

Intérêts et limites de l'utilisation de la technique des sachets pour l'étude de la digestion ruminale

La large diffusion de la technique des sachets pour estimer la quantité de matières azotées alimentaires qui échappe à la dégradation ruminale a conduit les utilisateurs à étendre le domaine d'application de cette technique à d'autres compartiments du tube digestif, l'intestin par exemple, pour apprécier la digestibilité intestinale de la fraction azotée alimentaire, ou à d'autres constituants des aliments, constituants pariétaux et amidon. L'objectif de ce texte est de faire le point sur l'utilisation de cette technique en rapportant, pour chaque constituant, les relations entre les données *in sacco* et les résultats obtenus *in vivo*, ainsi que les limites de la technique pour chacune des utilisations proposées.

Résumé

La technique *in sacco* a été largement utilisée pour estimer la dégradation ruminale des matières azotées alimentaires. Plusieurs comparaisons entre mesures *in sacco* et mesures *in vivo* ont conduit à des équations de prévision similaires, validant cette technique dans le cadre de cette utilisation. Cette technique peut cependant être à l'origine de biais dans le classement des aliments en terme de quantité de matières azotées dégradée *in sacco*, biais liés au conditionnement des échantillons, à la contamination microbienne des résidus de sachets, à l'impossibilité de prendre en compte la fraction azotée soluble et non dégradée. L'importance relative de ces biais est discutée dans cet article.

L'utilisation de la technique des sachets a été étendue à d'autres domaines d'application, tels que la prévision de la digestion ruminale des glucides, de la valeur d'encombrement des fourrages, ou encore des interactions digestives ruminales. La validation de ces différentes utilisations souffre encore toutefois du faible nombre de comparaisons entre mesures *in vivo* et mesures *in sacco*. L'influence du mode de présentation des échantillons dans les sachets, qui conditionne l'accessibilité des constituants alimentaires, amidon ou parois végétales, aux enzymes microbiennes, constitue la principale source de biais dans l'estimation de la digestion ruminale de ces constituants.

La technique des sachets est très ancienne. Elle fut utilisée la première fois par Quin *et al* (1939). Elle fut ensuite reprise par Balch et Johnson (1950) pour appréhender l'activité cellulolytique dans les différents compartiments du rumen, et par Demarquilly et Chenost (1969) pour estimer la digestibilité des aliments à partir de la quantité de matière sèche restant présente dans le sachet après une période d'incubation dans le rumen. Mais dans tous ces travaux, il n'y avait pas d'approche en terme de cinétique de dégradation. Il faut attendre la fin des années 70 pour que cette technique soit utilisée pour apprécier la vitesse de dégradation des aliments dans le rumen. Elle a alors été largement utilisée pour prévoir la dégradation des matières azotées alimentaires dans le rumen et a servi de base à l'élaboration de nombreux systèmes d'évaluation de la valeur azotée des aliments pour les ruminants : système PDI en France

(INRA 1978, Vérité *et al* 1987), AAT-PBV en Scandinavie (Madsen 1985)...

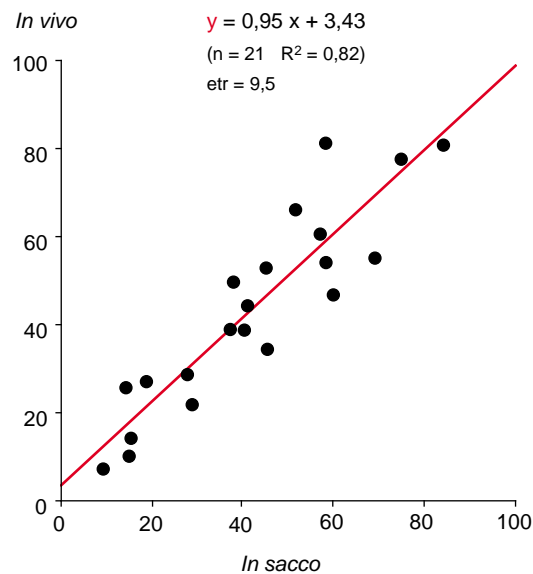
En France, cette technique a été standardisée pour mesurer la dégradation des constituants azotés alimentaires (Michalet-Doreau *et al* 1987) et des valeurs de dégradabilité de la fraction azotée des aliments ont été publiées lors de la présentation des systèmes azotés (Vérité *et al* 1987, Michalet-Doreau 1992). Dans une perspective d'évolution des concepts des systèmes d'alimentation énergétique, ceux-ci devront reposer sur la quantification des flux de nutriments absorbés, à la façon des PDI qui correspondent à des flux d'acides aminés absorbés. Dans cette problématique, le rumen joue un rôle essentiel en terme de digestion des aliments et de fourniture de nutriments entrant dans la circulation sanguine. Si la digestion de la fraction pariétale des aliments a lieu essentiellement dans le rumen, la digestion de la fraction amylacée se répartit entre le rumen, l'intestin grêle et le gros intestin. Suivant le site de digestion de cette fraction amylacée, la nature des produits terminaux de la digestion varie, à savoir acides gras volatils pour le rumen et le gros intestin et glucose pour l'intestin grêle. Au cours des dix dernières années, un débat a eu lieu concernant l'optimisation de l'utilisation de l'amidon par les ruminants. La notion d'amidon rapidement ou lentement dégradable a vu le jour, avec des possibilités de contrôle de la vitesse de digestion de l'amidon en fonction de la céréale utilisée ou de son traitement technologique. La technique des sachets a alors été utilisée pour apporter des éléments de réponse en terme de vitesse de digestion de l'amidon (Sauvant *et al* 1994). A un niveau plus intégré, ces dernières années ont également vu apparaître une prolifération de modèles visant à mieux décrire l'utilisation digestive des aliments par les ruminants. Ces modèles ont pour objectif de simuler au mieux les principaux processus digestifs, dont l'approche, de plus en plus compliquée, nécessite la mise en jeu d'un nombre toujours plus grand de paramètres. Un maillon important de tous ces modèles de digestion ruminale concerne la connaissance des cinétiques de dégradation des constituants alimentaires. Or la technique des sachets est une méthode de choix pour apprécier ces cinétiques.

La technique des sachets permet de prévoir les quantités de matières azotées dégradées dans le rumen.

1 / Une approche de la digestion ruminale et intestinale de la fraction azotée alimentaire

Dans la plupart des systèmes d'évaluation de la valeur azotée des aliments, il est nécessaire de pouvoir apprécier la quantité de protéines alimentaires qui échappe à la dégradation microbienne dans le rumen. La mesure directe sur animaux fistulés est lourde et coûteuse, aussi des méthodes de substitution ont été proposées. Parmi celles-ci, la méthode des sachets est de loin la plus utilisée actuellement. Elle permet de suivre la cinétique de dégradation des constituants azotés alimentaires, et de prendre en compte par un modèle déterministe le deuxième facteur qui condi-

Figure 1. Relation entre la dégradabilité *in sacco* des matières azotées alimentaires et leur digestion ruminale mesurée *in vivo* (d'après Poncet *et al* 1995).



tionne le dégradabilité de l'aliment, à savoir le rythme d'évacuation de l'azote des particules alimentaires non dégradées hors du rumen.

La validation du choix de cette technique pour estimer la dégradation de l'azote alimentaire dans le rumen passe par l'étude des relations entre des mesures *in vivo* et des mesures *in sacco*. Trois séries de comparaison ont été réalisées. Dans le système PDI, Vérité *et al* (1987) ont donné la priorité à une approche globale de la prédiction du flux total d'azote au niveau duodénal. A partir d'une base de données constituée de 405 bilans digestifs, une équation générale de prévision du flux d'azote non ammoniacal qui arrive au niveau duodénal a été proposée avec pour estimateurs des trois fractions azotées duodénales, alimentaire, microbienne et endogène, respectivement les matières azotées non dégradées *in sacco*, la quantité de matière organique fermentescible dans le rumen et la quantité de matière organique indigestible. Dans cette équation de prévision, la quantité d'azote alimentaire qui échappe à la dégradation ruminale était égale à 1,11 fois la quantité non dégradée *in sacco*. Des comparaisons entre les résultats des mesures *in vivo* et *in sacco* réalisées au sein d'un même essai, ont également montré des relations très étroites (etr = 9,3 avec 11 aliments, Madsen et Hvelplund 1985 ; etr = 9,9 avec 8 aliments, Vérité *et al* 1987). Plus récemment, Poncet *et al* (1995) ont regroupé dans une même base de données cinq essais dans lesquels était mesurée simultanément la dégradation des matières azotées alimentaires par la méthode des sachets et par des mesures de flux au niveau duodénal, soit 21 comparaisons. L'ordonnée à l'origine de la droite de régression liant les deux paramètres correspondait à un effet " essai ", mais la pente de la droite de régression était la même et ne différait pas significativement de 1 quel que soit l'essai considéré (figure 1). Dans ces trois approches, global, intra-essai ou inter-essais, les relations entre mesures *in vivo* et

mesures *in sacco* donnent des résultats comparables, à savoir une variation de 10 points de la dégradation *in sacco* de l'N se traduit en moyenne par une variation de 10 points de la dégradation ruminale des matières azotées alimentaires. Ces résultats sont en accord avec le fait que les différences d'activité protéolytique des micro-organismes présents dans le sachet et dans le contenu ruminal ont été relativement minimales (Michalet-Doreau et Nozière 1998).

Néanmoins certains problèmes subsistent en ce qui concerne le conditionnement des échantillons dans les sachets et la contamination microbienne des résidus, ces deux facteurs pouvant être à l'origine de biais dans le classement des aliments. Pour homogénéiser l'échantillon et mimer l'effet de la mastication avant incubation dans le rumen, les aliments sont broyés. En France, la grille de broyage retenue dans le cadre de l'évaluation de la valeur azotée des aliments est de 0,8 mm (Michalet-Doreau *et al* 1987). A la suite d'un séminaire européen organisé par Jarrige et Alderman (1987), un questionnaire concernant la méthodologie de mesure de la dégradabilité *in sacco* de la fraction azotée des aliments a été envoyé dans plus de 20 pays, et les premières bases d'une méthode de mesure standardisée ont été proposées par Madsen et Hvelplund (1994). Un broyage des aliments avec une grille de 1,5 à 2,5 mm a été retenu. Plus récemment, les revues bibliographiques d'Huntington et Givens (1995) et de Vanzant *et al* (1998) ont montré qu'en moyenne la grille de broyage de 2 mm était deux fois plus utilisée que celle d'1 mm. Or la dégradabilité augmente avec la finesse de broyage et, d'après Michalet-Doreau et Cerneau (1991), cette diminution est constante et égale à 5 points quand la grille de broyage passe de 0,8 à 3 mm (figure 2). Toutefois le nombre d'éléments de cette comparaison dans cette étude est faible ($n = 6$) et ces résultats devraient être validés sur un nombre plus important de données. Par ailleurs, une même diminution de la valeur de dégradabilité de 5 points entraîne une augmentation de la teneur en PDIA d'amplitude variable suivant la teneur en MAT de aliments, se traduisant éventuellement par des modifications dans la hiérarchie des aliments en terme de PDI.

Il est implicitement admis dans la technique des sachets que les constituants azotés qui quittent le sachet sont immédiatement dégradés dans le rumen et ne participent donc pas à la fourniture d'acides aminés d'origine alimentaire, et que la quantité d'azote qui reste dans le sachet correspond à la fraction azotée alimentaire non dégradée. Or certains peptides ou protéines solubles subsistent dans le milieu d'incubation (Aufrère *et al* 1994) et s'accumuleraient temporairement dans le rumen (Williams et Cockburn 1991). Cette hypothèse a été confirmée par les études menées par Rémond *et al* (1997) sur le pois, dans lesquelles une quantité non négligeable d'azote soluble non ammoniacal transite avec la phase liquide du rumen et contribue à augmenter le flux d'azote alimentaire au niveau duodécal de 30 %. Quant à la MS présente dans le sachet après incubation, elle a essen-

Figure 2. Relation entre la dégradabilité *in sacco* des matières azotées alimentaires mesurée sur 6 échantillons broyés à 0,8 mm et à 3 mm (d'après Michalet-Doreau et Cerneau 1991)

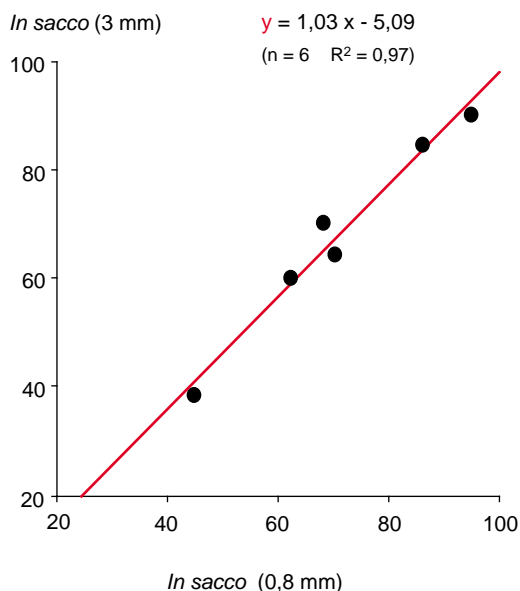
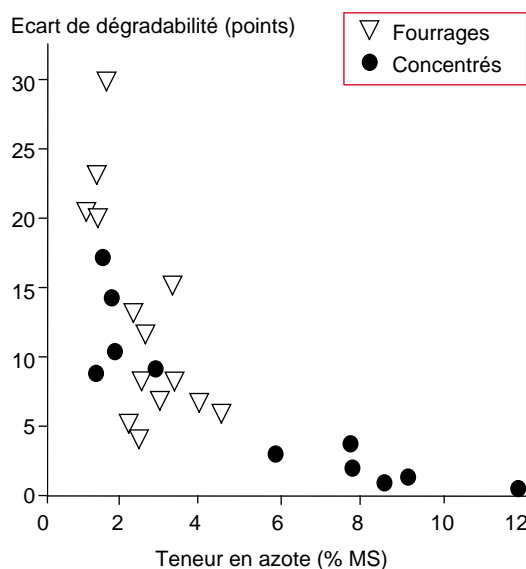


Figure 3. Relation entre la sous-estimation de la dégradabilité des matières azotées due à la contamination bactérienne des sachets et la teneur en azote des fourrages et des concentrés (d'après Michalet-Doreau et Ould-Bah 1992, Wanderley *et al* 1993, Beckers *et al* 1995)



tiellement pour origine l'aliment, mais une proportion variable est d'origine microbienne. Cette contamination du résidu alimentaire par de la MS microbienne représente en moyenne de 5 à 10 % de la MS présente dans le sachet. Cette proportion varie avec la durée d'incubation des sachets dans le rumen. Elle augmente au cours des premières heures d'incubation puis reste stable (Ould-Bah *et al* 1988, Beckers *et al* 1995, Wanderley *et al* 1999). Elle dépend également de la nature de l'aliment. Après 24 h d'incubation dans le rumen, la proportion de MS d'origine microbienne représente 7 % du résidu sec pour le tourteau de soja et 19 % pour le maïs (Bernard

et al 1988). Cette contamination bactérienne conduit à une sous-estimation de la dégradabilité de l'azote alimentaire d'autant plus importante que la teneur en azote de l'aliment est faible. Cette sous-estimation est élevée, 10 points en moyenne, et varie dans des proportions importantes suivant la teneur en azote des aliments, de 8 à 15 points pour des fourrages quand leur teneur en azote passe de 3 à 1 % ; elle est nulle pour la farine de poisson et atteint 17 points pour une pulpe de betterave (figure 3). La contamination microbienne conduit donc à un biais dans le classement des aliments et des techniques ont été proposées pour essayer de détacher les micro-organismes des résidus alimentaires. Le lavage des sachets après incubation a pour effet non seulement de stopper l'activité hydrolytique des micro-organismes présents dans le sachet, mais également de décrocher les micro-organismes adhérents aux particules. Mais, comme on l'a vu précédemment, le lavage reste insuffisant et d'autres techniques ont été testées, qu'il s'agisse de traitements physiques ou chimiques. La technique la plus utilisée actuellement en France consiste en une alternance de congélation - décongélation associée à un " battage " des sachets au " stomacher " (Michalet-Doreau et Ould-Bah 1992, Dulphy et al 1999). Mais cette technique reste relativement lourde à mettre en œuvre et ne permet pas d'enlever totalement la biomasse microbienne fixée sur les résidus de sachets, elle entraînerait également une perte de la fraction alimentaire elle-même (Beckers et al 1995). Une alternative consiste à estimer l'erreur liée à la contamination microbienne à partir des teneurs en MAT et en NDF du fourrage à partir de l'équation suivante (Michalet-Doreau et Ould-Bah 1989) :

$$\Delta \text{DegN} = 6,4 - 0,353 \text{ MAT} + 0,170 \text{ NDF}$$

$$(n = 51, \text{etr} = 1,9)$$

dans laquelle ΔDegN correspond à l'écart entre la dégradabilité mesurée avant et après passage des sachets au stomacher, les teneurs en MAT et en NDF étant exprimées en % MS. Mais cette équation a été établie à partir de mesures réalisées sur fourrages, elle n'est donc utilisable que pour des fourrages. Il est par ailleurs nécessaire de relativiser l'impact de la contamination microbienne quand on raisonne non plus en terme de dégradabilité, mais en terme de quantité de matières azotées dégradées *in sacco*, dans la mesure où les erreurs les plus importantes sont associées aux teneurs en azote les plus faibles.

La technique des sachets a également été appliquée à l'estimation de la digestibilité intestinale des protéines alimentaires (Hvelplund 1985, Rae et Smithard 1985, de Boer et al 1987, Vérité et al 1987). Quelques modifications ont été apportées à la technique initiale : après avoir subi une incubation d'une durée variable

dans le rumen, le sachet contenant l'aliment est introduit par une canule duodénale dans l'intestin où il transite librement, il est ensuite récupéré à la fin de l'intestin grêle ou dans les fèces afin de déterminer la quantité azotée résiduelle non digérée dans cette portion du tube digestif. Cette quantité dépend de nombreux facteurs :

- la durée d'incubation préliminaire dans le rumen. La part de la MS alimentaire qui disparaît dans le rumen augmente avec la durée d'incubation et le contenu du sachet s'enrichit en constituants lentement ou peu dégradables. Aussi la part d'azote alimentaire qui disparaît dans l'intestin grêle diminue quand le temps d'incubation des sachets dans le rumen augmente (Hvelplund et al 1991, Yang 1991), et l'importance de cette diminution varie avec la nature du fourrage (Vanhatalo et al 1996) ou du concentré (Volden et Harstad 1995) ;

- le lieu de récupération des sachets, au niveau iléal ou dans les fèces. La digestion dans le gros intestin reste en moyenne faible (Yang 1991) et les résultats sont comparables quel que soit le lieu de récupération des sachets (Vanhatalo et Ketoja 1994). Mais le gros intestin est un compartiment de fermentation et la colonisation microbienne des sachets peut y être importante pour certains aliments pauvres en azote, conduisant à une surestimation de la fraction azotée alimentaire indigestible (Varvikko et Vanhatalo 1990, Yang 1991).

A la différence des sachets ruminiaux, la méthode des sachets mobiles dans l'intestin n'a pas pour objectif de simuler la digestion dans ce compartiment, mais plutôt de fournir un index de la quantité azotée alimentaire réellement non digestible dans l'intestin. Les travaux réalisés pour calibrer cette technique sur des mesures réalisées *in vivo* restent peu nombreux. Trois séries de comparaisons ont été réalisées. La précision de la prévision à partir des mesures *in sacco* et des mesures *in vivo* a varié suivant les essais : Hvelplund (1985) rapporte un R^2 de 0,66 obtenu sur 7 aliments, plus récemment Yang (1991) et Hvelplund et al (1994) ont trouvé, avec un nombre équivalent d'aliments, des corrélations beaucoup plus élevées, soit un R^2 respectivement de 0,98 et 0,87 (tableau 1). Dans ces trois comparaisons, la pente de la droite de régression était comparable et proche de 1.

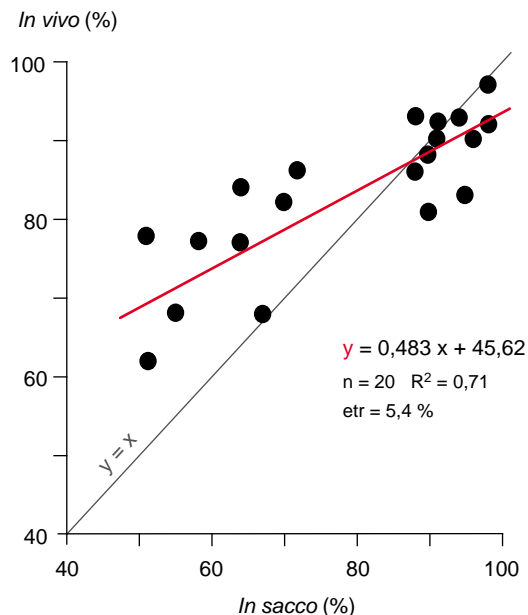
2 / Prédiction de l'amidon échappant à la dégradation microbienne

La répartition de la digestion de l'amidon entre le rumen et la partie distale du tube digestif varie de façon importante avec la

Tableau 1. Equations de prédiction de la digestibilité réelle (y) de l'azote alimentaire dans l'intestin à partir du taux de disparition de l'azote *in sacco* (x).

Référence	n	Equation	etr.
Hvelplund (1985)	7	$y = 0,99 x - 12$	-
Yang (1991)	7	$y = 0,845 x + 3$	3
Hvelplund et al (1994)	8	$y = 0,922 x + 9$	7

Figure 4. Relation entre la dégradabilité théorique de l'amidon alimentaire mesurée *in sacco* et sa digestion ruminale mesurée *in vivo* (d'après Sauvant et al 1994).



nature de la céréale (Poncet *et al* 1995) et de son éventuel traitement technologique (Huntington 1997). Or, du site de digestion de l'amidon dépend le profil des nutriments absorbés et la qualité des produits animaux, lait et viande. Par ailleurs une trop grande quantité d'amidon digérée dans le rumen peut conduire à des dysfonctionnements graves de l'écosystème microbien ruminal se traduisant par des diminutions de l'ingestion et des performances (Britton *et al* 1991). A l'inverse, si la quantité d'amidon non dégradé dans le rumen (ou amidon by-pass) est trop importante, une fraction non négligeable échappe à la digestion intestinale et sera rejetée par voie fécale, d'où un gaspillage énergétique important. Pour optimiser l'utilisation de l'amidon par le ruminant, la première étape consiste donc à estimer l'amidon by-pass et, par analogie avec les travaux menés sur l'azote, on a tout naturellement pensé à la méthode des sachets. Mais l'utilisation de cette technique est dans ce cas beaucoup plus récente et les éléments de validation sont donc beaucoup moins nombreux. Plusieurs études ont été consacrées à des mesures simultanées de la dégradabilité *in sacco* de l'amidon et de sa digestion au niveau duodénal. Nocek et Tamminga (1991) et, un peu plus tard, Sauvant *et al* (1994) ont réalisé une synthèse des résultats disponibles et proposé une équation de prédiction de l'amidon by-pass à partir de la méthode *in sacco* (figure 4). Mais, dans cette relation, la mesure *in sacco* sous-estime fortement la digestion ruminale des amidons lentement dégradables dans le rumen. Ainsi à une valeur de dégradabilité *in sacco* de 60 % correspond une valeur de digestion ruminale de 75 %. Cette différence peut avoir des origines diverses :

- la vitesse de transit retenue, 6 % par heure, doit être modulée en fonction des caractéristiques de la ration, et plus particulièrement en fonction du niveau d'alimentation. D'après la synthèse de Poncet *et al* (1995), la vitesse de

transit varierait entre 4 et 6 % pour les concentrés. Avec une vitesse de transit plus faible (4 % par heure), la dégradabilité augmente, et cette augmentation est d'autant plus importante que la valeur de dégradabilité initiale est faible. Ainsi, pour le blé, la dégradabilité *in sacco* calculée à partir des paramètres donnés par Sauvant *et al* (1994), passe de 94 à 96 % quand la vitesse de transit passe de 6 à 4 %, et pour le maïs grain de 58 à 65 %. Mais cette différence reste néanmoins bien inférieure à l'écart trouvé précédemment entre les mesures *in vivo* et *in sacco* ;

- l'activité amylolytique à l'intérieur du sachet varie en fonction de l'aliment contenu dans le sachet (tableau 2). Dans les sachets, les micro-organismes adhérant aux particules d'orge présentent une activité α -amylase très élevée, qui s'exprime rapidement, tandis que cette activité est plus faible et s'exprime plus tardivement pour les micro-organismes adhérant aux particules de maïs. La dégradation ruminale de l'amidon de maïs serait donc sous-estimée par la méthode *in sacco*, et celle de l'orge surestimée. L'expression de l'activité amylolytique des micro-organismes du rumen dépend de la quantité d'amidon présente (Martin et Michalet-Doreau 1995) ou, plus précisément, de la quantité d'amidon accessible aux micro-organismes (Nozière et Michalet-Doreau 1997). Les variations d'activité amylolytique à l'intérieur des sachets auraient ainsi tendance à amplifier les différences de vitesse de dégradation de l'amidon entre céréales rapidement et lentement dégradables, mais pourraient également n'être qu'une conséquence des différences d'accessibilité de l'amidon aux enzymes microbiennes.

Se pose également le problème du conditionnement des échantillons humides, en particulier celui de l'ensilage de maïs. Les cinétiques de dégradation ruminale des ensilages de maïs sont souvent réalisées à la fois pour étudier le comportement des fractions pariétale et amyliacée de l'ensilage de maïs. Or l'hétérogénéité du substrat nécessite un ou plusieurs broyages préalables de l'échantillon, ce qui conduit à une fraction amyliacée perdue à travers les pores du sachet importante, en moyenne 45 % de l'amidon introduit initialement dans le sachet (B. Michalet-Doreau et M.

Tableau 2. Influence de la nature de l'aliment présent dans le sachet et de la durée d'incubation des sachets dans le rumen sur l'activité α -amylasique des bactéries adhérentes aux particules (exprimée en μ moles de sucres réducteurs par mg de protéine par heure) (Nozière et Michalet-Doreau 1997).

Temps d'incubation	2 h	23 h
Sachets contenant :		
orge	10,6	3,8
maïs	2,9	6,3
contenu ruminal ⁽¹⁾	4,3	1,3

⁽¹⁾ contenu ruminal prélevé 2 h après la distribution du repas ou 1 h avant sur les animaux utilisés pour les sachets et recevant une ration à base de foin et d'orge (70/30).

La méthode peut être utilisée pour étudier la vitesse et les lieux de digestion de l'amidon, mais nécessite encore des adaptations et des études de validation.

Fabre, résultats non publiés). Aussi semble-t-il préférable de mesurer la vitesse de dégradation de l'amidon sur la seule fraction grain. Par ailleurs la lyophilisation semble à exclure car elle induit des pertes en particules très importantes, quel que soit le broyage retenu (tableau 3). Quant au séchage de l'échantillon à l'étuve, il n'entraînerait pas de modifications importantes de la structure de l'amidon tant que la température de séchage reste inférieure ou égale à 40°C (Champ et Colonna 1993), et les pertes d'amidon particulaire à travers les pores du sachet restent faibles, inférieures ou égales à 10 % de l'amidon initialement introduit dans le sachet, si le séchage est associé à un broyage relativement grossier de l'échantillon (Philippeau et Michalet-Doreau 1997).

In vivo, le broyage des céréales a pour effet d'augmenter la digestion ruminale de l'amidon, et cet effet est d'autant plus marqué que les céréales sont lentement dégradables (Huntington 1997). *In sacco*, l'augmentation de la finesse de broyage entraîne également une augmentation de la dégradabilité de l'amidon plus importante pour les céréales lentement dégradables que pour les céréales rapidement dégradables (Cerneau et Michalet-Doreau 1991). Quand les aliments sont tamisés après broyage, la dégradabilité du maïs augmente également avec la réduction de la taille des particules (Wadhwa *et al* 1998). Mais on ne dispose pas actuellement d'essais dans lesquels l'influence du broyage ait été mesurée à la fois *in vivo* et *in sacco*. Il est probable cependant que la réponse au broyage est différente suivant la technique considérée, la technique *in sacco* étant mal adaptée pour prendre en compte le mode de présentation des aliments. Aussi pour prédire l'amidon by-pass sera-t-il probablement nécessaire d'adjoindre à la mesure de la dégradabilité *in sacco* un critère permettant de caractériser le mode de présentation des aliments, du moins pour les céréales à amidon lentement dégradable.

3 / Cinétiques de dégradation de la matière sèche et des parois végétales

De manière globale, la technique des sachets a d'abord été utilisée pour estimer la digestibilité et l'ingestibilité des fourrages (Demarquilly et Chenost 1969). Plus récemment, les recherches se sont orientées vers une analyse plus mécaniste permettant de préciser les étapes de la digestion des ali-

ments. Dans les différents modèles proposés pour décrire la digestion ruminale (Dijkstra *et al* 1992, Lescoat et Sauvart 1995, Bannink *et al* 1997, Sauvart *et al* 1995 et 1996), les résultats obtenus par la technique des sachets ont été largement utilisés pour fractionner les glucides alimentaires non seulement en fonction de leurs caractéristiques chimiques (amidon ou parois végétales), mais aussi en fonction de leur cinétique de dégradation dans le rumen (Mertens 1977, Tamminga *et al* 1990, Madsen *et al* 1994, Stensig *et al* 1994). Les aspects dynamiques de la digestion ruminale de la MS et des parois, appréciés à travers les résultats de vitesse de dégradation *in sacco*, ont également été utilisés pour caractériser la valeur d'engorgement des aliments en relation avec les études sur l'ingestion (Faverdin *et al* 1995) ou la quantité d'énergie disponible pour la synthèse microbienne (Nocek et Russel 1988). Enfin la méthode *in sacco* a été souvent utilisée pour apprécier les modifications de l'activité cellulolytique de l'écosystème microbien ruminant en fonction des caractéristiques de l'animal (espèce, stade physiologique...) et de son régime (composition, niveau d'alimentation, additifs...).

3.1 / Digestibilité et digestion ruminale des parois

La digestibilité des constituants du contenu cellulaire des fourrages étant très élevée et peu variable, la digestibilité de la matière organique (dMO) dépend étroitement de la quantité de parois indigestibles (Jarrige 1981). Prévoir la digestibilité des fourrages revient alors à prévoir leur teneur en parois non digestibles. Aussi, à côté des méthodes de prédiction de la digestibilité basées sur la composition chimique des fourrages, ont également été proposées des méthodes microbiologiques dont le principe repose sur l'estimation d'un résidu pariétal indigestible (Demarquilly et Jarrige 1981). Dès 1970, la proportion de MS digérée après une période d'incubation ruminale relativement longue (48 ou 72 h), était retenue comme index de la digestibilité des fourrages (Demarquilly et Chenost 1969).

Dans une perspective plus analytique des études de digestion, le compartiment ruminant constitue un maillon essentiel dans la mesure où plus de 85 % des constituants pariétaux potentiellement digestibles sont digérés dans ce compartiment. Dans l'objectif de valider l'utilisation de la technique des sachets pour estimer la digestion ruminale des parois, des essais ont été conduits pour mesurer simulta-

Tableau 3. Influence du conditionnement de l'échantillon de grain de maïs (récolté au stade de maturité de l'ensilage) sur la quantité d'amidon particulaire perdue à travers les pores du sachet (d'après Philippeau et Michalet-Doreau 1997 et 1998).

Nature de l'échantillon	Grain entier		Grain ensilé	
	Conditionnement - séchage - broyage (mm)	lyophilisation 3	60 ° C 3	60 ° C -
Perte (% amidon initial)	78,5	10,4	10,7	47,3

nément la dégradabilité *in sacco* des constituants pariétaux et leur digestion ruminale *in vivo*. La dégradabilité théorique, calculée avec un taux de renouvellement des particules constant, conduit à une sous-estimation de la digestion ruminale des parois (Archimède 1992, Huhtanen *et al* 1995). Cette sous-estimation est indépendante de l'étendue de la digestion des parois dans le rumen, la pente de la relation n'étant pas significativement différente de 1 (figure 5). Ceci laisse donc supposer un bon degré d'homologie fonctionnelle entre la dégradation *in sacco* et *in vivo*. Néanmoins la prédiction de la digestion ruminale des parois par la dégradabilité *in sacco* n'est pas très précise (etr = 5,6 points).

Une hypothèse fréquemment avancée pour expliquer cette sous-estimation de la digestion ruminale par les mesures *in sacco* concerne la plus faible activité des micro-organismes présents dans le sachet que dans le contenu ruminal. Le nombre de bactéries cellulolytiques (Lindberg *et al* 1984, Meyer et Mackie 1986), l'activité des enzymes fibrolytiques (Huhtanen et Khalili 1992, Nozière et Michalet-Doreau 1996) et le pH (Marinucci *et al* 1992, Nozière et Michalet-Doreau 1996) sont plus faibles à l'intérieur des sachets que dans le contenu ruminal environnant. Cependant la relation positive entre l'activité des enzymes fibrolytiques microbiennes et la dégradabilité *in sacco* des parois des fourrages, observée par de nombreux auteurs (Silva *et al* 1987, Huhtanen et Khalili 1992, Martin et Michalet-Doreau 1995) apparaît curvilinéaire (Nozière *et al* 1996). Ceci suggère qu'il existe une valeur d'activité seuil au-dessus de laquelle les variations d'activité fibrolytique microbienne n'induisent pas de variation de la cinétique de dégradation des constituants pariétaux. Dans les conditions d'alimentation définies pour la mesure de la dégradabilité *in sacco* (Michalet-Doreau *et al* 1987), l'activité fibrolytique des micro-organismes présents dans les sachets est supérieure à ce seuil, de telle sorte que la sous-estimation de la digestion par la méthode des

sachets ne peut s'expliquer par un potentiel d'activité microbienne plus faible dans les sachets.

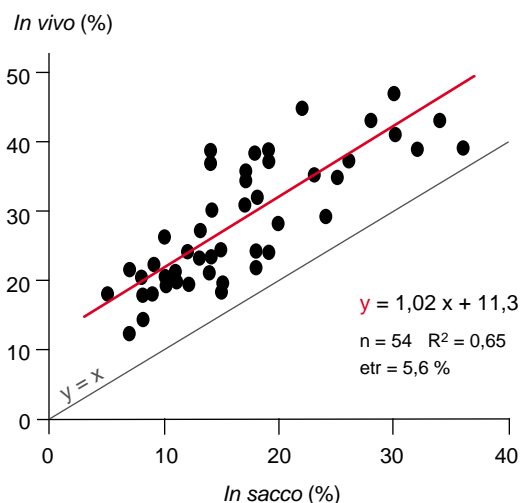
Une autre hypothèse avancée concerne le conditionnement des échantillons de fourrage avant incubation. *In vivo*, la mastication permet, par déchirement des tissus, d'augmenter les espaces intercellulaires et donc la surface exposée aux micro-organismes (Pond *et al* 1987). Elle facilite également l'hydratation des parois végétales (Wattiaux *et al* 1992), permettant aux micro-organismes de pénétrer à l'intérieur de la cellule par capillarité (Weimer 1993), ce qui favorise l'accessibilité des constituants pariétaux aux enzymes microbiennes. Dans les sachets, le fourrage est broyé, ce qui permet d'accroître la surface exposée aux micro-organismes (Bowman et Firkins 1993), mais ne permet pas une hydratation optimale des cellules. L'accessibilité des constituants pariétaux aux enzymes microbiennes est donc moindre dans les sachets que dans le contenu ruminal (Olubobokun *et al* 1990). Cette accessibilité plus faible limiterait l'action des enzymes des micro-organismes présents dans le sachet, et serait le principal facteur responsable de la sous-estimation de la vitesse de dégradation par la méthode des sachets. Celle-ci serait fonction du mode de conditionnement des échantillons, mais cet aspect reste mal connu.

Enfin la sous-estimation de la digestion ruminale par la dégradabilité *in sacco* est réduite lorsque le taux de renouvellement des particules effectivement mesuré sur les animaux est pris en compte dans le calcul de la dégradabilité (dégradabilité effective). Mais l'adéquation entre les résultats de dégradabilité effective d'une part et les mesures de digestion ruminale des parois d'autre part repose également sur la validité du marquage utilisé pour les mesures *in vivo*, flux digestifs et taux de renouvellement des particules dans le rumen (Faichney 1995, Poncet *et al* 1995).

3.2 / Quantités ingérées et valeur d'encombrement des fourrages

Le contrôle des quantités ingérées intègre un contrôle à court terme du comportement alimentaire et un contrôle à long terme qui dépend principalement des besoins nutritionnels et des réserves corporelles (Faverdin *et al* 1995). L'ingestibilité d'un fourrage, qui est définie comme la quantité de MS ingérée par un ruminant dit standard recevant ce fourrage à volonté, est principalement déterminée par les mécanismes de contrôle à court terme. Les facteurs de contrôle de l'ingestibilité des fourrages intègrent les notions de valeur énergétique, de valeur d'encombrement et d'appétibilité de ce fourrage. La valeur énergétique des fourrages peut être estimée par les méthodes classiques de prévision de leur digestibilité. Le calcul de leur valeur d'encombrement repose actuellement sur l'estimation du temps de séjour de la fraction insoluble de l'aliment à partir des mesures de dégradabilité. Quant à leur appétibilité, elle serait appréciée à partir d'un index permettant de prendre en compte,

Figure 5. Relation entre la dégradabilité théorique des constituants pariétaux mesurée *in sacco* et leur digestion ruminale mesurée *in vivo* (d'après Archimède 1992).



La digestion ruminale des parois végétales semble sous-estimée par la méthode des sachets.

entre autres, les qualités organoleptiques des aliments. En ce qui concerne la valeur d'encombrement, la variable explicative retenue a été, suivant les auteurs, soit directement la MS non dégradée après une période d'incubation relativement courte dans le rumen, soit la fraction potentiellement dégradable par les micro-organismes du rumen (Michalet-Doreau 1989). En termes de modélisation, l'effet d'encombrement des fourrages est une fonction du temps de séjour des particules alimentaires dans le rumen. Il peut alors s'exprimer à partir des paramètres de la cinétique de dégradation de la MS en faisant les hypothèses suivantes : la fraction rapidement dégradable n'encombre pas le rumen ; la fraction potentiellement dégradable encombre le rumen en proportion du temps de latence, de la vitesse de dégradation et du taux de renouvellement des particules ; la fraction indégradable encombre le rumen en proportion du temps de latence et du taux de renouvellement des particules. L'application de ce modèle simplifié du fonctionnement du rumen a été utilisé par Baumont *et al* (1997) pour estimer l'ingestibilité des fourrages. Cette approche est prometteuse, mais elle ne tient pas compte du temps nécessaire à la réduction de la taille des particules, qui est connu pour affecter la vitesse de transit, l'encombrement ruminal et donc l'ingestibilité. Un modèle plus complet du fonctionnement du rumen et de la régulation de l'ingestion, proposé récemment par Sauvant *et al* (1996) intègre ce dernier paramètre.

3.3 / Vitesse de dégradation et synthèse microbienne

Les résultats accumulés sur les cinétiques de dégradation *in sacco* des constituants énergétiques et azotés des aliments montrent une grande irrégularité de la disponibilité dans le temps des nutriments pour les micro-organismes du rumen (Chapoutot 1998). Sur la base de ces résultats et du fait que l'azote et l'énergie peuvent être facteurs limitants de la croissance microbienne dans le rumen, il est possible de formuler un concept de synchronisation de la fourniture de l'énergie et de l'azote disponible pour les micro-organismes (Nocek et Russell 1988, Sauvant et Van Milgen 1995) et de proposer un index de synchronicité cumulé, basé sur le ratio instantané N dégradable / MO dégradable (Sinclair *et al* 1993). Cet index de synchronicité, cumulé au niveau de la journée, varie de façon importante d'une matière première à l'autre (Chapoutot 1998).

Sur la base de ce concept, des essais de digestion ont été réalisés associant une source de glucides lentement dégradables à une source d'azote rapidement dégradable, et inversement, et les conséquences de rythmes de dégradation harmonieux ou disharmonieux ont été discutées par Sauvant et Van Milgen (1995). Mais les effets de ces comportements dynamiques variables sont beaucoup moins importants que l'on pouvait imaginer, du fait de la présence d'importants facteurs d'amortissement des variations, accumulation de peptides et de glucides solubles dans

le contenu ruminal, stockage de glucides par les micro-organismes du rumen, délai de recyclage de l'azote uréique après le repas...

3.4 / Activité fibrolytique des micro-organismes du rumen et interactions digestives

La technique des sachets a été largement utilisée dans les études de digestion pour caractériser l'aptitude d'un écosystème microbien à dégrader un aliment. A la différence des résultats rapportés précédemment, un même fourrage est introduit dans un sachet et placé dans le rumen d'animaux recevant des rations différentes. Dans ce cadre, la méthode *in sacco* a été largement utilisée pour rendre compte des variations de l'activité de l'écosystème microbien ruminal et expliquer les interactions digestives liées à l'apport de concentré, qu'il s'agisse de céréales ou de lipides. Il a été largement démontré que l'apport de concentré dans la ration entraîne une diminution de la dégradation *in sacco* des fourrages et une diminution de l'activité des principales enzymes impliquées dans la dégradation ruminale des hémicelluloses et de la cellulose (Martin et Michalet-Doreau 1995). Les variations de la cinétique de dégradation *in situ* des constituants pariétaux pourraient donc traduire les variations de l'activité fibrolytique de l'écosystème ruminal. Connaissant par ailleurs le temps de séjour des particules dans le rumen pour une espèce animale et un niveau d'alimentation donnés (Owens et Goetsch 1986), il a été suggéré que la cinétique de dégradation *in sacco* permettrait de simuler les variations de digestion ruminale des parois végétales en fonction des caractéristiques de la ration (Firkins 1997). Il convient toutefois d'être très prudent sur ces perspectives car les données expérimentales à intégrer révèlent une forte variabilité inter et intra-essai. Par ailleurs, il est difficile de caractériser quels paramètres de la cinétique de dégradation *in sacco* reflètent le mieux les variations d'activité microbienne. Ces paramètres sont en effet très liés entre eux et la précision de leur estimation est variable (Mertens 1993). Classiquement, il est admis que temps de latence et vitesse de dégradation dépendent de la nature de l'aliment et de l'activité microbienne dans le rumen, alors que les fractions rapidement, lentement et non dégradables sont assimilées à des caractéristiques de l'aliment. Mais ces affirmations ont été infirmées par Van Milgen *et al* (1992), du moins en ce qui concerne la fraction indégradable. De plus, l'impact d'une variation de l'activité microbienne sur l'un de ces paramètres va fortement dépendre de l'accessibilité des constituants digestibles aux enzymes (Nozière *et al* 1996).

Enfin, les résultats obtenus *in sacco* sont à interpréter avec précaution. Quand le même fourrage est distribué aux animaux et incubé dans des sachets, il est possible de comparer l'effet d'un apport de concentré sur la diminution de la digestion ruminale mesurée *in sacco* et *in vivo*. La technique *in sacco* tend à surestimer la diminution de la digestion rumi-

Tableau 4. Influence du lieu de prélèvement, contenu ruminal ou sachet, sur le pH et l'activité fibrolytique des micro-organismes adhérents aux particules (μ moles de sucres réducteurs libérés par g MS par heure) (Nozière et Michalet Doreau 1996 et résultats non publiés).

% orge dans la ration	0	30	60
pH			
rumen	7,16	6,99	7,09
sachet	6,64	6,19	5,78
différence	0,52	0,80	1,31
Avicelase			
rumen	17,7	23,3	17,7
sachet	15,7	14,3	5,9
différence	2,0	9,0	11,8
Xylanase			
rumen	263	318	248
sachet	251	231	69
différence	12	87	179

nale des parois des régimes supplémentés en céréales (Archimède *et al* 1995, Stensig *et al* 1994). Parallèlement, une supplémentation de la ration en orge se traduit par une diminution de l'activité des enzymes fibrolytiques des micro-organismes du rumen, cette diminution étant plus marquée dans les sachets que dans le contenu ruminal (tableau 3). La diminution de pH est également plus importante dans les sachets que dans le contenu (tableau 3), peut-être à cause d'une accumulation, dans les sachets, des produits terminaux de la fermentation (Marinucci *et al* 1992). Quant à l'effet des lipides sur la digestion ruminale des parois de la ration, il serait plutôt sous-estimé par la technique *in sacco* (Doreau *et al* 1991). Or, dans le cas des lipides, leur effet dépressif sur la dégradation des fourrages n'est pas dû à des facteurs hydrosolubles comme ceux observés avec des régimes supplémentés avec des céréales, mais plutôt à une adsorption des lipides sur les particules de fourrage, adsorption qui réduit leur colonisation microbienne dans le rumen (Harfoot *et al* 1974). Pour expliquer la différence de réponse entre les mesures *in vivo* et *in sacco* dans le cas d'une supplémentation en lipides, on peut alors faire l'hypothèse que les lipides ne pénétreraient pas dans le sachet et ne modifieraient pas la colonisation des particules alimentaires dans le sachet. Les variations d'activité fibrolytique des micro-organismes dans les sachets peuvent donc être plus importantes (supplémentation glucidique) ou moins importantes (supplémentation lipidique) que dans le rumen. Ces différences seraient à attribuer dans les deux cas à des problèmes d'échange entre le contenu ruminal et le sachet, impliquant soit des pro-

blèmes d'entrée des micro-organismes dans le sachet, soit de sortie des produits de fermentation hors du sachet.

Conclusion

L'utilisation intensive de la technique des sachets pour prédire la quantité de matières azotées alimentaires non dégradées dans le rumen a conduit à l'accumulation d'un nombre important de résultats de cinétiques de dégradation *in sacco* des matières azotées des aliments et donc des autres constituants alimentaires. Pour valoriser cette importante base de données, d'autres concepts d'utilisation de cette méthode - prévision de la digestion ruminale des glucides, de l'ingestibilité des fourrages, des interactions digestives ruminales - se sont récemment développés. D'autres techniques émergentes apparaissent pour certaines utilisations (gaz-test par exemple pour la cinétique de dégradation des parois). Mais la technique des sachets est la seule utilisée pour estimer à la fois la dégradation ruminale des matières azotées, de l'amidon et des parois, ce qui fait l'intérêt de cette technique et explique sa large utilisation. Des équations permettant de relier les mesures *in sacco* aux mesures *in vivo* ont déjà été proposées, mais, pour l'amidon et les parois, leur validité souffre encore toutefois du manque de comparaisons entre mesures *in vivo* et *in sacco*. De telles comparaisons devraient permettre de confirmer ou d'infirmer l'utilisation des cinétiques de dégradation *in sacco* dans le cadre de ces nouvelles perspectives, et d'en fixer les limites.

Références

Archimède H., 1992. Etude des facteurs impliqués dans les interactions digestives entre les fourrages et les aliments concentrés chez les ruminants. Thèse de doctorat, INA-PG, 144 p.

Archimède H., Sauvant D., Dorléans M., Chapoutot P., Poncet C., 1995. Influence of the nature of forage and concentrate on the digestive interactions measured *in sacco* and *in vivo*. Anim. Feed Sci. Technol., 54, 341-356.

- Aufrère J., Graviou D., Michalet-Doreau B., 1994. Degradation in the rumen of proteins of 2 legumes: soybean meal and field pea. *Reprod. Nutr. Dev.*, 34, 483-490.
- Balch C.C., Johnson V.W., 1950. Factors affecting the utilisation of food by dairy cows. II. Factors influencing the rate of breakdown of cellulose (cotton threads) in the rumen of the cow. *Br. J. Nutr.*, 4, 389-394.
- Bannink A., de Visser H., Dijkstra J., France J., 1997. Impact of diet-specific input parameters on simulated rumen function. *J. Theor. Biol.*, 184, 371-384.
- Baumont R., Dulphy J.P., Demarquilly C., 1997. Maximiser l'ingestion de fourrages conservés. *Renc. Rech. Rum.*, 4, 57-64.
- Beckers Y., Théwis A., Maudoux B., François E., 1995. Studies on the *in situ* nitrogen degradability corrected for bacterial contamination of concentrate feeds in steers. *J. Anim. Sci.*, 73, 220-227.
- Bernard L., Marvalin O., Yang W., Poncet C., 1988. Colonisation bactérienne de différents types d'aliments incubés *in sacco* dans le rumen : conséquences pour l'estimation de la dégradabilité de l'azote. *Reprod. Nutr. Dév.*, 28 (suppl. 1), 105-106.
- Boer de G., Murphy J.J., Kennelly J.J., 1987. Mobile nylon bag for estimating intestinal availability of rumen indigestible protein. *J. Dairy Sci.*, 70, 977-982.
- Bowman J.G.P., Firkins J.L., 1993. Effects of forage species and particle size on bacterial cellulolytic activity and colonization *in situ*. *J. Anim. Sci.*, 71, 1623-1633.
- Britton R., Stock R.A., Sindt M., Oliveros B., Parott C., 1991. A new feed additive and technique to evaluate acidosis in cattle. *Nebr. Cattle Feeders Day, Univ. Nebraska, Lincoln, USA*, 55-58.
- Cerneau P., Michalet-Doreau B., 1991. *In situ* starch degradation of different feeds in the rumen. *Reprod. Nutr. Dev.*, 31, 65-72.
- Champ M., Colonna P., 1993. Importance de l'endommagement de l'amidon dans les aliments pour animaux. *INRA Prod. Anim.*, 6, 185-198.
- Chapoutot P., 1998. Etude de la dégradation *in situ* des constituants pariétaux des aliments pour ruminants. Thèse de doctorat, INA-PG.
- Demarquilly C., Chenost M., 1969. Etude de la digestion des fourrages dans le rumen par la méthode des sachets de nylon, liaison avec la valeur alimentaire. *Ann. Zootech.*, 18, 419-436.
- Demarquilly C., Jarrige R., 1981. Panorama des méthodes de prévision de la digestibilité et de la valeur énergétique des fourrages. In : C. Demarquilly (ed), *Prévision de la valeur nutritive des aliments des ruminants*, 41-59. INRA, Paris.
- Dijkstra J., Neal H.D., Beever D.E., France J., 1992. Simulation of nutrient digestion, absorption and outflow in the rumen: model description. *J. Nutr.*, 122, 2239-2256.
- Doreau M., Chilliard Y., Bauchart D., Michalet-Doreau B., 1991. Influence of different fat supplements on digestibility and ruminal digestion in cows. *Ann. Zootech.*, 40, 19-30.
- Dulphy J.P., Demarquilly C., Baumont R., Jailler M., L'Hotelier L., Dragomir C., 1999. Study of modes of preparation of fresh and conserved forages for measurements of their dry matter and nitrogen degradations in the rumen. *Ann. Zootech.*, (in press).
- Faichney G., 1995. Transit des digesta dans le tube digestif des ruminants. In : R. Jarrige, Y. Ruckebusch, C. Demarquilly, M.H. Farce et M. Journet (eds), *Nutrition des ruminants domestiques - Ingestion et digestion*, 431-464. INRA, Paris.
- Faverdin P., Baumont R., Ingvarsten K.L., 1995. Control and prediction of feed intake in ruminants. In : M. Journet, E. Grenet, M.H. Farce, M. Thériez, C. Demarquilly (eds), *Recent development in the nutrition of herbivores, Proc. IV Intern. Symp. Nutr. Herb.*, 95-120. INRA, Paris.
- Firkins J.L., 1997. Effects of feeding non forage fiber sources on site of fiber digestion. *J. Dairy Sci.*, 80, 1426-1437.
- Harfoot C.G., Crouchman M.L., Noble R.C., Moore J.H., 1974. Competition between food particles and rumen bacteria in the uptake of long-chain fatty acids and triglycerides. *J. Appl. Bacteriol.*, 37, 633-641.
- Huhtanen P., Khalili H., 1992. The effect of sucrose supplements on particle-associated carboxymethyl-cellulase (EC 3.2.1.8) activities in cattle given grass silage based diets. *Br. J. Nutr.*, 67, 245-255.
- Huhtanen P., Jaakkola S., Kukkonen U., 1995. Ruminal plant cell wall digestibility estimated from digestion and passage kinetics utilizing mathematical models. *Anim. Feed Sci. Technol.* 52, 159-173.
- Huntington J.A., Givens D.I., 1995. The *in situ* technique for studying the rumen degradation of feeds: a review of the procedure. *NAR (B)*, 65, 63-93.
- Huntington G.B., 1997. Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. *J. Anim. Sci.*, 75, 852-867.
- Hvelplund T., 1985. Digestibility of rumen microbial protein and undegraded protein estimated in the small intestine of sheep and by *in sacco* procedure. *Acta Agric. Scand.*, (suppl.) 25, 132-144.
- Hvelplund T., Weisbjerg M.R., Andersen L.S., 1991. Estimation of the true digestibility of rumen undegraded dietary protein in the small intestine of ruminants by the mobile bag technique. *Acta Agric. Scand.*, Sect. A, 42, 34-39.
- Hvelplund T., Hovell F.D., Orskov E.R., Kyle D.J., 1994. True intestinal digestibility of protein estimated with sheep on intragastric infusion and with the mobile nylon bag technique. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.*, 3, 64 (Abstract).
- INRA, 1978. *Alimentation des ruminants*. INRA, Paris.
- Jarrige R., 1981. Les constituants glucidiques des fourrages : variation, digestibilité et dosage. In : C. Demarquilly (ed), *Prévision de la valeur nutritive des aliments des ruminants*, 13-40. INRA, Paris.
- Jarrige R., Alderman G., 1987. Feed evaluation and protein requirement systems for ruminants. *CEC, Bruxelles, Belgique*, 326 p.
- Lescoat P., Sauvant D., 1995. Development of a mechanistic model for rumen digestion validated using the duodenal flow of amino acids. *Reprod. Nutr. Dev.*, 35, 45-70.
- Lindberg J.E., Kaspersson A., Cizuk P., 1984. Studies of pH, number of protozoa and microbial ATP concentrations in rumen-incubated nylon bags with different pore sizes. *J. Agric. Sci., Camb.*, 102, 501-504.

- Madsen J., 1985. The basis for the proposed Nordic protein evaluation system. The AAT-PBV system. *Acta Agric. Scand. (suppl.)* 25, 9-20.
- Madsen J., Hvelplund T., 1985. Protein degradation in the ruminant. A comparison between *in vivo*, nylon bag, *in vitro* and buffer measurements. *Acta Agric. Scand. (suppl.)* 25, 103-124.
- Madsen J., Hvelplund T., 1994. Prediction of *in situ* protein degradability in the rumen. Results of a european ringtest. *Livest. Prod. Sci.*, 39, 201-212.
- Madsen J., Stensig T., Weisberg M.R., Hvelplund T., 1994. Estimation of the physical fill of feedstuffs in the rumen by the *in sacco* degradation characteristics. *Livest. Prod. Sci.*, 39, 43-47.
- Marinucci M.T., Dehority B.A., Loerch S.C., 1992. *In vitro* and *in vivo* studies of factors affecting digestion of feeds in synthetic fiber bags. *J. Anim. Sci.*, 70, 296-307.
- Martin C., Michalet-Doreau B., 1995. Variations in mass and enzyme activity of rumen microorganisms: effect of barley and buffer supplements. *J. Sci. Food Agric.*, 67, 407-413.
- Mertens D.R., 1977. Dietary fibre components: relationship to the rate and extent of ruminal digestion. *Fed. Proc.*, 36, 187-192.
- Mertens D.R., 1993. Kinetics of cell wall digestion and passage in ruminants. In : H.G. Jung, D.R. Buxton, R.D. Hatfield, J. Ralph (eds), *Forage Cell Wall Structure and Digestibility*, 535-570. Madison, USA.
- Meyer J.H.F., Mackie R.I., 1986. Microbiological evaluation of the intraruminal in sacculus digestion technique. *Appl. Environ. Microbiol.*, 51, 622-629.
- Michalet-Doreau B., 1989. New methods to estimate forage feed values. *Proc. XVI Intern. Grassld. Congr., Nice, France*, 3, 1850-1852.
- Michalet-Doreau B., 1992. Aliments concentrés pour ruminants : dégradabilité *in situ* dans le rumen. *INRA Prod. Anim.*, 5, 371-377.
- Michalet-Doreau B., Cerneau P., 1991. Influence of foostuff particle size on *in situ* degradation of nitrogen in the rumen. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 35, 69-81.
- Michalet-Doreau B., Nozière P., 1998. Validation of *in situ* nitrogen degradation measurements: comparative proteolytic activity of solid-adherent microorganisms isolated from rumen content and nylon bag containing various feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 70, 41-47.
- Michalet-Doreau B., Ould-Bah M.Y., 1989. Estimation of the extent of bacterial contamination in bag residues and its influence on *in sacco* measurements of forage nitrogen degradation in rumen. *Proc. XVI Intern. Grassld. Cong., Nice, France*, 2, 909-910.
- Michalet-Doreau B., Ould-Bah M.Y., 1992. *In vitro* and *in sacco* methods for the estimation of dietary nitrogen degradability in the rumen : a review. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 40, 57-86.
- Michalet-Doreau B., Vérité R., Chapoutot P., 1987. Méthodologie de mesure de la dégradabilité in sacco de l'azote des aliments dans le rumen. *Bull. Tech. CRZV Theix, INRA*, 69, 5-7.
- Nocek J.E., Russell J.B., 1988. Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrates availability to microbial synthesis and milk production. *J. Dairy Sci.*, 71, 2070-2085.
- Nocek J.E., Tamminga S., 1991. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. *J. Dairy Sci.*, 74, 3598-3629.
- Nozière P., Michalet-Doreau B., 1996. Validation of *in sacco* method: influence of sampling site, nylon bag or rumen contents, on fibrolytic activity of solid-associated microorganisms. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 57, 203-210.
- Nozière P., Michalet-Doreau B., 1997. Effects of amount and availability of starch on amylolytic activity of ruminal solid-associated microorganisms. *J. Sci. Food Agric.*, 73, 471-476.
- Nozière P., Besle J.M., Martin C., Michalet-Doreau B., 1996. Effect of barley supplement on microbial fibrolytic enzyme activities and cell wall degradation rate in the rumen. *J. Sci. Food Agric.*, 72, 235-242.
- Olubobokun J.A., Craig W.M., Pond K.R., 1990. Effects of mastication and microbial contamination in ruminal *in situ* forage disappearance. *J. Anim. Sci.*, 68, 3371-3381.
- Ould-Bah M.Y., Michalet-Doreau B., Jamot J., 1988. Colonisation bactérienne des résidus alimentaires des sachets incubés dans le rumen : utilisation du " stomacher " pour la réduire et conséquences sur la mesure de la dégradabilité ruminale de l'azote. *Reprod. Nutr. Dév.*, 28 (suppl. 1) 107-108.
- Owens F.N., Goetsch A.L., 1986. Digesta passage and microbial protein synthesis. In : L.P. Milligan, W.L. Grovum, A. Dobson (eds), *Control of digestion and metabolism in ruminants*, 196-226. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, USA.
- Philippeau C., Michalet-Doreau B., 1997. Influence of genotype and stage of maturity on rate of ruminal starch degradation. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 68, 25-35.
- Philippeau C., Michalet-Doreau B., 1998. Influence of genotype and ensiling of corn grain on *in situ* degradation of starch in the rumen. *J. Dairy Sci.*, 81, 2178-2184.
- Poncet C., Michalet-Doreau B., McAllister T., Rémond D., 1995. Dietary compounds escaping rumen digestion. In : M. Journet, E. Grenet, M.H. Farce, M. Thériez, C. Demarquilly (eds), *Recent development in the nutrition of herbivores*, *Proc. IV Intern. Symp. Nutr. Herb.*, 167-204. INRA, Paris.
- Pond K.R., Ellis W.C., Lascano C.E., Akin D.E., 1987. Fragmentation and flow of grazed coastal bermuda grass through the digestive tract of cattle. *J. Anim. Sci.*, 65, 609-618.
- Quin J.I., van der Wath J.G., Myburgh S., 1939. Studies on the alimentary tract of Merino sheep in South Africa. IV. Description of experimental technique. *Onderstepoort J. Vet. Sci. Anim. Ind.*, 11, 341-360.
- Rae R.C., Smithard R.R., 1985. Estimation of true nitrogen digestibility in cattle by a modified nylon bag technique. *Proc. Nutr. Soc.*, 44, 116A.
- Rémond D., Aufrère J., Bernard L., Poncet C., Peyronnet C., 1997. Valeur azotée des graines de légumineuses protéagineuses : dégradabilité dans le rumen des protéines du pois, cru ou extrudé, et du lupin. *Renc. Rech. Ruminants*, 4, 133-136.
- Sauvant D., Van Milgen J., 1995. Les conséquences de la dynamique de la digestion des aliments sur le métabolisme ruminal et les performances animales. *INRA Prod. Anim.*, 8, 353-367.

- Sauvant D., Chapoutot P., Archimède H., 1994. La digestion des amidons par les ruminants et ses conséquences. *INRA Prod. Anim.*, 7, 115-124.
- Sauvant D., Dijkstra J., Mertens D., 1995. Optimization of ruminal digestion: a modelling approach. In : M. Journet, E. Grenet, M.H. Farce, M. Thériez, C. Demarquilly (eds). Recent developments in the nutrition of herbivores, Proc. IV Intern. Symp. Nutr. Herb., 143-165. INRA, Paris.
- Sauvant D., Baumont R., Favardin P., 1996. Development of a mechanistic model of intake and chewing activities of sheep. *J. Anim. Sci.*, 74, 2785-2802.
- Silva A.T., Wallace R.J., Orskov E.R., 1987. Use of particle-bound microbial enzyme activity to predict the rate and extent of fibre degradation in the rumen. *Br. J. Nutr.*, 57, 407-415.
- Sinclair L.A., Gainsworthy P.C., Newbold J.R., Buttery P.J., 1993. Effect of synchronizing the rate of dietary energy and nitrogen release on rumen fermentation and microbial protein synthesis in sheep. *J. Agric. Sci., Camb.*, 120, 251-263.
- Stensig T., Weisbjerg M.R., Madsen J., Hvelplund T., 1994. Estimation of voluntary feed intake from *in sacco* degradation and rate of passage of DM or NDF. *Livest. Prod. Sci.*, 39, 49-52.
- Tamminga S., Van Vuuren A.M., Van der Koelen C.J., Ketelaar R.S., Van der Togt P.L., 1990. Ruminal behaviour of structural carbohydrates, non-structural carbohydrates and crude protein from concentrate ingredients in dairy cows. *Neth. J. Agric. Sci.*, 58, 513-526.
- Vanhatalo A., Ketoja E., 1994. The effect of recovery site of bags on post-ruminal digestion estimates of feed nitrogen as measured by the mobile-bag method in cattle. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.*, 3, 63 (Abstract).
- Vanhatalo A., Dakowski P., Huhtanen P., 1996. Effects of stage of growth and duration of rumen incubation time on intestinal digestibility of rumen-undegradable nitrogen of grass by mobile-bag method in cows. *Acta Agric. Scand., Sect. A*, 46, 1-10.
- Van Milgen J., Berger L.L., Murphy M.R., 1992. Fractionation of substrate as an intrinsic characteristic of feedstuffs fed to ruminants. *J. Dairy Sci.*, 75, 124-131.
- Vanzant E.S., Cochran R.C., Titgemeyer E.C., 1998. Standardization of *in situ* techniques for ruminant feedstuff evaluation. *J. Anim. Sci.*, 76, 2717-2729.
- Varvikko T., Vanhatalo A., 1990. The effect of differing types of cloth and contamination by non-feed nitrogen on intestinal digestion estimates using porous synthetic-fibre bags in a cow. *Br. J. Nutr.*, 63, 221-229.
- Vérité R., Chapoutot P., Michalet-Doreau B., Peyraud J.L., Poncet C., 1987. Révision du système des protéines digestibles dans l'intestin (PDI). *Bull. Tech. CRZV Theix, INRA*, 70, 19-34.
- Volden H., Harstad O.M., 1995. Effect of rumen incubation on the true indigestibility of feed protein in the digestive tract determined by nylon bag techniques. *Acta Agric. Scand., Sect. A*, 45, 106-115.
- Wadhwa M., Paul D., Kataria P., Bakshi M.P.S., 1998. Effect of particle size of corn grains on the release of nutrients and *in sacco* degradability. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 72, 11-17.
- Wanderley R.C., Huber J.T., Wu Z., Pessaraki M., Fontes C.Jr., 1993. Influence of microbial colonization of feed particles on determination of nitrogen degradability by *in situ* incubation. *J. Anim. Sci.*, 71, 3073-3077.
- Wanderley R.C., Alhadhrami G.A., Pessaraki M., Aquino-Ramos J.L., Huber J.T., 1999. An assessment of the microbial colonization of forage in the rumen of dairy cows and camels. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 76, 207-218.
- Wattiaux M.A., Mertens D.R., Satter L.D., 1992. Kinetics of hydration and effect of liquid uptake on specific gravity of small hay and silage particles. *J. Anim. Sci.*, 70, 3597-3606.
- Weimer P.J., 1993. Microbial and molecular mechanisms of cell wall degradation - Session synopsis. In : Forage cell wall structure and digestibility, eds Jung H.G., Buxton D.R., Hatfield R.D., Ralph J., Madison, USA, 485-498.
- Williams A.P., Cockburn J.E., 1991. Effect of slowly and rapidly degraded protein sources on the concentrations of amino acids and peptides in the rumen of steers. *J. Sci. Food Agric.*, 56, 303-314.
- Yang W.Z., 1991. Etude cinétique de la colonisation microbienne des aliments dans le rumen du mouton. Conséquences sur la compartimentation de la biomasse et sur sa dynamique de sortie du rumen dans le cas de différents types de rations. Thèse de doctorat, Univ. Clermont-Ferrand II, 391 p.

Abstract

The in sacco method prediction of the degradation of dietary components in the rumen.

The *in sacco* method has been widely used to predict feed nitrogen degradation in the rumen. Similar predicting equations have been obtained from several comparisons of *in sacco* and *in vivo* data, validating this method for such use. The use of this method can, however, introduce a bias in the classification of feeds according to the amount of degraded feed nitrogen of the samples in the bags, due to sample processing, microbial colonisation of bag residues, and the difficulty of considering soluble and undegraded nitrogen fractions. This *in sacco* method has also been used to describe

other application fields, such as predicting starch rumen digestion, fill value of forages, or digestive interactions in the rumen. But comparisons of the *in sacco* and *in vivo* data are few, therefore hindering the validation of the *in sacco* method. The modification of the fineness of the sample may be at the origin of a bias when classifying the feedstuffs according to their starch and cell wall degradability in the rumen.

MICHALET-DOREAU B., NOZIÈRE P., 1999. Intérêts et limites de l'utilisation de la technique des sachets pour l'étude de la digestion ruminale. *INRA Prod. Anim.*, 12, 195-206.