

## II. — DIGESTION BACTÉRIENNE

### *BACTERIAL DIGESTION*

## NOTE TECHNIQUE SUR L'OBTENTION ET L'ÉLEVAGE DE JEUNES RUMINANTS AXÉNIQUES

Y. RIOU et Ph. GOUET

*Laboratoire de Microbiologie,  
Centre de Recherches de Clermont-Ferrand, I. N. R. A.,  
Theix, 63110 Beaumont*

---

L'étude analytique des relations entre l'hôte et sa microflore implique d'utiliser des animaux à flores contrôlées (gnotoxéniques) et par conséquent de produire des animaux germ-free (axéniques). C'est dans ce but que la technique de production décrite ci-dessous a été mise au point au Laboratoire de Microbiologie du C. R. Z. V. de Theix, sur des ovins et des caprins.

L'enceinte ou isolateur, utilisé pour faire naître et élever des animaux axéniques, se compose d'une enveloppe en chlorure de polyvinyle souple et transparente, sur laquelle sont fixés des gants de néoprène. L'enceinte est stérilisée, après lavage, avec une solution à 3 p. 100 d'acide péracétique. La ventilation est assurée par de l'air stérilisé sur un filtre de laine de verre. Tous les matériels à introduire dans les isolateurs, éléments de cage, outils chirurgicaux, vaisselle, sont stérilisés à l'autoclave ou au four Pasteur, dans des containers en acier inoxydable obturés par une membrane de Milar, puis transférés dans le secteur stérile par un sac à double porte.

Trois types d'isolateurs sont nécessaires à la production de petits ruminants axéniques : l'« isolateur chirurgical » permet de pratiquer la césarienne aseptique ; dans l'« isolateur de transfert », connecté au précédent, on réanime les nouveau-nés ; le troisième isolateur, nettement plus volumineux, sert à l'élevage et aux mesures expérimentales.

L'« isolateur chirurgical » est un cylindre de chlorure de polyvinyle de 700 mm de diamètre et de 1 500 mm de long. Dans le fond de cette enceinte, et avant stérilisation, une ouverture de 270 mm × 270 mm est découpée, puis obturée à l'aide d'un champ opératoire auto-adhésif stérile.

L'« isolateur de transfert », de modèle standard (600 × 600 × 1 500 mm) est équipé d'une prise de vide pour faciliter le dégagement des voies respiratoires des nouveau-nés ; ceux-ci sont essuyés avec des serviettes déposées dans l'enceinte avant l'opération.

L'« isolateur d'élevage » (800 × 1 500 × 2 000 mm) contient une cage à bilan en acier inoxydable, un peson, divers récipients en matière plastique autoclavables. Tous les éléments de cette cage doivent être démontables pour pouvoir être stérilisés dans les containers et passer par le sas. A cet isolateur est connecté un réservoir de lait stérile d'une capacité de 50 à 100 litres.

Les agneaux axéniques sont obtenus par césarienne aseptique sur des brebis ayant 148 à 149 jours de gestation. Pour disposer d'agneaux tout au long de l'année nous pallions le cycle sexuel saisonnier des ovins par la synchronisation des chaleurs. De plus, pour connaître de façon précise les dates de saillie et de mise-bas, nous pratiquons l'insémination artificielle. Malgré cela, il est encore nécessaire de disposer de 2 à 3 femelles gestantes par césarienne si l'on veut planifier la production sur toute l'année.

Avant la césarienne, la partie gauche de l'abdomen de la brebis est rasée, savonnée, puis désinfectée avec de la teinture d'iode. On pose alors l'« isolateur chirurgical » qui adhère au flanc de l'animal par l'intermédiaire du champ opératoire auto-adhésif et stérile. Lors de la césarienne proprement dite, le champ opératoire et la paroi abdominale de la mère sont incisés simultanément. Après extirpation et incision d'une corne utérine, les agneaux sont extraits puis placés dans l'« isolateur de transfert » pour y être réanimés.

Ces animaux sont ensuite élevés dans des cages à bilan, à raison de deux animaux par cage. Ils reçoivent, *ad libitum*, un lait de vache entier, homogénéisé et stérilisé à 150°C pendant 2,4 secondes (lait UHT). Ce lait est conditionné, lors de la stérilisation, en bidon de 50 à 150 litres, puis soutiré dans l'enceinte d'élevage au fur et à mesure des besoins à l'aide d'une tubulure stérile.

Les analyses bactériologiques des prélèvements de fèces, effectuées tous les trois jours, permettent de contrôler l'état axénique des animaux. A cet effet une gamme de six milieux différents sont inoculés avec les fèces puis incubés à 37°C en aérobiose et en anaérobiose. Jusqu'à présent, sur 4 césariennes qui ont fourni 5 agneaux, une seule contamination due à une erreur de manipulation a été enregistrée. Les animaux généralement *Limousin-Romanoff*, ont été gardés à l'état axénique en moyenne une vingtaine de jours et ont eu une croissance d'environ 230 g par jour. Sur ces 5 agneaux, le premier a été abattu à la sortie de l'isolateur, le second est mort après inoculation d'une souche d'*E. coli* pathogène et trois autres ont été conventionnalisés.

## SUMMARY

### TECHNICAL NOTE ON THE OBTENTION AND REARING OF YOUNG GERM-FREE RUMINANTS

The analytical study of relationships between the host and its microflora implies utilization of animals with controlled flora (gnotoxenic) and consequently production of germ-free animals (axenic). For this purpose a production technique for ovines and caprines has been perfected in the Laboratory of Microbiology of the C. R. Z. V. in Theix.

The enclosed space or isolator used for birth and rearing of the axenic animals was composed of a supple and transparent polyvinyl chloride covering fitted with neoprene gloves. The isolator was sterilized, after washing, with a 3 p. 100 peracetic acid solution. Ventilation was ensured by sterilized air on a glass wool filter. All materials to be introduced into the isolators (cage elements, surgical instruments, dishes) were sterilized in the autoclave or in the Pasteur sterilizer, in stainless steel containers obturated by a mylard film, the transfer into the sterile isolator was made by means of a sterile lock.

Three types of isolators have been used for the production of small axenic ruminants: the « surgical isolator » allowing aseptic caesarian section; the « transfer isolator » connected to the previous one used for reanimation of the newborn animals; the third much larger isolator was used to rear the animals and to realize the experimental measurements.

The « surgical isolator » is a cylinder made of polyvinyl chloride with a diameter of 700 mm and a length of 1 500 mm. Before sterilization, an 270 mm × 270 mm opening was cut out of the bottom of the isolator and then obturated by means of an instant sterile drape surgical film.

The « transfer isolator » is a standard model (600 × 600 × 1 500 mm) fitted with a vacuum valve to facilitate the liberation of air passages in the newborn animals. The latter were wiped with towels put into the isolator before the operation.

The « rearing isolator » (800 × 1 500 × 2 000 mm) contains a balance cage in stainless steel, a scales, and various sterilized plastic recipients. All the elements of this cage can be taken to before pieces they are sterilized in the containers and passed through the sterile-lock. A reservoir of sterile milk (50 to 100 l) is joined to the isolator.

The axenic lambs were obtained by aseptic caesarian section in ewes after 148 to 149 days of pregnancy. The seasonal oestrus cycle was palliated by synchronization of heats in order to obtain lambs all over the year. In addition, with the aim of knowing the dates of mating and parturition, we practised artificial insemination. In spite of this, it is still necessary to dispose of 2-3 pregnant females per caesarian section if the production is to be planified over the whole year.

Before the caesarian section, the left side of the abdomen was shaved, washed with soap and disinfected with iodine tincture. Thereafter the « surgical isolator » was placed against the side of the animal by means of the instant sterile drape surgical film. At the moment of the caesarian intervention, the sterile drape surgical film and the abdominal wall of the ewe were incised simultaneously. After extirpation and incision of an uterine horn, the lambs were withdrawn and placed in the « transfer isolator » in order to be reanimated.

Thereafter the animals were reared in balance cages (2 animals/cage). They were fed *ad libitum* on whole cow milk, homogenized and sterilized at 150°C for 2.4 seconds (UHT milk). At the sterilization the milk was filled into milk cans (50-100 l) and then transferred into the « rearing isolator », according to demands, by means of a sterile tubulation.

A control of the axenic state of the animals was made by means of bacteriological analysis of faeces samples, taken every third day. A range of 6 different media were inoculated with the faeces and then incubated at 37°C in aerobiosis and anaerobiosis. Up till now, only one contamination, due to an error of handling, has been recorded among the 5 lambs from 4 caesarian operations. The animals (generally the *Limousin-Romanoff* breed) were kept germ-free for a mean period of about 20 days and their weight gain was 230 g per day. Among these 5 lambs, one was slaughtered when leaving the isolator, another died after inoculation of a pathogenous *E. coli* strain and the three others were conventionalized.

---

## ÉTUDE DE LA STRUCTURE FINE DU GLUCIDE DE RÉSERVE DU PROTOZAIRE « GREGARINA BLABERAE »

Christiane MERCIER

*Station de Biochimie et Physico-Chimie des Céréales,  
C. E. R. D. I. A. I. N. R. A.,  
91305 Massy*

---

Le glucide de réserve du protozoaire *Gregarina blaberae*, parasite des Invertébrés, a été identifié, selon la littérature, à de l'amidon, par son aspect physique (taille et forme), sa biréfringence en lumière polarisée et son insolubilité dans l'eau froide. La coloration de son complexe avec l'iode lui confère par contre la structure du glycogène ; ce qui explique les divers noms utilisés pour désigner ce glucide ; paraglycogène, zooamylon, glycogène, le terme de paraglycogène étant le plus courant chez les grégarines.

Les travaux de cytochimie et d'ultrastructure effectués récemment par SCHREVEL (1970) sur le glucide isolé du trophozoïte de grégarine par traitement alcalin sont en faveur d'un glucide du type amylopectine, constituant ramifié de l'amidon.

L'étude de la structure de ce glucide par les méthodes classiques telles que la détermination de la longueur d'onde maximum d'absorption ( $\lambda_{max}$ ) de son complexe avec l'iode, de la longueur