

Caractérisation des populations microbiennes des litières en vaches laitières : comparaison entre les types de logement et évolution au cours du temps

PITHON H. (1), POLLET B. (1), HYRONIMUS B. (2), ROULLEAU X. (3)

(1) Dietaxion – 283 rue Ampère, ZAC de la Noë Bachelon, 44430 Le Loroux Bottereau

(2) Cobotex – 283 rue Ampère, ZAC de la Noë Bachelon, 44430 Le Loroux Bottereau

(3) Teraxion - 283 rue Ampère, ZAC de la Noë Bachelon, 44430 Le Loroux Bottereau

RESUME - L'élevage est perpétuellement en évolution et de nouveaux challenges apparaissent aujourd'hui : absence de pâturage, surdensité animale, haute production laitière. Autant de facteurs qui favorisent la prolifération de micro-organismes et donc le risque d'apparition de pathologies bactériennes (mammites d'environnement, dermatites digitées, diarrhées...). Distinguer le niveau de risque bactérien environnemental devient alors un enjeu hautement stratégique pour adapter le management d'élevage. Et pourtant très peu de travaux sont menés et de publications réalisées sur cette étude de la contamination environnementale.

Ce travail, mené par le laboratoire Cobotex, vise à caractériser la composition microbienne des litières des vaches laitières, qu'elles soient sur logettes ou aires paillées. Plus de 130 analyses réalisées au cours des 10 dernières années ont été rassemblées dans une méta-analyse et 5 familles de bactéries ont été quantifiées : Flore mésophile anaérobie totale (FMAT), Bactéries lactiques (BL), Flores sporulées (Sp), Entérobactéries (ENT), Coliformes fécaux (Cf), Levures-moisissures (LM) et Anaérobies sulfite-réductrices (ASR).

L'analyse a permis de montrer que la qualité des litières a évolué avec le temps grâce aux pratiques d'élevage : il y a 10 fois moins d'ENT et de Cf entre 2010 et aujourd'hui. Il y a, par contre, également une baisse des flores bénéfiques Sp et de plus en plus d'ASR. L'analyse plus fine des résultats selon le mode de logement a permis de montrer que les logettes semblent globalement moins contaminées que les aires paillées ou les litières accumulées (aire paillée de plus de 6 semaines).

Un deuxième travail sur la même base de données sera mené afin de démontrer l'efficacité de l'ensemencement de bactéries bénéfiques sélectionnées pour rétablir un équilibre microbiologique plus sain pour les animaux d'élevage.

Microbial composition of dairy cows litter: comparison between types of bedding area and evolution in the time

PITHON H. (1), POLLET B. (1), HYRONIMUS B. (2), ROULLEAU X. (3)

(1) Dietaxion – 283 rue Ampère, ZAC de la Noë Bachelon, 44430 Le Loroux Bottereau

SUMMARY - Farmers are facing new challenges today: no pasture, over-density, high dairy production. As many factors that favor proliferation of micro-organisms and the risk of apparition of diseases (environmental mastitis, digital dermatitis, diarrhea, ...). To know the level of risk of an environmental bacteria contamination become a stakes highly strategical to adapt farm management. And yet, very few researches are led and publications made on this subject of environmental contamination.

This work, led by the lab Cobotex, aim to characterize the microbial composition of litters of dairy cows. More than 250 analyses realized during the last 10 years have been compared in a meta-analyze and 5 groups of bacteria have been studied: total flora (FMAT), enterobacteria (ENT), Bacillus (BL et Sp), Fecal coliforms (Cf), Yeast-mold (LM), Anaerobic sulfite-reducing (ASR),.....

The analysis allowed to demonstrate that the quality of litter changed with years thanks to the new farm management: there are 10 times less ENT (pathogenic bacteria) between 2010 and today but, in the same time, there are more ASR and less Sp. The comparison of results regarding the kind of bedding area showed that cubicles are less contaminated than straw bedding areas.

A second work will be led on this data to demonstrate the efficiency of the use of beneficial bacteria to re-establish a healthy microbiological balance for animals.

INTRODUCTION

Avec l'évolution des pratiques agricoles (l'absence de pâturage, la surdensité animale, l'augmentation de la production laitière, les nouveaux types de substrats de litière,...), la pression sanitaire au sein des élevages a augmenté. La gestion des litières et des déjections et le choix des substrats est un véritable enjeu dans la lutte contre le développement de maladies au sein d'un troupeaux de vaches laitières. En effet, la litière est un réservoir à bactéries. Murphy et Boor (2010) ont prouvé qu'une litière mal entretenue augmente le risque de mammites d'environnement. Certaines études ont également pu démontrer des corrélations entre composition microbienne de la litière, type de litière, contamination des trayons et, in fine, contamination du lait (Magnuson *et al.*, 2007, Zdanowicz *et al.*, 2004).

Mieux comprendre le microbiome de la litière, c'est mieux prévenir les pathologies.

1. MATERIEL ET METHODES

L'étude a été menée sur 133 analyses de litières. Ces prélèvements ont été fait en France depuis 2012 dans des élevages de vaches laitières.

Trois types de logements ont été différenciés : la logette (quel que soit le type de substrat), l'aire paillée et la litière accumulée (aire paillée de plus de 6 semaines). Dans l'étude, il y a 67 logettes, 46 aires paillées (AP) et 20 litières accumulées (Lit Acc).

La méthode de prélèvement est la même quel que soit le type de logement : échantillonnage en 4 points (en logette, ces échantillons doivent être prélevés dans le tiers arrière de la logette), puis mélange des échantillons et mise sous

scellé. Les échantillons sont envoyés par la poste au laboratoire qui fait les analyses.

L'analyse quantifie la flore mésophile anaérobie totale (FMAT), les bactéries lactiques (BL), les flores sporulées (Sp), les entérobactéries (ENT), les coliformes fécaux (Cf), les levures-moisissures (LM) et les bactéries anaérobiques sulfito-réductrices (ASR). Les BL et les Sp sont des flores dites bénéfiques alors que les ENT, les Cf, les LM et les ASR sont potentiellement pathogènes. La FMAT est un indicateur de colonisation de la litière, une litière contient généralement entre 10^8 et 10^{10} Unité formant colonie (UFC)/g de litière (Cauquil, 2011). Les Cf font partis des ENT.

Les méthodes de dosages utilisées sont : NF ISO 4833 Juillet 1991 (à 30°C) pour la FMAT, NF V 04-503 Septembre 1988 adaptée pour BL, NF ISO 4833 Juillet 1991 pour Sp, NF V08-054 Février 1999 pour ENT, NF V08-050 Avril 2009 à 30°C pour Cf, NF ISO 7954 Aout 1988 pour les LM et NF V08-061 pour ASR.

Les données sont exprimées en log d'UFC/g de litière.

Dans un premier temps, l'étude s'intéresse à l'évolution de la composition de la litière au cours des ans ensuite une comparaison de la contamination sera faite selon les différents types de logement. Cempirkova (2007) a en effet prouvé que la contamination du lait n'est pas la même en fonction du type de logement.

Les moyennes, les écart-types et les graphiques ont été fait grâce à Microsoft Excel 2019.

L'étude statistique a été menée sur le logiciel R, les moyennes ont été comparées avec un test de Student.

2. RESULTATS

2.1. PREMIERE ETUDE : EVOLUTION DE LA COMPOSITION DE LA LITIERE AU COURS DU TEMPS

L'évolution de la production et qualité du lait est suivie en continue : pas celle de la contamination environnementale. Cette étude illustre l'évolution du profil microbiologique de litières de VL au cours du temps (figure 1).

La FMAT varie entre 8,26 (+/-1.54) et 8,9 (+/-1.85) log UFC/g de litière. Ce chiffre est stable et correspond aux données présentes dans la bibliographie actuellement (Cauquil, 2011) : 500 000 000 UFC/g soit 8,5 log UFC/g environ.

Le suivi des ENT et Cf montre une présence décroissante de cette flore dans les échantillons au cours du temps : 10 000 000 en 2012 contre 1 000 000 en 2019 environ soit 10 fois moins d'ENT et de Cf sur les zones de couchages étudiées (figure 2).

D'autres constats moins positifs : à l'inverse, les ASR, autre flore potentiellement pathogène, sont apparues et sont de plus en plus présentes dans les litières aujourd'hui : en moyenne, 100 UFC/g sont comptabilisées contre 5 il y a 7 ans. Les ASR se développent en situation d'anaérobiose et donc en même temps que d'autres bactéries comme les Tréponèmes qui sont responsable de la dermatite digitée (Mortellaro) par exemple (figures 3).

Les populations de Sp ont tendances à baisser depuis 2012. On observait alors 250 000 UFC par gramme de litière contre 100 000 aujourd'hui

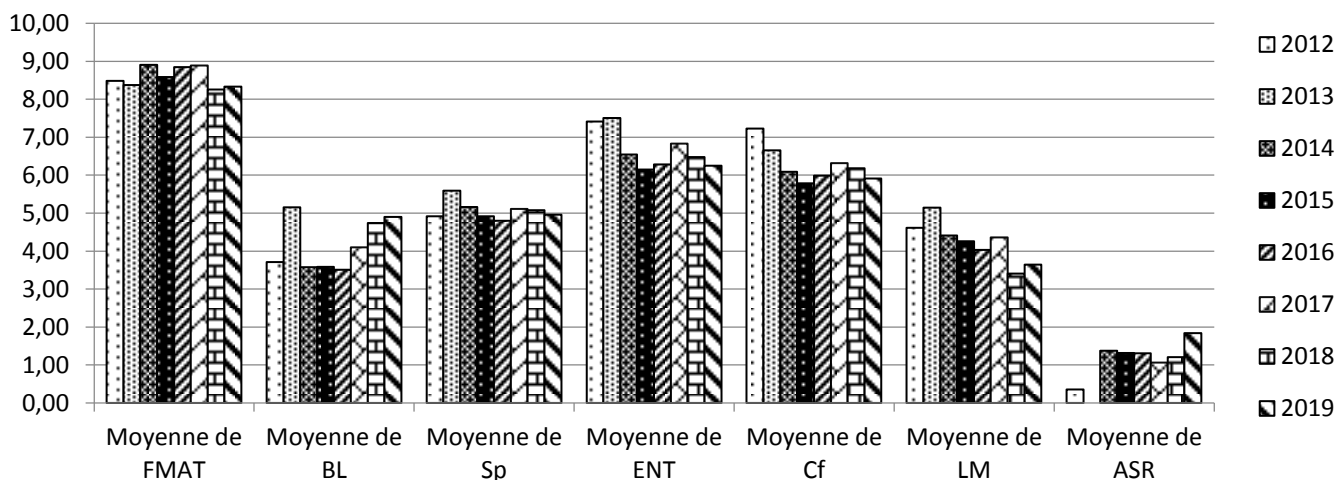


Figure 1 Evolution au cours des ans de la qualité sanitaire de la litière des vaches laitières en France depuis 2012 (log UFC/g de litière)

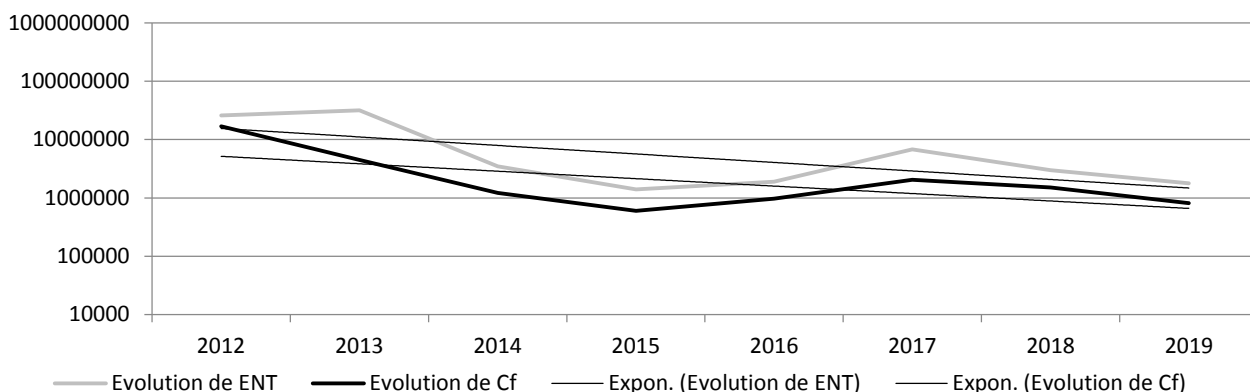


Figure 2 Evolution de la population bactérienne (avec courbes de tendances en ENT et Cf depuis 2012 dans les litières de vaches laitières en France (UFC/g de litière)

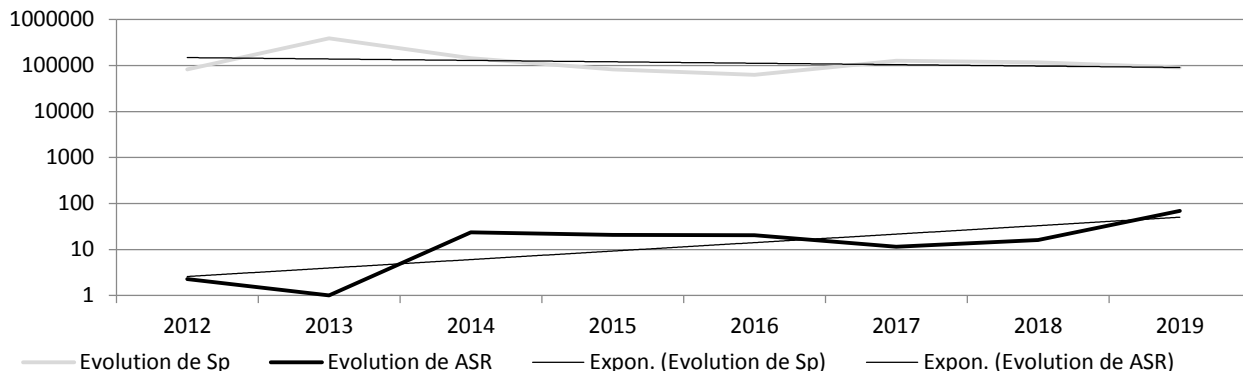


Figure 3 Evolution des populations en Sp et ASR depuis 2012 dans les litières de vaches laitières en France (UFC/g de litière)

2.2. SECONDE ETUDE : COMPARAISON DE LA COMPOSITION MICROBIENNE DES LITIÈRES SELON LES DIFFÉRENTS TYPES DE LOGEMENT

Cette étude a pour but de vérifier s'il y a une différence sanitaire entre les types de logement en élevage bovin laitier comme certaines études bibliographiques antérieures ont pu le démontrer.

2.2.1. Analyse en logarithme bactérie par bactérie

Aucune comparaison entre les types de logement ne montre d'effet significatif sur les comptages des différents types de microorganismes observés. Cela s'explique par la variabilité inter-élevages et inter-années. Les résultats présentés sont des tendances fortes à l'échelle des 133 élevages étudiés.

Des différences sont observables sur les bactéries positives : la figure 4 montre les variations de la composition microbienne des litières en logette, aire paillée et litière accumulée.

Les flores sporulées sont plus nombreuses dans les logettes (5,15 log UFC/g) tandis que les Lit Acc sont celles qui en ont le moins (4,55 log). C'est dans l'aire paillée que nous observons le plus de BL (4,42 log). Alors que les Lit Acc sont là encore les moins chargées en flore (3,76 log). Pour les flores pathogènes, il n'y a pas de véritables différences selon les types de logements sur les ENT. Il y a légèrement plus de Cf et de LM dans les Lit Acc (respectivement 6,27 log et 4,29 log). A l'inverse, c'est le type de litière le moins chargé en ASR (0,90 log contre 1,6 et 1,21 respectivement pour les aires paillées et les logettes).

Ces résultats sont difficiles à analyser compte-tenu des écart-types importants et des variations de FMAT. En effet, si la FMAT est plus importante, alors il y a plus de bactéries dans le milieu et un effet de dilution apparaît. Il faudrait donc faire une analyse en pourcentage de FMAT ou en rapportant les flores étudiées sur une base FMAT=10⁹. C'est finalement cette dernière option qui a été retenue (figure 5).

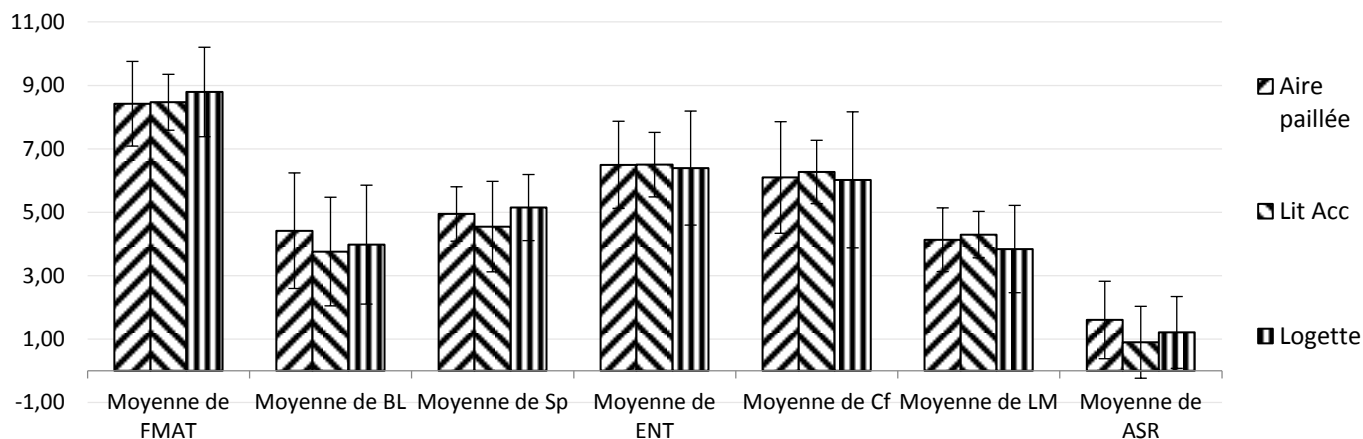


Figure 4 Evolution des populations bactériennes depuis 2012 dans les litières de vaches laitières en France (UFC/g de litière)

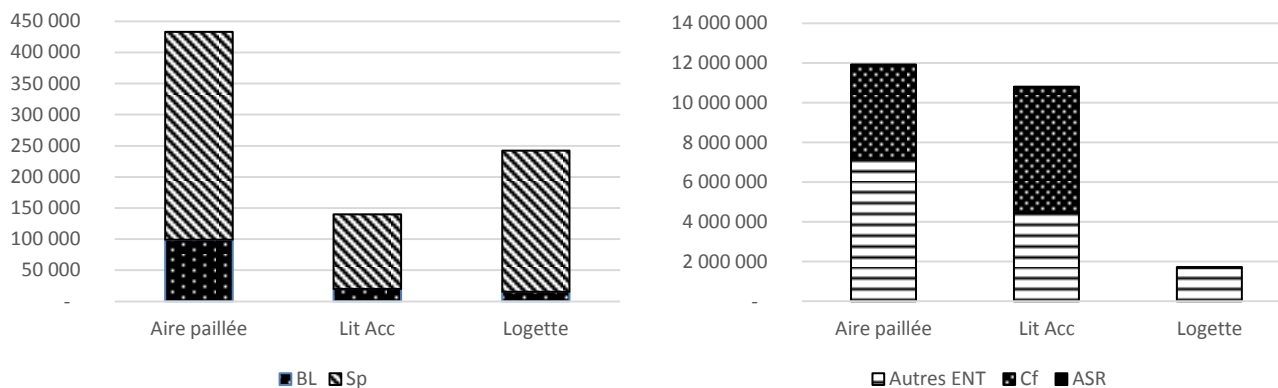


Figure 5 Comparaison de la qualité sanitaire des litières (flores positives (BL et Sp) à gauche et flores pathogènes (ENT, Cf et ASR) à droite) en fonction du type de logement en vache laitière en France (graphique sur une base FMAT= 10⁹)

2.2.2. Analyse en base FMAT

Le risque sanitaire apparaît lorsqu'un déséquilibre microbien entre les flores pathogènes et les flores bénéfiques est créé. Nous nous intéressons donc au rapport entre le total des flores pathogènes suivies par nos analyses (ENT+ASR) et le total des flores bénéfiques (Sp+BL)

Pour une FMAT d'1 milliard d'UFC/g de substrat de litière/logette, il y a en moyenne 432 967 UFC de flores bénéfiques par grammes de litière d'aire paillée, 241 924 dans le cas de logettes et 139 665 UFC dans le cas d'une Lit Acc.

En ce qui concerne le total de flores pathogènes, l'aire paillée en contient 11 896 039 UFC/g de litière, la logette 1 705 262 et la Lit Acc 10 781 545.

Dans ces échantillons :

- Niveau de flores positives : Aire paillée > Logette > Lit Acc
- Niveau de pathogènes : Aire paillée > Lit Acc > Logette

Dans les logettes, les aires paillées et les Lit Acc, il y a respectivement 8, 28 et 77 fois plus de flores pathogènes que de flores bénéfiques.

3. DISCUSSION

Tout d'abord, nos résultats de FMAT, nous confirment dans un premier temps que notre méthode d'échantillonnage et d'analyse est fiable et répétable. L'évolution dans le temps (pratiques d'élevage, climat) n'a pas impacté le nombre total de bactéries (FMAT) présentes dans les litières. Mais des évolutions apparaissent sur la proportion de chaque flore dans le milieu. L'étude met en évidence une baisse des flores bénéfiques (Sp) et des ENT (pathogènes) tandis que de nouvelles souches pathogènes sont apparues : les ASR. La baisse de certaines populations bactériennes (ex : Sp ou ENT) peut être liée à de meilleures pratiques d'hygiène dans les élevages aujourd'hui (utilisation régulière de produits asséchants ou désinfectants). Simultanément, l'augmentation de la densité d'animaux dans les élevages (aires paillées comme logettes) et peut être aussi l'utilisation répétée de pratiques de désinfection ont pu permettre une installation progressive de souches plus résistantes, comme les ASR, dans les litières.

La comparaison des résultats entre les différents types de logements montre par ailleurs que, dans les élevages suivis, les logettes sont moins à risques que les aires paillées qui le sont moins que les Lit Acc. Cela semble logique car les

logettes sont les logements les plus raclés alors que les Lit Acc sont en places depuis plus de 6 semaines, laissant les bactéries se développer.

Ces résultats ne sont pas forcément généralisables à d'autres élevages et sont une photo de ceux suivis. Plusieurs études démontrent que les logettes sont plus sources de boiteries que AP (Palmer et O'Connell, 2015). Problèmes favorisés lorsque les logettes sont mal dimensionnées et que les pattes arrières restent dans la zone de raclage (Laven, 2000). Le lien entre logette et boiterie semble donc plus dû à l'agencement des bâtiments qu'au degré de contamination de ce logement par rapport aux autres.

CONCLUSION

Les éleveurs ont fait évoluer leurs pratiques afin de mieux gérer et limiter les maladies dans les élevages. Mais dans le même temps, les élevages sont devenus de plus en plus grands et intensifs avec une plus grande densité d'animaux, des performances de plus en plus hautes et de moins en moins de personnel. Les logements ont également changé : la logette devient de plus en plus fréquente (moins de main d'œuvre, économie de paille,...). Tout cela et l'utilisation de certaines pratiques modifient le microbiome des logements. Lorsqu'on compare les types de logements, on note quand même une disparité des résultats avec des Lit Acc plus à risque que les logettes.

Suite à cet état des lieux de la contamination des litières des vaches laitières en France, cette étude a été prolongée pour caractériser l'effet de l'ensemencement de bactéries Sp et BL dans les zones de couchages. Le but est de déterminer si l'ajout de flores positives permet de réguler le développement des flores pathogènes et de diminuer le risque sanitaire dans les élevages français.

Cempirkova, R. 2007. Czech Journal of Animal Science. 11 (52), 387-393.

Cauquil, A. 2011. Thèse vétérinaire.

Laven, R. 2000. Milk Development Council Study 95/R1/11. Milk Development Council: Cirencester; 1-45.

Magnuson, M., Christiansson, A. et SVENSSON, B. 2007. Journal of Dairy Science. 90, 2745-2754.

Murphy, S.C. et BOOR, K.J. 2010. [online] [Août 2019].

Palmer, M.A. et O'Connell, N.E. 2015. Animals 2015, 5, 512-535

Zdanowicz, M., Shelford, A., Tucker, C.B., Weary, D.M. et Von Keyserlingk, M.A.G. 2004. Journal of Dairy Science. 87, 1694-170