholécystokinine (CCK) qui agirait sur le centre de la satiété, via le système opiacé [55].

Les baisses de performances observées lors d'acidose subaiguë sont les conséquences, outre de la diminution du niveau de consommation, de la diminution de la digestibilité des fourrages de la ration, puisque la flore cellulolytique est inhibée par un pH ruminal bas, et de la diminution de la capacité d'absorption de la muqueuse en raison de son altération.

B- L'alcalose ruminale

L'alcalose ruminale est caractérisée par une augmentation de la valeur du pH ruminal de 6,8 à 8,5, en raison d'une production anormalement élevée d'ammoniaque. Cette variation de pH peut correspondre à des étiologies diverses, alors que les mécanismes pathogéniques, et dans une moindre mesure les symptômes se présentent sous un aspect plus univoque.

1. Etiologie

L'alcalose est produite d'une manière générale par des régimes riches en azote. Compte tenu des conditions d'élevage, il est peu probable que ce phénomène puisse être rapportée à un régime hyperprotéique. L'alcalose ruminale est classiquement la conséquence de l'utilisation d'azote non protéique (ANP), et peut être également incriminée dans les troubles survenant après l'ingestion d'aliments avariés, ou encore à la mise à l'herbe.

L'alcalose est donc la conséquence fréquente de l'utilisation d'ANP. Elle correspond aux troubles décrits sous le nom « d'intoxication à l'urée », alors qu'il s'agit en réalité des symptômes d'une hyperammoniémie. La cause primitive de ses troubles est l'ingestion en quantité excessives de substrats susceptibles de donner naissance rapidement à de l'ammoniaque dans le rumen.

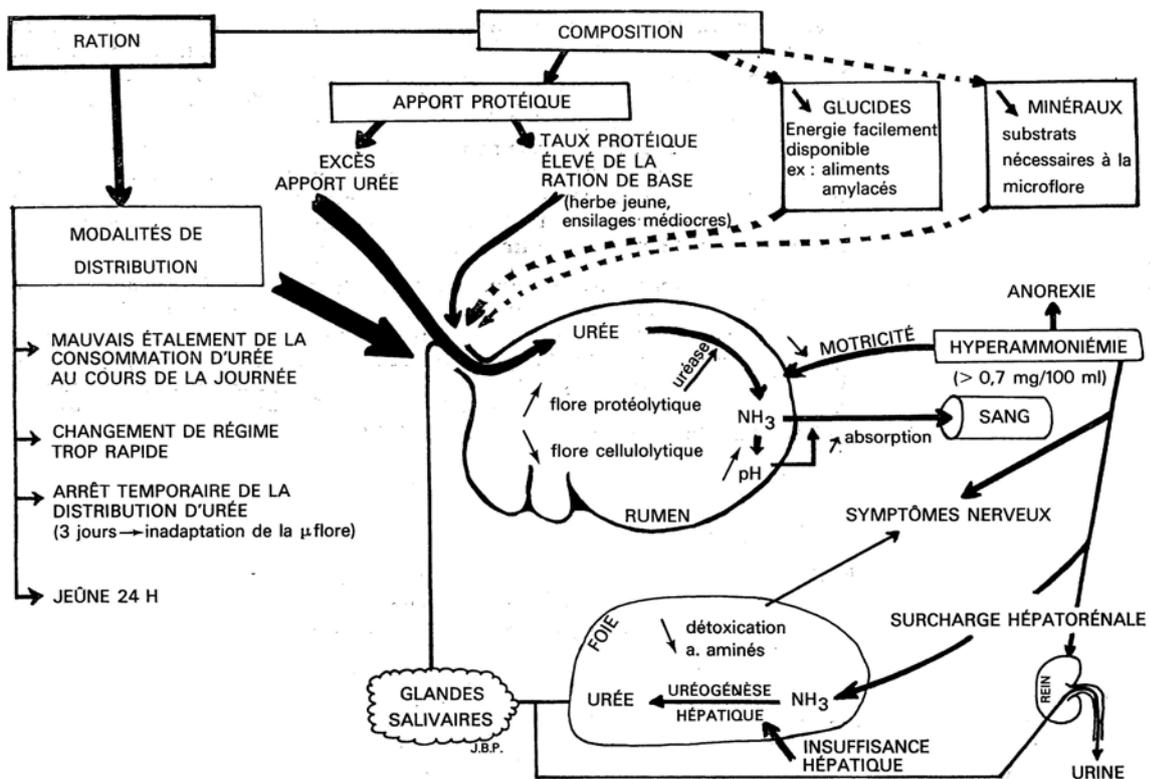
Pour diminuer le coût des aliments, la plupart des aliments industriels pour bovins et ovins contiennent des produits azotés tels que l'urée, dans des proportions pondérales rarement supérieures à 2 % de la ration totale. Cet apport de sources d'azote non protéique permet de remplacer une partie des protéines alimentaires par des substances azotées d'un prix de revient inférieur. Or, un facteur majeur limitant l'incorporation d'urée dans l'alimentation des ruminants est le déséquilibre au niveau du rumen entre une uréolyse rapide et une protéosynthèse bactérienne lente, d'où l'accumulation locale puis sanguine d'ammoniaque.

D'autres sources alimentaires peuvent induire une alcalose ruminale. Ainsi, Lachmann (1977) induit une alcalose ruminale chez des ovins en leur administrant une suspension de terreau. Dans cette forme d'alcalose, la pathogénicité n'est absolument pas liée à une augmentation de la production d'ammoniaque. Cette forme d'alcalose ruminale ne faisant pas intervenir les bactéries ruminales, son mécanisme ne sera pas étudié par la suite.

2. Pathogénie (figure 23)

L'hyperammoniémie qui s'installe lors d'alcalose ruminale est à l'origine des signes cliniques observés (tremblement, convulsion). Cette hyperammoniémie est la résultante de deux phénomènes

Figure 23: Physiopathologie de l'alcalose ruminale [23]



successifs : une production rapide et intense d'ammoniaque dans le rumen, et un débordement des capacités de détoxifications du cycle de l'urée dans le foie.

2.1 Mécanismes ruminiaux conduisant à la surproduction d'ammoniaque

L'hydrolyse de l'ANP est assurée, dans le rumen, par la flore bactérienne. Comme vu précédemment, deux flores uréolytiques coexistent, chacune différant par son degré d'activité uréasique. Le pH optimum de l'uréase bactérienne est compris entre 7 et 8,5. Par conséquent, les pH ruminiaux élevés, comme dans le cas d'alcalose ruminale, favorisent la dégradation de l'urée. L'urée est dégradée en ammoniaque et en dioxyde de carbone.

L'ammoniac produit a deux voies d'utilisation possible : l'absorption sanguine, ou la protéosynthèse microbienne. Les flux vers l'aval du tube digestif et l'éruclation sont des voies négligeables [102]. La synthèse des protéines microbiennes à partir de l'azote ammoniacal est, d'un point de vue quantitatifs, surtout liée à l'activité bactérienne [180]. Ainsi, 92 % des bactéries ruminales peuvent utiliser l'ammoniac comme source d'azote, alors que ¼ de la population ruminale l'utilise de façon préférentielle [130].

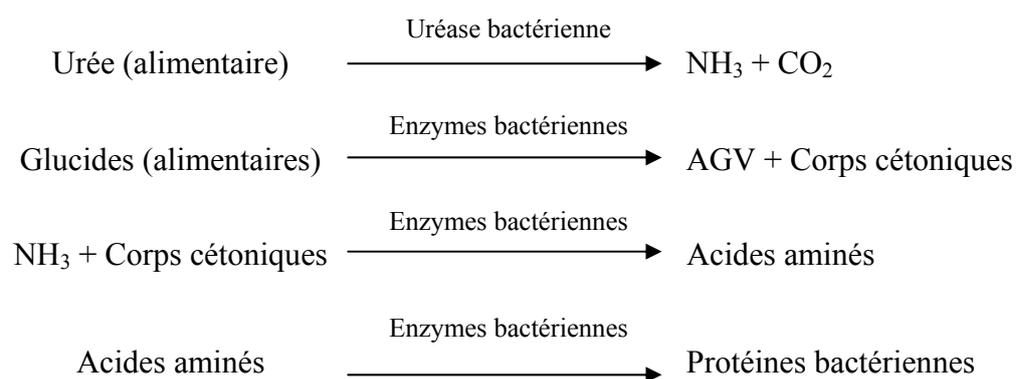
L'accumulation de l'ammoniac est donc une conséquence d'une perturbation de l'équilibre entre la production par les bactéries uréolytiques, et l'incorporation aux protéines microbiennes par les bactéries utilisatrices d'ammoniac. La figure 24 récapitule les différentes étapes impliquées, de l'hydrolyse de l'urée à l'incorporation des acides aminés aux protéines bactériennes.

Pour éviter cette accumulation ammoniacale, il est donc indispensable d'incorporer cette molécule aussi rapidement qu'il est produit. Le facteur limitant éventuel est la disponibilité et la vitesse de fermentescibilité des glucides qui fournissent les corps cétoniques et l'énergie, indispensables à la synthèse des acides aminés bactériens (figure 24). Les oses simples (glucose, fructose), les oligosides (lactose, saccharose) mais aussi les polyholosides très fermentescibles (amidon) permettent celle-ci. D'autres nutriments pourraient également être limitants, mais seulement dans les situations à la limite d'intoxication (soufre, vitamines du groupe B, acide orotique) [144].

La protéosynthèse est maximale si les nutriments pour les bactéries sont présents en quantité suffisantes, et au moment du pic de production d'ammoniac. Si la protéosynthèse, premier rempart contre l'intoxication, est dépassé, alors l'ammoniaque s'accumule. Son caractère de base faible ($pK_a = 9,3$) provoque une augmentation du pH à des valeurs alcalines (de 7 à 8,5), qui favorise à son tour l'absorption sanguine de l'ammoniaque.

Lors d'introduction de l'ANP dans la ration, l'absence de période d'adaptation peut être source d'intoxication. Pour l'urée, cette période s'échelonne selon les auteurs entre 0 et 50 jours [128] et le plus souvent entre 15 jours à 2 mois [133]. Cette variabilité ne serait que pour une faible part due à l'adaptation de la flore uréolytique, généralement très rapide : en effet, les bactéries productrices d'uréase sont présentes lors du recyclage de l'urée sanguine par la salive et à travers la paroi du rumen. La période d'adaptation semble surtout nécessaire à la flore utilisatrice d'ammoniaque, en particulier lorsque l'introduction d'ANP s'accompagne d'un changement de substrat glucidique. La différence de rapidité d'adaptation entre les deux flores impliquées favorise donc l'accumulation de l'ammoniaque, notamment lors d'ingestion aiguë d'ANP.

Figure 24 : Séquences impliquées dans l'hydrolyse de l'urée et dans son incorporation par les bactéries ruminales [153]



La concentration en ammoniac dans le sang de la veine porte est directement proportionnelle à la concentration en ammoniac non dissociée dans le rumen [144]. Pour une valeur du pH de 6,3, 1% de l'ammoniac est sous forme non ionisée (NH₃), à pH 7,3 1 % et à pH 8,3 10 % [10]. L'absorption n'est donc vraiment significative qu'à partir de pH 6,5-7. Elle se réalise par un processus passif. Un élément régulateur de l'absorption est donc le pH ruminal. Cet effet de régulation du pH est mis à profit en thérapeutique où l'on administre de l'acide acétique (pK_a 4,8) pour freiner la résorption de l'ammoniac.

2.2 Etape hépatique

L'ammoniac sanguin subit une détoxification hépatique dont l'efficacité est étroitement dépendante du flux ammoniacal dans la veine porte. Roque [144] rapporte que, d'après Orzechowski *et al.*, le foie des ovins est capable de détoxifier 1,45 µmol/min/g foie, tandis que d'après et Symonds *et al.*, celui des bovins peut détoxifier 1,7 à 2,6 µmol/min/g foie. Toujours selon Roque, en prenant comme base une concentration en ammoniac ruminal de 60 mmol/l, une quantité absorbée constante par minute de 2,5 % (pour un pH de 7,41), un contenu ruminal de 2,5 l et un poids de foie de 750 g pour des moutons de 30 kg (utilisés par Orzechowski *et al.*), le flux d'ammoniac arrivant au foie est environ 3,5 fois supérieur à ses capacités de détoxification.

Il est possible de déduire du calcul précédent que, lors d'intoxication suraiguë accidentelle, la détoxification hépatique est négligeable devant l'afflux ammoniacal provenant de la veine porte.

Les mécanismes de détoxification reposent sur la synthèse de l'urée et de la glutamine. Un excès d'ammoniac se traduit donc dans un premier temps par une augmentation de la synthèse d'urée et de glutamine avec hyperurémie et hyperglutaminémie périphériques. Ces deux composés azotés sont ensuite éliminés par voie rénale. Puis, le débordement de la fonction de détoxification hépatique conduit à une hyperammoniémie périphérique, responsable des signes cliniques.

3. Physiopathologie

Le tableau clinique lors d'alcalose ruminale est principalement marqué par des symptômes nerveux, ainsi que dans une mesure moindre par des troubles digestifs et des troubles métaboliques. Le tableau 14 présente les répercussions cliniques de l'infusion veineuse d'ammoniac chez 15 bœufs.

3.1 Symptômes nerveux

Les symptômes nerveux apparaissent pour une concentration ammoniacale de 0,5 à 0,6 mmol/l. De plus, la différence des concentrations ammoniacales entre les carotides et les jugulaires indique une captation de l'ammoniac par l'encéphale [47].

Les signes nerveux sont majoritairement une hypersensibilité aux sons, des tremblements musculaires, des convulsions, un nystagmus, une mydriase et des vocalisations [92]. La réalité des lésions nerveuses est néanmoins mal documentée. Une dégénérescence neuronale, ainsi qu'une spongiose du neuropile sont rapportées [80]. D'autre part, lors d'hyperammoniémie consécutive à

Tableau 14 : Signes cliniques observés chez 15 boeufs après injection de chlorure d'ammonium jusqu'à l'apparition de convulsions (d'après [92])

Signes cliniques	Nombre	%
Généraux		
Agitation	15	100
Raidissement des antérieurs	15	100
Chute / Décubitus sternal et latéral	15	100
Systémiques		
Dépression	15	100
Tachycardie	6	40
Arythmie	4	26,7
Dyspnée	8	53,3
Œdème pulmonaire	8	53,3
Hyperémie conjonctivale	7	47,7
Déshydratation	4	26,7
Anurie	4	26,7
Augmentation de la diurèse	4	26,7
Nerveux		
Hypersensibilité aux sons	15	100
Tremblements musculaires	15	100
Nystagmus	15	100
Mydriase	10	66,7
Vocalisation	5	33,3
Convulsion	15	100
Digestifs		
Excès de salivation	10	66,7
Atonie ruminale	15	100
Météorisation gazeuse	5	33,3
Bouses molles	10	66,7
Diarrhée	1	6,7
Grincement des dents	4	26,7

l'atteinte hépatique par des alcaloïdes pyrrolizidiniques, on observe une polymicrocavitation de la substance blanche, qui pourrait correspondre à un œdème des gaines de myéline [83].

D'autres mécanismes, impliquant une inhibition du cycle de Krebs par l'ammoniaque, à l'origine de lésions dégénératives, ou impliquant un dysfonctionnement de la transmission synaptique, sont proposés [144].

3.2 Symptômes digestifs

Lors d'alcalose ruminale, une hypomotilité ruminale (qui s'accompagne parfois d'une légère météorisation gazeuse) est observée. Celle-ci résulte d'une action de l'ammoniaque ruminal sur des chémorécepteurs du rumen, à l'origine d'une inhibition du centre moteur bulbaire. L'élévation du pH ruminal par d'autres causes que l'ammoniaque est sans effet, de même que les injections périphériques de sels d'ammonium [28].

3.3 Troubles métaboliques

L'hyperammoniémie est à l'origine de troubles métaboliques chez l'animal, qu'il s'agisse d'une hyperammoniémie avec ou sans conséquences cliniques.

La synthèse de l'urée entre en compétition avec la néoglucogenèse au niveau de trois métabolites : l'aspartate, l' α -cétoglutarate et le glutamate. L'augmentation de l'uréogénèse s'accompagne d'une diminution de la néoglucogenèse, et donc de la production de glucose [59]. Pourtant une hyperglycémie est constamment observée, et serait probablement due à une diminution de l'utilisation périphérique du glucose, par les tissus insulino-sensibles [59].

Conséquence de ces modifications hormonales et du métabolisme du glucose, les acides gras non estérifiés plasmatiques s'accroissent avec parfois une augmentation de la cétogénèse hépatique. Enfin, l'inhibition de la phosphorylation oxydative provoque une production accrue de L lactate tissulaire, avec hyperlactacidémie sanguine [59], [63].

Les conséquences pathologiques de ces troubles biochimiques chez la vache laitière en post-partum sont donc une augmentation des cétozes, une augmentation des troubles de la fécondité, ainsi qu'une chute des productions.

Si les troubles biochimiques persistent, des troubles de l'équilibre acido-basique peuvent apparaître.

A la phase de début de l'hyperammoniémie correspond une alcalose métabolique transitoire, probablement en raison du caractère basique de l'ammoniaque. Puis s'installe assez rapidement une acidose métabolique due à une hyperlactatémie, liée au manque de glucose disponible pour la cellule, aux convulsions musculaire, et à l'augmentation de la production de lactate par l'inhibition de la phosphorylation oxydative.

C- Météorisation spumeuse

Le terme de météorisation caractérise un dysfonctionnement ruminal, consécutif à la rétention des gaz de fermentation dans le rumen. Si ces gaz s'accumulent librement pour former une poche nettement séparée des ingesta en zone supérieure du rumen, on qualifie la météorisation de gazeuse. Dans le cas des météorisations dites spumeuses, les bulles de gaz produites se retrouvent piégées

dans une mousse stable mélangée au contenu ruminal. Cette mousse est à l'origine d'une inhibition de l'ouverture du cardia, et empêche donc toute éructation. La production de gaz est normale dans le rumen, comme produits terminaux des fermentations microbiennes, à raison de 0,2 (chez des animaux à jeûns) à 2 L par minute [36]

En raison des facteurs étiologiques différents incriminés dans l'apparition de mousses stables dans le rumen, on peut distinguer deux types de météorisations spumeuses : la météorisation spumeuse liée à l'ingestion de légumineuses au pâturage (« legume bloat » ou « pasture bloat ») et la météorisation spumeuse rencontrée dans les élevages intensifs, et consécutive à l'apport de céréales dans l'alimentation (« feed-lot bloat » ou « grain bloat »). Dans les deux cas, la ration météorisante est pauvre en cellulose (d'où une diminution du temps de rumination) et elle est rapidement ingérée (herbe jeune, farine de céréales) [23]. Il s'ensuit que la sécrétion salivaire sera insuffisante pendant le repas et nulle entre les périodes de mastication. Cette faible sécrétion salivaire ne permet pas de lutter contre une baisse de pH dans le rumen et favorise la viscosité du contenu ruminal.

De nombreux facteurs étiologiques sont mis en cause dans l'apparition des météorisations spumeuses au pâturage ou en élevage intensif. Les facteurs déterminants, liés à l'alimentation (légumineuses, farines de céréales), ou correspondant à l'animal lui-même (sécrétions salivaires, microflore ruminale), et les facteurs prédisposant (changement brusque de régime alimentaire, conditions climatiques, hérédité) interfèrent entre eux, pour assurer la formation et la stabilité des mousses dans le rumen.

1. Etiologie

Les gaz issus des fermentations ruminales sont produits en quantité variable, dépendant de l'intensité de l'activité microbienne. Normalement, ces gaz, sous forme de bulles traversent les digesta, éclatent en surface et grossissent la poche gazeuse dorsale. Parfois se forme une petite quantité de mousse, de faible persistance. En revanche lors de météorisation, la mousse est toujours plus abondante, et surtout plus stable. Les bulles de gaz de 0,1 à 1 mm de diamètre sont alors séparées par des lamelles de liquide alimentaire. La formation et la stabilité de la mousse sont liées à une augmentation de la viscosité et/ou de la tension superficielle, dont l'origine est complexe, et fait intervenir un certain nombre de facteurs, différents selon qu'il s'agisse d'une météorisation due aux légumineuses ou liée à la consommation de céréales.

1.1 Etiologie de la météorisation spumeuse due aux céréales

Contrairement à la météorisation spumeuse au pâturage, la composition chimique de l'aliment (ration contenant plus de 50 % de concentrés) ne joue pas un rôle essentiel dans l'apparition de mousses stables lors de météorisations dans les élevages intensifs, seule la nature physique semblant influencer. Les agents produisant la mousse semblent plutôt être d'origine microbienne. La population bactérienne ruminale joue donc deux rôles dans le développement de la météorisation spumeuse des élevages intensifs : un rôle non spécifique de production de gaz, et un rôle spécifique, participant à la stabilisation de la mousse. La figure 25 présente l'étiopathogénie de la météorisation spumeuse en élevage intensif.

1.1.1 Rôle de la flore ruminale

Une production excessive de mucopolysaccharides bactériennes et la libération de macromolécules durant la lyse cellulaire contribuent à la formation d'une mousse stable et à une

augmentation de la viscosité du contenu ruminal [36]. La capacité de production de ce film bactérien varie au sein des bactéries ruminales : chez certaines espèces, ce film est même observé en culture. La surproduction de ce film bactérien est à l'origine d'une adhésion cellule à cellule des bactéries ruminales, et la formation d'une gangue alimentaire, glucidique enveloppant les bactéries (figure 26) [34]. La granulométrie joue un rôle important : lorsque les particules alimentaires présentent un diamètre de 715 μm , on n'observe pas de perturbations ; alors que des particules dont le diamètre est de 300 μm permettent d'observer la formation d'une gangue alimentaire [23]

La production des mucopolysaccharides par *S. bovis* semble intimement liée à la quantité d'énergie disponible : les viscosités des milieux de culture les plus importantes sont observées lorsque l'énergie est abondante [35].

Certains auteurs ont observé une augmentation de la population ruminale de *S. bovis* chez des animaux météorisant [116], [12], mais la prédominance de cette bactérie au sein de l'écosystème ruminal n'est pas un pré requis au développement de la météorisation [36]. Bien que la météorisation soit souvent associée à l'acidose, il est également possible de la voir se développer lorsque le pH ruminal se trouve au dessus de 6,0.

D'autre part, plusieurs bactéries mucinolytiques (*S. bovis*, *Selenomonas ruminantium*, *B. fibrisolvens*, *M. elsdenii*) sont isolées lors de météorisation due aux céréales [11], mais aussi lors de météorisation spumeuse au pâturage [39]. Par destruction d'une substance anti-moussante salivaire, la mucine, elles contribueraient à la stabilisation des mousses.

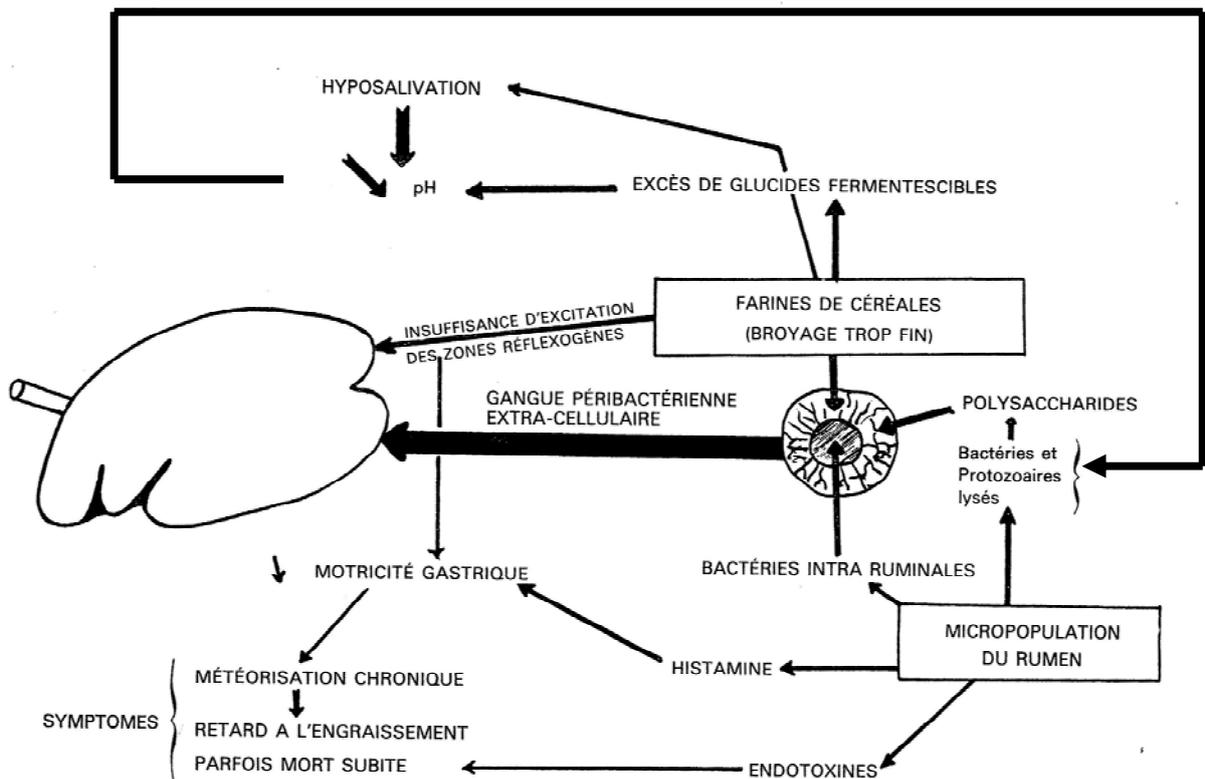
Les recherches sur la météorisation dans les élevages intensifs ont révélées une certaine diversité dans le nombre et les espèces bactériennes associées avec cette pathologie [26], [151], principalement les espèces bactériennes amylolytiques. Un certain nombre de ces espèces stockent intracellulairement les glucides lorsque des rations riches en énergie sont consommées. La libération de telles molécules lors de la lyse bactérienne contribue à augmenter la viscosité du jus ruminal, en plus du film extracellulaire. Le contenu mousseux du contenu ruminal rend l'isolement des bactéries ruminales particulièrement difficile chez les animaux météorisant [26]. L'utilisation de la biologie moléculaire permettrait de déterminer la population bactérienne associée avec la météorisation spumeuse due aux céréales

Les populations de protozoaires ruminiaux chez des animaux atteints ou non de météorisations spumeuses dues aux céréales diffèrent faiblement [36], et l'implication des protozoaires dans le développement de la pathologie demeure peu claire. De part leur capacité à phagocyter les bactéries ruminales et les granules d'amidon, ils pourraient réduire la production du film bactérien, et retarder la production d'acide.

1.1.2 Rôle de la physiologie de l'animal

La variabilité d'un animal à l'autre joue également un rôle dans le développement de la météorisation. Des différences anatomiques du rumen, les capacités d'éructation, la production salivaire, le niveau de sécrétion d'épinéphrine et l'appétit peuvent influencer le développement de la météorisation [36].

Figure 25 : Etio-pathogénie de la météorisation spumeuse en élevage intensif [23]



1.2 Etiologie de la météorisation aiguë au pâturage

1.2.1 Influence des facteurs végétaux

La météorisation liée à l'ingestion de légumineuses est proportionnellement le type de météorisation spumeuse la plus souvent observée (au Canada, 84 % des cas surviennent lors de consommation de légumineuses vertes, 5 % avec du foin de légumineuse, et 11 % avec d'autres aliments [84]). Le risque de météorisation spumeuse dépend surtout de la nature des fourrages consommés, de leur stade végétatif et plus accessoirement des variations climatiques. Ainsi, le risque de météorisation est maximal pour certaines légumineuses : il s'agit de la luzerne, du trèfle blanc et du trèfle violet. De plus, le risque est également accru lors de consommation de légumineuses à un stade végétatif précoce, avant floraison, et lors de croissance rapide [144].

Les végétaux consommés sont un facteur essentiel de production des mousses dans la météorisation associée aux légumineuses. Ils apportent des substances chimiques à l'origine des spumosités et ils conditionnent la digestion microbienne.

Une dispersion stable de fines particules pourrait être primitivement responsables d'une augmentation de la viscosité ruminale, en prévenant le drainage du liquide entre les bulles. La nature de ces particules serait très diverses. Selon certains auteurs, les protéines solubles végétales sont considérées comme les substances primordiales, nécessaires à la stabilisation des mousses [48], du fait de leurs propriétés tensioactives démontrées *in vitro*. D'autre part, certains facteurs comme les saponines ou l'ensemble pectines – enzymes pectinolytiques pourraient favoriser cette stabilité [23], par opposition aux tanins qui précipitent ces protéines.

D'autre part, ces particules pourraient également être des fragments de chloroplastes. Ainsi, Roque [144] rappelle que Majak *et al.* ont montré que leur concentration, déterminée indirectement par le dosage de la chlorophylle, sont significativement plus élevées avant le repas et deux heures après, lors de météorisation spumeuse.

Dans la météorisation spumeuse liée à la consommation de légumineuses, la rupture des cellules végétales est un pré requis pour l'accès microbien aux nutriments rapidement fermentescibles, et également pour la libération des agents moussants [62].

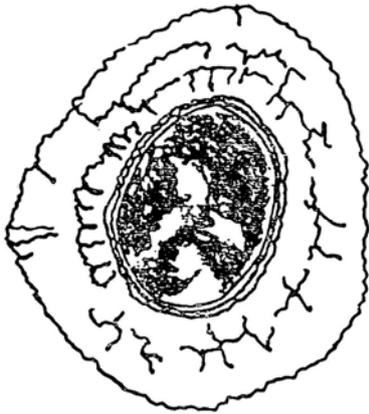
1.2.2 Influence des facteurs microbiens

Les microorganismes ruminiaux présentent une activité non spécifique, de production de gaz et de libération de substances moussantes d'origine végétale.

Fay *et al.* [62] ont étudié la digestion bactérienne des légumineuses étudiée *in sacco* sur des bovins à rumen fistulisé : celle-ci est plus rapide pour les espèces météorisantes (luzerne, trèfle) que pour les espèces habituellement non météorisantes (sainfoin). Les bactéries colonisent plus rapidement l'épiderme des feuilles de luzerne que de sainfoin. La dégradation également plus rapide des couches profondes du mésophylle serait facilitée par la moindre épaisseur des parois cellulaires des espèces météorisantes [144]. Cette digestion rapide favorise la libération des substances moussantes.

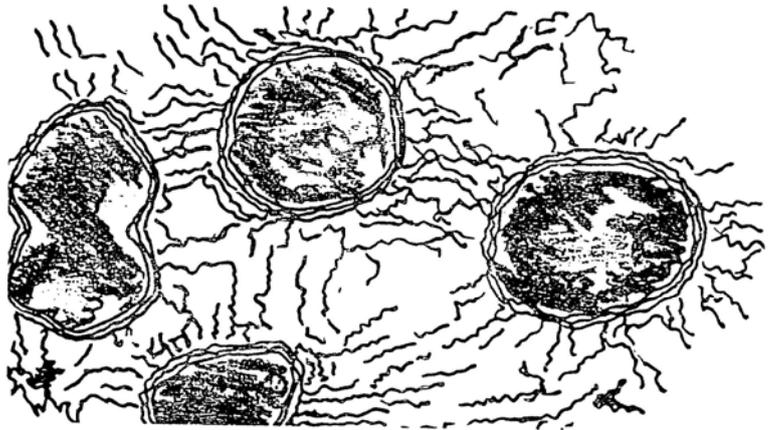
Figure 26 : Interactions entre les bactéries du rumen et la ration alimentaire chez les bovins
[23]

Gangue pér bacté rienne
(éléments fibreux à dispositions
concentriques et radiales)



1. Foin

Extension des gangues fibreuses pér bacté riennes et
augmentation du nombre de bacté ries présentant cette
morphologie



2. Farine de céréales

D'autre part, comme dans le cas de météorisation spumeuse dans les élevages industriels, des bactéries mucinolytiques sont isolées lors de météorisation spumeuse liée à la consommation de légumineuses [39], et contribueraient à la stabilisation des mousses par la destruction de la mucine, substance anti-moussante salivaire.

2. Physiopathologie

Les conséquences observées suite à la formation de la mousse sont identiques, quelles que soient le mécanisme étiologique impliqué. Lorsque la mousse atteint un certain volume, celle-ci inhibe l'éructation. La persistance de l'activité fermentaire, donc de la production de gaz et/ou de mousse conduit à une augmentation de la pression intraruminale, avec des conséquences néfastes, ventilatoires et hémodynamiques.

2.1 Inhibition de l'éructation et augmentation de la pression intraruminale

Les mousses formées envahissent progressivement le rumen, et provoquent une obstruction du cardia, empêchant l'ouverture du sphincter oesophagien inférieur lorsqu'elle est présente en zone cardiaque. Elle inhibe alors l'un des temps essentiels de l'éructation. Les contractions ruminales, secondaires chez les bovins, secondaires et primaires chez les ovins, destinées à évacuer les gaz, sont inefficaces.

Dans un premier temps, le réflexe éructatif est stimulé par l'augmentation de pression provoquée par l'accumulation des gaz de fermentation. Les cycles secondaires augmentent en force et en fréquence et persistent assez longtemps. Les cycles primaires, stimulés dans un premier temps, disparaissent rapidement, suite à l'excitation des tensio-récepteurs épithéliaux inhibiteurs [101].

Dans le cas de la météorisation spumeuse en élevage intensif, l'aliment responsable (céréales trop finement broyées) entraîne une hyposalivation, et une insuffisance d'excitation des zones réflexogènes de la paroi du réticulo-rumen, d'où une hypomotricité des pré-estomacs. Par ailleurs, on note dans ce type de météorisation une plus forte concentration en histamine du contenu ruminal, l'excès d'histamine diminuant la motricité ruminale, et inhibant l'éructation [23].

De grandes variations inter-individuelles de tolérance à l'augmentation de la pression intraruminale est observée [144]. Dans les cas les plus sévères, la pression est considérable et peut atteindre 60 à 70 mm de mercure. Le contenu ruminal fuse littéralement lors de la mise en place d'un trocart, ou lors de ruminotomie. La distension du rumen est responsable de la distension abdominale, d'abord à gauche, puis bilatérale.

2.2 Ventilation pulmonaire et hématoxémie

La distension ruminale repousse le foie et le diaphragme crânialement. Il s'ensuit une augmentation de la pression pleurale, une diminution de la compliance pulmonaire, et du volume minute. Une inefficacité mécanique du diaphragme accompagne ces modifications pulmonaires, et retentit sur la fonction respiratoire. L'hématoxémie est fortement perturbée pour une pression ruminale de 40 mm de mercure [144], et on observe le développement d'une acidose respiratoire. D'autre part, la résorption de CO₂ ruminal pourrait également contribuer à l'hypercapnie. Tous ces phénomènes sont à l'origine d'un syndrome asphyxique expliquant la polypnée initiale (jusqu'à 60 battements par minute [23]), puis l'orthopnée et les lésions hémorragiques et de cyanose.

2.3 Perturbations cardio-vasculaires

L'augmentation de la pression intra abdominale (consécutif à l'augmentation du volume ruminal) provoque la compression des gros troncs veineux (veine cave caudale) et artériel (aorte). Il s'ensuit une diminution du retour veineux et une augmentation de la pression artérielle. Pour des pressions ruminales modérées (40 mm de mercure), on observe une diminution du volume d'éjection systolique probablement liée à l'insuffisance de retour veineux [144].

Les perturbations cardio-vasculaires se traduisent du vivant de l'animal par une tachycardie (100 à 140 battements par minute). De plus, la pression ruminale provoque une répartition différente de la masse sanguine corporelle, base du diagnostic nécropsique. Les viscères et les nœuds lymphatiques abdominaux et pelviens sont exsangues alors que les zones crânielles, les poumons et les nœuds lymphatiques crâniels sont congestionnés.

IV- Indigestion simple

L'indigestion simple est une pathologie commune dans les troupeaux laitiers et chez les bovins à l'engrais en stabulation. Cliniquement, cette pathologie se caractérise par une baisse de l'appétit, et par une distension ruminale associée à une hypomotricité voire à une atonie digestive. Une constipation est fréquemment présente pendant la phase initiale de la maladie, mais est fréquemment remplacée par un état diarrhéique lors de la phase de guérison. L'évolution est régulièrement et souvent spontanément favorable en quelques jours, et son importance, tant sur le plan économique et sur le plan médical, est faible.

Les circonstances d'apparition sont assez variées, avec toujours une anomalie dans les apports alimentaires. L'origine primaire des troubles est sans conteste une inadaptation des capacités fermentaires au substrat, à l'origine d'une diminution de la digestion microbienne. Les données physiopathologiques sont peu nombreuses dans la littérature, et les expérimentations quasi absentes.

1. Etiologie

Certains aliments, les modalités de la distribution et l'ingestion conditionnent pour une large part les anomalies fermentaires observés lors d'indigestion simple.

Ainsi, les aliments faiblement digestibles, riches en glucides pariétaux et en lignines, ainsi que ceux pauvres en azote fermentescible comme la paille ou les foin tardifs récoltés dans de mauvaises conditions sont fréquemment incriminés. Des substances totalement indigestibles (terre, ...) peuvent également être consommés lors de pica. Enfin, la littérature met souvent en cause des aliments altérés par le gel, les moisissures, ou encore la putréfaction. D'autre part, la diminution des apports d'eau, en particulier en saison sèche et avec un apport de fourrages secs, conduit souvent à une indigestion simple.

Dans certains cas, les anti-infectieux administrés *per os* peuvent, au début de leur utilisation, inhiber suffisamment l'activité fermentaire pour déclencher cette pathologie.

Enfin, les variations de consommation alimentaire, ainsi que de composition de la ration, sont des facteurs favorisant le déclenchement d'indigestion simple. Le transport, la compétition entre animaux d'un même lot sont souvent associés à une diminution des aliments ingérés. A la suite d'un jeûne forcé, il est possible d'observer chez certains bovins une surconsommation alimentaire. Dans le rumen arrive une telle quantité de substrat qu'elle dépasse les capacités fermentaires de la flore bactérienne alors présente.

2. Modifications du contenu ruminal

Lors d'indigestion simple, le contenu ruminal évolue dans le sens d'une diminution de l'activité fermentaire. Dans certains cas, la digestion microbienne peut aboutir à une putréfaction du contenu.

2.1 Diminution de l'activité fermentaire

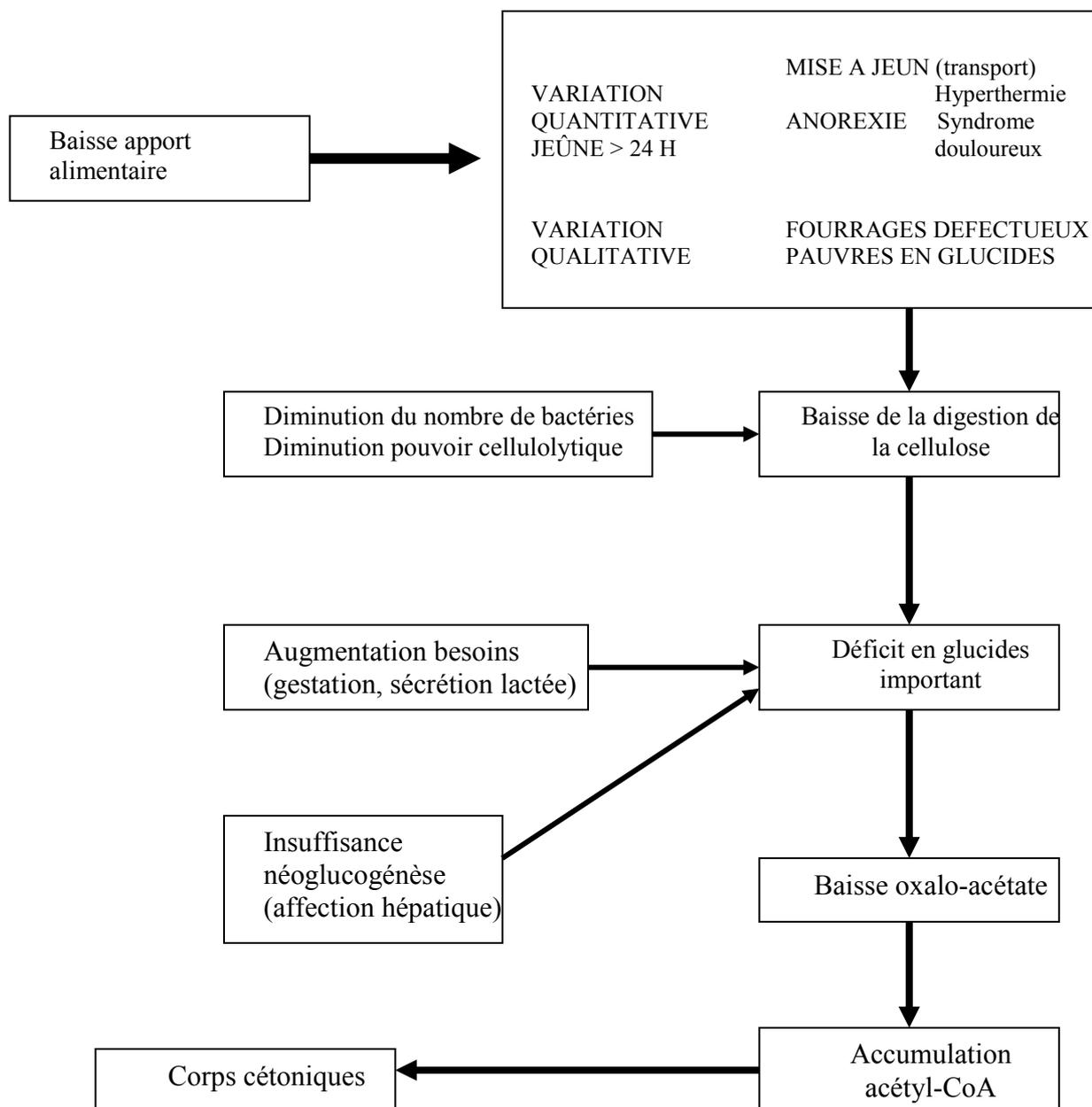
La dégradation incomplète et/ou ralentie du substrat alimentaire provoque une altération des paramètres fonctionnels du contenu ruminal. Ces modifications constituent un important critère diagnostique, mais leurs mécanismes précis sont inconnus. A l'examen direct, le jus de rumen est plus aqueux et plus foncé, et présente une odeur de « renfermé ». L'activité microbienne est diminuée comme le prouvent les tests indirects de réduction du bleu de méthylène (durée augmentée), de fermentation du glucose (diminution), de sédimentation (accrue), flottation (diminuée). L'examen de la population ruminale révèle une diminution du nombre total de bactéries (avec prédominance des bactéries gram négatives), ainsi que des protozoaires dont la mobilité décroît [144]. Le pH est plus souvent neutre à légèrement alcalin, compris entre 6,8 et 7,5. En effet, l'acidité titrable car la flore inactive produit peu d'acides gras volatils, alors que la sécrétion salivaire se maintient, et contribue donc à augmenter le pH. Une évolution comparable de la micropopulation ruminale, ainsi que des concentrations en AGV et du pH est observée lors de jeûne de longue durée.

Les liens pathogéniques précis entre les causes alimentaires et les modifications fermentaires sont hypothétiques dans la plupart des cas. Certains groupes bactériens ont des profils fermentaires beaucoup plus étroites que d'autres (cf. partie 1). Une modification du régime alimentaire peut alors entraîner la disparition de toute une niche écologique. Le temps que les bactéries adaptées au nouveau substrat se multiplient à un niveau suffisant, on observe une baisse de digestion des aliments.

Les bactéries amylolytiques sont par rapport aux cellulolytiques moins adaptables aux changements de substrats, d'un point de vue qualitatif et quantitatifs. De plus, les pH faibles (<6) favorisent le développement des bactéries amylolytiques, au détriment des cellulolytiques et des méthanogènes : ces valeurs de pH limitent donc la diversité de la population microbienne. D'autre part, certains nutriments peuvent faire défauts à la population bactérienne et ralentir ses capacités d'adaptation ainsi que son activité [52]. Ainsi, la fourniture d'un minimum d'azote fermentescible est nécessaire à une bonne activité cellulolytique ; une concentration d'azote ammoniacal de 2,3 mg/L semble nécessaire pour optimiser les fermentations ruminales [85]. De même, la fourniture par l'alimentation de minéraux, phosphore, magnésium, calcium, sélénium, et d'oligo-éléments est indispensable à la nutrition bactérienne : on conçoit alors que les fourrages de mauvaise qualité ne favorisent pas une digestion microbienne optimale.

Des substances inhibitrices contenues dans l'aliment ou administrées à titre thérapeutique ou prophylactique sont susceptibles de déprimer la population bactérienne dans son ensemble ou simplement certains groupes. Des substances d'origine végétale (alcaloïdes, oxalates, phénols) ont des effets néfastes, démontrés in vitro souvent, sur la croissance et l'activité bactérienne. De la même façon, les antibiotiques peuvent, comme vu précédemment, avoir une action négative sur les fermentations ruminales. Une action inhibitrice des mycotoxines a été observée sur la digestion des fibres et la production des acides gras volatils [48], mais cet effet n'a pas été démontré de façon constante.

Figure 27 : Etio-pathogénie des cétozes secondaires [23]



Tous ses facteurs inhibiteurs ou carenciels, insuffisants à eux seuls, pourraient, conjugués, entraîner des perturbations qui se répercutent sur le plan clinique. Pour un même régime alimentaire, les variations interindividuelles de la flore ruminale sont marquées tant sur le plan qualitatif que quantitatif (variation de 3 à 5 fois du nombre de bactéries et de protozoaires).

2.2 Putréfaction du contenu ruminal

Il arrive parfois que, suite à la diminution de l'activité fermentaire, lui succède une putréfaction du contenu ruminal. Le jus de rumen présente alors une couleur verte foncée, avec une odeur putride, ammoniacale. L'activité bactérienne est alors très réduite, le pH est toujours alcalin (compris entre 7,5 et 8,5). Les fermentations sont de type putréfactif, avec un développement de germes habituellement mineurs dans le rumen : *E. coli* et *Proteus* spp. Leur développement est favorisé par la disparition des facteurs inhibiteurs de leur multiplication, à savoir les fortes concentrations en acides gras volatils et un pH inférieur à 6 [162]. D'autre part, un effet d'inoculation du rumen par des aliments déjà putréfiés ou contaminés par une forte charge microbienne est rapporté [144]. L'activité protéolytique de ces bactéries conduirait à l'accumulation d'amines (histamine, tyramine, putrescine) dont le rôle est souvent évoqué en physiopathologie.

3. Physiopathologie

Les conséquences des modifications de l'activité fermentaire restent souvent subcliniques. Les symptômes sont discrets, et leur intensité croît toujours avec la durée d'évolution. Les troubles, primitivement fermentaires, retentissent sur la motricité digestive avec des conséquences sur le transit, l'ingestion, voire sur l'état général.

Les causes de la diminution des contractions ruminales sont difficiles à expliciter. L'origine de l'atonie ruminale observée lors d'indigestion simple pourrait reposer sur des mécanismes liés au pH du contenu ruminal, comme lors d'acidose ou d'alcalose ruminale [140]. Néanmoins, d'autres mécanismes sont proposés pour expliquer ce phénomène. Ainsi, Roque [144] rapporte que l'atonie ruminale observée pourrait être la conséquence d'une insuffisance d'afférences centrales excitatrices par défaut de stimulation des tensio-récepteurs pariétaux, consécutifs à la vacuité du rumen. Une autre hypothèse fait intervenir les produits de dégradation des protéines ruminales lors du processus de putréfaction, et notamment l'histamine [140]. L'histamine est connue pour être capable d'engendrer une atonie ruminale par injection intraveineuse, atonie réversible après administration d'antihistaminiques. Néanmoins, la production et l'absorption de l'histamine en quantité suffisante ne sont cependant pas prouvées.

L'hypomotricité ruminale peut s'étendre à l'ensemble du tube digestif et expliquer, au moins en partie, la fréquente constipation observée. En phase de guérison, 24 à 48 heures plus tard, l'animal présente néanmoins fréquemment une diarrhée, particulièrement nauséabonde, liée à la multiplication colibacillaires et à l'arrivée dans l'intestin du contenu ruminal putréfié.

L'anorexie observée peut être une conséquence de l'atonie ruminale [140], ainsi qu'à une moindre palatabilité des aliments, en particulier lorsqu'ils sont altérés. La diminution de la prise alimentaire contribue en retour à diminuer la motricité ruminale. Lors d'évolution assez longue, l'iléus fonctionnel détermine l'apparition d'une discrète alcalose métabolique hypochlorémique, par séquestration des sécrétions abomasales. Enfin, une chute de la production laitière est observée, probablement en raison d'une chute de la production d'acides gras volatils par une flore bactérienne dont l'activité fermentaire décroît.

V- Cétoses secondaires

Les variations de la quantité d'aliment ingéré par le ruminant sont, comme nous l'avons vu précédemment, un facteur de variation de la microflore ruminale. La mise à jeun est suivie d'une réduction du nombre et de l'activité des micro-organismes ruminiaux ; et suite au repas, on observe un accroissement du nombre de bactéries : tous les changements quantitatifs de la ration sont donc une cause de perturbation pour la flore ruminale.

Ainsi, tout phénomène s'accompagnant d'une anorexie (transport, stress, mais aussi affection présentant une évolution pyrétique ou des phénomènes de douleur) serait à l'origine d'une diminution de la digestion microbienne, probablement en relation avec une réduction de la croissance bactérienne [52] : par conséquent, les produits normaux de cette digestion microbienne se font plus rares, et il apparaît une cétose secondaire. La figure 27 présente l'étiopathogénie des cétoses secondaires.

Suite à la chute de l'apport alimentaire, la diminution de l'activité microbienne s'accompagne d'une diminution de la digestion de la cellulose [23], à l'origine d'un déficit en glucides disponibles : ce déficit est à l'origine d'une diminution de la concentration en oxalo-acétate, elle-même s'accompagnant d'une accumulation en acétyl-co-A, et par le fait à l'accumulation de corps cétoniques.

Par ailleurs, il a été décrit des situations aboutissant à des effets analogues, mais pour des raisons différentes. Il ne s'agit pas de troubles dus à un abaissement initial de la prise alimentaire, mais à un défaut quantitatif lié à l'ingestion de fourrages de mauvaise qualité, dans lesquels certains constituants peuvent être en quantité nettement déficiente. C'est le cas, en particulier, des fourrages pauvres en glucides solubles (foins fanés trop tard), ou pauvres en vitamines B ou en certains minéraux (cuivre, cobalt, phosphore). La flore ruminale manque alors de substrats pour assurer sa multiplication et la flore cellulolytique se trouverait alors insuffisante [23].

II- Anomalies de la digestion microbienne. Conséquences physiopathologiques

A- Perturbation des fonctions de détoxification : exemple de l'intoxication par les nitrates-nitrites

Les ruminants sont plus résistants aux effets d'un certain nombre de toxines que les monogastriques. Cette résistance peut souvent être reliée au métabolisme de ces composés toxiques par les bactéries ruminales. Le tableau 15 liste un certain nombre de ces composés et les mécanismes biochimiques associés avec leur détoxification dans le rumen.

Néanmoins, ces fonctions de détoxification peuvent être perturbées. Les troubles résultent alors de l'accumulation d'un intermédiaire toxique au cours d'une série de transformations. L'intoxication par les nitrates, la mimosine et la misero-toxine sont les exemples les plus décrits.

L'intoxication par les nitrates est distincte de l'intoxication ammoniacale. Physiologiquement, le nitrate subit deux réductions successives au sein du rumen. La première conduit à la production de nitrites, la seconde à la production d'ammoniac à partir du nitrite. L'intoxication s'installe lorsqu'un déséquilibre apparaît entre la production et l'utilisation des nitrites, à l'origine d'une

accumulation de ce dernier composé, produit toxique. Dans l'étiologie, les quantités de nitrates et /ou de nitrites ingérées sont déterminantes. Schématiquement, le rôle de la flore ruminale est bien davantage lié à son existence même, qu'aux modulations de son activité.

1. Etiologie

La principale origine des intoxications aux nitrates-nitrites est l'ingestion de plantes ayant accumulé des nitrates. Le risque d'accumulation des nitrates dépend des espèces végétales : il s'agit principalement de plantes fourragères (colza, ray grass, blé, orge, avoine). L'emploi d'engrais azotés constitue également un facteur de risque : en effet, ces engrais, sous l'influence des bactéries du sol, subissent une nitrification. Les quantités apportées, le fractionnement et les périodes influent sur la quantité de nitrates disponibles pour les plantes. L'addition des sources inorganiques et organiques d'azote (lisier) peut conduire à un excès en nitrates. Enfin, d'autres facteurs, comme des facteurs climatiques, des facteurs pédologiques, ou encore les eaux riches en nitrates, sont incriminés dans la littérature.

2. Pathogénie

L'intoxication résulte d'une vitesse de réduction des nitrates en nitrites excessive par rapport à la réduction des nitrites en ammoniac. La flore ruminale utilisatrice du nitrate et du nitrite est mal connue *in vivo* [180]. Certaines bactéries ruminales possèdent néanmoins une nitrate réductase : c'est le cas de *Selenomonas ruminantium*, *Veillonella parvula* et de *Wolinella succinogenes* [87]. Le nombre total de *S. ruminantium*, dans le rumen de chèvre était de 1,3 à 5,6 x 10⁷ cellules/ml, alors que ceux de *V. parvula* et *W. succinogenes* étaient bien inférieurs (respectivement 3,2 x 10³ et 1,6 x 10³ cellules/ml). Lorsque des chèvres sont nourries avec des régimes riches en nitrates, les populations de *V. parvula* et de *W. succinogenes* augmentent, alors que celles de *S. ruminantium* n'augmentent pas de manières significatives [7]. D'autres bactéries ruminales ont également été évoquées, comme *Megasphaera elsdenii*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Desulfovibrio desulfuricans* et *Prevotella ruminicola* [144]. D'autre part, des bactéries réduisant les nitrites ont été identifiés dans les genres *Megasphaera* [37]. De plus, *W. succinogenes* et *S. ruminantium* présentent une action de réduction des nitrites [87]

Les nitrites formés ont, dès la concentration de 4 mg/l, une action anti-bactérienne qui déprime les concentrations de bactéries totales, l'activité cellulolytique et xylanolytiques, mais pas sur les bactéries réduisant les nitrates [109], [87]. Le tableau 16 décrit l'effet des nitrites sur les bactéries ruminales. Cet effet sur la digestion microbienne permet d'expliquer en partie les diminutions d'appétit et de croissance observées dans certains cas, même si ces troubles sont controversés.

Les facteurs influençant les taux de réduction des nitrates et des nitrites incluent la disponibilité des substrats qui peuvent fournir les électrons pour les réactions de réduction, les conditions physiologiques de l'environnement ruminal, et les capacités enzymatiques de la population bactérienne à pouvoir réduire ces deux composés. Une augmentation progressive des apports alimentaires en nitrate s'accompagne d'une augmentation des taux de réduction du nitrate et des nitrites, et à une augmentation de la tolérance aux nitrates dans la ration [48].

Tableau 15 : Substances détoxifiées dans le rumen (d'après [48])

Substances	Origine	Mécanisme de détoxification	Bactéries impliquées
Alcaloïdes pyrrolizidine		Réduction en dérivés méthylènes	<i>Peptostreptococcus heliotrinreducans</i> , coques Gram – non identifié
Nitrite	Réduction des nitrates alimentaires	Réduction en ammoniac	<i>W. succinogenes</i> , <i>S. ruminantium</i> , <i>M. elsdenii</i> , ...
Acide ricinoléique	Tourteau de ricin	Réduction en acides gras	Inconnu
Ochratoxine A	Aliment contaminé par un champignon	Hydrolyse en phénylalanine et en ochratoxine α	Inconnu
Toxine botulique	Aliment contaminé par des clostridies	Protéolyse par les bactéries ruminales	Inconnu
Oxalate		Décarboxylation en formate	<i>Oxalobacter formigenes</i>
Phytoestrogènes	Trèfle souterrain et trèfle rouge	Dégradation en <i>p</i> -ethyl-phénol	Inconnu
3-Nitropropanol, acide 3 nitropropanoïque	Hydrolyse des miserotoxines	Dégradé en nitrite et réduit en ammoniac	<i>Coprococcus</i> sp., <i>M. elsdenii</i> , <i>S. ruminantium</i>
3-hydroxy-4(1H)-pyridone	Dégradation de la mimosine	Inconnu	Gram -, anaérobie strict (non identifié)

L'absorption des nitrites conduit à la production de méthémoglobine, par oxydation du fer de l'hème qui passe ainsi d'un stade ferreux à un stade ferrique. La méthémoglobine interfère avec la capacité de transport du dioxygène. Les symptômes apparaissent lorsque la méthémoglobine représente 20 à 30 % de l'hémoglobine totale, la mort survenant pour des valeurs de 60 à 80 %. La formation de méthémoglobine empêche une oxygénation correcte des tissus. Il en résulte dans un premier temps un accroissement compensateur de la fréquence et de l'amplitude respiratoire. Assez précocement, la couleur des muqueuses et du sang prennent une couleur « chocolat » caractéristique, due à la méthémoglobine. La moindre oxygénation tissulaire rend compte des signes musculo-nerveux de faiblesse, et en phase terminale, des convulsions et de l'ataxie. De plus, les avortements qui font suite aux intoxications par les nitrites sont également expliqués par l'anoxie placentaire. Enfin, les nitrites sont également responsables d'une vasodilatation. La chute de la pression artérielle est tout d'abord compensée par la tachycardie et l'augmentation du volume d'éjection systolique. Cette chute de tension participe en phase terminale à la mort des animaux.

B- Production de toxines dans le rumen

Un certain nombre de substances pénétrant dans le rumen peuvent être transformés en dérivés toxiques par les bactéries ruminales. Quelques un des composés toxiques connus pour être produits par les activités microbiennes du rumen sont présentés dans le tableau 17. Parfois, la production de molécules toxiques dans le rumen est contrebalancée par des voies de dégradation qui permettent la détoxification de ces substances. C'est le cas par exemple des nitrites, provenant de la dégradation des nitrates, et transformés en ammoniac par les bactéries ruminales. Néanmoins, les mécanismes ruminiaux de protection et de détoxification peuvent être inexistant : dans ces cas précis, des phénomènes d'intoxication apparaissent en réponse à la production de toxiques par les microorganismes ruminiaux. C'est le cas pour des pathologies comme l'emphysème des regains, ou encore l'anémie hémolytique due aux choux.

1. Emphysème des regains

La flore ruminale peut également dégrader des substances végétales en produits toxiques, sans qu'il y ait de mécanismes ruminiaux de protection et de détoxification. C'est le cas par exemple de l'emphysème des regains.

L'emphysème des regains se traduit par un syndrome de détresse respiratoire aiguë, d'évolution souvent mortelle, après un changement de pâture. La flore ruminale produit, à partir de L tryptophane, du 3-méthylindole (3MI), composé présentant une pneumotoxicité certaine.

Dans le rumen, le tryptophane est transformé en 3MI en deux étapes. Tout d'abord, le tryptophane subit une désamination, puis une décarboxylation en acide indolacétique. Cette étape est réalisée par de nombreuses bactéries ruminales. Puis, cet acide indolacétique subit une nouvelle décarboxylation, et donne du 3MI. Des germes gram-positifs non sporulés, immobiles, anaérobies stricts, du genre *Lactobacillus* produisent ainsi des quantités stœchiométriques de 3MI et d'HCOOH [48]. Le 3MI ne semble pas subir de fermentations ultérieures.

Dans les conditions naturelles, la concentration en 3MI augmente progressivement dans le liquide ruminal lors d'un changement de pâturage, puis décroît parallèlement à l'adaptation de la flore ruminale au nouveau substrat. La production de 3MI dépendrait donc davantage des conditions de fermentations ruminales que du tryptophane ingéré. De plus, le rendement de la fermentation du tryptophane est maximal pour des pH proches de 6.5 à 7. Ainsi, à pH 6,9, le rendement est de 78%

Tableau 16 : Effet des nitrites sur la croissance des bactéries ruminales en présence d'H₂ [87]

Bactéries	Croissance ¹ (en fonction des concentrations en nitrites en mM)			
	0	1	3	5
<i>S. ruminantium</i> subsp. <i>lactilytica</i>	1,24	1,26	1,29	1,19
<i>V. parvula</i>	1,22	1,18	1,14	1,12
<i>W. succinogenes</i>	0,51	0,53	0,56	0,62
<i>S. bovis</i>	1,54	1,51	1,53	1,25
<i>S. ruminantium</i> subsp. <i>ruminantium</i>	1,51	1,49	1,44	1,41
<i>A. lipolytica</i>	0,93	0,94	0,63	0,32
<i>B. fibrisolvens</i>	1,51	1,48	0,76	0,31
<i>E. cellulosolvens</i>	1,23	1,26	0,77	0,36
<i>F. succinogenes</i>	1,19	1,16	0,72	0,32
<i>M. elsdenii</i>	1,22	1,24	0,82	0,42
<i>P. ruminicola</i>	1,46	1,52	0,98	0,43
<i>R. albus</i>	1,19	1,11	0,73	0,35
<i>R. amylophilus</i>	1,05	1,06	0,65	0,31
<i>R. flavefaciens</i>	1,13	1,11	0,73	0,35
<i>S. dextrinosolvens</i>	0,96	1,04	0,69	0,34

¹ : Croissance exprimée comme une augmentation de l'OD₆₀₀

contre moins de 1 % à pH 5,6 [48]. Ceci suggère que la production de 3MI soit due à la fois à une augmentation de la disponibilité en tryptophane et à des changements dans la population bactérienne, liés à des modifications alimentaires, à l'origine d'une augmentation des taux de dégradation du tryptophane.

Le 3MI est très rapidement absorbé à partir du rumen, et est très rapidement éliminé sous forme d'une dizaine de métabolites. Il n'est pas en lui-même pneumotoxique. Son oxydation par les cytochromes P450 pulmonaires conduit à la formation d'intermédiaires réactifs liés par une liaison covalente aux microsomes. Les cellules cibles pulmonaires sont les pneumocytes de type I et les cellules de Clara. L'effet cytotoxique des intermédiaires réactifs du 3MI s'observe en microscopie électronique dès 30 minutes après injection. En quelques heures, les pneumocytes de type I et les cellules de Clara dégénèrent. L'atteinte des pneumocytes I et aussi des cellules endothéliales [18] explique l'apparition de l'oedème alvéolaire par disparition de la barrière alvéolocapillaire. S'installe alors une pneumonie interstitielle suraiguë, dont l'emphysème n'est qu'une conséquence. L'évolution dépend alors de l'intensité du phénomène initial. En cas d'atteinte massive, les symptômes respiratoires, alarmants (oedème pulmonaire) sont à l'origine de la mort de l'animal.

2. Anémie hémolytique due aux choux

La consommation de choux conduit après plusieurs semaines à une anémie hémolytiques avec hémoglobinurie et apparition de corps de Heinz-Ehrlich érythrocytaires.

Le chou vert et d'autres espèces de choux contiennent des taux substantiels de S methyl L cystéine sulfoxyde (SMCO), un acide aminé libre qui est dégradé dans le rumen en diméthylsulfite via un série de d'hydrolyses et de réductions. Ce métabolite est considéré comme la principale cause de l'anémie hémolytique observée chez des ruminants consommant des choux. Quatre organismes ruminants présentant une activité S-alkyl-cystéine sulfoxyde lyasique, pouvant cliver le SMCO, ont été identifiés : il s'agit de souches de *Lactobacillus*, *Veillonella alcalescens*, *Megasphaera elsdenii* et d'*Anaerovibrio lipolytica* [48].

Les facteurs influençant la dégradation du SMCO par la population bactérienne ruminale n'ont pas été étudié en détail, mais la dégradation du SMCO apparaît être plus rapide dans le rumen d'animaux recevant du chou frais, une faible quantité de cet acide aminé étant retrouvé dans le contenu ruminal. De plus, le taux de dégradation était supérieur chez les animaux recevant du chou que chez les animaux nourris avec de la luzerne [48]. Ceci suggère des modifications adaptatives de la population ruminale et la sélection de bactéries dégradant le SMCO.

L'action anémiant de diméthylsulfite est mal connue avec précision. Les capacités réductrices du globule rouge semble dépassées par les différentes agressions oxydatives. Il s'ensuit une peroxydation des lipides membranaires avec érythrolyse possible intravasculaire. La dénaturation de l'hémoglobine et son agrégation aux protéines membranaires explique la formation de corps de Heinz-Ehrlich ancrés à la paroi. Ces modifications pariétales conduisent à l'érythrophagocytose splénique. L'érythrolyse intra et extravasculaire serait responsable de l'anémie.

3. Phyto-oestrogènes

L'infertilité chez les ovins pâturant des trèfles souterrains a été associée avec certains isoflavones qui possède une activité oestrogénique. L'activité oestrogénique de l'un de ces phyto-oestrogènes, la formononétine, peut être potentialisée dans le rumen si elle est déméthylée en équol, molécule possédant une activité oestrogénique supérieure. La production d'équol est influencée par

Tableau 17 : Substances toxiques produites dans le rumen (d'après [48])

<i>Substance</i>	<i>Source</i>	<i>Bactéries impliquées</i>
3-methylindole	Tryptophane dans l'alimentation	<i>Lactobacillus</i> sp.
Nitrite	Réduction des nitrates alimentaires	<i>Selenomonas ruminantium</i> ; <i>Veillonella alcalescens</i>
Acide lactique	Dégradation rapide de glucides (régime riches en concentrés)	<i>Streptococcus</i> spp. ; <i>Lactobacillus</i> spp.
3-hydroxy-4(1H)-pyridone	Produit de dégradation de la mimosine	Non connue
Cyanide	Hydrolyse de glycosides cyanogénique	Bacilles Gram – et diplocoques Gram +
Dimethyl disulfide	Produit de dégradation de la S-méthylcystéine sulfoxyde	<i>Lactobacillus</i> spp. ; <i>Veillonella alcalescens</i> ; <i>Anaerovibrio lipolytica</i> , <i>Megasphaera elsdenii</i>
Equol	Déméthylation et réduction de la formononetine	Non connue
Thiaminase	Enzyme bactérienne	<i>Clostridium sporogenes</i> ; <i>Bacillus</i> spp. (autres anaérobies)
3-nitropropanoic acid et 3-nitropropanol	Hydrolyse de misérottoxines	Non connue

le régime alimentaire : la conversion de la formononétine est supérieure chez des animaux recevant une alimentation riche en trèfles que chez ceux recevant de l'avoine [48]. Il est donc probable que des espèces bactériennes, jusqu'à présent non identifiées, joue un rôle dans cette conversion.

4. Intoxication par la dégradation de la mimosine

La mimosine est un acide aminé non protéique trouvé dans les feuilles, les cosses et les graines de légumineuses arborescentes tropicales appartenant au genre *Leucaena*. La mimosine est hydrolysée dans le rumen en 3-hydroxy-4(1H)-pyridone (3,4 DHP), molécule qui présente un effet goitrogène. Les régimes avec de fortes proportions de *Leucaena* sont, cependant, très bien tolérés par les ruminants de certaines régions tropicales. Les différences de sensibilité des ruminants à cette intoxication ont été reliées à des différences de populations bactériennes ruminales en fonction des régions. La population bactérienne dans le rumen de chèvres à Hawaï ont la capacité de dégrader le 3,4 DHP, alors que la flore bactérienne issue d'animaux d'Australie et du centre de l'Amérique du Nord n'ont pas cette capacité [48]. Le transfert des bactéries dégradant le 3,4 DHP d'animal à animal est réalisable : ainsi, le transfert de bactéries provenant de chèvres d'Hawaï à des animaux d'Australie a permis le transfert d'une protection contre le 3,4 DHP aux animaux inoculés. Néanmoins, les bactéries anaérobies capables de dégrader à la fois le 3,4 DHP et son isomère le 2,3 DHP n'ont pas encore été caractérisées.

CONCLUSION

La flore ruminale constitue l'une des particularités de la digestion des ruminants. Sa composition varie en fonction des changements des conditions d'environnement. Pour cette raison, celle-ci varie selon les espèces de ruminants, mais aussi selon l'âge ou encore la composition de la ration. La compréhension des mécanismes de variations de la population bactérienne permet d'optimiser les performances du ruminant. Une symbiose existe entre le ruminant et sa population bactérienne ruminale, principalement bénéfique pour l'animal, la flore microbienne autorisant la digestion de la cellulose, et l'apport de protéines d'origine microbienne.

Néanmoins, cette symbiose est un équilibre fragile, qui peut, si l'écosystème ruminal est perturbé, se déplacer vers la production de substances toxiques. L'importance de ces anomalies de la digestion microbienne n'est pas négligeable, tant sur un plan médical que d'un point de vue économique (on pensera aux pertes engendrées par l'acidose subaiguë chez les bovins). La compréhension des variations bactériennes en fonction de l'affection observée permet d'améliorer la prise en charge de l'animal, d'un point de vue médical ou zootechnique.

BIBLIOGRAPHIE

- 1- Agarwal N, Kamra DN, Chaudhary LC, Agarwal I, Sahoo A, Pathak NN (2002) Microbial status and rumen enzyme profile of crossbred calves fed on different microbial feed additives. *Lett. Appl. Microb.*, **34**, 329-336
- 2- Allison MJ, Robinson IM, Dougherty RV, Bucklin JA. (1975) Grain overload in cattle and sheep : changes in microbial populations in the caecum and rumen. *Am. J. Vet. Res.*, **36**, 181-185
- 3- An D, Dong XZ, Dong Z. (2005) Prokaryote diversity in the rumen of yak (*Bos grunniens*) and Jinnan cattle (*Bos taurus*) estimated by 16S rDNA homology analyses. *Anaerobe*, **11**, 207-215
- 4- Andersen H, Jarlov N. (1990) Investigation of the possible role of endotoxin TxA₂, PG I₂ and PG E₂ in experimentally induced rumen acidosis in cattle. *Acta Vet. Scand.*, **31**, 27-38
- 5- Andersen PH (2003) Bovine endotoxiosis – some aspects of relevance to production diseases. A review. *Acta Vet. Scand.*, **98**, 141-155
- 6- Anderson KL, Nagaraja TG, Morrill JL, Avery TB, Galitzer SJ, Boyer JE (1987) Ruminal microbial development in conventionally or early-weaned calves. *J. Anim. Sci.*, **64**, 1215-1226
- 7- Asanuma N, Iwamoto M, Kawato M, Hino T. (2002) Numbers of nitrate-reducing bacteria in the rumen as estimated by competitive PCR. *Anim. Sci. J.*, **73**, 199-205
- 8- Aschenbach JR, Gäbel G. (2000) Effect and absorption of histamine in sheep rumen : significance of acidotic epithelial damage. *J. Anim. Sci.*, **78**, 464-470
- 9- Barone R. (1997) Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 3 : Splanchnologie 1. Appareil digestif. Appareil respiratoire. 3^{ème} ed. Paris : Vigot, 853 p.
- 10- Bartley EE, Davidovich AD, Barr GW, Griffel GW, Dayton AD, Deyoe CW, Bechtel RM. (1976) Ammonia toxicity in cattle. I. Rumen and blood changes associated with toxicity and treatment methods. *J. Anim. Sci.*, **43**, 835-541
- 11- Bartley EE, Meyer Rm, Fina LR (1975) Feedlot or grain bloat. In : Mc Donald IM, Warner ACI (eds). Physiology of digestion and metabolism in the ruminant. University of New England Publishing Unit. Armidale, Australia, 551-562. 602 p
- 12- Bartley EE, Nagaraja TG, Pressman ES, Dayton AD, Katz MP, Fina LR (1983) Effects of lasalocid or monensin on legume or grain (feedlot) bloat. *J. Anim. Sci.*, **56**, 1400-1406

- 13- Beauchemin KA, Yang WZ, Morgavi DP, Ghorbani GR, Kautz W, Leedle JA (2003) Effects of bacterial direct-fed microbials and yeast on site and extent of digestion, blood chemistry, and subclinical ruminal acidosis in feedlot cattle. *J Anim Sci.*, **81**,1628-1640
- 14- Beharka AA, Nagaraja TG, Morrill JL (1991). Performance and ruminal function development of young calves fed diets with *Aspergillus oryzae* fermentation extract. *J. Dairy. Sci.*, **74**, 4326-4336
- 15- Bergsten C (2003) Causes, Risk Factors, and Prevention of Laminitis and Related Claw Lesions. *Acta Vet. Scand.*, **98**, 157-166
- 16- Bide RW. (1983) Excess rumen product anions in cattle. I – Blood clearance rates and reduced liver function from sublethal doses of volatile fatty acids, lactate and succinate. *Can. J. Comp. Med.*, **47**, 222-229
- 17- Blondeaux S. (2006) La fourbure bovine – actualités. Thèse Med. Vet. Alfort, 86p
- 18- Breeze RG, Carlson JR (1982) Chemical-induced lung injury in domestic animals. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.*, **26**, 201-231
- 19- Brink DR, Lowry SR, Stock RA, Parrott JC (1990) Severity of liver abscesses and efficiency of feed utilization of feedlot cattle. *J. Anim. Sci.*, **68**, 1201-1207
- 20- Brugère H. (1983) Biochimie du rumen – Aspects physiologiques. *Bull. GTV*, **3**, 5-22
- 21- Brugère H. (2005) Motricité du complexe gastrique : Réseau-Rumen. In : Médecine et chirurgie digestive en pratique bovine. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité Pédagogique de Pathologie Médicale du Bétail et des Animaux de basse Cour, 205 p
- 22- Brugère H. (2005) Thérapeutique, Cours, Fascicule 1. Polycopié, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité Pédagogique de Physiologie-Thérapeutique, 150 p
- 23- Brugère Picoux J. (1983) Biochimie du rumen – Aspects pathologiques. *Bull. GTV*, **3**, 5-22
- 24- Bryant MP, Burkey LA (1953) Number and some predominate groups of bacteria in the rumens of cows fed different diets. *J. Dairy Sci.*, **36**, 218-224
- 25- Bryant MP, Robinson IM (1963) Apparent incorporation of ammonia and amino acid carbon during growth of selected species of rumen bacteria. *J. Dairy Sci.*, **46**, 150-154
- 26- Bryant MP, Robinson IM, Lindhal IL. (1961) A note on the flora and fauna in the rumen of steers fed a feedlot bloat-provoking ration and the effect of penicillin. *Appl. Microbiol.*, **9**, 511-515
- 27- Bryant MP, Small N, Bouma C, Robinson I. (1958) Studies on the composition of the ruminal flora and fauna of young calves. *J. Dairy Sci.*, **41**, 1747-1767
- 28- Bueno L., Doulou V, Candau M. (1977) Ammoniogénèse et motricité du rumen chez le mouton. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, **17**, 509-514

- 29- Cao GR, English PB, Filippich LJ, Inglis S. (1987) Experimentally induced lactic acidosis in the goat. *Aust. Vet. J.*, **64**, 367-370
- 30- Cecava MJ, Merchen NR, Gay LC, Berger LL (1990) Composition of ruminal bacteria harvested from steers as influenced by dietary energy level, feeding frequency and isolation techniques. *J. Dairy Sci.*, **73**, 2480-2488
- 31- Chalupa W. (1980) Clinical control of rumen microbial metabolism. *In* : Ruckebush Y, Thivend P. Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants. MTP Press Ltd., Falcon Home OK, 325-348. 854 p.
- 32- Chaucheyras-Durand F, Fonty G. (2001) Establishment of cellulolytic bacteria and development of fermentative activities in the rumen of gnotobiotically-reared lambs receiving the microbial additive *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1077. *Reprod. Nutr. Dev.*, **41**, 57-68
- 33- Chen M, Wolin MJ (1979) Effect of monensin and lasalocid sodium on the growth of methanogenic and rumen saccharolytic bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, **38**, 72-77
- 34- Cheng KJ, Akin DE, Costerton JW. (1977) Rumen bacteria : interaction with particulate dietary components and response to dietary variation. *Fed. Proc.*, **36**, 193-197
- 35- Cheng KJ, Hironaka R, Jones GA, Nicas T, Costerton JW (1976) Frothy feedlot bloat in cattle: production of extracellular polysaccharides and development of viscosity in cultures of *Streptococcus bovis*. *Can. J. Microbiol.*, **22**, 450-459
- 36- Cheng KJ, McAllister TA, Popp JD, Hristov AN, Mir Z, Shin HT (1998) A review of bloat in feedlot cattle. *J. Anim. Sci.*, **76**, 299-308
- 37- Cheng KJ, Philippe RC, Majak W (1988) Identification of rumen bacteria that anaerobically degrade nitrite. *Can J Microbiol.*, **34**, 1099-1102
- 38- Chesson A., Forsberg CW. (1988) Polysaccharide Degradation by Rumen Microorganisms. *In* : Hobson PN, editors. *The rumen microbial ecosystem*. Elsevier Science Publisher, 251-277. 527 p
- 39- Clarke RTJ (1974) Foamy bloat of cattle. A review. *J. Dairy Sci.*, **57**, 753-785
- 40- Coe ML, Nagaraja TG, Sun YD, Wallace N, Towne EG, Kemp KE, Hutcheson JP. (1999) Effect of virginiamycin on ruminal fermentation in cattle during adaptation to a high concentrate diet and during an induced acidosis. *J. Anim. Sci.*, **77**, 2259-2268
- 41- Counotte GHM, Prins RA (1981) Regulation of lactate metabolism in the rumen. *Vet. Res. Comm.*, **5**, 101-115
- 42- Counotte GHM, Prins RA, Janssen RHAM, Debie MJA (1981) Role of *Megasphaera elsdenii* in the fermentation of DL-[2-¹³C] lactate in the rumen of dairy cattle. *Appl. Environ. Microb.*, **42**, 649-655

- 43- Crichlow EC (1988) Ruminal lactic acidosis : forestomach epithelial receptor activation by undissociated volatile fatty acids and rumen fluid collected during loss of reticulo ruminal motility. *Res. Vet. Sci.*, **45**, 364-368
- 44- Cullen AJ, Harmon DL, Nagaraja TG (1986) In vitro fermentation of sugar, grains and by-product feeds in relation to initiation of ruminal lactate production. *J Dairy Sci.*, **69**, 2616-2621
- 45- Czerkawski FM, Cheng KJ (1988) Compartmentation in the rumen. *In* : Hobson PN, Ed. *The rumen microbial ecosystem*, Elsevier Science Publishing, New York, 361-385. 527 p
- 46- Dabak M, Gul Y. (2004) Thiamine deficiency in sheep with chronic rumen acidosis. *Vet. Rec.*, **154**, 58-59
- 47- Davidovich A, Bartley EE, Chapman TE, Bechtel RM, Dayton AD, Frey RA. (1977) Ammonia toxicity in cattle. II- Changes in carotid and jugular blood components associated with toxicity. *J. Anim. Sci.*, **44**, 702-709
- 48- Dawson KA, Allison MJ (1988) Digestive disorders and nutritional toxicity. *In* : Hobson PN, editors. *The rumen microbial ecosystem*. Elsevier Science Publisher, New York, 445-459. 527 p
- 49- Dawson KA, Allison MJ, Hartman PA (1980) Characteristics of anaerobic oxalate-degrading enrichment cultures from the rumen. *Appl Environ Microbiol.*, **40**, 840-846
- 50- Dehority BA, Orpin CG (1988) Development of, and natural fluctuations in, rumen microbial populations. *In* : Hobson PN, editors. *The rumen microbial ecosystem*. Elsevier Science Publisher, 151-178
- 51- Dehority BA, Tirabasso PA (2001) Effect of feeding frequency on bacterial and fungal concentrations, pH, and other parameters in the rumen. *J. Anim. Sci.*, **79**, 2908-2912
- 52- Doreau M, Grimaud P, Michalet-Doreau B. (2000) La sous-alimentation chez les ruminants : ses effets sur la digestion. *INRA Prod. Anim.*, **13** (4), 247-255
- 53- Doreau M., Michalet-Doreau B, Béchet G. (2004) Effect of underfeeding on digestion in cows. Interaction with rumen degradable N supply. *Livestock Prod. Sci.*, **88**, 33-41
- 54- Dunlop RH. (1972) Pathogenesis of ruminal lactic acidosis. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.*, **16**, 259-302
- 55- Durantou A, Bueno L (1983) A possible central opiate mechanism involved in the inhibition of food intake and reticular motility by duodenal DL lactic acid infusion in sheep. *Am. J. Vet. Res.*, **44**, 802-805
- 56- Eadie JM, Mann SO (1970) Development of the rumen microbial population : high starch diets and instability. *In* : AT Philipson (ed). *Physiology of digestion and metabolism in the ruminant*, 335-347. 636 p

- 57- Edwards JE, McEwan NR, Travis AJ, Wallace RJ. (2004) 16S rDNA library-based analysis of ruminal bacterial diversity. *Antonie van Leeuwenhoek*, **86**, 263-281
- 58- Edwards JE, McEwan NR, McKain N, Walker N, Wallace RJ (2005) Influence of flavomycin on ruminal fermentation and microbial populations in sheep. *Microbiol.*, **151**, 717-725
- 59- Emmanuel B, Edjtehadi M (1981) Glucose biokinetics in normal and urea-treated sheep (*Ovis aries*). *Comp. Biochem. Physiol.*, **68**, 555-560
- 60- Enjalbert F, Garrett JE, Moncoulon R, Bayourthe C, Chicoteau P. (1999) Effects of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on ruminal digestion in non-lactating dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **76**, 195-206
- 61- Euzéby JP. *Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire* [en-ligne], mise à jour le 10 mai 2006 [<http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/garde.html>] (consulté le 30 novembre 2006)
- 62- Fay JP, Cheng KJ, Hanna MR (1980) In vitro digestion of bloat-safe and bloat-causing legumes by rumen microorganisms : gas and foam production. *J. Dairy Sci.*, **63**, 1273-1281
- 63- Fernandez JM, Croom WJ, Johnson AD, Jaquette RD, Eddens FW. (1988) Subclinical ammonia toxicity in steers : effects and blood metabolite and regulatory hormone concentrations. *J. Anim. Sci.*, **66**, 3259-3266
- 64- Flint HJ (1997) The rumen microbial ecosystem : some recent development. *Trends Microbiol.*, **5**, 483-488
- 65- Fondevila M, Dehority BA (1996) Interaction between *Fibrobacter succinogenes*, *Prevotella ruminicola*, and *Ruminococcus flavefaciens* in the digestion of cellulose from forages. *J. Anim. Sci.*, **74**, 678-684
- 66- Fonty G, Gouet P, Jouany JP, Senaud J. (1987) Establishment of the microflora and anaerobic fungi in the rumen of lambs. *J. Gen. Microb.*, **133**, 1835-1843
- 67- Fonty G, Jouany JP, Chavarot M, Bonnemoy F, Gouet P (1991) Development of the rumen digestive functions in lambs placed in a sterile isolator a few days after birth. *Reprod. Nutr. Dev.*, **31**, 521-528
- 68- Forsberg CW, Cheng KJ, White BA (1997) Polysaccharide degradation in the rumen and large intestine. In : , RI Mackie and BA White (Eds.), *Gastrointestinal Microbiology*, Chapman and Hall, New York, p. 319-379. 676 p
- 69- Frye TM, Williams SN, Graham TW (1991) Vitamin deficiencies in cattle. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, **7**, 217-275

- 70- Gaebel G, Suendermann M, Martens H (1987) The influence of osmotic pressure, lactic acid and pH on ion and fluid absorption from the washed and temporarily isolated reticulo-rumen of sheep. *J. Vet. Med*, **34**, 220-226
- 71- Garry FB (2002) Indigestion in ruminants. *In* : Smith BP (Ed.), Large Animal Internal Medicine, Mosby-Year Book. Mosby, St. Louis, Missouri, 722-747. 1735 p
- 72- Ghali MB, Scott PT, Al Jassim RAM (2004) Characterization of *S. bovis* from the rumen of dromedary camel and Rusa deer. *Lett. Appl. Microb.*, **39**, 341-346
- 73- Ghorbani GR, Morgavi DP, Beauchemin KA, Leedle JAZ (2002) Effects of bacterial direct-fed microbials on ruminal fermentation, blood variables, and the microbial populations of feedlot cattle. *J. Anim. Sci.*, **80**, 1977-1986
- 74- Gill HS, Shu Q, Leng R. (2000) Immunization with *Streptococcus bovis* protects against lactic acidosis in sheep. *Vaccine*, **18**, 2541-2548
- 75- Goad DW, Goad CL, Nagaraja TG. (1998) Ruminal microbial and fermentative changes associated with experimentally induced subacute acidosis in steers. *J. Anim. Sci.*, **76**, 234-241
- 76- Gozho GN, Plaizier JC, Krause DO, Kennedy AD, Wittenberg KM. (2005) Subacute ruminal acidosis induces ruminal lipopolysaccharide endotoxine release and triggers an inflammatory response. *J. Dairy Sci.*, **88**, 1399-1403
- 77- Grimaud P., Richard D., Vergeron MP, Guilleret JR, Doreau M. (1999) Effect of drastic undernutrition in zebu cattle receiving a diet based on rice straw. *J Dairy Sci.*, **82**, 974-981
- 78- Grohn YT, Bruss ML (1990) Effect of diseases, production and season on traumatic reticulo-peritonitis and ruminal acidosis in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, **73**, 2355-2363
- 79- Grovum WL. (1988) Appetite, palatability and control of feed intake. *In* : Church DC. The ruminant animal. Digestive physiology and nutrition. Prentice Hall, New Jersey, USA, 202-216. 564 p.
- 80- Haliburton JC, Morgan SE (1989) Non protein nitrogen-induced ammonia toxicosis and ammoniated feed toxicity syndrome. *Vet. Clin. North Amer. Food Anim. Pract.*, **5**, 237-249
- 81- Harman BR, protéinases MH, Hoffman MP, Self HL. (1989) Factors affecting in-transit shrink and liver abscesses in fed steers. *J. Anim. Sci.*, **67**, 311-317
- 82- Hoffsis GF. (1993) Diseases of the digestive system. *In* : Howard JL (ed.) Current Veterinary Therapy III, Food Animal Practice. WB Saunders Company Ltd. 1993, 706-761. 966 p
- 83- Hooper PT, Best SM, Murray DR (1974) Hyperammonia and spongy degeneration of the brain in sheep affected with hepatic necrosis. *Res. Vet. Sci.*, **16**, 216-222
- 84- Howarth RE (1975). A review of bloat in cattle. *Am. Vet. J.*, **16**, 281-294

- 85- Huber JT, Kung IJ (1981) Protein and non protein nitrogen utilization in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, **64**, 1170-1195
- 86- Hungate RE (1966) The rumen bacteria. In : Hungate (ed.) *The rumen and its microbes*. Academic press, 8-90. 533 p
- 87 Iwamoto M, Asanuma N, Hino T. (2002) Ability of *Selenomonas ruminantium*, *Veillonella parvula*, and *Wolinella succinogenes* to reduce nitrate and nitrite with special reference to the suppression of ruminal methanogenesis. *Anaerobe*, **8**, 209-215
- 88- Jenkins TC. (1993) Lipid metabolism in the rumen. *J. Dairy. Sci.*, **76**, 3851-3863
- 89- Johnson B. (1991) Nutritional and dietary interrelationships with diseases of feedlot cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.*, **7**(1), 133-142
- 90- Jouany JP (2000) La digestion chez les camélidés : comparaison avec les ruminants. *INRA Prod. Anim.*, **13**, 165-176
- 91- Kennelly JJ, Robinson B, Khorasani GR (1999) Influence of carbohydrate source and buffer on rumen fermentation characteristics, milk yield, and milk production in early-lactation Holstein cows. *J Dairy Sci.*, **82**, 2486-2496
- 92- Kitamura SS, Antonelli AC, Maruta CA, Soares PC, Sucupira MC, Mori CS, Miranda RM, Ortolani EL (2003) A model for Ammonia poisoning in cattle. *Vet. Hum. Toxicol.*, **45**, 274-277
- 93- Kleen JL, Hooijer GA, Rehage J, Noordhuizen JPTM (2003) Subacute ruminal acidosis (SARA) : a review. *J. Vet. Med.*, **50**, 406-414
- 94- Koike S, Yoshitani S, Kobayashi Y, Tanaka K. (2003) Phylogenetic analysis of fiber-associated rumen bacterial community and PCR detection of uncultured bacteria. *FEMS Microbiol Lett.*, **229**, 23-30
- 95- Kotarski SF, Waniska RD, Thurn KK. (1992) Starch hydrolysis by the ruminal microflora. *J. Nut.*, **122**, 178-190
- 96- Krause DO, Denman SE, Mackie RI, Morrison M, Rae AL, Attwood GT, McSweeney CS (2003) Opportunities to improve fiber degradation in the rumen : microbiology, ecology and genomics. *FEMS Microb. Rev.*, **27**, 663-693
- 97- Krause DO, Russel JB (1996) How many ruminal bacteria are there ? *J. Dairy. Sci.*, **79**, 1467-1475
- 98- Krause KM, Oetzel GR. (2006) Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds : a review. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **126**, 215-236

- 99- Lechtenberg KF, Nagaraja TG, Leipold HW Chengappa MM. (1988) Bacteriologic and histologic studies of hepatic abscesses in cattle. *Am. J. Vet. Res.*, **49**, 58-62
- 100- Leedle JA, Bryant MP, Hespell RB. (1982) Diurnal variations in bacterial numbers and fluid parameters in ruminal contents of animals fed low- or high- forage diets. *Appl. Environ. Microbiol.*, **44**, 402-412
- 101- Leek BF. (1983) Clinical diseases of the rumen : a physiologist's view. *Vet. Rec.*, **113**, 10-14
- 102- Leng RA, Nolan JV (1984) Nitrogen metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.*, **67**, 1072-1089
- 103- Leroy H. (1987) Effets physiologiques du jeûne chez les ruminants. Thèse Med. Vet. Alfort, 94p
- 104- Livesey C, Fleming F. (1984) Nutritional influences on laminitis, sole ulcer and bruised sole on Friesian cows. *Vet. Rec.*, **114**, 510-512
- 105- Lynch HA, Martin SA (2002) Effects of *Saccharomyces cerevisiae* culture and *Saccharomyces cerevisiae* live cells on in vitro mixed ruminal microorganism fermentation. *J Dairy Sci.*, **85**, 2603-2608
- 106- Mackie RI, Hu W, Klieve AV, Ouwkerk D, Sundset MA, Kamagata Y (2003) Ecology of uncultivated *Oscillospira* species in the rumen of cattle, sheep, and reindeer as assessed by microscopy and molecular approaches. *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**, 6808-6815
- 107- MacKie RI, White BA (1990) Recent advances in rumen microbial ecology and metabolism : potential impact on nutrient output. *J. Dairy Sci.*, **73**, 2971-2995
- 108- Makir LR, Foster EM (1957) Effect of roughage in the bovine ration on types of bacteria in the rumen. *J. Dairy Sci.*, **40**, 905-913
- 109- Marais JP, Therion JJ, MacKie RI, Kistner A, Dennison C. (1988) Effect of nitrate and its reduction products on the growth and activity on the rumen microbial population. *Br. J. Nutr.*, **59**, 301-313
- 110- Martin C, Millet L, Fonty G, Michalet-Doreau B (2001) Cereal supplementation modified the fibrolytic activity but not the structure of the cellulolytic bacterial community with rumen solid digesta. *Reprod. Nutr. Dev.*, **41**, 413-424
- 111- Marx D. (2002) Les maladies métaboliques chez les ovins. Thèses Med. Vet., Alfort, n° 119. 131 p
- 112- McEwan NR, Abecia L, Regensbogenova M, Adam CL, Findlay PA, Newbold CJ (2005) Rumen microbial population dynamics in response to photoperiod. *Lett. Appl. Microbiol.*, **41**, 97-101

- 113- Michalet-Doreau B, Fernandez I, Peyron C, Millet L. (2001) Fibrolytic activities and cellulolytic bacterial community structure in the solid and liquid phases of rumen contents. *Reprod. Nutr. Dev.*, **41**, 187-194
- 114- Midla L, Hoblet KH, Weiss WP, Moeschberger ML. (1998) Supplemental dietary biotin for prevention of lesions associated with aseptic subclinical laminitis (pododermatitis aseptica diffusa) in primiparous cows. *Am. J. Vet. Res.*, **59**, 733-738
- 115- Minato H, Endo A, Ootomo Y, Uemura T. (1966) Ecological treatise of the rumen fermentation. II. The amylolytic and cellulolytic activities of the fractionated bacterial attached to the rumen solids. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 12, 53-69
- 116- Mishra B (1965) Role of *Streptococcus bovis* in rumen metabolism with special reference to bloat in cattle. *Indian J. Vet. Sci.*, **37**, 232-248
- 117- Mohamed Nour MS, Abusamra MT, Hago BED. (1998) Experimentally induced lactic acidosis in Nubian goats : clinical, biochemical and pathological investigations. *Small Ruminant Research*, **31**, 7-17
- 118- Morvan B., Bonnemoy F., Fonty G., Gouet Ph. (1996). Quantitative determination of H₂-utilizing acetogenic and sulfate-reducing bacteria and methanogenic *archaea* from digestive tract of different mammals. *Curr. Microbiol.*, **32**, 129-133
- 119- Mueller RE, Asplund JM, Iannotti EL. (1984) Successive changes in the epimural bacterial community of young lambs as revealed by scanning electron microscopy. *Appl. Environ. Microbiol.*, **47**, 715-723
- 120- Muir LA, Rickes EL, Duquette PF, Smith GE (1981) Prevention of induced lactic acidosis in cattle by thiopeptin. *J Anim Sci.*, **52**, 635-643
- 121- Mungall BA, Kyaw-Tanner M, Pollitt CC. (2001) *In vitro* evidence for a bacterial pathogenesis of equine laminitis. *Vet. Microb.*, **79**, 209-223
- 122- Nagaraja TG, Avery TB, Bartley EE, Galitzer SJ, Dayton AD (1981) Prevention of lactic acidosis in cattle by lasalocid and monensin. *J. Anim. Sci.*, **53**, 206-216
- 123- Nagaraja TG, Bartley EE, Anthony HD, Leipold HW, Fina LR. (1979) Endotoxin shock in calves from intravenous injection of rumen bacterial endotoxin. *J. Anim. Sci.*, **49**, 567-582
- 124- Nagaraja TG, Bartley EE, Fina LR, Anthony HD (1978) Relationship of rumen gram-negative bacteria and free endotoxin to lactic acidosis in cattle. *J. Anim. Sci.*, **47**, 1329-1336
- 125- Nagaraja TG, Chengappa MM. (1998) Liver abscesses in feedlot cattle : a review. *J. Anim. Sci.*, **76**, 287-298

- 126- Nagaraja TG, Narayanan SK, Stewart GC, Chengappa MM. (2005) *Fusobacterium necrophorum* infections in animals : pathogenesis and pathogenic mechanisms. *Anaerobe*, **11**, 239-246
- 127- Newbold CJ, Wallace RJ, McKain N (1990) Effects of the ionophore tetronasin on nitrogen metabolism by ruminal microorganisms in vitro. *J. Anim. Sci.*, **68**, 1103-1109
- 128- Nikolic JA, Pavlicevic A, Zeremski D, Negovanovic D. (1980) Adaptation to diets containing significant amounts of non protein nitrogen. In : Ruckebusch Y, Thivend P. Digestive physiology and metabolism in ruminants. MTP Press LTD, Falcon Home, UK, 603-620
- 129- Nocek JE (1997) Bovine acidosis, implications on laminitis. *J. Dairy Sci.*, **80**, 1005-1028
- 130- Nocek JE, Russel JB. (1989) Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. *J. Dairy Sci.*, **71**, 2070-2107
- 131- Oetzel GR, Nordlund KV, Garret EF. (1999) Effect of ruminal pH and stage of lactation on ruminal lactate concentrations in dairy cows. *J Dairy. Sci.*, **81** (suppl.1), 38
- 132- Osborne JK, Mutsvangwa T, Alzahal O, Duffield TF, Bagg R, Dick P, Vessie G, McBride BW (2004) Effects of Monensin on Ruminal Forage Degradability and Total Tract Diet Digestibility in Lactating Dairy Cows During Grain-Induced Subacute Ruminal Acidosis. *J. Dairy. Sci.*, **87**, 1840-1847
- 133- Owens FN, Bergen WG (1983) Nitrogen metabolism of ruminant animals : historical perspective, current understanding and future implication. *J. Anim. Sci.*, **57**, suppl. 2, 498-518
- 134- Ozutsumi Y, Tajima K, Takenaka A, Itabashi H (2005) The effect of protozoa on the composition of rumen bacteria in cattle using 16S rRNA gene clone libraries. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **69**(3), 499-506
- 135- Paster BJ, Dewhirst FE, Olsen I, Fraser GJ (1994) Phylogeny of *Bacteroides*, *Prevotella* and *Porphyromonas* spp. and related bacteria. *J. Bacteriol.*, **176**, 725-732
- 136- Patra RC, Lal SB, Swarup D (1993) Physicochemical alterations in blood, cerebrospinal fluid and urine in experimental lactic acidosis in sheep. *Res. Vet. Sci.*, **54**, 217-220
- 137- Paynter MJB, Hungate RE (1968) Characterization of *Methanobacterium mobilis*, sp. Isolated from the bovine rumen. *J. Bacteriol.*, **95**, 1943-1951
- 138- Pikhova M., Filova M, Javorsky P, Pristas P. (2004) Different restriction and modification phenotypes in ruminal lactate-utilizing bacteria. *FEMS Microbiol. Lett.*, **236**, 91-95
- 139- Pollitt CC. (2004) Equine laminitis. *Clin. Techn. Equine Pract.*, **3**, 34-44

- 140- Radostits, O.M. Gay, C.C. Blood, D.C. & K.W. Hinchcliff (2000) Diseases of the alimentary tract - II. In : *Veterinary Medicine, A Textbook of the Disease of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses*. Ninth Edition. W.B. Saunders Company Ltd. 2000, 259-346. 1877 p
- 141- Ramsak A., Peterka M., Tajima K., Martin J.C., Wood J., Johnston M.E.A, Aminov R.I, Flint H.J and Avgustin G. (2000) Unravelling the genetic diversity of ruminal bacteria belonging to the CFB phylum. *FEMS Microb. Ecol.*, **33**, 69-79
- 142- Randhawa SS, Choudhuri PC, Misra SK. (1980) Physicochemical changes in cerebrospinal fluid in experimental ruminal acidosis in buffalo calves. *Res. Vet. Sci.*, **29**, 118-119
- 143- Rodwell AW (1953) The occurrence and distribution of amino acid decarboxylases within the genus lactobacillus. *J. Gen. Microbiol.*, **8**, 224-232
- 144- Roque JL (1991) Anomalies de la digestion microbienne ruminale. Aspects pathologiques. Thèse Med. Vet., Toulouse. 99 p
- 145- Russel JB (1987) A proposed model of monensin action in inhibiting rumen bacterial growth : effects on ion flux and protonmotive force. *J. Anim. Sci.*, **64**, 1519-1525
- 146- Russel JB, Hino T. (1985) Regulation of lactate production in *S. bovis* : a spiraling effect that contributes to rumen acidosis. *J Dairy Sci.*, **68** (7) 1712-1721
- 147- Russel JB, Rychlik JL (2001). Factors that alter rumen microbial ecology. *Science*, **292**, 1119-1122
- 148- Russel JB, Strobel HJ (1989) Effect of ionophores on ruminal fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**, 1-6
- 149- Russel JB, Wilson DB (1988) Potential opportunities and problems for genetically altered rumen microorganisms. *J. Nutr.*, **118**, 271-279
- 150- Sai Sudhakar TR, Sinha RN, Ranganathan B (1983). Influence of milk and milk substitutes on the types of bacteria in the rumen of buffalo calves. *Indian vet. J.*, **60**, 193-198
- 151- Sakauchi, Hoshino (1981) Microbial characteristics of ruminal fluid from feedlot bloat beef cattle. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **27**, 145-155
- 152- Sales M, Lucas F, Blanchart G. (2000) Effects of ammonia and amino acids on the growth and proteolytic activity of three species of rumen bacteria : *Prevotella albensis*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, and *Streptococcus bovis*. *Curr. Microb.*, **40**, 380-386
- 153- Satge B (1993) Le pH du rumen étude bibliographique. Thèse Med. Vet. Toulouse. 200p.
- 154- Sauret J (1988) Guide de dissection des mammifères domestiques (équidés, ruminants, carnivores). Les viscères abdominaux. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité Pédagogique d'Anatomie, 129 p

- 155- Sauvant D, Meschy F, Mertens D (1999) Les composantes de l'acidose ruminale et les effets acidogènes des rations. *INRA Prod. Anim.*, **12** (1), 49-60
- 156- Scanlan CM, Hathcock TL. (1983) Bovine rumenitis-liver abscess complex : a bacteriological review. *Cornell Vet.*, **73**, 288-297
- 157- Sharp R., Ziemer CJ, Marshall DS, Stahl DA. (1998) Taxon-specific associations between protozoal and methanogens populations in the rumen and a model system. *FEMS Microb. Ecol.*, **26**, 71-78
- 158- Shu Q, Gill HS, Hennessy DW, Leng RA, Bird SH, Rowe JB (1999) Immunisation against lactic acidosis in cattle. *Res. Vet. Sci.*, **67**, 65-71
- 159- Singh N, Nangia OP, Garg SL, Puri JP, Punia JS (1988) Establishment of rumen protozoa and bacteria under different management practices in buffalo calves. *Ind. J. Anim. Sci.*, **58**(11), 1315-1326
- 160- Skillman LC, Evans PN, Naylor GE, Morvan B, Jarvis GN, Joblin KN (2004) 16S ribosomal DNA-directed PCR primers for ruminal methanogens and identification of methanogens colonising young lambs. *Anaerobe*, **10**, 277-285
- 161- Skillman LC, Evans PN, Strömpl C, Joblin KN (2006) 16S rDNA directed PCR primers and detection of methanogens in the bovine rumen. *Lett. Appl. Microb.*, **42**, 222-228
- 162- Slyter LL, Rumsey TS (1991) Effect of coliform bacteria, feed deprivation and pH on ruminal D-lactic acid products by steer or continuous-culture microbial population changed from forage to concentrates. *J. Anim. Sci.*, **69**, 3055-3066
- 163- Slyter LL. (1976) Influence of acidosis on rumen function. *J Anim. Sci.*, **43**, 910-929
- 164- Stewart CS, Bryant MP (1988) The rumen bacteria. *In* : Hobson PN, editors. *The rumen microbial ecosystem*. Elsevier Science Publisher, New York, 21-75. 527 p
- 165- Stewart CS, Fonty G, Gouet Ph. (1988) The establishment of rumen microbial communities. *Anim. Feed. Sci. Techn.*, **21**, 69-97
- 166- Suber RL, Hentges JF, Gudat JC, Edds GT (1979) Blood and ruminal fluid profiles in carbohydrate founder cattle. *Am. J. Vet. Res.*, **40**, 1005-1008
- 167- Tajima K, Aminov RI, Nagamine T, Matsui H, Nakamura M, Benno Y. (2001) Diet-dependent shifts in the bacterial population of the rumen revealed with real-time PCR. *Appl. Environ. Microbiol.*, **67**(6), 2766-2774
- 168- Tajima K, Aminov RI, Nagamine T, Ogata K, Nakamura M, Matsui H, Benno Y. (1999) Rumen bacterial diversity as determined by sequence analysis of 16 S rDNA libraries. *FEMS Microb. Ecol.*, **29**, 159-169

- 169- Tajima K, Arai S, Ogata K, Nagamine T, Matsui H, Nakamura M, Aminov RI, Benno Y (2000) Rumen bacterial community transition during adaptation to high-grain diet. *Anaerobe*, **6**, 273-284
- 170- Takenaka A, Itabashi H. (1995) Changes in the population of some functional groups of rumen bacteria including methanogenic bacteria by changing the rumen ciliates in calves. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **41**, 377-387
- 171- Tan ZL, Nagaraja TG, Chengappa MM. (1996) *Fusobacterium necrophorum* infections : virulence factors, pathogenic mechanism and control measures. *Vet. Res. Comm.*, **20**, 113-140
- 172- Turet L (2001) Physiologie de la digestion. Polycopié, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité Pédagogique de Physiologie et Thérapeutique. 69 p
- 173- Tokura M, Chagan I, Ushida K, Kojima Y. (1999) Phylogenetic study of methanogens associated with rumen ciliates. *Curr. Microb.*, **39**, 123-128
- 174- Tokura M, Tajima K, Ushida K (1999) Isolation of *Methanobrevibacter* sp. as a ciliate-associated ruminal methanogens. *J. Gen. Appl. Microbiol*, **45**, 43-47
- 175- Tokura M, Ushida K, Miyazaki K, Kojima Y. (1997) Methanogens associated with rumen ciliates. *FEMS Microbiol. Ecol.*, **22**, 137-143
- 176- Ushida K, Jouany JP, Demeyer DI (1991) Effects of presence or absence of rumen protozoa on the efficiency of utilization of concentrate and fibrous feeds. *In* : Tsuda T, Sasaki T, Kawashima R (eds) Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants. Academic Press, New York, 625-654
- 177- Ushida K, Tokura M, Takenaka A., Itabashi H (1997) Ciliate protozoa and ruminal methanogenesis. *In* : Onodera R., Itabashi H, Ushida K, Yano H, Sasaki Y. (eds) Rumen microbes and digestive physiology in ruminants. Tokyo : Japan Sci Soc Press/Basel : S. Karger, 209-220. 259 p
- 178- Van Nevel C, Demeyer DI (1995) Lipolysis and biohydrogenation of soybean oil in the rumen in vitro : inhibition by antimicrobials. *J. Dairy Sci.*, **78**, 2797-2806
- 179- Wallace RJ (1986) Ecology of Rumen Microorganisms : Protein Use. *In* : Dobson A, Dobson MJ (eds). Aspect of digestive physiology of ruminants. Ithaca, New York (USA) : Comstock Publishing Associates, 99-116. 311 p.
- 180- Wallace RJ, Cotta MA. (1988) Metabolism of nitrogen-containing compound. *In* : Hobson PN, editors. *The rumen microbial ecosystem*. Elsevier Science Publishing, New York, 217-249. 527 p
- 181- Wallace RJ. (1985) Synergism between different species of proteolytic rumen bacteria. *Curr. Microbiol.*, **12**, 59-64

- 182- Wallace RJ. (1994) Ruminal microbiology, biotechnology, and ruminant nutrition : progress and problems. *J. Anim. Sci.*, **72**, 2992-3003
- 183- Weimer PJ, Waghorn GC, Odt CL, Mertens DR. (1999) Effect of diet on populations of three species of ruminal cellulolytic bacteria in lactating cows. *J Dairy Sci.*, **82**, 122-134
- 184- Whitford MF, Forster RJ, Beard CE, Gong J, Teather R. (1998) Phylogenetic analysis of rumen bacteria by comparative sequence analysis of cloned 16S rRNA. *Anaerobe*, **4**, 153-163
- 185- Whitford MF, Teather R, Forster RJ (2001) Phylogenetic analysis of methanogens from the bovine rumen. *BMC Microb.*, **1**, 5
- 186- Williams AG, Coleman GS. The Rumen Protozoa. *In* : Hobson PN, Ed. *The rumen microbial ecosystem*, Elsevier Science Publishing, New York, 77-111. 527 p
- 187- Williams AG, Withers SE (1993) Changes in the rumen microbial population and its activities during the refaunation period after the reintroduction of ciliate protozoa into the rumen of defaunated sheep. *Can. J. Microb.*, **39**, 61-69
- 188- Wolter R. (1981) Alimentation énergétique en début de lactation et prévention de l'acidose chronique chez la vache laitière à haute production. *Rec. Med. Vet.*, **157**, 699-712
- 189- Wozny MA, Bryant MP, Holdeman LV, Moore WEC. (1977) Urease assay and urease-producing species of anaerobes in the bovine rumen and human feces. *Appl. Environ. Microb.*, **33**(5), 1097-1104
- 190- Wright AD, Williams AJ, Winder B, Christophersen CT, Rodgers SL, Smith KD. (2004) Molecular diversity of rumen methanogens from sheep in Western Australia. *Appl. Environ. Microbiol.*, **70**, 1263-1270
- 191- Yanagita K, Kamagata Y, Kawaharasaki M, Suzuki T, Nakamura Y, Minato H (2000) Phylogenetic analysis of methanogens in sheep rumen ecosystem and detection of *Methanomicrobium mobile* by Fluorescence *In Situ* Hybridization. *Biosc. Biotechnol. Biochem.*, **64**, 1737-1742