



Modeling relationships between dietary intake and net fluxes of energy nutrients across splanchnic tissues in ruminants

Christelle Loncke

► To cite this version:

Christelle Loncke. Modeling relationships between dietary intake and net fluxes of energy nutrients across splanchnic tissues in ruminants. Biochemistry, Molecular Biology. AgroParisTech, 2009. English. NNT : 2009AGPT0088 . pastel-00618555

HAL Id: pastel-00618555

<https://pastel.hal.science/pastel-00618555>

Submitted on 2 Sep 2011

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE

pour obtenir le grade de

Docteur

de

**L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement
(Agro Paris Tech)**

Spécialité :

Sciences de la vie et santé

Présentée et soutenue publiquement

Le 15 décembre 2009

Par

Christelle LONCKE

**MODELISATION DES RELATIONS ENTRE L'ALIMENTATION
ET LES FLUX SPLANCHNIQUES DE NUTRIMENTS ENERGETIQUES
CHEZ LE RUMINANT**

*Directeur de thèse : **Pierre NOZIERE***

*Codirecteur de thèse : **Isabelle ORTIGUES-MARTY***

Devant le jury:

M. Jean Louis PEYRAUD, Directeur de Recherches, **INRA Rennes**

Rapporteur

M. Bernard SEVE, Directeur de Recherches, **INRA Rennes**

Rapporteur

M. Daniel SAUVANT, Professeur, **INRA-AgroParisTech**

Examineur

M. Alain GUYONVARCH, Ingénieur, Union InVivo et Evialis

Examineur

Mme Isabelle ORTIGUES-MARTY, Chargée de Recherches, **INRA Theix**

Examineur

M. Pierre NOZIERE, Chargé de Recherches, **INRA Theix**

Examineur

Laboratoire d'accueil :

INRA, UR 1213 Unité de Recherches sur les Herbivores,

Equipes : Digestion Microbienne et Absorption / Nutriments et Métabolismes,

F-63122 St Genès Champanelle

À Mémé, tu manques à ma vie,

La Recherche n'a de sens que si elle est partagée...

Remerciements

Ce travail a été réalisé à l'**Unité de Recherches sur les Herbivores** au sein des équipes **DIMA** et **NEM** à l'**INRA** de Clermont Ferrand Theix. Il a bénéficié d'un cofinancement CIFRE entre **Limagrain**, **INZO°** et l'**ANRT**.

Je remercie les membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail et tout particulièrement **Jean-Louis Peyraud** et **Bernard Sève**, Directeurs de Recherches à l'**INRA** de Rennes, pour avoir accepté d'être les rapporteurs de ma thèse.

Je remercie également **Alain Guyonvarch** (Union InVivo Ets Evialis), examinateur de ce travail.

Je remercie également tout particulièrement **Pierre Nozière** et **Isabelle Ortigues Marty**, Chargés de Recherches à l'**INRA** pour avoir encadré et dirigé ce travail, ainsi que **Daniel Sauvant**, Professeur de zootechnie et Directeur de Recherches à l'**INRA-AgroParisTech** pour son implication dans ma thèse.

A l'ensemble des membres de mon comité de thèse : **Didier Rémond**, **Jacques Agabriel**, **Jaap Van Milgen**, **Hélène Lapierre**, **Stéphanie Léger**, **Michèle Champion**, **Lilian Leloutre**, Sincères remerciements.

On m'avait dit que le doctorat se déclinait en 3 années de galère... A vos côtés, ma thèse a plutôt ressemblé à 3 années de croisière. S'il le fallait, je re-signerais sans hésiter, et j'espère sincèrement que cette nouvelle vie qui s'ouvre à moi va nous permettre de nombreuses collaborations. J'ai souvent dit que j'avais bénéficié de l'encadrement idéal.

A **Pierre** : ton esprit de synthèse, ton dynamisme, ton optimisme, et ta disponibilité à toute épreuve durant ces 3 années m'ont permis de conduire ce projet dans des conditions scientifiques et personnelles exceptionnelles. Tu as su m'encourager chaque jour et tu as toujours été présent pour moi dans les moments difficiles. Sache qu'au-delà de l'encadrant c'est l'ami qui va cruellement me manquer.

Isabelle, par ta prudence et ta rigueur scientifique, tu as façonné mon esprit scientifique et as largement contribué à faire de cette thèse ce qu'elle est aujourd'hui. Merci pour m'avoir soutenue, dans les bons comme dans les mauvais moments que j'ai pu traverser. Il m'est difficile aujourd'hui de penser que ces remerciements marquent la fin de ces trois années de travail à tes côtés. A **tous les deux**, merci pour tout, il faut maintenant que je coupe le cordon ombilical et ce n'est pas facile....

A **Daniel** : Je me souviens avoir été très impressionnée de rencontrer le Pr Sauvart, en juillet 2006 pour mon entretien. Je ne m'imaginais pas alors travailler avec vous durant ces 3 années ; ce fut pour moi une grande chance. Il faut bien l'avouer, j'ai été contaminée par les méta-analyses.... Je vous remercie pour votre disponibilité, vos enseignements, et la confiance que vous m'avez accordée. Je n'aurais finalement que le regret d'un certain modèle du rumen... Merci pour tout.

Et bien sûr chacun de vous 3, par votre expérience scientifique et votre personnalité, avez contribué à mon épanouissement scientifique et à mon enthousiasme pour cette thèse. J'espère ne jamais vous avoir déçus.

A **Jean Vernet**. Merci pour tous ces encouragements et ton entière disponibilité. Tu n'as eu de cesse de me féliciter et de m'encourager tout au long de ces 3 années. Nous avons souvent réinventé la Recherche tous les deux, lors de nos interminables discussions.

A **Michèle Champion**. Michèle, tu as l'extraordinaire pouvoir de valoriser les gens. Je suis ressortie grandie et confiante de chaque réunion avec toi. Merci pour ton optimisme sur mon travail, ta joie de vivre et tes encouragements inépuisables.

A **Lilian Leloutre**, pour avoir largement contribué aux orientations de ma thèse. Vous avez apporté votre réflexion « terrain » à chaque étape. Merci pour votre enthousiasme sur mon travail, votre implication, et vos encouragements. A **Claire Launay**, pour m'avoir permis de finir ma thèse dans de très bonnes conditions, sincères remerciements.

A l'ensemble de l'équipe **NEM**. Je vous remercie pour votre soutien, vos encouragements et tout simplement pour votre présence. Je tiens à remercier tout particulièrement **Denis Durand et Dominique Bauchart**. Pour ton aide Denis, et la confiance que tu as eue en moi. M. Bauchart, c'est un peu grâce à vous que j'ai opté pour cette thèse ; je vous en suis infiniment reconnaissante. **Agnès et Anne Sophie**, comme des grandes sœurs vous avez veillé à ce que j'aie bien et que je garde un peu de temps pour moi. **Isabelle**, mon coach particulier pour l'anglais ; désolée de t'avoir fait faire des trucs bizarres pour l'ISRP... Merci pour ton aide, tes encouragements, et nos discussions.

A **Marie Jo**, merci pour ton aide, en particulier dans la dernière ligne droite du manuscrit.

A l'équipe **DIMA**, merci pour tout. Pour votre accueil chaleureux, tous les bons moments passés, autour du café ou de nos fameux petits déjeuners d'équipe !! Un merci particulier à **Frédéric Glasser** : Fred j'aurais une petite question.... A **Nicole**, pour nos discussions dans ton bureau, qui m'ont bien souvent remonté le moral pendant les périodes de doute. A **Benoit, Béatrice et Eveline**, pour nos pauses déjeuner toujours très philosophiques. A **Michel Doreau** pour son aide dans mes réflexions post-thèse, et bien sûr à tous les autres, pour vos sourires, vos paroles et tout simplement votre présence : Merci.

A toutes les personnes qui m'ont aidée dans ce travail : **Michel Vermorel**, pour ses conseils en énergétique, **Jacques Agabriel, Yves Chilliard, Florence Garcia, Sophie Lemosquet**, sincères remerciements.

A mes nouveaux amis Québécois, et particulièrement à toi **Hélène**, pour m'avoir accueillie si gentiment dans ta famille.

A tous les stagiaires et thésards qui ont croisé ma route. A **Guillaume** : que dire que tu ne saches déjà ? J'aurais aimé te garder plus longtemps à mes côtés, mais l'appel de la country a été plus fort ! A **Sophie**, mon coach personnel dans les moments difficiles, merci à **Franck** et toi, pour votre soutien. A **Maguy et Audrey**, mes Guadeloupéens préférés, pour vos conseils et votre aide. A **Aurélie, Stéphane, Mylène, Abder, Hager et Milka**, pour tous les bons moments, merci.

A **Caroline Mulsant**, pour sa précieuse aide dans la dernière ligne droite...

A mes frères de cœur **Antoine, Jean François, Cédric et Jérôme**. La vie nous a séparés pour nous placer aux quatre coins du monde, mais chaque jour nous veillons les uns sur les autres. Que notre amitié soit éternelle.

A mes éphémères, **Maud et Gaétan**, je pense à vous, ainsi qu'à **Jacques et Michel**.

Je ne pourrais pas commencer sincèrement ces remerciements familiaux sans évoquer la personne qui est pour une grande part à l'origine de ce que je suis aujourd'hui. **Mémé**, si tu savais comme il va m'être douloureux de fêter cette étape prépondérante de ma vie sans toi. J'attends la nuit avec impatience chaque jour pour pouvoir te retrouver...

A **mes parents**, pour m'avoir permis de mener à bien ce rêve, pour avoir cru en moi chaque minute, et pour avoir supporté mes périodes de doute. Vos encouragements m'ont permis de grandir. **Maman**, merci pour m'avoir appris la ténacité et pour m'avoir montré que finalement, on peut toujours faire un peu mieux...Merci.

A mon **Stéphane**, pour la vie qui commence. Pour avoir supporté ces huit années d'études, sans te plaindre. Et tout particulièrement pendant ces trois derniers mois, pour m'avoir encouragée et soutenue, durant mes nuits blanches et mes week end studieux.

A mon **oncle** et ma **tante**, pour m'avoir transmis votre passion, et m'avoir donné cet œil particulier de l'éleveur. Je vous dois un peu ce que je suis aujourd'hui, Merci.

A **Astrid, Jean Jacques et mon cousin adoré Timothée**, pour avoir toujours cru en moi. Merci. A **Mme Quinot**, grâce à qui tout a commencé.

A **mamie** et à **pépère**, vous avez toujours cru en moi, j'espère que vous êtes fiers de ce que je suis devenue. A ma **marraine**, pour tes encouragements.

Et puis également à tous ceux qui n'ont pas cru en moi. Ce 15 décembre 2009, restera ma meilleure réponse.

SOMMAIRE

Liste des publications	17
Introduction générale.....	21
Etude Bibliographique.....	29
A. PRODUCTION, ABSORPTION ET METABOLISME PAR LES TISSUS DRAINES PAR LA VEINE PORTE	31
1. LES ACIDES GRAS VOLATILS	31
1.1. Production des acides gras volatils.....	31
1.1.1. Aspects qualitatifs et mécanismes.....	31
1.1.2. Digestion ruminale des glucides alimentaires	31
1.1.3. Production intestinale	35
1.1.4. Aspects quantitatifs : Intensité des fermentations et production des AGV ..	35
1.1.5. Concentration en AGV dans le rumen	35
1.1.6. Profil d'AGV	35
1.1.7. Flux de production des AGV	37
1.2. Absorption des acides gras volatils à travers la paroi du rumen	38
1.3. Métabolisme des acides gras volatils par les tissus drainés par la veine porte	43
1.3.1. Mécanismes	43
1.3.2. Quantification du métabolisme épithélial des acides gras volatils.....	45
2. LE BETA HYDROXYBUTYRATE	51
2.1. Production du β -hydroxybutyrate à partir du butyrate	51
2.1.1. Conversion ruminale :	51
2.1.2. Conversion intestinale :	52
2.2. Régulation de la cétogenèse	52
2.3. Influence de l'alimentation et des infusions sur l'absorption	53
3. LE GLUCOSE.....	55
3.1. Digestion intestinale de l'amidon et rendement en glucose	55
3.2. Absorption du glucose et apparition en veine porte	56
3.2.1. Métabolisme du glucose dans le tube digestif.....	56
3.2.2. Répartition du glucose entre les voies métaboliques :	58
4. LE LACTATE.....	61
4.1. Sources exogènes et production endogène d'acide lactique	61
4.1.1. Sources exogènes de lactate	61
4.1.2. Production ruminale:	61
4.1.3. Production intestinale:.....	62
4.1.4. Production salivaire :	62
4.2. Différences dans le métabolisme ruminal des isomères du lactate :	62
4.3. Métabolisme par les tissus drainés par la veine porte et absorption	63
4.3.1. Absorption ruminale :	63
4.3.2. Absorption intestinale :	65
5. LES ACIDES AMINES	67
5.1. Digestion des protéines alimentaires et production des acides aminés.....	67
5.1.1. Digestion et absorption ruminale	67
5.1.2. Synthèse des protéines microbiennes	69
5.1.3. Digestion et absorption dans l'intestin grêle	71
5.1.4. Digestion dans le gros intestin	73
5.2. Métabolisme par les tissus drainés par la veine porte	75
B. METABOLISME HEPATIQUE.....	77
1. LES ACIDES GRAS VOLATILS	77

1.1.	L'acétate	77
1.1.1.	Activation et prélèvement	77
1.1.2.	Formation d'acétate endogène	79
1.2.	Le Propionate	81
1.2.1.	Activation et prélèvement:	81
1.2.2.	Devenir métabolique	81
1.3.	Le Butyrate	87
2.	BETA-HYDROXYBUTYRATE	89
2.1.	Synthèse hépatique	89
2.2.	Régulation de la céto-genèse et interaction avec la néoglucogenèse	91
2.3.	Influence du statut nutritionnel et physiologique	93
3.	LE GLUCOSE.....	97
3.1.	Voie de la néoglucogenèse	97
3.2.	Contribution des différents précurseurs à la néoglucogenèse	98
3.2.1.	Contribution du propionate :	98
3.2.2.	Contribution du L-lactate	98
3.2.3.	Contribution des acides aminés.....	99
3.2.4.	Contribution du glycérol :	99
3.3.	Régulations de la néoglucogenèse.....	99
3.3.1.	Régulations nutritionnelles et influence du statut physiologique.....	100
3.3.2.	Régulation de la néoglucogenèse par l'insuline et le glucagon:	100
3.3.3.	Influence des besoins en glucose :	101
3.4.	Lien entre la néoglucogenèse et la céto-genèse.....	102
4.	LE L-LACTATE	105
4.1.	Utilisation hépatique nette.....	105
4.2.	Production hépatique nette	107
4.3.	Régulation du métabolisme du L-lactate par le propionate.....	107
5.	LES ACIDES AMINES	109
5.1.	Utilisation et émission hépatique nette de l'azote alpha aminé	109
5.2.	Régulation de l'utilisation de l'azote alpha aminé	110
Matériels et méthodes		111
A.	Présentation de la base de données FLORA	113
1.	Description de la structure de FLORA.....	113
2.	Les données contenues dans FLORA.....	113
2.1.	Animaux	113
2.2.	Régimes	113
2.3.	Flux de nutriments.....	115
3.	Méthodologie d'obtention des résultats de flux contenus dans FLORA	115
3.1.	Préparations chirurgicales	115
3.2.	Mesure des débits sanguins au niveau splanchnique	117
3.3.	Mesure des concentrations plasmatiques ou sanguines en nutriments.....	117
3.4.	Calcul des bilans.....	119
B.	Caractérisation homogène de la composition chimique et valeur des aliments et des régimes	121
1.	Choix du système INRA	121
2.	Sélection des aliments à partir des tables INRA	121
3.	Validation des estimations	122
C.	Caractérisation du statut nutritionnel des animaux	125
1.	Calcul des besoins d'entretien et de l'énergie nette de production	125
2.	Détermination du bilan énergétique	127

3.	Validation des estimations	127
D.	Méta-analyses.....	129
1.	Principes.....	129
2.	Les étapes d'une méta-analyse.....	131
2.1.	Définition des objectifs de la méta-analyse.....	131
2.2.	Définition des critères de sélection des publications	131
2.3.	Sélection des publications	131
2.4.	Synthèse des principales caractéristiques des publications sélectionnées	133
2.5.	Exploration du méta-dispositif	135
2.5.1.	Visualisation graphique :.....	135
2.5.2.	Statistiques descriptives :	135
2.5.3.	Corrélations entre variables.....	137
2.5.4.	Analyse des pentes individuelles.....	137
2.5.5.	Normalité, homogénéité des variances.....	138
2.6.	Etablissement des équations de réponse.....	138
2.6.1.	Choix des prédicteurs potentiels	138
2.6.2.	Définition de la variation minimale sur les X	138
2.6.3.	Choix du modèle	139
2.7.	Recherche de facteurs interférents	140
2.7.1.	Facteurs interférents sur les pentes individuelles	140
2.7.2.	Facteurs interférents sur les LSMeans	140
2.7.3.	Facteurs interférents sur les résidus	141
2.7.4.	Inclusion des facteurs interférents.....	141
2.7.5.	La sélection du meilleur modèle	142
2.8.	Les post analyses.....	142
2.8.1.	Les résidus studentisés du modèle	142
2.8.2.	Les effets de levier	142
2.8.3.	La détermination de l'influence ou distances de Cook.....	143
2.9.	Evaluation du modèle obtenu.....	143
2.9.1.	Evaluation statistique	143
2.9.2.	Cohérence quantitative	144
2.9.3.	Première évaluation sur données externes	144
E.	Stratégie de travail.....	145
	Résultats	147
A.	Prédiction de l'apparition portale des nutriments énergétiques	149
	Publication n°1 :	153
	Communication n°2.....	195
	Communication n°3.....	199
	Publication n°2 :	203
B.	Prédiction de l'émission hépatique et splanchnique des nutriments énergétiques.....	243
	Publication n°3 :	245
	Publication n°4.....	287
	Discussion Générale	341
A.	Apports méthodologiques en méta-analyses	343
1.	Méta-dispositif : comment exploiter la variabilité ?	343
2.	Choix du modèle : GLM à effet fixe ou Mixed ?.....	345
3.	Caractérisation systématique des régimes.....	347
4.	Analyses et exploitation des facteurs interférents	348
5.	Evaluation statistique des modèles.....	349
6.	Automatisation des statistiques	351

7.	Evolution de la base de données (De FLORA vers Nutriflux)	352
B.	Validation et application des modèles prédictifs de flux splanchniques de nutriments. 355	
1.	Domaine de validité	355
2.	Modèles prédictifs : Résultats	357
3.	Validation des modèles prédictifs.	359
3.1.	Comparaison avec des modèles de production ruminale d'AGV	361
3.2.	Comparaison avec résultats expérimentaux	361
4.	Cohérence des modèles ANP avec la valeur énergétique des rations définie selon l'INRA	365
5.	Comparaison des modèles ANP obtenus à partir de l'INRA ou du NRC	369
6.	Cohérence des modèles hépatiques	371
7.	Application des modèles : quel impact sur le profil de nutriments ?	373
C.	Perspectives	377
1.	Affiner les prédicteurs	377
1.1.	Critères décrivant l'alimentation :	377
1.1.1.	MOF calculée des rations	377
1.1.2.	Teneur en NDFdR	379
1.2.	Critères relatifs aux modèles d'émission splanchnique	380
1.3.	Impact des méthodes de mesures des flux	381
1.4.	Critères décrivant les animaux	381
2.	Elargir le domaine de validité des modèles	385
2.1.	Substances tampons	387
2.2.	Granulométrie des rations	387
2.3.	Autres critères	387
2.4.	Cohérence quantitative des modèles foie et régulation de l'émission splanchnique de nutriments	388
2.4.1.	Validation des modèles et comparaison à d'autres jeux de données	388
2.4.2.	Flux corporels de glucose	388
2.4.3.	Carbones émis au niveau splanchnique et prélèvement mammaire	388
2.4.4.	Facteurs de régulation et complémentarité des modèles empiriques et mécanistes	389
2.5.	Le foie et la coordination entre tissus	390
2.6.	Les réponses animales	390
D.	Evolution du système INRA	393
	Conclusion générale	395
	Références bibliographiques	399
	Annexes	423
	Communication n°4 :	425
	Communication n°5 :	431
	Communication n°7 :	443
	Communication n°8 :	449
	Communication n°9 :	453

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Evolution du système d'évaluation de la valeur énergétique des aliments pour ruminants	24
Figure 2 : Démarche générale	24
Figure 3 : Objectifs principaux de ma thèse.....	26
Figure 4 Voies du métabolisme des glucides dans le rumen (Jouany, 1995).....	32
Figure 5 : relation entre les profils fermentaires du rumen et du caecum	36
Figure 6 : Représentation schématique (d'après Bannink et Tamminga, 2005) de l'absorption des acides gras volatils à travers la paroi du rumen.	40
Figure 7 : Voies métaboliques de la transformation de l'acétate et du butyrate dans l'épithélium ruminal (d'après Rémond et al., 1995). Les lettres renvoient au texte	42
Figure 8 : Voies métaboliques de la transformation du propionate dans l'épithélium ruminal (d'après Rémond et al., 1995). Les lettres et chiffres renvoient au texte.	44
Figure 9 : Récupération en veine porte du propionate suite à des infusions ruminales de butyrate (d'après Kristensen et al., 2000 ; Nozière et al., 2000).....	46
Figure 10 : Voies métaboliques de la formation du béta-hydroxybutyrate dans l'épithélium ruminal (D'après Rémond et al., 1995). Les lettres renvoient au texte.....	50
Figure 11 : Représentation du métabolisme du lactate dans un modèle dynamique du rumen (Dijkstra et al., 2002).....	60
Figure 12 : Dégradation ruminale et absorption intestinale des protéines, des peptides, des acides aminés et de l'ammoniaque (d'après Kraft, 2009).....	66
Figure 13 : Flux nets d'acides aminés (AA) libres ou peptidiques au niveau digestif	68
Figure 14 : Relation entre matière organique fermentescible dans le rumen (MOF) et matière organique apparemment digérée dans le rumen (OMdR).....	70
Figure 15 : Détermination de la valeur PDI des aliments	72
Figure 16 : Flux net essentiel d'acides aminés (libres + peptides) à travers les tissus drainés par la veine porte () et les tissus drainés par la veine mésentérique () de moutons alimentés avec de l'herbe de dactyle.	74
Figure 17 : Voie métabolique du métabolisme hépatique de l'acétate	78
Figure 18 : Voies métaboliques du propionate.....	82
Figure 19 : Convergence des voies métaboliques du butyrate et du propionate	86
Figure 20 : Cétogenèse et néoglucogenèse (D'après Herdt, 1988).....	92
Figure 21 : Voies de la néoglucogenèse.....	96
Figure 22 : Cycle de Cori (D'après Dassenoy et al., 1996)	104
Figure 23 : Conversion du propionate en lactate (D'après Majdoub, 2002)	106
Figure 24 : Identification des données à extraire des publications pour renseigner FLORA (d'après Vernet et Ortigues-Marty, 2006).....	112
Figure 25 : Modèle conceptuel des données de FLORA (Vernet et Ortigues-Marty, 2006) .	116
Figure 26 : répartition des animaux.....	116
Figure 27 : Répartition des fourrages et des concentrés.....	118
Figure 28 : Représentation schématique de la physiologie vasculaire de l'aire splanchnique chez les ruminants. (D'après Seal & Reynolds 1993).....	118
Figure 29 : Evolution de la 'pénétration' des méta-analyses dans les publications scientifiques (d'après Sauvant et al., 2005; source pub med)	128
Figure 30 : Les principales étapes d'une méta-analyse (d'après Sauvant et al., 2005).	130
Figure 31: Exemple de la sélection d'un jeu de données après codage.....	132
Figure 32 : Identification de facteurs de confusion potentiels dans la loi de réponse de Y en fonction de X.....	134
Figure 33 : Les corrélations inter et intra étude	136

Figure 34 : exemple de relation opposée en inter et intra étude.....	136
Figure 35 : Jeu de données du modèle ANP azote alpha aminé	342
Figure 36 : Exemple de l'étude de l'ANP glucose: intérêt des sous jeux de données	344
Figure 37 : Objectifs du travail	356
Figure 38 : Cohérence avec les modèles rumen d'AGV totaux	360
Figure 39 : Cohérence avec modèles rumen de profils d'AGV.....	360
Figure 40 : Histogramme des fréquences des différences observées entre le profil mesuré d'AGV en veine porte et dans le rumen.....	360
Figure 41 : Plan expérimental d'une étude sur agneaux, utilisée pour valider les modèles d'ANP de nutriments	362
Figure 42 : Validation des modèles d'ANP de nutriments (AGV, BHBA) :.....	362
Figure 43 : Validation des modèles de l'émission nette splanchnique de nutriments (AGV, BHBA) : Comparaison des valeurs prédites et observées.....	363
Figure 44 : Définition de la somme de l'énergie absorbée	364
Figure 45 : Comparaison de l'approche traditionnelle de définition de l'énergie (EM) aux flux de nutriments absorbés en veine porte	366
Figure 46 : Comparaison entre EM (INRA) et la somme des ANP prédits, exprimés en MJ /j/kg PV ou par unité de MSI	366
Figure 47 : Lien entre delta et la MSI	368
Figure 48 : Différence entre les modèles de prédiction d'énergie urinaire et des chaleurs de fermentation	368
Figure 49 : Relation intra publication entre le flux net hépatique d'O2	370
Figure 50 : Relations intra publication entre le flux net hépatique d'O2 et de glucose	370
Figure 51 : Relation entre la somme des carbones entrant et sortant du foie.....	370
Figure 52 : Profil en nutriments (en % de l'énergie totale) apparaissant en veine porte pour différentes rations.....	375
Figure 53 : Lien entre la MOF corrigée ou non de la DT amidon	376
Figure 54 : Relation entre la MOF du système PDI et la MOF proposée par Offner (2004). 378	378
Figure 55 : Comparaison entre MOF et DT MS pour les concentrés	378
Figure 56 : Variation de NDFdR/MOF en fonction du type de ration.....	384
Figure 57 : relation intra publication entre le profil C2/C3 dans le rumen et apparaissant en veine porte	384
Figure 58 : Influence de la granulométrie du régime sur le rapport acétate/ propionate	386

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Influence de la nature ration sur la composition du mélange d'acides gras volatils dans le rumen, moyenne pendant 5 heures après le repas. (d'après Jouany et al., 1995)	34
Tableau 2 : Description des régimes issus des publications de FLORA utilisées.....	354
Tableau 3: Descriptions des rations vaches laitières issues des collectes INZO	374
Tableau 4 : Descriptions des rations vaches laitières issues du programme Rednex.....	374
Tableau 5 : Description de la ration des bovins Blonds d'Aquitaine	374

LISTE DES ABBREVIATIONS

A : Artère hépatique
AA : Acides aminés
AA-N : Azote alpha aminé
AG : Acides gras
AGNE : Acide gras non estérifié
AGV : Acides gras volatils
AMdIG : Amidon digéré dans l'intestin grêle
AMdR : Amidon digéré dans le rumen
AMNDR : Amidon non digéré dans le rumen
ANP : Apparition nette portale
ATP : Adénosine Triphosphate
BE : Bilan énergétique
BHBA : Béta-hydroxybutyrate
C2 : Acétate
C3 : Propionate
C4 : Butyrate
C5 : Valérate
C6 : Caproate
CB : Cellulose brute
CUDr : Coefficient d'utilisation digestive réelle
d50 : Diamètre médian des particules
DA : Débit artériel
dMO : Digestibilité apparente de la matière organique
DVP : Débit en veine porte
DVSH : Débit en veine sus hépatique
EB : Energie brute
ED : Energie digestible
EE : Extrait éhéré
EM: Energie métabolisable
EN : Energie nette
FEF : Flux entrant au foie
FETD : Flux entrant au tube digestif

FETS : Flux entrant dans les tissus splanchniques
FSF : Flux sortant du foie
FSTD : Flux sortant au tube digestif
FSTS : Flux sortant des tissus splanchniques
kl: Efficacité d'utilisation de l'EM la production de lait
kmf : Efficacité d'utilisation de l'EM pour l'entretien et la production de viande
MAND : Matière azotée non digestible
MAT : Matière azotée totale
MG : Matière grasse
MO : Matière organique
MOF : Matière organique fermentescible dans le rumen
MOD : Matière organique digestible
MOM : Matière organique microbienne
MS : Matière sèche
NA : Niveau d'alimentation
NDF : Neutral detergent fiber
NDFd : NDF digestible
NDFdR : NDF digestible dans le rumen
OMdR : Matière organique apparemment digérée dans le rumen
PDI : Protéine digestible dans l'intestin
PF : Produits de fermentation
RMSE : Erreur résiduelle
TDVP : Tissus drainés par la veine porte
TB : Taux butyreux
TP : Taux protéique
UF : Unité fourragère
VSH : Veine sus hépatique
VP: Veine porte

Liste des publications

Articles scientifiques

- Loncke, C.**, I. Ortigues-Marty, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant, P. Nozière, 2009, Empirical prediction of net portal appearance of volatile fatty acids, glucose, and their secondary metabolites (β -hydroxybutyrate, lactate) from dietary characteristics in ruminants: A meta-analysis approach, *J. Anim. Sci.* 87: 253-268.
- Loncke, C.**, P. Nozière, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant, I. Ortigues-Marty, 2009, Empirical prediction of net splanchnic release of ketogenic nutrients (acetate, butyrate and β -hydroxybutyrate) from dietary characteristics in ruminants: A meta-analysis approach, *J. Anim. Sci.*, soumis
- Loncke, C.**, P. Nozière, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant, I. Ortigues-Marty, 2009, Empirical prediction of splanchnic release of glucose propionate, lactate, alpha amino nitrogen and glucose) from dietary characteristics in ruminants: A meta-analysis approach, en préparation pour *Animal*.
- Loncke, C.**, I. Ortigues-Marty, J. Vernet, D. Ouellet, Lapierre, D. Sauvant, P. Nozière, 2009, Prediction of the net portal appearance of volatile fatty acids from NRC diet characteristics, en preparation.

Communications à des congrès

- Loncke, C.**, I. Ortigues-Marty, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant, P. Nozière, 2007, Modelling relationships between dietary intake and net fluxes of energy nutrients across splanchnic tissues in ruminants, 50th Intercoop Europe Feed Congress, Rungsted Kyst, Denmark.
- Loncke, C.**, I. Ortigues-Marty, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant, P. Nozière, 2007, Assessment of duodenal starch as a predictor of portal absorption of glucose in ruminants, Pages 575–576 in *EAAP Publ. No. 124*. I. Ortigues-Marty, ed. Wageningen Academic Publ., Wageningen, Netherlands, (International Symposium on Energy and Protein metabolism and nutrition, Vichy, France)
- Loncke, C.**, I. Ortigues-Marty, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant, P. Nozière, 2007, Prédiction de l'absorption nette portale du glucose et des acides gras volatils chez les ruminants, *Renc. Rech. Rum.* 14:264.
- Loncke, C.**, I. Ortigues-Marty, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant, P. Nozière, 2008, Capacité du système PDI à prédire les quantités d'azote alpha-aminé absorbées en veine porte chez les ruminants, *Renc. Rech. Rum.* 15:285.
- Savary-Auzeloux I, G. Kraft , D. Dardevet , D. Rémond, **C. Loncke** , I. Ortigues-Marty, 2008, Liver protein synthesis regulation by energetic and nitrogenous nutrient supply. Amino Acid/Protein Metabolism in Health and Disease: mechanisms and pathways controlling protein expression and turnover, Padoue, Italie
- Loncke, C.**, P. Nozière, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant, I. Ortigues-Marty, 2009, Empirical prediction of net splanchnic release of β -hydroxybutyrate in ruminants, International Symposium on Ruminant Physiology, Page 444-445, Clermont Ferrand, France

- Nozière, P., I. Ortigues-Marty, **C. Loncke**, D. Sauvant, 2009, Carbohydrate quantitative digestion and absorption in ruminants: from feed starch and fiber to nutrients available for tissues, International Symposium on Ruminant Physiology, Page 51, Clermont Ferrand, France
- Loncke, C.**, I. Ortigues-Marty, J. Vernet, H. Lapierre, M. Vermorel, D. Sauvant, P. Nozière, 2009, From metabolisable energy to energy of absorbed nutrients: Quantitative comparison of models, Page 39, 7e Workshop International: Modelling Nutrient Digestion and Utilization in Farm Animals, Paris, France
- Loncke, C.**, I. Ortigues-Marty, S. Amblard, J. Vernet, S. Léger, H. Lapierre, D. Sauvant, P. Nozière, 2009, Empirical prediction of oxygen consumption by portal-drained viscera in ruminants: Meta-analysis approach, 2009 Joint ADSA-CSAS-ASAS Annual Meeting, Montréal, Québec, Canada
- Loncke, C.**, G. Kraft, I. Savary-Auzeloux, I. Ortigues-Marty, 2009, Adaptation of hepatic glucose uptake and metabolism in growing lambs fed energy and nitrogen imbalanced diets, International Symposium on Ruminant Physiology, Page 586-587, Clermont Ferrand, France
- Loncke, C.**, P. Nozière, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant, I. Ortigues-Marty, 2010, Empirical prediction of net splanchnic release of glucose in Ruminants: meta-analyses approach, 3rd International Symposium on energy and protein metabolism, soumis
- Loncke, C.**, P. Nozière, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant, I. Ortigues-Marty, 2010, Net portal absorption and net splanchnic release of energetic nutrients in Ruminants: quantitative assessment of prediction models, 3rd International Symposium on energy and protein metabolism, soumis

Introduction générale

Le système INRA d'alimentation des Ruminants (1978, 1988) a été conçu pour ajuster les rations au potentiel génétique de production des animaux, essentiellement dans un souci d'amélioration de la productivité. Il comprend **un système d'évaluation des aliments** qui a pour objectif d'estimer leurs valeurs énergétiques et azotées. A l'heure actuelle la **valeur énergétique** est basée sur des mesures de **composition chimique** des aliments, de **digestibilité** (en associant des données *in vivo* et *in situ*, tant au niveau ruminal qu'intestinal), de **bilan énergétique (BE)** et **d'efficacité d'utilisation métabolique de l'énergie** à des **niveaux d'alimentation (NA) de référence**. Le système INRA d'alimentation comprend aussi **un système de recommandations alimentaires** des animaux. Celles-ci sont été établies pour couvrir les **besoins** des animaux de façon soit **stricte** (couverture des dépenses énergétiques sans marge de sécurité, après définition des besoins par méthode factorielle), soit **optimale** (après définition des besoins par essais d'alimentation visant l'expression du potentiel génétique des animaux), soit **minimale** (après évaluation de la capacité des animaux à utiliser leurs réserves corporelles).

Dans tous les cas, l'énergie est définie en tant qu'**unité agrégée** et l'ensemble métabolique des tissus de l'animal est considéré comme **une boîte noire**. Une des spécificités du système français est de définir la valeur énergétique des aliments et des rations et les recommandations alimentaires en termes d'**Energie Nette (EN)**.

Dans le contexte actuel, les enjeux liés aux filières et à la nutrition animale se sont diversifiés. Ils incluent non seulement des objectifs de performance, mais aussi d'efficacité, de maîtrise de la **qualité des produits**, et de réduction des rejets animaux et de leur **impact sur l'environnement, dans le respect du bien-être et de la santé des animaux**.

Le concept de **loi de réponse multiple** aux variations de régime (Sauvant, 1992) intègre cette multiplicité d'objectifs. Ce concept vise à expliquer et prédire les réponses nutritionnelles et zootechniques des animaux aux variations de régimes et de pratiques alimentaires. Il est basé sur une approche systémique de la nutrition et progresse actuellement principalement grâce à l'analyse quantitative de la bibliographie et la **modélisation**.

Dans cette optique, il est important que le **système INRA d'alimentation évolue** pour prendre en compte les **multiples objectifs de production** (efficacité alimentaire, quantité et composition du lait, gain de poids, composition corporelle de la carcasse et de la viande, rejets, risques sanitaires...). Ces derniers dépendent de la quantité et de la nature des produits terminaux issus de la digestion d'une ration ainsi que du devenir métabolique des nutriments entre les différents tissus de l'organisme (tissus relais tels que le tractus digestif et le foie et tissus cibles d'intérêt zootechnique tels que le muscle, la glande mammaire, le tissu adipeux).

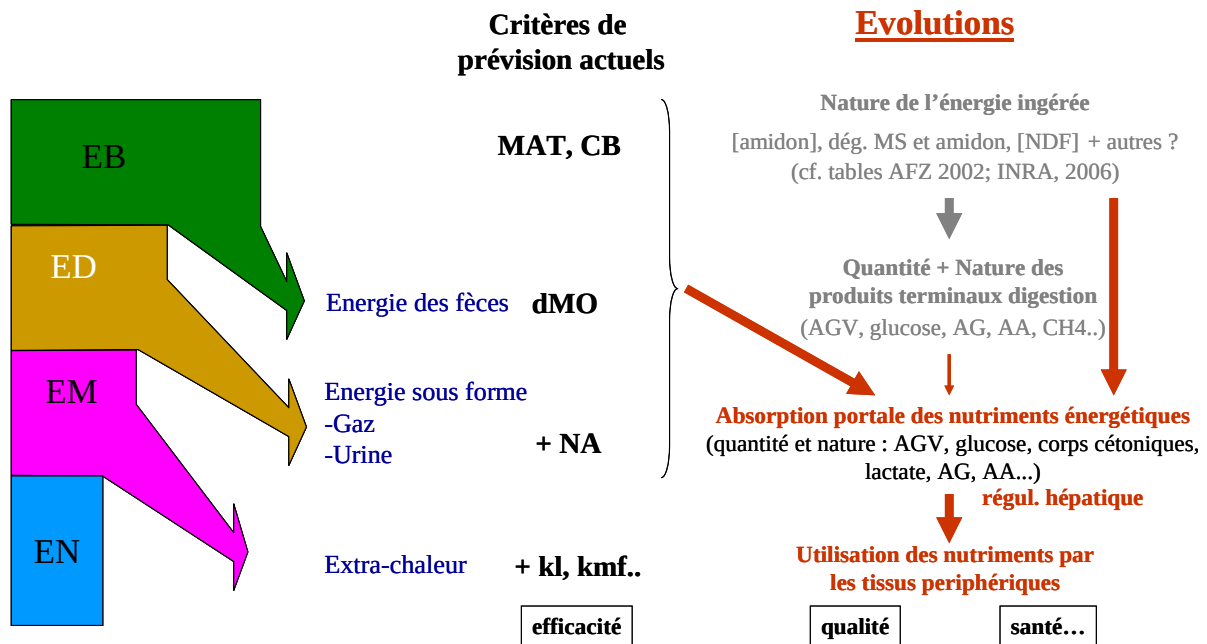


Figure 1: Evolution du système d'évaluation de la valeur énergétique des aliments pour ruminants

(Principales abréviations : EB: énergie brute, ED : énergie digestible apparente, EM : énergie métabolisable, EN : énergie nette, MAT : matières azotées totales, CB : cellulose brute, dMO : digestibilité apparente de la matière organique, NA : niveau alimentaire)

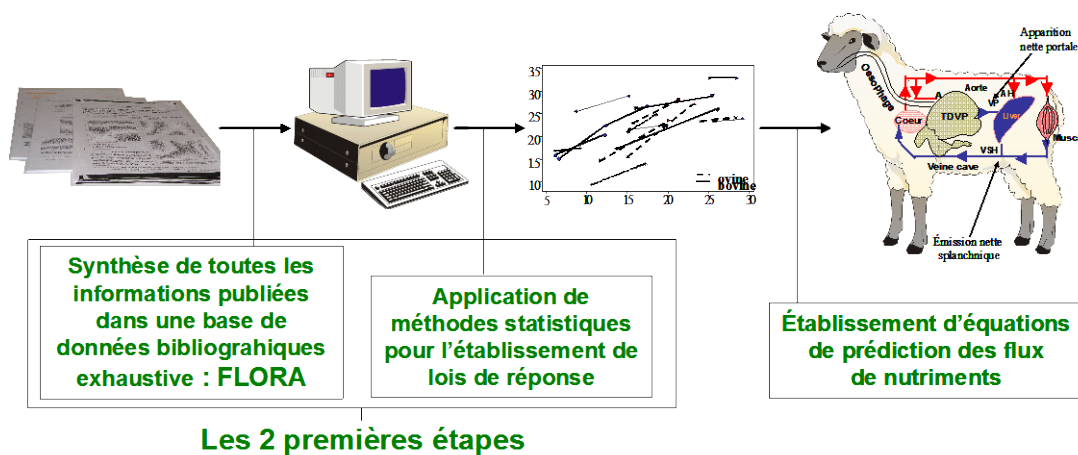


Figure 2 : Démarche générale

Le système d'évaluation de la valeur des aliments doit donc évoluer vers la connaissance et la **prédiction de la quantité et la nature des nutriments** mis à disposition des tissus de l'organisme. De même **le système des recommandations alimentaires** devra prendre en compte le **devenir métabolique des principaux nutriments**.

Une telle évolution a déjà été initiée au sein de l'INRA (Figure 1). La valeur azotée des aliments est maintenant définie en termes d'acides aminés digestibles dans l'intestin (AADI). Les caractéristiques des aliments qui déterminent la quantité et la nature des produits terminaux de la digestion sont mieux connues, faisant l'objet de la rénovation des Tables INRA et AFZ des aliments (2002, 2007). Des efforts de recherche sont en cours pour que la **valeur énergétique des aliments** inclue les **acides gras volatils (AGV) absorbables**, **l'amidon digestible dans l'intestin (AMdIG)** et les **acides gras (AG) longs digestibles**. L'étape suivante réside dans notre capacité à prévoir **la quantité et la nature des nutriments absorbés par le tractus digestif en veine porte (VP), puis émis par le foie, à destination des tissus cibles** (Figure 1).

Le **programme de ma thèse** s'est donc inscrit dans cette démarche globale de prédiction de la quantité et de la nature des nutriments effectivement mis à disposition de l'organisme. Il s'est focalisé sur le **système d'alimentation énergétique** et a reposé essentiellement sur une approche de **modélisation empirique par méta-analyse**. La démarche empirique a longtemps constitué une force du système INRA d'alimentation, au contraire d'une démarche purement analytique et mécaniste, intéressante en recherche mais difficilement applicable dans les pratiques de rationnement.

Ma démarche de thèse s'est basée sur l'utilisation de la base de données **FLORA (Flux of nutrients accross tissues and Organs in Ruminants Animals ; Vernet et Ortigues Marty, 2006)**, qui est une compilation exhaustive d'environ 250 publications internationales traitant des flux de nutriments dans l'aire splanchnique chez les ruminants. Mon travail a donc consisté à réaliser une synthèse quantitative de toutes les informations publiées afin de mettre en évidence **les lois de réponse** des flux de nutriments énergétiques sanguins au niveau splanchnique aux variations de régimes (Figure 2).

Ma thèse s'est articulée en **deux objectifs principaux** (Figure 3) : le premier objectif a consisté à développer, à partir de critères de caractérisation des régimes issus des tables INRA de valeur des aliments, des modèles permettant de prédire **l'apparition nette en veine porte (ANP) des nutriments énergétiques hydrosolubles**. La biodisponibilité des AG longs a été exclue de cette thèse en raison de l'absence de données pertinentes assemblées dans une base de données.

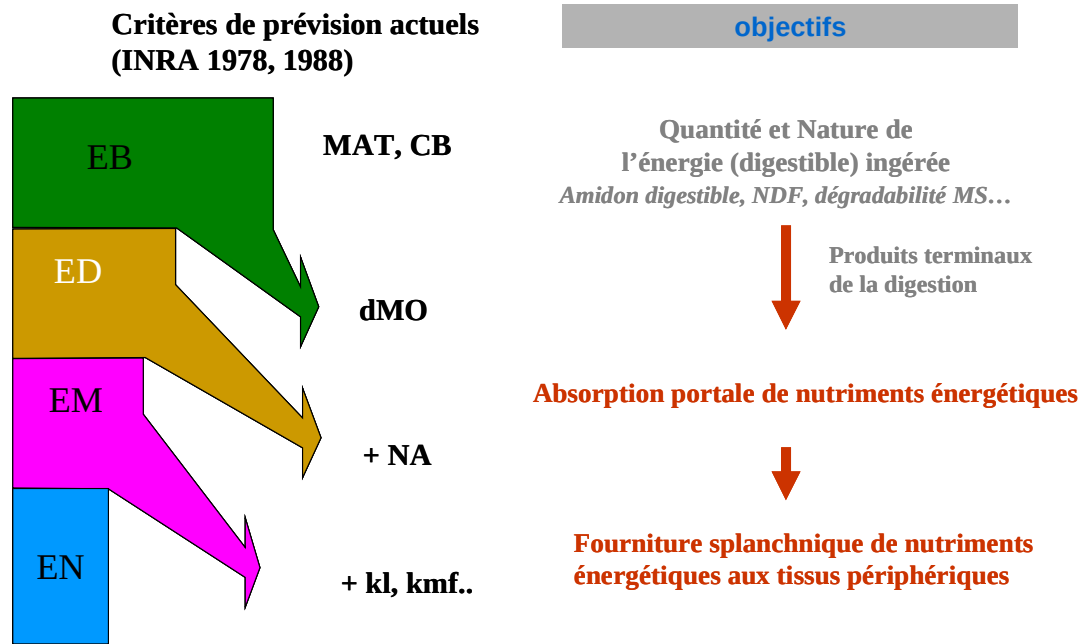


Figure 3 : Objectifs principaux de ma thèse

Le second objectif visait à développer des modèles permettant de prédire **l'émission splanchnique** des nutriments énergétiques hydrosolubles vers les tissus périphériques, à partir d'une part des caractéristiques INRA des régimes et d'autre part des caractéristiques des animaux.

Pour ces objectifs, nous avons fixé **deux types de contraintes**. Le premier concernait les **prédicteurs**. Ceux-ci devaient être simples à déterminer, robustes et utilisables en rationnement de façon compatible avec le système INRA d'alimentation. Le second type de contrainte portait sur les **catégories d'animaux** visés. La prédiction de la valeur énergétique des aliments basée sur les nutriments devait être applicable à toutes les catégories de ruminants, comme précédemment dans le système INRA. Ces deux types de contraintes représentent une **originalité** forte de mon travail, par rapport aux modèles d'absorption ou de métabolisme splanchnique déjà publiés.

Enfin, dans un souci de **positionnement international du système INRA**, j'ai complété ces travaux par une étude exploratoire sur la prédiction de l'émission nette en veine porte des AGV à partir des critères issus du **système NRC d'alimentation**.

Mon manuscrit de thèse repose sur la présentation de mes publications déjà parues ou en cours (soumises, en préparation). Ces publications sont présentées en deux chapitres distincts, associés chacun à l'un des objectifs principaux de ma thèse. En préalable, l'étude bibliographique assemble les connaissances qui ont servies à identifier les prédicteurs potentiels et l'ensemble des matériels et méthodes utilisés est présenté de façon synthétique. La discussion générale traite de la méthodologie employée, des principaux résultats obtenus et des perspectives qui en découlent.

Etude Bibliographique

**PRODUCTION ET METABOLISME SPLANCHNIQUE
DES NUTRIMENTS ENERGETIQUES
HYDROSOLUBLES
CHEZ LES RUMINANTS**

A. PRODUCTION, ABSORPTION ET METABOLISME PAR LES TISSUS DRAINES PAR LA VEINE PORTE

Dans cette partie bibliographique, et plus généralement dans l'ensemble de ma thèse, je me suis intéressée au métabolisme splanchnique des différents nutriments énergétiques. Ainsi, cette partie traitera du métabolisme des AGV, du β -hydroxybutyrate (BHBA), du glucose du lactate et des acides aminés (AA).

1. LES ACIDES GRAS VOLATILS

1.1. Production des acides gras volatils

1.1.1. Aspects qualitatifs et mécanismes

Les acides AGV, constitués principalement de l'acétate (C2), du propionate (C3) et du butyrate (C4) avec, dans une moindre mesure du valérate (C5), caproate (C6), iso-C4 et iso-C5 sont les produits terminaux de la fermentation de la matière organique (MO), et majoritairement de la fermentation des glucides alimentaires. La contribution des lipides est réduite, du fait que les régimes sont en général relativement peu riches en lipides et seuls le glycérol et le galactose hydrolysés (et non les AG à chaînes longues) sont fermentés. Les protéines dégradables dans le rumen contribuent de manière significative à la production des AGV en formant notamment de l'iso-C4, de l'iso-C5 et du 2-méthylbutyrate à partir de la valine, la leucine, et de l'isoleucine, respectivement. Les AGV sont majoritairement formés dans le rumen et dans une moindre mesure dans le gros intestin (caecum et côlon) qui héberge une population bactérienne comparable à celle présente dans le rumen.

1.1.2. Digestion ruminale des glucides alimentaires

Hydrolyse. Les microorganismes du rumen hydrolysent dans un premier temps les glucides végétaux (cellulose, hémicelluloses, pectines, amidon, sucres) en sécrétant des polysaccharidases (cellulases, hémicellulases, pectinases, amylase) et oligosaccharidases (α -D- ou β -D-glucosidase, β -D-xylosidase, β -D-galactosidase, β -D-cellobiosidases).

Les bactéries du rumen doivent se fixer aux fragments végétaux pour les dégrader. La plupart des bactéries cellulolytiques ont aussi des activités hémicellulolytiques. En revanche, les populations fibrolytiques et amylolytiques sont distinctes, avec une sensibilité particulière au pH des populations fibrolytiques.

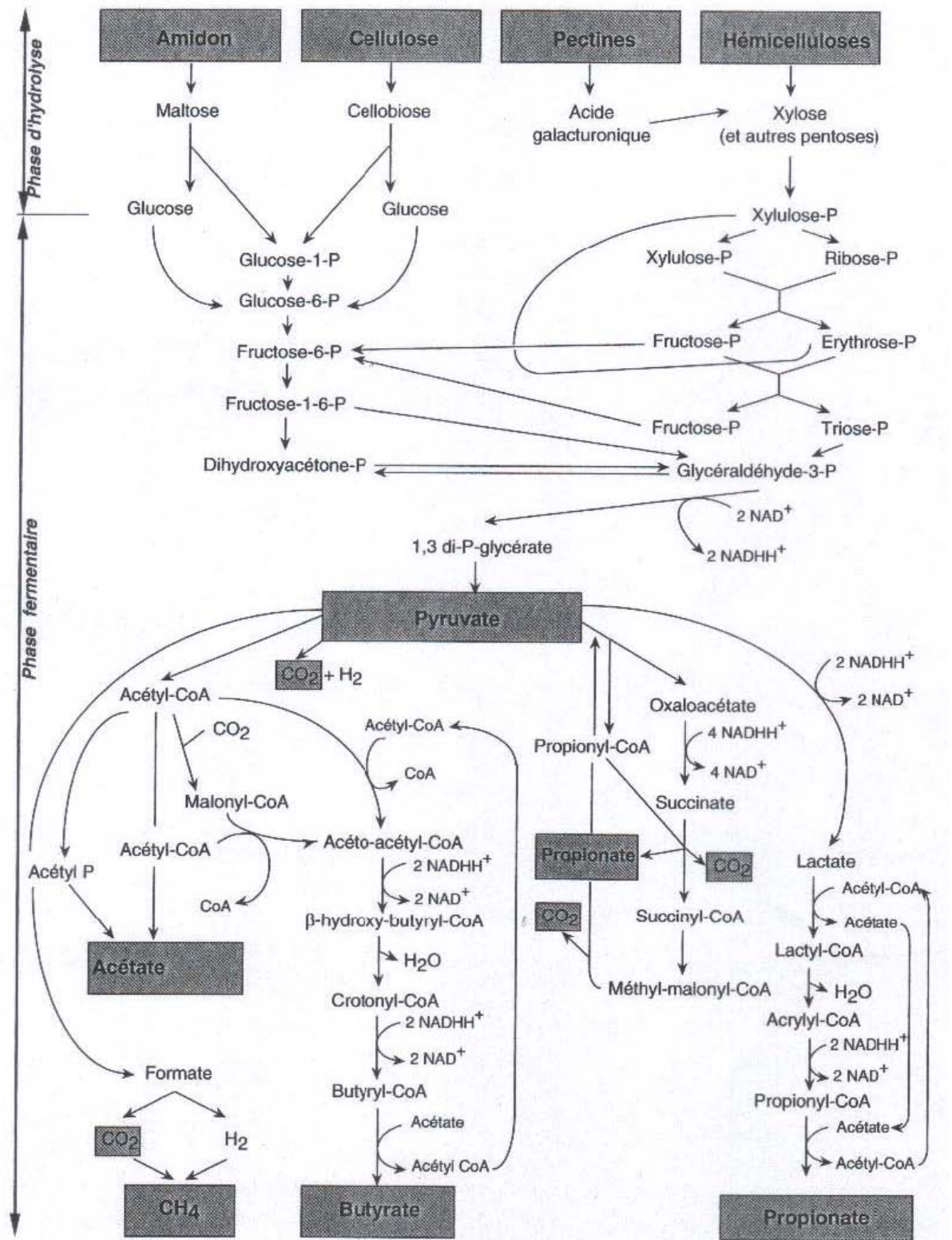


Figure 4 Voies du métabolisme des glucides dans le rumen (Jouany, 1995)

Bien que certains protozoaires puissent se fixer sur les particules solides, ils ingèrent généralement des petites particules qu'ils digèrent ensuite via leurs enzymes produites dans le sac digestif. Ils possèdent une activité fibrolytique et amylolytique. Les protozoaires peuvent également stocker de l'amidon, ce qui permet notamment d'éviter les baisses importantes de pH en soustrayant l'amidon de l'action des bactéries amylolytiques. La séquestration naturelle des protozoaires à l'intérieur du rumen explique pourquoi le temps de contact entre les particules végétales est suffisamment long pour permettre une digestion importante des substrats ingérés par les ciliés.

Les champignons doivent se fixer aux fragments végétaux pour les dégrader. Ils produisent des enzymes actives contre la cellulose et les hémicelluloses, et leur présence dans le rumen améliore de 30 à 50% la digestion des glucides pariétaux des fourrages peu digestibles comme la paille de blé (Hillaire et al., 1990). La contribution réelle des champignons du rumen à la fermentation des glucides intracellulaires est plus mal connue.

Des enzymes pectinolytiques, des estérases et des lyases sont produites par les protozoaires et les bactéries. En revanche, il ne semble pas que les champignons soient capables de digérer efficacement les substances pectiques (Hillaire et al., 1990).

Fermentations. Les produits issus de la phase d'hydrolyse sont principalement le glucose, le cellobiose, le xylose et l'acide galacturonique (Russel et Gahr, 2000). Les monomères issus des processus d'hydrolyse sont alors fermentés dans le cytoplasme des cellules microbiennes en AGV et gaz via le pyruvate. Le C2 et le C4 sont formés à partir à partir de l'acétyl Co-A alors que le C3 est principalement formé à partir du succinate, ou dans une moindre mesure, à partir de l'acrylate (via le lactate). Le C5 et le C6 sont formés à partir de la condensation de l'acétyl-CoA et du propionyl-coA (figure 4).

Les processus de fermentation anaérobie impliquent des transferts d'hydrogène et génèrent de l'énergie métabolique conservée sous la forme d'adénosine triphosphate (ATP), qui est ensuite utilisée par les micro-organismes afin d'assurer leur fonction d'entretien et de croissance. La partition entre les différentes voies fermentaires est régulée par des lois thermodynamiques à travers les ratios des cofacteurs ATP/ADP et NADH_2/NAD , reflétant le statut énergétique et le potentiel redox, respectivement. Lorsque l'énergie est en excès, les voies fermentaires générant moins d'ATP sont favorisées (Sauvant et Van Milgen, 1995).

Tableau 1. Influence de la nature ration sur la composition du mélange d'acides gras volatils dans le rumen, moyenne pendant 5 heures après le repas. (d'après Jouany et al., 1995)

Régime	AGV totaux	Proportions molaires (%)			
	mmole/l	Acétate	Propionate	Butyrate	Valérate
Foin de graminées	90,0	72	17	7	4
Foin (44 %) + orge (56 %)	115,6	61	30	8	1
Foin (18 %) + betteraves (82 %)	127,5	56	26	17	1
Foin (52 %) + lactosérum (48 %)	99,9	59	16	21	4

1.1.3. Production intestinale

L'importance du gros intestin dans la nutrition des ruminants est une évidence (Hoover, 1978). Les fermentations caecales conduisent à la production et à l'absorption des AGV dans ce compartiment, mis en évidence en 1943 par Barcroft et al. La proportion des AGV produits dans le gros intestin est en général probablement inférieure à 20%. Elle dépend fortement de la proportion de MO fermentée dans ce compartiment. Celle-ci est plus élevée avec des rations riches en parois peu digestibles (Ulyatt et al., 1975), ou avec des rations riches en amidon lentement dégradable dans le rumen.

1.1.4. Aspects quantitatifs : Intensité des fermentations et production des AGV

Pour les microbes, les AGV ne représentent qu'un produit de rejet mais pour l'animal ils représentent la principale source d'énergie absorbée, soit environ 80% de l'énergie digérée dans le rumen, 50 à 70% de l'énergie digestible ingérée chez les moutons et les bovins à l'entretien et 40 à 65% chez les vaches en lactation (Sutton, 1972; Thomas et Clapperton, 1972; Sutton, 1979, 1985).

1.1.5. Concentration en AGV dans le rumen

La concentration des AGV dans le jus de rumen est le reflet de la balance entre leur taux de production et de disparition (absorption et efflux vers les intestins). Elle est comprise entre 70 et 130 mM en moyenne. Immédiatement après le repas, la production est supérieure aux disparitions et la concentration augmente pouvant atteindre 200mM, mais la situation est rapidement inversée et la concentration peut diminuer jusqu'à 30mM. Les variations postprandiales des concentrations en AGV dans le caecum sont très faibles par rapport à celles observées dans le rumen (Hoover et al., 1964). De plus, il est actuellement reconnu que le taux de renouvellement de la phase liquide (proportion du liquide qui quitte le rumen par heure) du rumen agit sur la concentration en AGV. Un taux de renouvellement élevé favorise la croissance microbienne, et donc les fermentations ruminales (Stanier et Davies, 1981).

1.1.6. Profil d'AGV

Le profil en AGV (et par conséquent la méthanogénèse) quant à lui est, comme nous l'avons vu, largement déterminé par la composition de la ration (Tableau 1), et plus particulièrement, par la nature des glucides et leur vitesse de dégradation (Dijkstra, 1994), mais également par le NA.

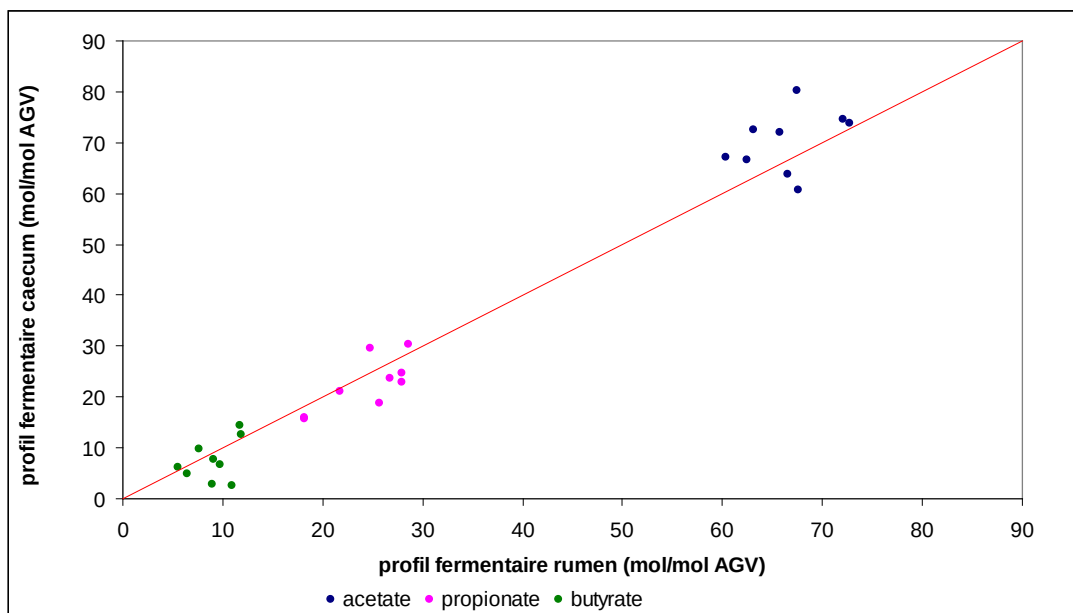


Figure 5 : relation entre les profils fermentaires du rumen et du caecum

Les régimes riches en parois entraînent le développement de la flore microbienne fibrolytique, qui se développe à $\text{pH} > 6$ et conduit principalement à la formation du C2. La proportion molaire C2:C3:C4 avoisine alors les 70:20:10.

Les régimes riches en amidon favorisent le développement des espèces microbiennes amylolytiques et provoquent ainsi une augmentation de la proportion de C3 qui peut atteindre 40% des AGV totaux, au détriment de celle du C2 qui reste cependant prédominant ($> 45\%$).

La fermentation des glucides solubles conduit à un profil d'AGV enrichi en C4, qui peut atteindre 15% des AGV totaux. Cet enrichissement en C4 est favorisé par le développement des protozoaires, qui sont fortement producteurs de C4 (Williams et Coleman, 1997). Contrairement à la formation de C3 (utilisation nette d'H), la formation de C2 et de C4 est productrice d'H, ce qui favorise la méthanogénèse dans le rumen.

En plus du type de glucides présents dans le régime, d'autres facteurs tels que le mode de présentation de l'aliment, le niveau d'ingestion, la fréquence de distribution des rations et les additifs peuvent affecter le profil de fermentation dans le rumen (Orskov, 1981; Thomas et Rook, 1981; Nagaraja et al., 1997).

Ainsi, le profil des AGV produits ne peut être prédit que par une approche « ration » intégrant les effets du niveau d'alimentation et des interactions entre substrats (Archimède et al., 1997 ; Sauvant et al., 2005), qui s'oppose à une approche « par substrats » classiquement développée dans les modèles mécanistes du rumen et qui a montré ses limites (Bannink et al., 1997 ; Friggens et al., 1998 ; Offner et Sauvant, 2004). Cette approche « ration » est aujourd'hui amorcée et il semble d'ores et déjà envisageable de pouvoir prédire les profils d'AGV dans le rumen, avec une précision acceptable par une approche empirique (Nozière et al., 2009).

Par ailleurs, les profils d'AGV dans le caecum (Figure 5) peuvent être sensiblement différents entre le rumen et le caecum (Ward et al., 1961 ; Siciliano Jones et Murphy, 1989), en raison d'une part de différences dans la nature des substrats et dans l'écosystème microbien ; en particulier, au niveau du caecum, une partie substantielle de l'hydrogène peut être utilisée par la voie de l'acétogénèse réductrice suivant la réaction (Prins et Lankhorst, 1977): $2 \text{CO}_2 + 4 \text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{H}_2\text{O}$.

1.1.7. Flux de production des AGV

La quantité d'AGV produits dépend de la quantité de matière organique fermentée dans le rumen. Celle ci peut être appréciée à partir du critère « matière organique fermentescible (MOF) » mis en place dans le cadre du système PDI (Protéine digérées dans

l'intestin grêle) pour apprécier la quantité d'énergie disponible dans le rumen. Elle est calculée à partir des teneurs en matière organique digestible (MOD), en matière azotée non dégradable in sacco dans le rumen (MAND) en amidon non dégradé in sacco dans le rumen (AMNDR) ainsi que par la teneur en extrait éthéré (EE) tel que $MOF = MOD - MAND - AMNDR - PF - EE$ (INRA, 2007). Dans le système PDI, l'efficacité de la synthèse microbienne a été fixée à 145 g de MAT microbienne/kg MOF (Vérité et al., 1987). La MO microbienne (MOM) étant formée d'environ 50 % de protéines, on considère que près de 30 % de la MOF est transformée en MOM, le reste étant transformé en AGV et en gaz. La partition des flux de carbone entre les AGV et les gaz étant de l'ordre de 75/25, on aboutit à une production ruminale d'AGV totaux de l'ordre de 52% de la MOF. L'intégration par méta-analyses des données publiées de production ruminale d'AGV mesurée à l'aide d'AGV marqués a permis de valider le critère MOF comme un bon prédicteur de la production des AGV totaux, avec une production moyenne de 8 mol AGVT / kg MOF (Nozière et al., 2009).

Une partie des AGV absorbés provient également des AGV ingérés avec les ensilages. En effet, les ensilages contiennent naturellement des produits de fermentations, dont des AGV, qui peuvent représenter jusqu'à 6% de la MS. Le profil en AGV est différent d'un ensilage à l'autre, mais le C2 est en général largement majoritaire. La concentration relative de chacun des AGV est un index fiable de leurs taux de production lorsque le pH du rumen est de l'ordre de 6,5, alors qu'il est communément admis que ce n'est plus le cas lorsque le pH ruminal descend en dessous de 6, notamment avec des régime riches en concentrés (Sutton, 1985), en particulier en raison de plus fortes différences de taux d'absorption entre AGV à pH acide. Des résultats récents suggèrent cependant que ces différences ne sont pas un frein majeur à la prédiction des flux de production des AGV individuels à partir des profils dans leur concentration relative dans le jus de rumen (Glasser et al., 2009; Vincent, 2009).

En ce qui concerne le caecum, Faichney (1969) a estimé, chez le mouton que le taux de production d'AGV était de 18mM/h, soit environ 8% du taux de production ruminale. Ceci correspondait à environ 5% de l'énergie digestible ingérée. D'une manière plus générale, la production d'AGV par le caecum varie entre 8 et 17% de la production totale d'AGV, dans la limite des régimes non extrêmes (Siciliano Jones et Murphy, 1989)

1.2. Absorption des acides gras volatils à travers la paroi du rumen

Ces aspects ont été récemment largement passés en revue (Gäbel et Aschenbach, 2006). En fonction en particulier du taux de renouvellement de la phase liquide du rumen, entre 65%

et 85% des AGV produits dans le rumen sont absorbés à travers la paroi du réticulo-rumen (Peters et al., 1990; Peters et al., 1992), le reste des AGV produits étant absorbé dans les compartiments post-réticulo-rumen (feuillet et caillette).

En raison de leurs valeurs de pKa très basses (4.75, 4.87 et 4.81 pour le C2, C3, et C4, respectivement), par rapport au pH du rumen, plus de 95% des AGV présents dans le rumen sont sous forme ionisée (AGV^-). Leur diffusion à travers la double couche de lipides des membranes cellulaires sous cette forme est cependant moins aisée que sous la forme non ionisée (VFAH). Ainsi, l'abaissement du pH intra ruminal, et donc l'augmentation de la proportion de VFAH, augmente le taux d'absorption des AGV (Dijkstra et al., 1993; Pitt et al., 1996; Nozière et Hoch, 2005). On considère généralement que l'absorption des AGV a lieu principalement par diffusion simple (figure 6, A) sous forme VFAH à travers l'épithélium ruminal (Bergman, 1990), le proton nécessaire étant fourni par un échange Na^+/H^+ au pôle apical de la cellule épithéliale (figure 6, C), ce qui favorise un gradient des VFAH entre la lumière et la cellule. L'existence d'une absorption des AGV^- ne peut cependant pas être écartée. Différentes études ont suggéré l'existence d'un système de diffusion facilitée. Ce système semble mettre en jeu des protéines d'échanges d'anions, favorisant la sécrétion de bicarbonate vers la lumière (figure 6, B). D'après Titus et Ahearn (1992), pour le rumen, dans lequel les concentrations d'AGV sont élevées, le système d'échanges d'anions apporterait seulement une petite contribution à l'absorption totale des AGV, agissant plus comme un système de transport du bicarbonate de la cellule épithéliale vers la lumière du rumen. Au contraire, le modèle mécaniste développé par Bannink et al (2008) suggère que la contribution de la diffusion facilitée à l'absorption des AGV est importante même à bas pH (> 45% à pH 5,7). Les impacts sur les flux de HCO_3^- ne sont cependant pas représentés dans ce modèle. La plupart des modèles proposés pour l'absorption des AGV à travers la paroi ruminale impliquent donc la protonation des AGV avant qu'ils ne traversent le pôle apical des cellules épithéliales. Les protons peuvent provenir de l'hydratation du CO_2 (figure 6, C), apportant HCO_3^- et H^+ , ou de l'échangeur de Na^+/H^+ (figure 6, D) présent au pôle apical des cellules (Stevens et al., 1986). Gäbel et Martens (1989) ont observé un lien entre l'absorption des acides faibles et l'activité de l'antiport Na^+/H^+ .

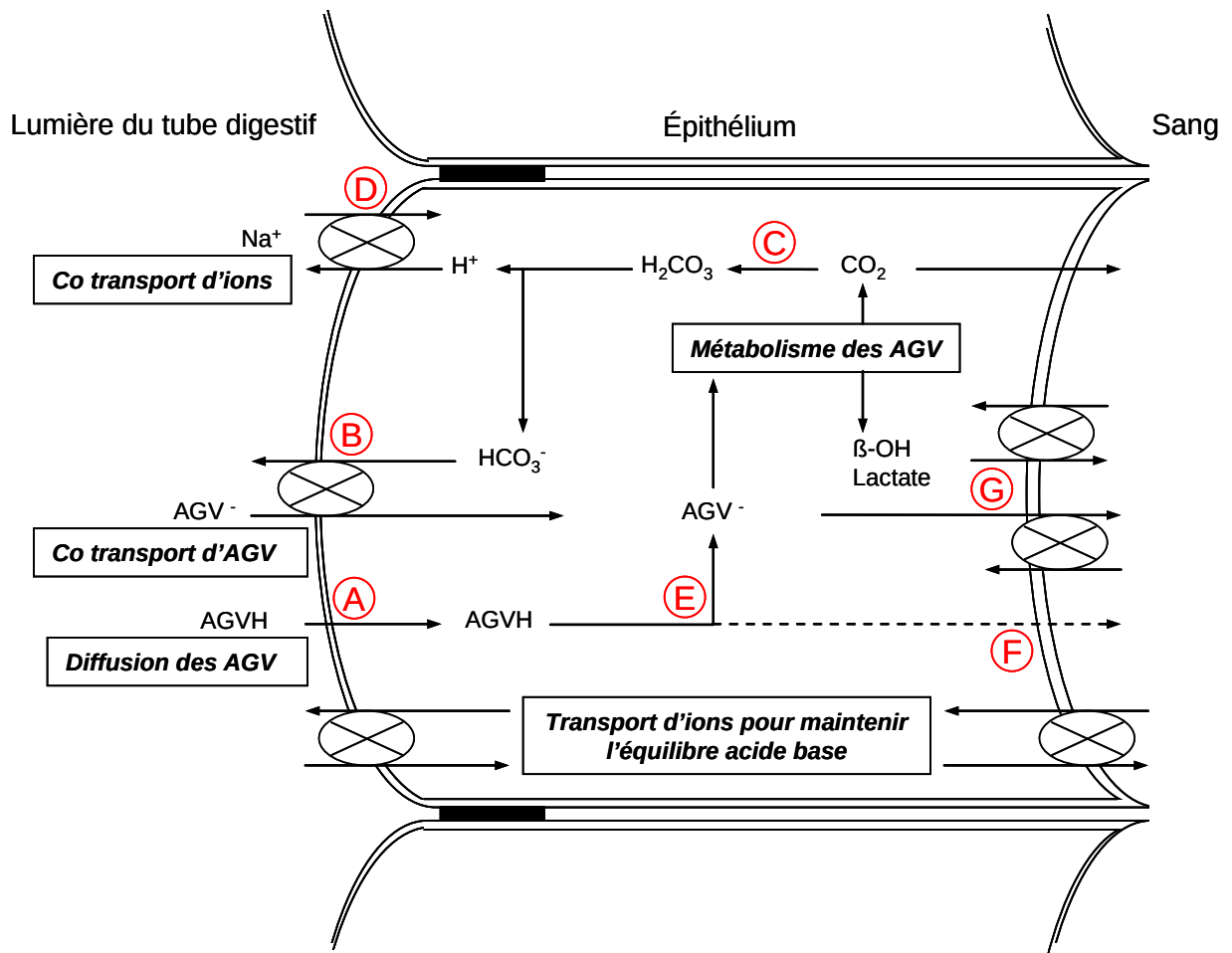


Figure 6 : Représentation schématique (d'après Bannink et Tamminga, 2005) de l'absorption des acides gras volatils à travers la paroi du rumen.

Les lettres renvoient au texte.

À l'intérieur des cellules épithéliales, un nouvel équilibre entre les AGV^- et AGVH se met en place dans des conditions de pH intracellulaire (qui favorise AGV^- , figure 6, E). Ceci tend à augmenter le gradient des AGVH à travers la membrane apicale des cellules. Ce gradient de concentration est accentué par le catabolisme intracellulaire des AGVH . La sortie des AGV par le pôle basal des cellules épithéliales semble assurée par le même processus que leur entrée par le pôle apical, c'est-à-dire par diffusion passive des AGVH (figure 6, F) et diffusion facilitée des AGV^- (figure 6, G) à l'aide d'un transporteur spécifique. La présence au pôle apicale d'un système de transporteur des AGV^- , permettant l'échange entre AGV et HCO_3^- a été suggérée pour la première fois par Ash et Dobson (1963). Cependant, aujourd'hui encore, la nature exacte de ce transporteur est inconnue.

D'un point de vue moléculaire, différentes familles de transporteurs pourraient intervenir dans les systèmes d'échange entre AGV^- et HCO_3^- . Les plus probables sont les familles des échangeurs d'anions (Alper et al., 2002), des protéines DRA (down regulated adenoma) et des transporteurs d'anions putatifs (Jacob et al., 2002; Wan et al., 2002).

Les études menées sur rumen isolé ont prouvé qu'à pH acide (4,5 – 5,5), le taux d'absorption des AGV augmentait avec l'augmentation de la longueur de la chaîne carbonée (acide acétique < acide propionique < acide butyrique), tandis qu'à un pH proche de la neutralité, les taux d'absorption de ces trois acides étaient très proches (Dijkstra et al., 1993; Lopez et al., 2003). Les taux d'absorption des AGV ramifiés semblent également être inférieurs à ceux de leurs isomères à chaîne droite (Oshio et Tahata, 1984). Ces différences de taux d'absorption peuvent être dues aux différences de solubilité dans les lipides des membranes cellulaires, de mécanismes d'absorption des AGV (différents degrés de participation des transporteurs) et de métabolisme des AGV dans les cellules épithéliales.

Le taux d'absorption des AGV est également affecté par la surface du rumen (Perrier et al, 1994) et par le volume de liquide (Dijkstra et al., 1993), comme représenté dans certains modèles du rumen (Dijkstra et al, 1993 ; Pitt et al, 1996). L'effet spécifique de l'osmolarité sur les taux d'absorption des AGV varie entre les études. Quand certaines indiquent que l'eau et les taux d'absorption des AGV diminuent en moyenne de -3%/h et de -6%/h respectivement, quand l'osmolarité augmente de 100 mOsm/L (Oshio et Tahata, 1984), d'autres signalent que les taux d'absorption des AGV sont maximaux quand l'osmolarité est proche de 350 mOsm/L (Lopez et al, 1994), c'est-à-dire quand le transfert net d'eau par la paroi du rumen est proche de 0. Le fait que les AGV déterminent en grande partie l'osmolarité ruminale peut expliquer les différences entre les études.

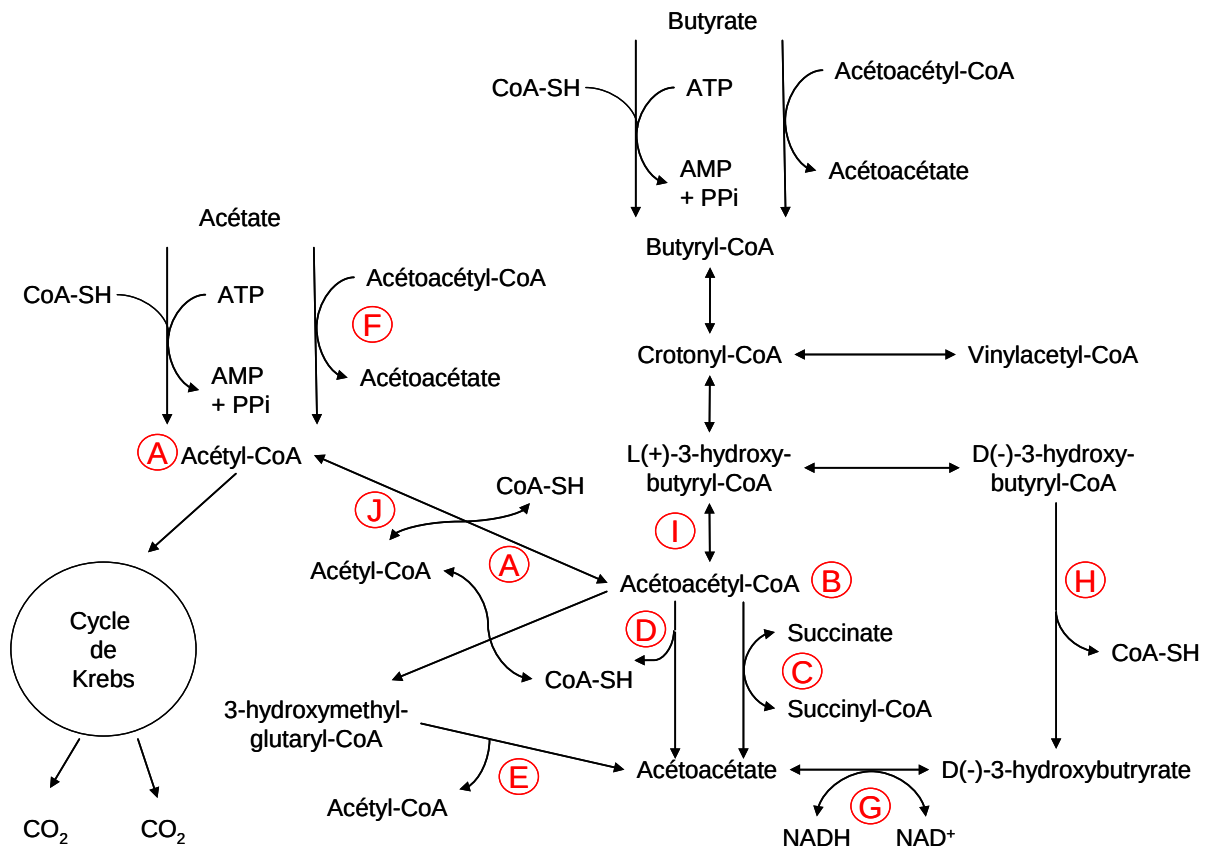


Figure 7 : Voies métaboliques de la transformation de l'acétate et du butyrate dans l'épithélium ruminal (d'après Rémond et al., 1995). Les lettres renvoient au texte

1.3. Métabolisme des acides gras volatils par les tissus drainés par la veine porte

Le métabolisme des AGV par les TDVP a été largement passé en revue (Rémond et al., 1995; Kristensen et Harmon, 2006).

1.3.1. Mécanismes

Activation :

On a longtemps considéré que les AGV étaient métabolisés en grande partie par l'épithélium ruminal au cours de l'absorption, et qu'ils n'étaient donc disponibles pour les autres tissus que dans des quantités très inférieures à la quantité produite dans le rumen. Il semble désormais, contrairement à ce que l'on pensait, que le C2 et le C3 sont très peu métabolisés au cours du processus d'absorption.

La première étape du métabolisme des AGV par l'épithélium ruminal est l'activation. In vitro, les activités acyl- (acétyl-, propionyl- et butyryl-) CoA synthétases sont d'autant plus élevées que la longueur de la chaîne augmente, ce qui est cohérent avec les observations in vivo. Ces trois activités acyl-CoA synthétase augmentent avec le niveau d'ingestion (Harmon et al., 1991). Ces activités sont également régulées par la disponibilité ruminale des différents AGV : l'activation du C2 est inhibée par le C4 (-63%), et dans une moindre mesure par le C3 (-38%) ; l'activation du C3 est inhibée par le C4 (-82%), mais pas par le C2 (Ash et Baird, 1973) ; l'activation du C4 n'est pas modifiée par le C2 ou le C3. Ces régulations favorisent donc l'activation prioritaire du C4. L'existence d'une voie d'activation mettant en oeuvre des activités acetoacyl-CoA transférase, moins coûteuse en énergie pour l'épithélium, est également envisageable (Emmanuel et Milligan, 1983).

Voies métaboliques :

Dans l'épithélium ruminal, les voies métaboliques du C2 et du C4 sont interdépendantes, par leur transformation en acetyl-CoA (figure 7). Ces deux AGV peuvent être soit complètement oxydés dans le cycle de Krebs (figure 7, A), soit métabolisés en corps cétoniques, c'est-à-dire en acéto-acétate et β -hydroxybutyrate (BHBA) en particulier via l'acétoacétyl-CoA, (figure 7, B et J). Un faible taux d'interconversion entre l'acétyl-CoA et l'acétoacétyl-CoA (Figure 7, J) expliquerait pourquoi le C2 est de préférence oxydé en CO₂ tandis que le métabolisme du C4 donnerait lieu essentiellement à des corps cétoniques. L'équilibre entre l'acétoacétyl-CoA et l'acétyl-CoA et la régulation des enzymes impliquées jouent un rôle considérable dans l'orientation du métabolisme du C2 et du C4.

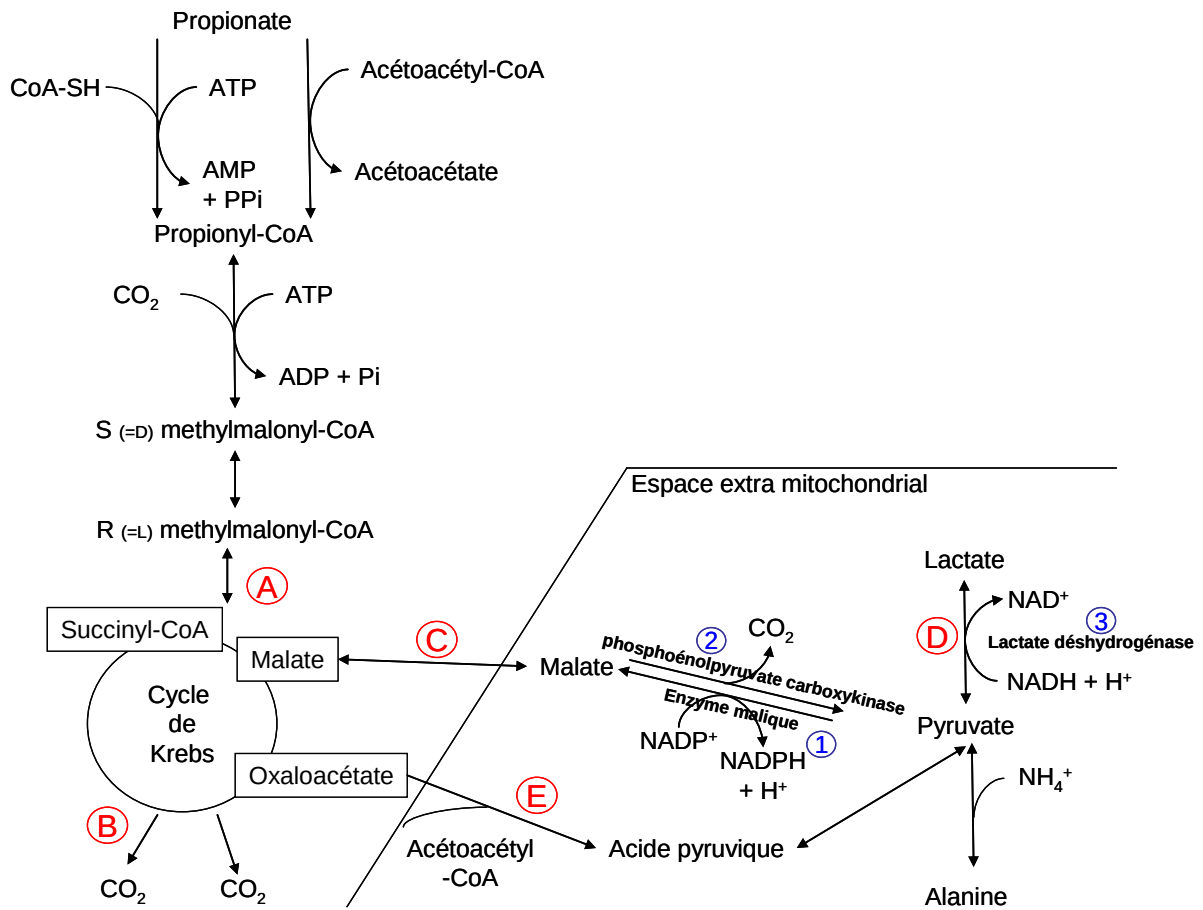


Figure 8 : Voies métaboliques de la transformation du propionate dans l'épithélium ruminal (d'après Rémond et al., 1995). Les lettres et chiffres renvoient au texte.

En ce qui concerne la production de corps cétoniques, l'acétoacétate (AcAc) est produit à partir de l'acétoacétyl-CoA selon trois voies métaboliques, transfert d'acyle avec le succinate (figure 7, C), désacylation directe (figure 7, D) ou 3 hydroxy-méthylglutaryl-CoA (figure 3, E). Les proportions relatives de ces voies sont de 70:16:14 respectivement (Bush et Milligan, 1971). La trans-acylation entre l'acétoacétyl-CoA et le C4 ou le C2 (figure 7, F) peut aussi jouer un rôle significatif dans la production d'AcAc (Emmanuel et Milligan, 1983). Enfin, la réduction de l'AcAc par la D-BHBA déshydrogénase produit du BHBA (figure 7, G). Ce dernier peut également être produit à partir de l'hydroxy-butyryl-CoA (figure 7, H et I, Emmanuel et al. (1982).

Les orientations du métabolisme du C3 dans l'épithélium ruminal sont moins documentées. Après activation, le C3 peut entrer dans le cycle de Krebs, par l'intermédiaire du succinyl-CoA (figure 8, A), pour être totalement oxydé (figure 5, B) ou produire du pyruvate, lactate ou alanine, à partir du malate (figure 8, C) ou de l'oxaloacétate. La forte activité de l'enzyme malique (Figure 8, voie 1), comparée à celle de la phosphoénolpyruvate carboxykinase (Figure 5, voie 2), et la forte activité de la lactate déshydrogénase (Figure 8, voie 3) (Young et al., 1969; Weekes, 1974; Bush, 1982) indiquent que la production de lactate à partir de la décarboxylation du malate (figure 8, D) serait une voie prédominante du métabolisme du C3. Weekes (1974) a montré que la formation de lactate et de pyruvate à partir du C3, in vitro, était relativement peu sensible à la présence des autres AGV. Par contre la présence conjointe de glucose et de C3 augmente de façon synergique la production de lactate et de pyruvate tandis que le NH_3 exerce un effet inhibiteur sur la formation de lactate (Weekes, 1974). En définitive, la proportion relative de C3 oxydée ou convertie en lactate ou d'autres métabolites pendant son absorption in vivo demeure indéfinie.

1.3.2. Quantification du métabolisme épithélial des acides gras volatils

Les connaissances sur l'intensité du métabolisme des AGV par les TDVP in vivo ont fortement progressé au cours de ces dernières années. La synthèse quantitative de différentes études visant à quantifier le taux de récupération en veine porte des AGV infusés dans le rumen, indique une récupération moyenne de 71% pour le C2 (après correction du prélèvement du C2 artériel (Bergman et Wolf, 1971; Kristensen et al., 1996a,b), 69% pour le C3, et 26% pour le C4 (Nozière et Hoch, 2005). Les "pertes" en AGV à travers les TDVP ont longtemps été attribuées au métabolisme des AGV au cours du processus d'absorption, en particulier au niveau du rumen.

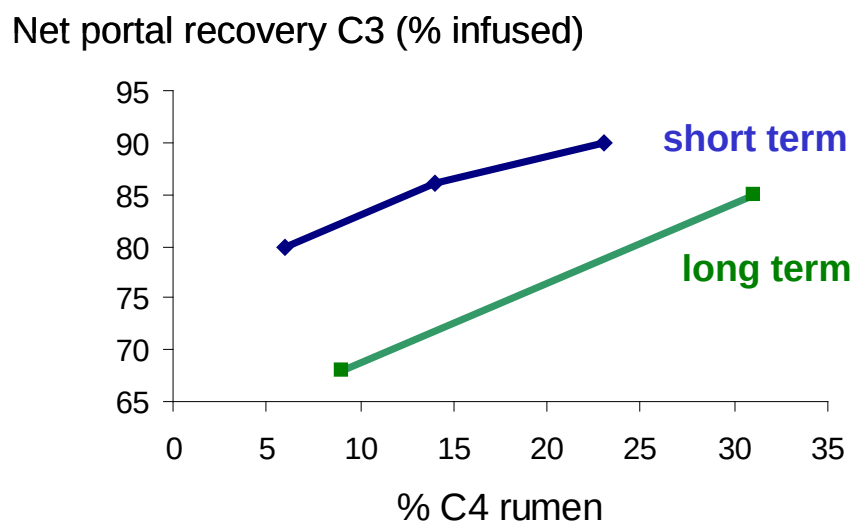


Figure 9 : Récupération en veine porte du propionate suite à des infusions ruminales de butyrate (d'après Kristensen et al., 2000 ; Nozière et al., 2000)

Toutefois, même si en prenant en compte l'émission de métabolites 2ndaires (lactate à partir du C3 ou corps cétoniques à partir du C4, Weekes et Webster, 1975; Krehbiel et al., 1992; Kristensen et Harmon, 2004a), les « pertes » d'AGV entre le rumen et la veine porte sont trop importantes pour être justifiées par leur oxydation complète dans les TDVP (Kristensen et Danfaer, 2001; Kristensen et Harmon, 2004c) ou par une utilisation importante du C2 pour la lipogenèse dans l'épithélium ruminal (Ingle et al., 1972).

Kristensen et Danfaer (2001) ont suggéré qu'une part non négligeable des AGV infusés dans le rumen pouvait être séquestrée par les micro-organismes. Ainsi, l'utilisation d'AGV marqués a permis de mettre en évidence une incorporation non négligeable du C2 et du C3 dans les corps microbiens. In vivo 28, 8 et 20% du ^{13}C infusé dans le rumen sous forme de [2- ^{13}C]-C2 sont incorporés respectivement dans les acides gras et acides aminés microbiens, ou sous forme d'AGV autres que le C2 (Kristensen (2001). In vitro, 10% de la production de C3 est incorporée dans les bactéries et les protozoaires, après incubation de jus de rumen avec du [2- ^{14}C]-C3 (Nozière et al., 2003). Elle pourrait être attribuée à la biosynthèse d'acides gras impairs par les bactéries (Emmanuel et al., 1974) et les protozoaires (Emmanuel, 1974).

Ainsi les « pertes » d'AGV infusés entre le rumen et la veine porte ne seraient pas attribuables en totalité au métabolisme par la paroi du rumen. Des essais sur moutons couplant la technique du rumen vidé lavé et la mesure de l'absorption portale des AGV (corrigée du prélèvement artériel pour le C2), ont confirmé cette hypothèse mis en évidence une récupération en veine porte de 101%, 95%, 23, 102% et 32% pour le C2, le C3, le C4, l'iso-C4 et le C5 (Kristensen et al., 2000a). Ces données soutiennent l'hypothèse que l'épithélium ruminal métabolise peu le C2, le C3 et l'iso-C4, mais métabolise préférentiellement le C4 et le C5. Bien que l'épithélium ruminal métabolise environ 75% du C4 apporté, il émet seulement 50% du γ -hydroxybutyrate produit dans les tissus splanchniques (Reynolds et al., 1988a; Casse et al., 1994; Reynolds et al., 2003).

Cette valeur est obtenue après correction du prélèvement du γ -hydroxybutyrate par les TDVP, de l'ordre de 15% chez le mouton (Kristensen et al., 2000c). Le C2 métabolisé par les TDVP serait prioritairement d'origine artérielle, dont le taux d'extraction varie de façon non linéaire (250 à 40%) avec l'apport artériel.

L'intensité du métabolisme des AGV semble également dépendre du profil en AGV (Kristensen et al., 2000b; Nozière et al., 2000). Contrairement aux suggestions des études in vitro (Harmon et al., 1991), des infusions intraruminales riches en C4 n'ont pas modifié l'ANP de C2 et d'iso-C4, mais ont augmenté celles de C4, C5 et C3 (NS, Kristensen et al., 2000a; Nozière et al., 2000, Figure 9).

Ces observations suggèrent l'existence d'une acyl-coA synthétase ayant une affinité préférentielle pour le C4 et le C5, mais pouvant activer le C2, le C3 et l'iso-C4 lorsque les substrats préférentiels sont insuffisants (Kristensen et al., 2000b).

Ainsi, les AGV sont principalement produits dans le rumen. Ils représentent les produits terminaux de la fermentation microbienne de la matière organique et plus particulièrement des glucides. La production ruminale des AGV totaux et leur apparition portale semblent principalement affectées par le niveau d'ingestion de la matière organique fermentescible alors que leurs proportions molaires individuelles sont affectées par la composition du régime alimentaire (et plus particulièrement par la nature des glucides fermentés dans le rumen), mais aussi par le niveau d'ingestion. Il a également été montré que la production ruminale d'AGV et leur absorption sont étroitement liées.

Ainsi, afin de mieux prédire les variations d'apparition nette portale des AGV totaux, nous avons choisi de caractériser l'étendue des fermentations ruminales par la quantité de MOF telle que définie par le système INRA.

Dans un deuxième temps, pour prédire les variations de proportions molaires individuelles dans le flux porte des différents AGV nous nous sommes focalisés sur les changements de composition de régimes des animaux. Ainsi, la teneur en parois (NDF) digestibles dans le rumen (NDFdR), l'amidon digestible dans le rumen (AMdR) ainsi que leur contribution respective à la MOF ont été utilisés comme caractérisation de la nature de l'énergie fermentescible.

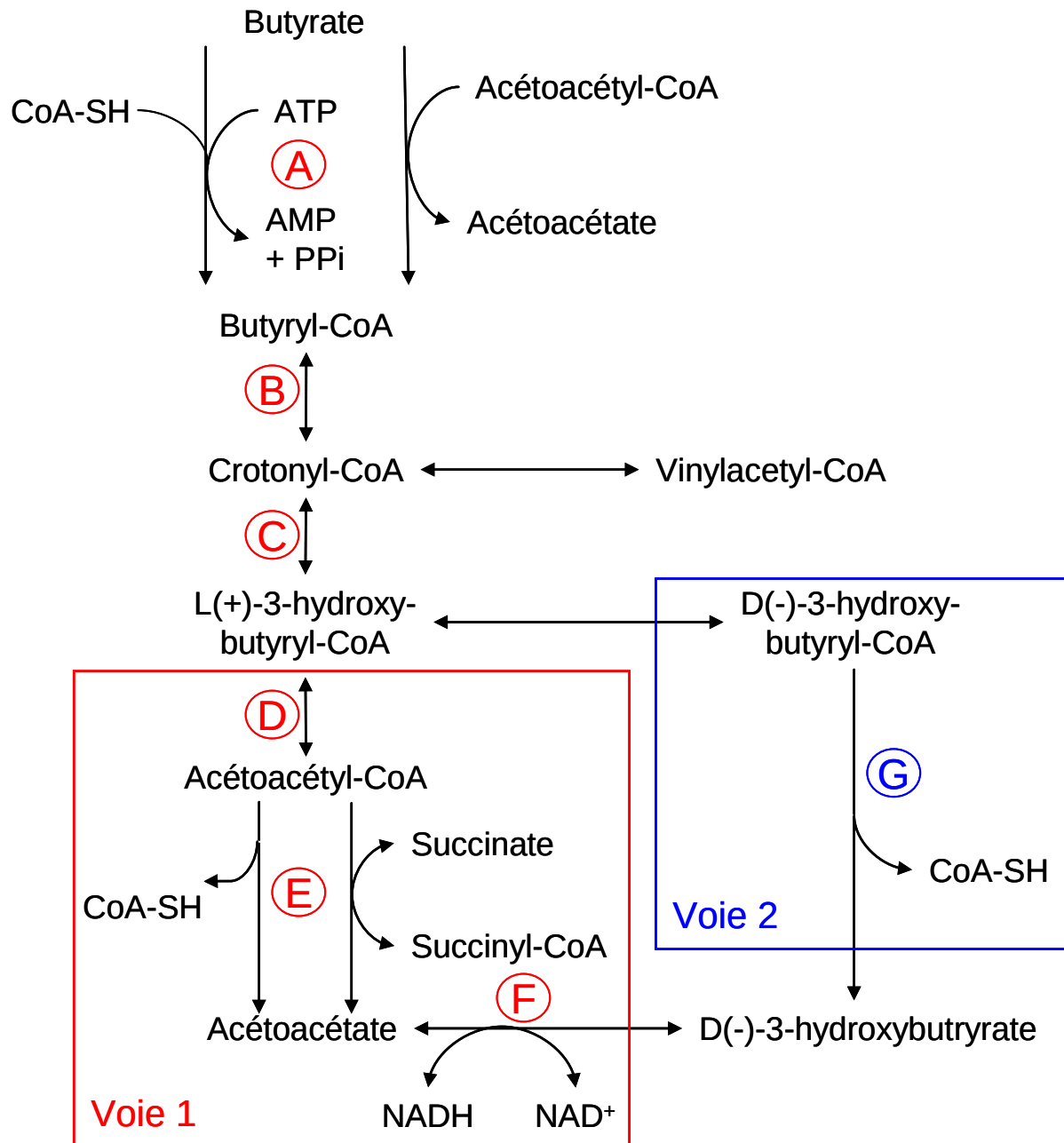


Figure 10 : Voies métaboliques de la formation du β -hydroxybutyrate dans l'épithélium ruminal (D'après Rémond et al., 1995). Les lettres renvoient au texte

2. LE BETA HYDROXYBUTYRATE

Le BHBA est le principal corps cétonique émis en veine porte, représentant 85% des corps cétoniques sanguins chez le mouton (Leng et Annison, 1963). L'acétone est également un corps cétonique, mais il est formé différemment du BHBA (à partir d'une décarboxylation non enzymatique de l'acétoacétate) et ne contribue que dans une moindre fraction au flux total des corps cétoniques (McGarry et Foster, 1980).

2.1. Production du β -hydroxybutyrate à partir du butyrate

Les études ont montré que la majeure partie du C4 et une proportion plus faible de C2 étaient converties en acétoacétate et en BHBA lors de leur absorption à travers l'épithélium ruminal et les mécanismes de conversion ont largement été passés en revue par Rémond et al (1995).

Le métabolisme du C4 en corps cétonique serait un mécanisme capable de fournir à l'épithélium ruminal la plupart de ses besoins en énergie (Bush et Milligan, 1971).

Cependant, la couverture des besoins énergétiques de l'épithélium n'est pas le seul avantage ; le C4 peut inhiber la division cellulaire et la cétogénèse peut être vue comme une détoxification (Giesecke et al., 1985)

2.1.1. Conversion ruminale :

L'épithélium ruminal est considéré comme le principal organe cétogénique chez les animaux alimentés et non gestants (Leng et West, 1969; Varnam et al., 1978). La capacité du foie à convertir l'acétoacétate en BHBA est limitée et les mitochondries de l'épithélium du rumen représentent le site de prédilection de la cétogénèse (Koundakjian et Snoswell, 1970). Le C4 est métabolisé en BHBA par le biais de 2 voies principales. Elles passent par l'activation du C4 en butyryl-CoA (Figure 10, A). Le butyryl-CoA activé est converti en crotonyl-CoA (Figure 10, B) et L- β -hydroxybutyryl-CoA (Figure 10, C ; Emmanuel et al., 1982). Il est ensuite converti en acetoacetyl-CoA (Figure 10, D), acetoacétate (Figure 10, E) et finalement en BHBA (Figure 10, F, voie 1) ou directement converti en D-hydroxybutyryl-CoA (Figure 4, G) qui est ensuite converti en BHBA (voie 2). Stevens et Stettler (1966) ont mesuré in vitro que 75% du C4 métabolisé par l'épithélium ruminal était converti en BHBA. Leng et West (1969) ont montré chez le mouton à l'aide de traceurs qu'entre 78 et 94% de l'ensemble du BHBA circulant provenait du C4 ruminal, avec seulement une faible contribution du C2 et des acides gras non estérifiés.

Annison et al. (1967) ont suggéré qu'entre 34 et 64% du C4 produit dans le rumen était oxydé en CO₂. L'oxydation a été surestimée probablement en raison de l'inter-conversion importante du carbone entre le C2 et le C4 dans le rumen (Leng et Brett, 1966).

2.1.2. Conversion intestinale :

Dans le caecum et le gros intestin des lapins, le C4 est largement métabolisé en CO₂ et représente un substrat énergétique important (Marty et Vernay, 1984). Pennington (1952) est arrivé à la conclusion que la conversion in vitro du C4 en BHBA par les tissus caecaux des moutons était plus faible que pour les tissus ruminiaux. Dans leur étude sur bovins, Reynolds et Huntington (1988) n'ont pas observé d'émission nette de BHBA par les tissus drainés par la veine mésentérique. Une des explications avancée est que le C4 absorbé par les tissus intestinaux aurait été oxydé en CO₂ plutôt qu'en corps cétonique comme dans l'épithélium ruminal.

Une autre explication possible est qu'il y ait bien production de BHBA par les tissus drainés par la veine mésentérique mais que cette production soit inférieure à l'utilisation du BHBA artériel par ces mêmes tissus.

En effet, comme le C2, le BHBA extrait des tissus drainés par la veine mésentérique peut être oxydé ou incorporé dans la graisse mésentérique (Bergman et Wolff, 1971). De même, Katz et Bergman (1969a) ont observé une utilisation nette du BHBA par l'ensemble des TDVP chez des brebis gestantes à jeun. Ainsi, d'après Reynolds et Huntington (1988), la production nette de BHBA par les TDVP serait attribuable totalement aux tissus non mésentériques (en particulier les pré-estomacs) chez les bovins.

2.2. Régulation de la céto-genèse

La céto-genèse ruminale est régulée. L'augmentation de la concentration de C4 dans le milieu d'incubation induit une diminution de la proportion du C4 oxydé et une augmentation de la proportion de corps cétoniques produits (Beck et al., 1984). De même le glucose augmente de manière significative la céto-genèse à partir du C4 et diminue son oxydation en CO₂, tandis que le NH₄⁺ et le pyruvate ont des effets opposés (Beck et al., 1984; Giesecke et al., 1985). Certains métabolites induiraient une augmentation du ratio NADH/NAD⁺ dans l'épithélium, ce qui aurait pour conséquence de stimuler la céto-genèse et donc d'épargner le C4 de l'oxydation (Giesecke et al., 1985). Les effets du C3 et du C2 sur la céto-genèse sont moins clairs (Rémond et al., 1995).

L'addition de C3 dans le milieu n'aurait pas d'effet anti-cétosique dans l'épithélium ruminal, alors que cet effet inhibiteur est clair dans le foie (Bush et al. 1970). A l'inverse, Baldwin et Jesse (1996) ont rapporté une augmentation de la production de BHBA à partir du C4 lorsque du C3 était ajouté au milieu d'incubation.

Le C2 semble avoir des effets opposés, et lorsque des cellules épithéliales ruminales sont incubées avec les trois AGV, la production de BHBA à partir du C4 semble être le résultat des effets antagonistes du C3 et du C2. In vivo, l'augmentation du niveau de C3 absorbé, entraîne une diminution de la production de BHBA par les tissus non-mésentériques alors que la quantité de C4 métabolisée ne semble pas affectée (Seal et Parker, 1994), suggérant ainsi un effet anti-cétogénique du C3.

2.3. Influence de l'alimentation et des infusions sur l'absorption

Un régime riche en concentrés entraîne une augmentation de la concentration artérielle en BHBA par rapport à un régime à base de luzerne (Reynolds et Huntington, 1988). Cette augmentation n'est pas observée au niveau de l'ANP ou en veine mésentérique.

Elle pourrait être due à une augmentation de la céto-genèse hépatique et/ou à une diminution de l'utilisation du BHBA artériel.

Krehbiel et al. (1992) ont observé, sur des bœufs Holstein recevant des infusions ruminales de C4, qu'une augmentation du C4 ruminal entraînait une augmentation des concentrations artérielles en C4 et en BHBA et de l'ANP de C4, associée à une augmentation de l'ANP d'acétoacétate, mais pas de BHBA. Weigand et al. (1972) ont suggéré que le système enzymatique associé à la céto-genèse ruminale pouvait être saturé, ce qui pourrait expliquer ces résultats. Kristensen et al. (2000c) ont obtenu des résultats similaires sur des brebis recevant des infusions ruminales de C4 ou de C4 + C3, à savoir une augmentation de la concentration artérielle en C4 et en BHBA, sans modification de l'ANP de BHBA mais les hypothèses émises sont différentes. Kristensen et al. (2000c) suggèrent en effet que contrairement à ce que le suggère le flux net, il y a bien eu augmentation de l'ANP de BHBA, induisant une augmentation de la concentration artérielle en BHBA probablement contrebalancée par une augmentation simultanée du métabolisme du BHBA artériel par les TDVP. Ainsi, ils concluent en suggérant qu'il existe bien une capacité limitée de l'épithélium ruminal à la céto-genèse mais que cette capacité est supérieure à celle proposée précédemment.

Ainsi, le BHBA est un corps cétonique principalement produit à partir du C4 par l'épithélium ruminal, chez l'animal nourri, en BE positif.

Le taux de production ruminale du BHBA et son apparition portale sont principalement affectés par la disponibilité en C4.

La régulation de la céto-genèse ruminale reste encore soumise à discussion, mais il semblerait que le profil en AGV impacte la formation du BHBA à partir du C4.

De ce fait, les quantités de C4 disponibles, le niveau d'ingestion de la MOF et la composition du régime alimentaire pourraient être des pistes pour prédire la production, voire l'ANP du BHBA.

3. LE GLUCOSE

Les organes émetteurs de glucose sanguin sont le foie, l'intestin et le rein. Le foie est quantitativement le plus important producteur de glucose chez les ruminants. Il participe à hauteur de 85 - 90 % au turnover total de glucose chez les animaux alimentés avec des régimes riches en fourrages (Bergman et al., 1970). Avec ces régimes, l'ANP du glucose est négligeable, car de faibles quantités d'amidon échappent aux fermentations ruminales et sont absorbées sous forme de glucose. Le glucose est de plus fortement métabolisé par les TDVP.

3.1. Digestion intestinale de l'amidon et rendement en glucose

Avec des régimes riches en amidon lentement dégradable, l'amidon échappant à la dégradation ruminale peut atteindre 9 g/j/kg PV (Mc Carthy et al., 1989), c'est-à-dire 75% de l'amidon ingéré (Crooker et al., 1999; VanVuuren et al., 1999). L'amidon entrant dans le duodénum est soumis à l'activité de l' α -amylase pancréatique, qui hydrolyse l'amylose et l'amylopectine et les oligomères à 2 ou 3 unités glucose. Les oligosaccharides sont hydrolysés par les oligosaccharidases (maltase, isomaltase) localisées sur la bordure en brosse des microvillosités de la membrane intestinale (Harmon, 1992). La digestibilité de l'amidon dans l'intestin est variable, de 10 à 95% de l'amidon entrant dans le duodénum, mais la majeure partie de la digestion post-ruminale (en moyenne 70%) a lieu dans l'intestin grêle. La quantité d'AMdIG peut atteindre 5 g/j/kg PV (Stock et al., 1987), mais la plupart des valeurs publiées excèdent rarement 3 g/j/kg PV (Nozière et al., 2009).

Plusieurs travaux ont été conduits afin de mettre en évidence les facteurs qui pouvaient limiter la digestion de l'amidon dans l'intestin grêle (revue par Harmon et al., 2004). Kreikemeier et al. (1990) et Walker et Harmon (1995) ont mis en évidence le manque de réponse adaptative du pancréas des ruminants à une augmentation de l'amidon intestinal, suggérant ainsi que l'activité de l'amylase pancréatique pourrait être limitante alors que la sécrétion pancréatique d'amylase répond à la quantité d'énergie ingérée (Harmon, 1993). De même, les activités de l' α -glucosidase (maltase et isomaltase) de la bordure en brosse semblent présenter de faibles réponses aux variations de régime (Janes et al, 1985; Kreikemeier et al., 1990). Ceci peut expliquer l'accumulation d' α -glucoside (principalement disaccharides) dans les digesta iléaux des bovins ayant subi une infusion abomasale de glucose, de dextrines de maïs, ou d'amidon de maïs (Kreikemeier & Harmon, 1995).

Les simulations d'un modèle mécaniste de la digestion intestinale de l'amidon et de l'absorption du glucose, basés sur les résultats de Kreikemeier et al. (1991), suggèrent que l'amylase est plus limitante que l'activité des oligosaccharidases intestinales dans le processus de digestion (Huntington, 1997). Une augmentation des sécrétions pancréatiques (incluant l'amylase) par augmentation des protéines entrant dans le duodénum, améliore la digestibilité de l'amidon dans l'intestin grêle chez le mouton (Taniguchi et al., 1993) et l'ANP du glucose chez le bovin (Taniguchi et al., 1995). Ceci met en évidence que la sécrétion de l'amylase peut être améliorée par augmentation de l'entrée duodénale de protéines. Cependant, à ma connaissance, ceci n'a pas été clairement démontré avec une alimentation conventionnelle. Huntington (1997) souligne que pour être efficace, l'augmentation de la sécrétion d'amylase devrait s'accompagner d'une protection de la dégradation par les enzymes protéolytiques sécrétées simultanément, ou d'interactions positives entre l'amylase et l'amidon. L'étendue de la digestion intestinale de l'amidon peut aussi être limitée par le temps de transit, ou encore par l'exposition de l'amidon aux enzymes de ce compartiment. De larges différences dans la digestibilité post-ruminale sont rapportées en fonction du process auquel est soumis le grain (revue de Huntington, 1997), ainsi que de sa vitrosité (Ramos et al., 2009).

3.2. Absorption du glucose et apparition en veine porte

Chez les moutons et les bovins l'absorption de glucose est plus élevée après une infusion abomasale de glucose qu'après une infusion abomasale d'amidon (Huntington, 1986; Kreikemeier et al., 1991). Ainsi, ce serait le processus d'hydrolyse de l'amidon qui limiterait l'absorption de glucose, et non la capacité d'absorption de l'intestin.

Le transport de glucose s'effectue essentiellement par transport actif Na-dépendant (Kreikemeier et Harmon, 1995; Krehbiel et al., 1996), et dans une moindre mesure (< 20%, Huntington 1997) par absorption passive paracellulaire. Parallèlement à ce qui a été observé pour l'absorption, Huntington (1986) a montré que la récupération nette portale de glucose est plus faible avec de l'amidon (35%) qu'avec du glucose (65%) infusé dans la caillette.

3.2.1. Métabolisme du glucose dans le tube digestif

Prélèvement de glucose par le tube digestif

Les TDVP sont généralement des utilisateurs nets de glucose, avec une utilisation d'environ 5 à 15 % de la production de glucose hépatique (Bergman et al., 1970).

Cependant, quand le ruminant dispose d'une ration concentrée, l'absorption du glucose par l'intestin peut atteindre 30 % du turnover du glucose total (van der Walt et al., 1983).

Les TDVP peuvent ainsi utiliser de 6 à 36% du glucose produit dans l'organisme. Le glucose peut être oxydé dans l'épithélium du rumen ou converti en lactate dans la muqueuse intestinale (Britton et Krehbiel, 1993).

Janes et al. (1985) ont montré que les TDVP utilisent principalement le glucose d'origine artérielle. Balcells et al. (1995) ont confirmé ces observations en infusant du glucose dans la veine jugulaire de moutons adultes. Ils ont ainsi obtenu une augmentation de l'utilisation du glucose par les TDVP de 94%. Cependant, dans les mêmes conditions Piccioli-Capelli et al. (1997) n'ont observé aucune modification de l'utilisation du glucose. Dans l'étude de Balcells et al. (1995) le turnover du glucose a augmenté de 114%, alors que dans le travail de Piccioli-Capelli et al. (1997) l'augmentation a été plus faible (40%) et a été associée à une production endogène de glucose plus faible. Ces résultats suggèrent que la quantité de glucose utilisée par les TDVP dépend du turnover du glucose et plus particulièrement de la production endogène de glucose. Toutefois dans les 2 études la proportion de glucose utilisé par les TDVP n'a pas été modifiée et correspond en moyenne à 32 % de la production totale.

Régulation du prélèvement de glucose par le tube digestif

L'utilisation du glucose par les TDVP semble aussi dépendre de la disponibilité d'autres substrats énergétiques, en particulier des AGV. Une augmentation des concentrations ruminales de C2 in vitro ou in vivo semble réduire l'utilisation du glucose par l'épithélium ruminal (Harmon, 1986; Seal et Parker, 1994). Le C2 oxydé épargne ainsi le glucose. De la même façon, une infusion intra ruminale de C3 (0.5 et 1 mol/j) chez des bovins en croissance réduit l'utilisation du glucose par les TDVP de 57% et de 61 % (Seal et Parker, 1994). Dans ce cas, le C3 peut être oxydé ou converti en lactate pour épargner le glucose (Harmon, 1986).

Le C3 peut aussi avoir un effet sur la production endogène de glucose et donc sur son utilisation (Seal et Parker, 1994). De même, Bergman et al. (1974) ont montré une augmentation de 16 à 22% de la proportion de glucose utilisé par les TDVP chez des moutons à jeun par rapport à des moutons à l'entretien recevant du foin. Ceci confirme l'hypothèse selon laquelle la proportion de glucose utilisé par les TDVP dépend de la disponibilité en substrats énergétiques dans le tube digestif.

Ainsi, 2 mécanismes interviennent dans la régulation de l'utilisation de glucose par les TDVP: La production endogène de glucose qui semble contrôler de façon directe la quantité de glucose utilisée mais qui n'a pas d'effet clair sur la contribution des TDVP à l'utilisation de

glucose et, l'apport de substrats énergétiques au niveau du tube digestif qui peut épargner le glucose et réduire la contribution des TDVP à l'utilisation de glucose (Majdoub, 2002).

3.2.2. Répartition du glucose entre les voies métaboliques :

Le glucose prélevé par l'épithélium du rumen est soit oxydé, soit converti en lactate. Harmon (1986) a montré in vitro que respectivement 40 et 30% du $[U^{14}C]$ -glucose est oxydé ou converti en lactate dans l'épithélium ruminal de bovin incubé avec 3 mM de glucose. Harmon et al. (1991) ont obtenu une proportion de glucose oxydé de 66% et une conversion en lactate de 40% dans l'épithélium ruminal de bovin incubé avec 20 mM de glucose. A l'inverse des monogastriques où le lactate représente le principal produit du métabolisme du glucose (Harmon, 1986), chez le ruminant il semble que le glucose soit proportionnellement plus oxydé. Toutefois, la part de glucose convertie en lactate dans le foie reste importante, et confirme l'hypothèse d'un métabolisme relativement faible du C3 dans l'épithélium ruminal. L'oxydation du glucose ou sa glycolyse aérobie ne semble pas être modifiée par l'apport de substrats énergétiques, à l'exception du C3 (25mM) qui réduit la proportion de glucose oxydé de 29% et augmente la proportion de glucose converti en lactate de 195% (Harmon, 1986).

Ainsi, le glucose apparaissant en veine porte est principalement issu de l'AMdIG, et donc de l'amidon échappant aux fermentations ruminales. Ces quantités sont très variables, et peuvent atteindre plus de 50% de l'amidon ingéré. L'apparition nette du glucose en veine porte est toutefois généralement plus faible que la quantité de glucose absorbée, en raison d'une forte utilisation du glucose par la paroi du tube digestif.

Ainsi, il semble intéressant d'étudier si les quantités d'amidon échappant aux fermentations ruminales (« by pass ») ou digérées dans l'intestin grêle, pourraient permettre de prédire quantitativement l'apparition en veine porte du glucose. Cette étape pourrait de plus permettre de quantifier le besoin basal en glucose du tube digestif avec des régimes sans amidon « by pass ». D'autre part, pour une même quantité d'AMdIG, la diversité des rations présentes dans une base telle que FLORA pourrait permettre de dissocier les effets respectifs du niveau d'ingestion et de la nature de l'amidon sur la disponibilité du glucose en veine porte.

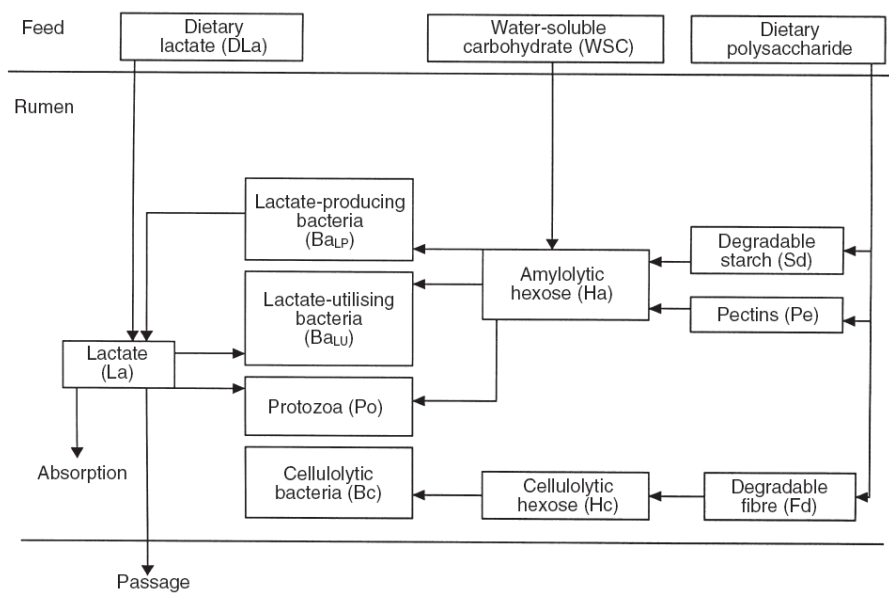


Figure 11 : Représentation du métabolisme du lactate dans un modèle dynamique du rumen (Dijkstra et al., 2002)

4. LE LACTATE

L'acide lactique a une signification particulière pour le ruminant, car il est associé non seulement au métabolisme intermédiaire mais également à la nutrition et à la digestion. Des quantités importantes d'acide lactique sont ingérées par les ruminants lorsqu'ils sont alimentés avec des ensilages. De plus, l'acide lactique est produit dans le rumen à partir de la fermentation des glucides alimentaires par les micro-organismes, mais en général l'équilibre entre les populations productrices et utilisatrices de lactate ne permet pas l'accumulation d'acide lactique dans le rumen. Celui-ci peut toutefois se produire suite à une production rapide d'acide lactique occasionnée par un apport massif de glucides rapidement fermentescibles (acidose lactique).

4.1. Sources exogènes et production endogène d'acide lactique

4.1.1. Sources exogènes de lactate

Les ensilages représentent une source exogène importante de lactate pour les ruminants. Les sucres, les hémicelluloses, et les acides organiques des ensilages sont fermentés dans des conditions anaérobies en lactate par des bactéries (Barnett, 1954; Langston et al., 1962). De plus petites quantités d'acide formique, acétique, propionique, butyrique, et succinique, sont également produites (Archibald, 1953; Barnett, 1954). La teneur en lactate de l'ensilage varie en fonction de sa composition botanique et des processus d'ensilage. Généralement, le lactate représente de 2 à 10% de la teneur en MS des ensilages de bonne qualité (Shearer et Cordukes, 1962) mais il peut représenter de moins de 1% à plus de 16% de la teneur en MS. Les bovins alimentés exclusivement avec de l'ensilage peuvent ainsi ingérer près de 1 kg de lactate par jour. Les deux types d'isomères du lactate (D-) et (L+) ont été rapportés dans les ensilages (Barnett, 1954) dans des proportions variées.

4.1.2. Production ruminale:

La principale voie de fermentation du glucose en lactate dans le rumen semble être la voie glycolytique du pyruvate avec la réduction du pyruvate en lactate alors que le shunt du monophosphate d'hexose semble être d'importance mineure (Wallnofer et al., 1966). Le fructose, sucrose et lactose, trouvés sous forme libre dans les rations ou issus de l'hydrolyse de composés complexes sont également fermentés en lactate (Phillipson et McAnally, 1942; Krogh, 1959). Quelques bactéries produisent du lactate comme produit terminal de la fermentation de la cellulose, des fibres ou de l'amidon (Figure 11).

Une concentration ruminale constante de lactate reflète des taux d'utilisation et de production proches. Sous certaines conditions le lactate peut s'accumuler, suite à des combinaisons d'augmentations ou de diminutions des taux de production et d'utilisation du lactate. Cette situation de déséquilibre conduit à une acidose lactique.

4.1.3. Production intestinale:

La production de lactate dans le gros intestin des bovins a été démontrée par Ward et al. (1961). Chez les agneaux des proportions élevées de grain ont tendance à augmenter les concentrations caecales en lactate par rapport aux régimes avec des proportions élevées de fourrage (De Gregorio et al., 1982). De même, chez les bovins la concentration en lactate du caecum augmente avec la proportion de concentré du régime (Siciliano-jones et Murphy, 1989). Récemment, Ewaschuk et al. (2004) ont montré que la production de lactate se produisait principalement dans le gros intestin chez les veaux diarrhéiques. Cependant, l'importance quantitative du gros intestin dans la digestion est difficile à mesurer et les quantités et la fréquence d'occurrence du lactate dans cette région du tractus sont inconnues.

4.1.4. Production salivaire :

La sécrétion de lactate dans la salive a été rapportée mais il est cependant peu probable que le lactate salivaire apporte une contribution significative à la concentration ruminale, en dépit du débit élevé de la salive chez le ruminant (Annison et Lewis, 1959).

4.2. Différences dans le métabolisme ruminal des isomères du lactate :

Le métabolisme limité du D-lactate comparé à celui du L-lactate résulte de la présence des enzymes spécifiques et de leur emplacement dans la cellule. La lactate déshydrogénase pour l'acide L-lactique est située dans le cytosol, ce qui facilite son oxydation en pyruvate, qui peut aisément traverser la membrane mitochondriale. L'enzyme responsable de l'oxydation du D-lactate, la D-2-hydroxyacide déshydrogénase, est située dans les mitochondries. Le D-lactate doit donc d'abord traverser la membrane mitochondriale pour être oxydé. De plus, la D-2-hydroxyacide déshydrogénase est inhibée par les fortes concentrations en pyruvate et en oxaloacétate. Avec des niveaux élevés de L-lactate comparé à D-lactate la conversion du pyruvate en oxaloacétate est rapide. L'inhibition de la D-2-hydroxyacide déshydrogénase par ces métabolites diminue la quantité relative de D-lactate oxydé

4.3. Métabolisme par les tissus drainés par la veine porte et absorption

Le L-lactate est l'isomère prédominant dans le rumen et la proportion de D-lactate augmente généralement avec des pH inférieurs (Giesecke et Stangassinger, 1980). Cependant, le rapport ruminal des 2 isomères ne reflète pas la production en raison de l'interconversion catalysée par la lactate racémase produite par certaines bactéries utilisatrices de lactate (Asanuma et Hino, 2002). Il peut également y avoir une différence dans les taux d'absorption des 2 isomères avec l'ANP du L-lactate généralement plus grande que celle du D-lactate (Harmon et al., 1985).

4.3.1. Absorption ruminale :

Le lactate quitte le rumen par absorption à travers la paroi, et via le transit du liquide ruminal vers la caillette et l'intestin grêle où il peut également être absorbé (Heuter et al., 1956; Pfaunder et al., 1956; Dunlop et Hammond, 1965). Son taux d'absorption est cependant plus faible que celui des AGV (Sündermann, 1986). Chez le mouton des variations de pH de 6,7 à 4,5 entraîneraient une diminution de l'absorption du lactate (Sündermann, 1986) mais Williams et MacKenzie (1965) n'ont pas observé d'effet d'une diminution du pH de 7,5 à 5.

Les valeurs normales de la concentration en lactate chez le ruminant varient entre 0,5 et 2,0 mM dans le sang et entre 1 et 20 mM dans les fluides ruminiaux. Konggaard et Simesen (1968) ont mis en évidence une large augmentation du lactate dans tous les compartiments après l'ingestion de grandes quantités de sucres de betterave. Les pics de concentration ont atteint 150 mM dans le rumen, 140 mM dans l'urine et 11 mM dans le sang, indiquant un turnover rapide et une excrétion immédiate du lactate dans l'urine.

Moller et al. (1997) ont obtenu in vitro une augmentation linéaire du flux de L-lactate à travers la paroi ruminale suite à des augmentations des concentrations ruminales en lactate de 2 à 20 mM. Ces données impliquent un flux passif de protons régulé par la loi d'action de masse du L-lactate à travers la paroi du rumen dans ces conditions expérimentales. Ces résultats n'ont pas mis en évidence de capacité limitée de l'épithélium ruminal au transport du lactate contrairement à ce qu'avait indiqué Dobson et Phillipson (1968) à faible pH. Ces données suggèrent que l'épithélium ruminal a une forte capacité à absorber le L-lactate par diffusion passive, mais à des taux plus faibles que les AGV. Sa capacité d'absorption semble toutefois régulée par le pH.

4.3.2. Absorption intestinale :

Zhaokun et Youqing (2002) ont montré sur des moutons anesthésiés que le L et le D lactate étaient absorbés par le duodénum, le jéjunum, et l'iléon. Ils ont mis en évidence que les taux d'absorption moyens des acides D et L-lactique étaient presque identiques dans les 3 tissus de l'intestin grêle (0,14; 0,14 et 0,11 mol/cm²/min, pour le duodénum, le jéjunum, et l'iléon, respectivement). Ils ont montré un rapport curvilinéaire entre la concentration en lactate et son taux d'absorption et qu'une diminution du pH et de la pression osmotique avaient comme conséquence une augmentation de l'absorption du lactate dans l'intestin grêle.

La quantité de lactate produit par les fermentations ruminales (ou apporté par les ensilages) susceptible d'être absorbé en veine porte sont très faibles, excepté dans des cas d'acidose lactique. L'ANP de lactate est donc dans la plupart des cas d'origine métabolique (production nette par les TDVP) plutôt que d'origine digestive. Les substrats potentiels sont le C3 et le glucose.

Ainsi, il semblerait donc possible de prédire quantitativement l'ANP du lactate à partir des quantités de C3 et/ou de glucose absorbés, donc à partir des quantités d'amidon digérées dans le rumen et/ou dans l'intestin.

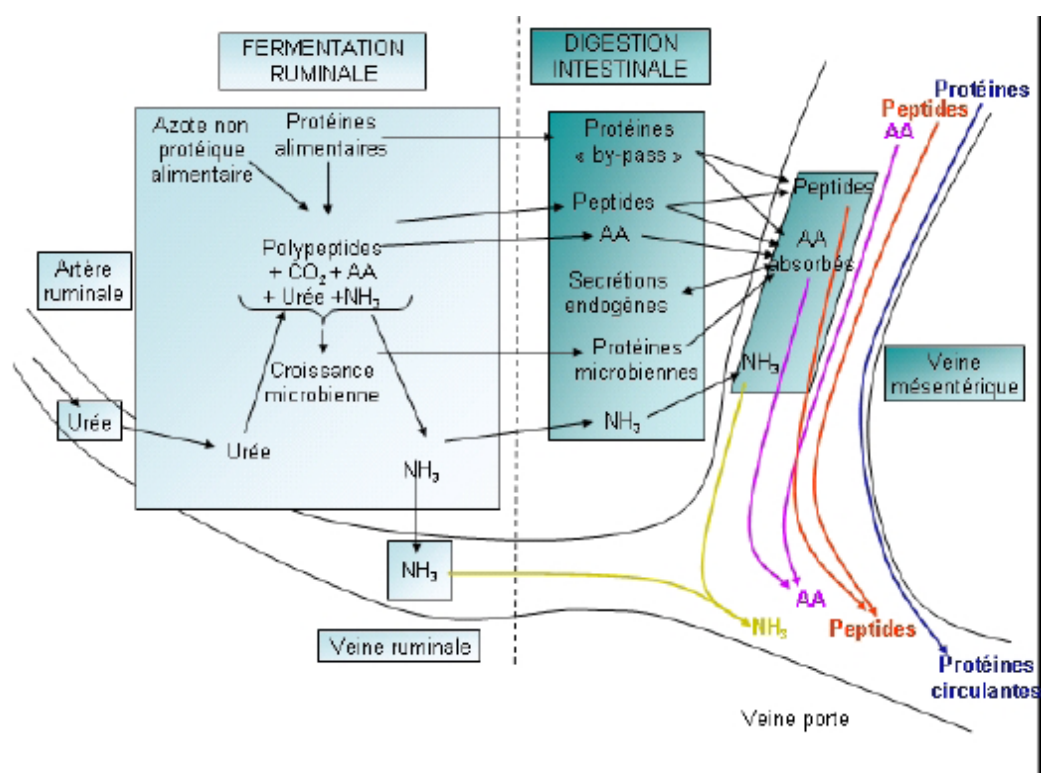


Figure 12 : Dégradation ruminale et absorption intestinale des protéines, des peptides, des acides aminés et de l'ammoniaque (d'après Kraft, 2009).

5. LES ACIDES AMINES

Les composés organiques azotés absorbés en veine porte (essentiellement des AA) ont été considérés dans cette thèse comme des nutriments énergétiques à part entière. Ils ont été considérés globalement, à savoir sous forme d'azote alpha aminé (AA-N). Cette partie bibliographique va donc décrire de manière globale le métabolisme de l'AA-N par les TDVP (et dans la partie suivante par le foie), mais n'entrera que très peu dans le détail des AA individuels.

5.1. Digestion des protéines alimentaires et production des acides aminés

5.1.1. Digestion et absorption ruminale

Entre 30 à 50% des bactéries isolées du rumen présentent une activité enzymatique protéolytique. Ce sont principalement des bactéries saccharolytiques et amylolytiques. Les étapes initiales de l'activité protéolytique sont péripasmiques ou extracellulaires. Les protozoaires ont également une activité protéolytique importante, en particulier contre les protéines insolubles présentes dans la phase particulaire des digesta dans le rumen (Jouany et al 1992), ainsi qu'une activité de désamination importante. Ils sont environ 3 fois plus actifs que les bactéries; cela peut expliquer que la concentration d'ammoniac dans le rumen est toujours plus élevée que celle mesurée chez ces mêmes animaux défaunés (Jouany et al 1988). La contribution réelle des champignons à l'activité protéolytique globale du rumen n'est pas connue. Un pH compris entre 6 et 7 et l'anaérobiose permettent une activité optimale des protéases. L'O₂, tout comme un potentiel redox trop faible, ont des effets négatifs sur l'activité protéolytique.

Les protéines alimentaires sont partiellement hydrolysées en oligopeptides qui sont ensuite dégradés en peptides plus courts puis en AA (Figure 12). La dégradabilité des protéines dans le rumen est très variable d'un aliment à l'autre (60 à 90% pour les fourrages, 25 à 90% pour les concentrés et sous produits), et pour un même aliment elle peut être diminuée par des traitements technologiques (extrusion, tannage..). La digestion ruminale des protéines aboutit donc à la formation d'ammoniaque, d'AA libres et de peptides. Les AA, lorsqu'ils sont ingérés sous forme libre, sont rapidement désaminés dans le rumen (Velle et al., 1997). Toutefois certains AA, lorsqu'ils sont apportés dans l'alimentation sous forme protégée, peuvent échapper à la dégradation ruminale (méthionine ou lysine protégées par ex, Berthiaume et al., 2001; Broderick et al., 2008).

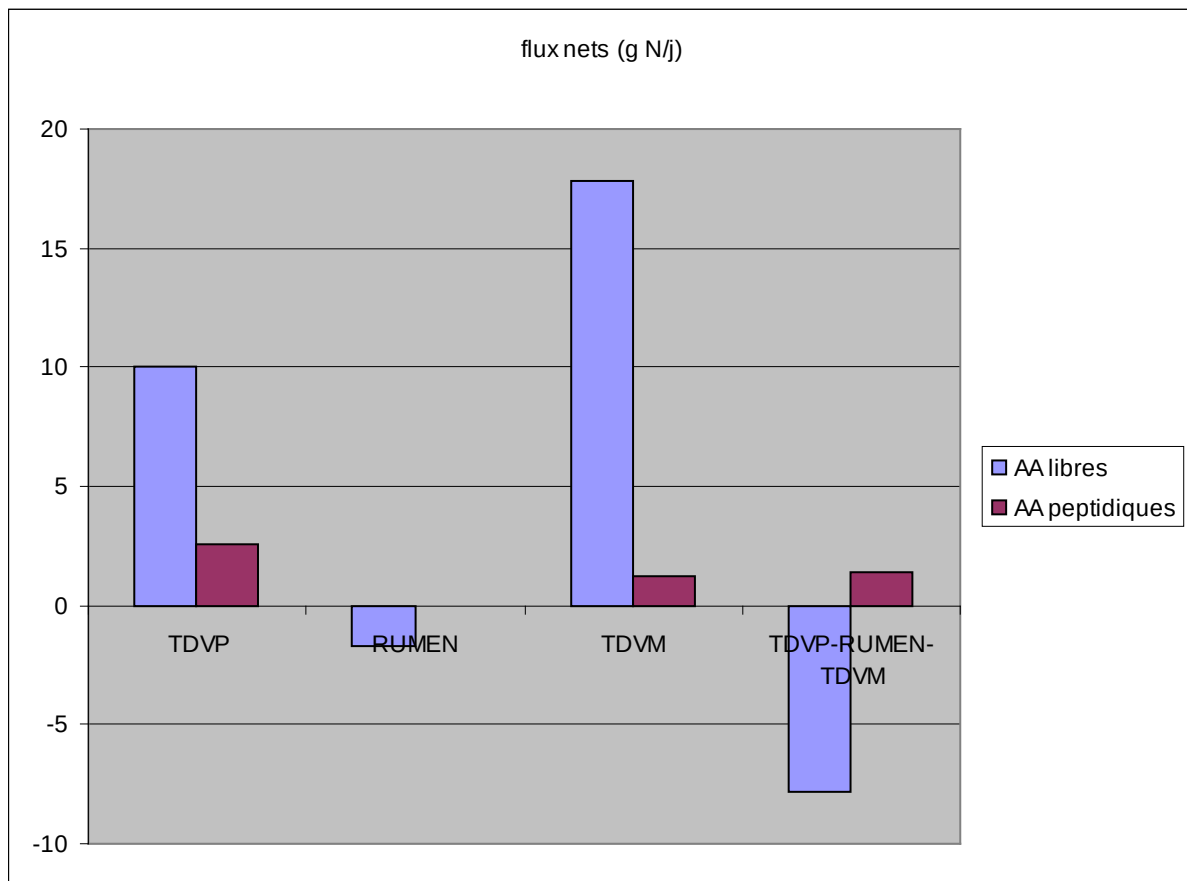


**Figure 13 : Flux nets d'acides aminés (AA) libres ou peptidiques au niveau digestif
(D'après Rémond et al., 2009)**

TDVP : tissus drainés par la veine porte ; TDVM :tissus drainés par la veine mésentérique

Les protéines rapidement hydrolysées peuvent conduire à une accumulation postprandiale de peptides dans le liquide du rumen (Williams et Cockburn, 1991). La vitesse de dégradation des peptides dans le rumen est cependant généralement plus élevée que leur vitesse de formation, et les microbes du rumen utilisent les peptides plus rapidement que les AA libres correspondants. Cela est probablement dû à un coût énergétique plus faible du transport des peptides à travers la paroi bactérienne par rapport aux acides aminés libres. Les peptides sont hydrolysés dans les cellules ; les AA d'origine peptidique sont essentiellement utilisés pour la croissance des microorganismes, et une partie est transformée en AGV après désamination.

La paroi du rumen a la capacité d'absorber des AA libres (Demaux et al., 1961 ; Cook et al., 1965 ; Leibholz, 1971a,b). Le travail de Webb et al. (1992) suggère la même perméabilité aux peptides de petites tailles. La contribution du rumen (ou des estomacs d'une manière générale) à l'absorption portale d'AA ou de peptides a fait l'objet de différents travaux. Un travail récent (Rémond et al., 2009, Figure 13) montre que les peptides contribuent de façon non négligeable (18 – 21 %) à l'ANP d'AA totaux, et que les estomacs (feuillet et la caillette essentiellement) contribuent de façon importante (54%) à l'ANP des peptides ; en revanche, ce travail montre que le flux net d'AA libres au niveau des tissus non mésentériques est largement négatif.

5.1.2. Synthèse des protéines microbiennes

Seule une petite fraction des AA issus de la protéolyse est directement incorporée dans les protéines microbiennes (cas des protozoaires). La plus grande partie des AA bactériens est synthétisée à partir de l'ammoniaque (NH_3) et de chaînes carbonées.

Recyclage de l'urée et synthèse d'ammoniaque

L'urée est produite dans le foie à partir du NH_3 formé dans le rumen et est recyclée par la salive ou à travers la paroi du rumen. Ce recyclage est essentiel au bon fonctionnement du rumen dans le cas notamment de rations carencées en azote. Des uréases d'origine microbienne hydrolysent très rapidement l'urée en carbamate d'ammonium, transformé par réaction spontanée en NH_3 . Comme l' NH_3 issu des désaminations des AA, le NH_3 recyclé contribue à la synthèse microbienne.

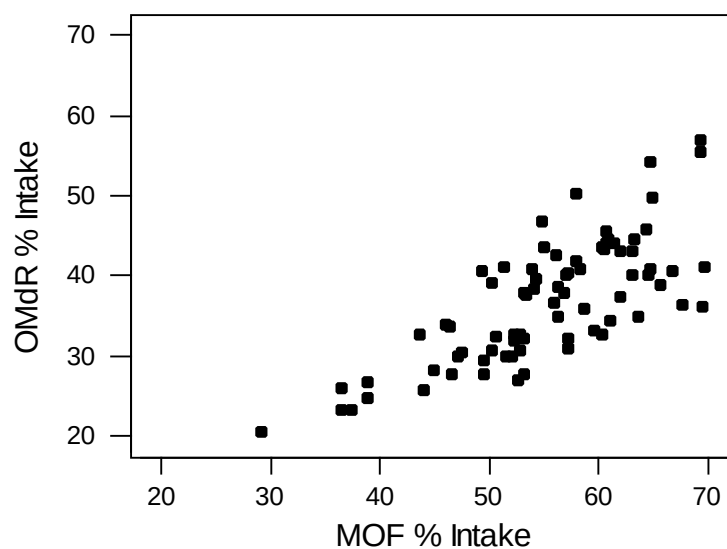


Figure 14 : Relation entre matière organique fermentescible dans le rumen (MOF) et matière organique apparemment digérée dans le rumen (OMdR)

Assimilation de l'ammoniaque

L'ammoniaque traverse la membrane cytoplasmique, par diffusion passive, sous forme NH_3 liposoluble ou par transport actif sous forme ionisée, qui est la forme la plus fréquente dans les conditions de pH du rumen. Il est ensuite incorporé dans les AA selon plusieurs voies enzymatiques qui diffèrent par leur affinité pour NH_3 et par leur consommation en ATP. La voie dite de la glutamine synthétase – glutamate synthase aboutit à la formation de deux molécules de glutamate, mais n'est avantageuse que lorsque la concentration en NH_3 est faible. Quand la concentration en NH_3 est élevée la voie de la glutamate déshydrogénase est la plus fréquente (Leng et Nolan 1984). La proportion de l'azote microbien dérivé de NH_3 dans le rumen varie de 42 à 100%, selon la disponibilité de l'ATP (Wallace et Cotta 1988).

Synthèse des protéines

La synthèse de novo d'AA existe chez les bactéries comme chez les champignons et les protozoaires. Néanmoins, ce dernier groupe microbien incorpore en majorité les AA fournis par la prédation des bactéries. Une fois fixée sous forme d'amine, l'N est transféré dans le pool d'AA par des réactions de transamination. Selon la source de carbone employée pour leur synthèse par les bactéries et les champignons, les AA sont classés en quatre groupes : le groupe de l'acide aspartique, du pyruvate, de la sérine, et des AA aromatiques.

Si la concentration de NH_3 n'est pas limitante, la synthèse des protéines microbiennes est directement liée à la quantité d'ATP. L'efficacité de la synthèse des protéines microbiennes est mesurée par la quantité de MS microbienne produite par mole d'ATP (Y-ATP). Bien que des variations importantes aient pu être mises en évidence, on considère que l'Y-ATP est proche de 20 g de MS microbienne par mole d'ATP. Exprimée par kg de MOF le rendement de la synthèse microbienne est variable (de 10 à 40 g d'N microbien par kg de MOF), même si la valeur de 23 g par kg MOF est la plus fréquemment rencontrée et retenue dans le système PDI. La mesure de MO apparemment digérée dans le rumen (MO ingérée - MO entrant dans le duodénum) ne constitue donc qu'une estimation médiocre de la MOF (Figure 14).

5.1.3. Digestion et absorption dans l'intestin grêle

Les protéines microbiennes (plus de la moitié de l'N duodéal), les protéines alimentaires ayant échappé à la dégradation ruminale (20 à 50 % des protéines absorbées, Storm et Orskov, 1983) et les protéines endogènes entrant dans l'intestin grêle sont digérées et absorbées plus ou moins efficacement (revue de Annison et al., 2002).

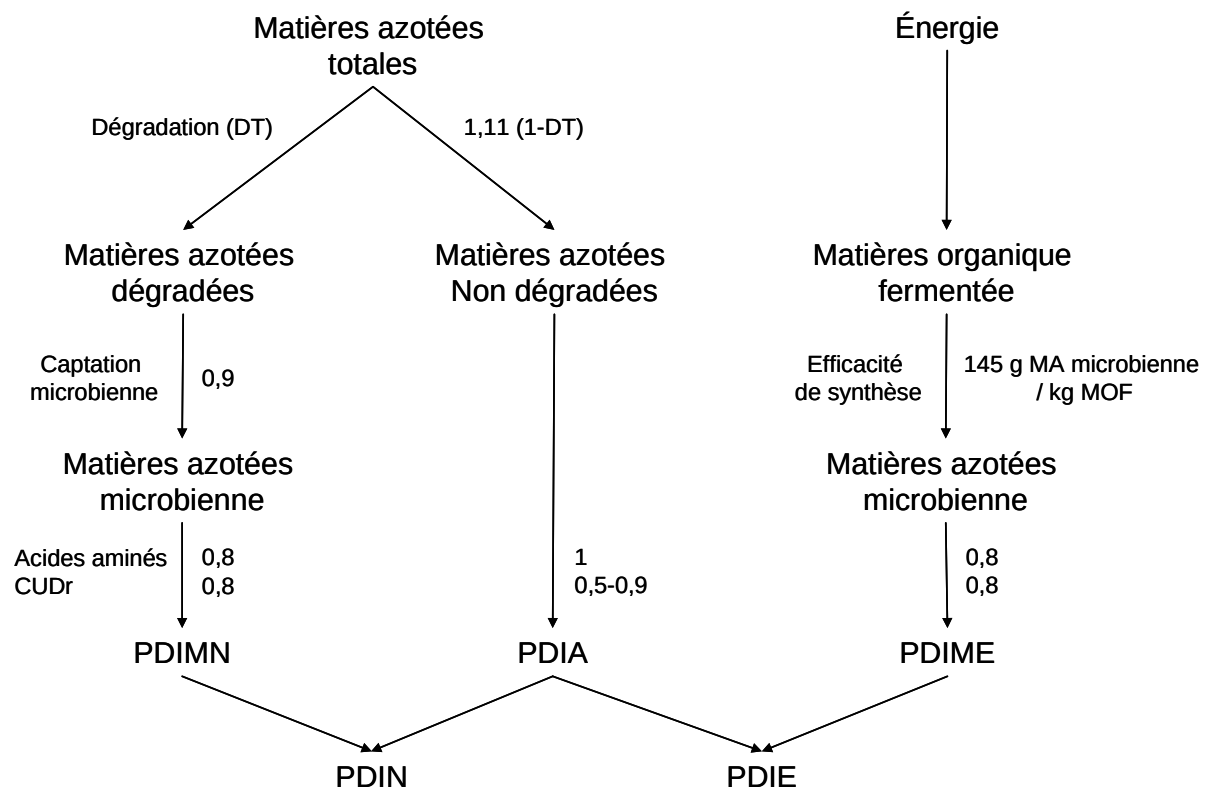


Figure 15 : Détermination de la valeur PDI des aliments

CUDr : Coefficient d'utilisation digestive réelle

La digestibilité intestinale des protéines contenues dans les concentrés et les fourrages obtenue à l'aide de la « méthode des sachets mobiles » varie entre 60 et 90 %, en fonction de l'aliment et du traitement technologique (Tamminga, 1990 ; INRA, 1987, 2007). Cette variabilité s'explique en partie par la variabilité de la composition en AA des protéines d'origine alimentaire au duodénum (que l'on assimile généralement à celle des aliments dont elles proviennent). En revanche, la composition en AA des protéines microbiennes est moins variable, et leur digestibilité est considérée comme constante dans le système PDI (80%).

Les quantités d'AA endogènes absorbées sont moins bien connues. Elles correspondent aux enzymes digestives pancréatiques et intestinales, au mucus, ainsi qu'aux desquamations des cellules intestinales. Elles contiennent de l'azote sous forme d'AA qui sont réabsorbés dans l'intestin grêle à un coefficient d'absorption net inférieur à 90 %. La non prise en compte des sécrétions endogènes dans le calcul du flux protéique entraîne une surestimation des apports nets en AA disponibles au niveau duodénal.

5.1.4. Digestion dans le gros intestin

La quantité d'N (d'origine alimentaire, endogène et microbien) arrivant au caecum est fonction de celle arrivant au duodénum (Mason, 1984). A cet N vient s'ajouter le mucus, les cellules desquamées du caecum et surtout l'urée provenant du sang et diffusant à travers la paroi. Les bactéries du gros intestin, notamment celles du caecum et du colon proximal ont de fortes activités de protéolyse, de désamination, de décarboxylation et d'uréolyse.

La dégradation des protéines donne des AA eux même dégradés rapidement en ammoniacque, AGV, et méthane (Mason, 1984). L'N microbien et les protéines alimentaires indégradables sont la principale forme d'azote excrété dans les fèces. Les AA ne sont apparemment pas absorbés dans le gros intestin des ruminants.

Le système PDI mis en place par l'INRA (1988) intègre l'ensemble de ces concepts et permet d'estimer l'apport en AA à l'animal (Figure 15), à partir de la dégradation in sacco des protéines alimentaires et d'une digestibilité intestinale des protéines alimentaires variables ; le rendement de la synthèse microbienne est considéré comme constant (145 g N microbien / kg MOF), et le système intègre globalement les capacités de recyclage de l'N chez la vache laitière lorsque l'azote fermentescible est limitant (par le critère $R_{mic} = (PDIN - PDIE) / UFL$).

Le nouveau système des acides aminés digestibles dans l'intestin (AADI) s'intègre au système PDI en estimant la composition en AA des PDI. Pour ce faire, la valeur des aliments a été estimée à partir des fractions microbiennes et alimentaires non dégradées dans le rumen, de la composition en AA de ces deux fractions et de leur digestibilité (Rulquin et al., 2001).

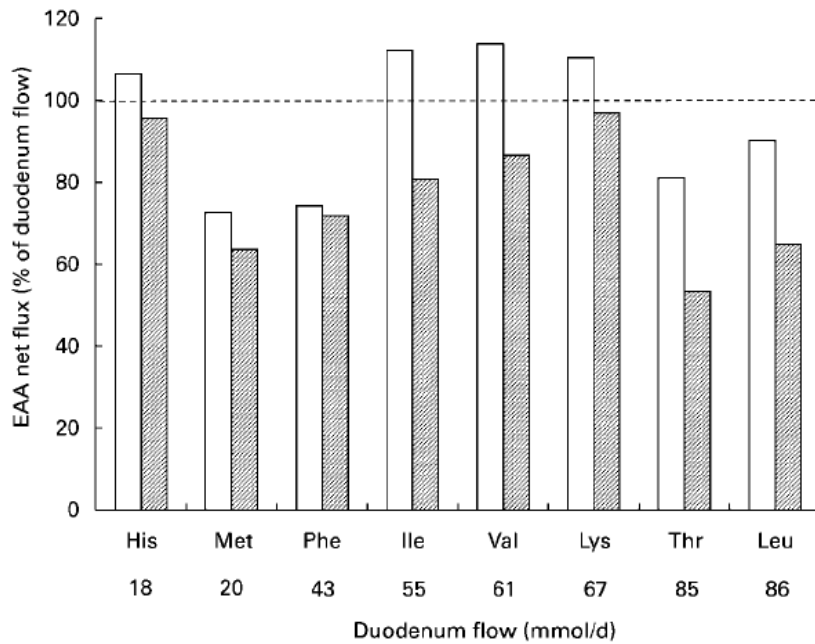


Figure 16 : Flux net essentiel d'acides aminés (libres + peptides) à travers les tissus drainés par la veine porte (▨) et les tissus drainés par la veine mésentérique (□) de moutons alimentés avec de l'herbe de dactyle.

Les flux sont exprimés en proportion de flux duodéal. His : histidine ; Met : méthionine ; Phe : phénylalanine ; Ile : isoleucine ; Val : valine ; Lys : lysine ; Thr : thréonine ; Leu : leucine. (Rémond et al., 2003).

Métabolisme par les tissus drainés par la veine porte

Les AA disparaissant de l'intestin grêle sont absorbés au travers de l'épithélium digestif et apparaissent intacts ou métabolisés dans la circulation sanguine en veine mésentérique puis en VP. Plus spécifiquement, les TDVP font partie des consommateurs corporels les plus importants d'AA et participent à environ à 30% de la synthèse protéique corporelle (Lobbey, 2003). Ce métabolisme impacte considérablement sur la quantité et la nature des AA apparaissant en veine porte (Mac Rae et al., 1997). Rémond et al. (2003) ont montré sur moutons et Berthiaume et al. (2001) sur vaches laitières que le ratio entre la disparition des AA dans l'intestin grêle mesurée par digestibilité apparente iléale et l'ANP était variable entre AA (Figure 16). Globalement, les AA apparaissant en veine porte sont composés de 40 – 50% d'AA indispensables et de 50 – 60% d'AA non indispensables (Reynolds et al., 1994 ; Lapierre et al., 2000; Savary-Auzeloux et al., 2003a,b).

Le ratio entre la disparition des AA dans l'intestin grêle et l'ANP des AA correspond à la quantité nette d'AA utilisés par l'intestin grêle. Dans le cas où l'on considère que la masse du tube digestif reste constante (animaux à l'entretien, en faible croissance ou en milieu / fin de lactation), le prélèvement net d'AA s'expliquerait en très grande majorité par une oxydation des AA (Lapierre et al., 2002, cité par Kraft et al., 2009).

Lorsque les pertes liées aux protéines endogènes sont prises en compte dans la mesure de digestibilité, les ratios AA disponibles / ANP sont proches de 1 pour certains AA (et même supérieur) et autour de 70-80 % pour les autres AA essentiels. Les pertes restantes sont probablement dues à de l'oxydation. Ces données sur Ruminants sont cohérentes avec celles obtenues sur Monogastrique (Le Floch et Sève, 2000).

La quantité d'énergie disponible pour l'animal sous forme de nutriments azotés, est principalement reliée à la quantité de protéines absorbées sous forme d'AA; cette absorption a lieu presque exclusivement dans l'intestin grêle. L'apparition en veine porte des AA serait probablement quantitativement reliée préférentiellement aux protéines digérées dans l'intestin grêle. Ainsi, la valeur PDI des rations mise au point par l'INRA pourrait permettre de prédire quantitativement l'apparition en veine porte des AA (ou plus globalement de l'azote alpha aminé).

Le profil en AA apparaissant en veine porte ne sera pas l'objet de ce travail.

B. METABOLISME HEPATIQUE

Le foie est un organe clé du métabolisme splanchnique et plus largement du métabolisme général. Il est irrigué à la fois par du sang portal drainant les nutriments absorbés et du sang artériel qui reflète l'équilibre entre disponibilité et utilisation des nutriments par l'ensemble des tissus. Il se situe donc à l'interface métabolique entre la fourniture en nutriments et les besoins de l'animal et joue ainsi un rôle important dans la coordination entre tissus pour l'utilisation des nutriments (Ortigues-Marty et al., 2003). La régulation du devenir hépatique des nutriments via l'ingéré (« push ») ou les besoins (« pull ») n'est pas encore totalement résolue et dépend en partie du nutriment considéré. Le métabolisme hépatique des principaux nutriments énergétiques a fait l'objet de plusieurs revues de synthèse (Brockman, 2005, Lindsay et Reynolds, 2005, Hanigan 2005; Kristensen et Harmon, 2006).

L'objectif de cette revue est d'identifier, parmi les connaissances sur le devenir des nutriments dans le foie, les facteurs de variations susceptibles de faire varier le prélèvement ou l'émission nette hépatique et surtout splanchnique de ces nutriments, afin de les tester ultérieurement comme prédicteurs potentiels des flux. Compte tenu du temps imparti pour la thèse, cette revue est prioritairement qualitative et ne dresse pas une synthèse exhaustive des connaissances.

1. LES ACIDES GRAS VOLATILS

Les formes non ionisées sont présentes en proportions très faibles dans le sang porte et sont absorbées de manière passive à travers les membranes des hépatocytes (Bergman, 1990). La forme ionisée, forme la plus fréquente est transportée, par l'intermédiaire des transporteurs à monocarboxylate récemment identifiés dans le foie des ruminants (Koho et al., 2005 ; Kirat et al., 2007). Les AGV cytosoliques entrent alors dans les mitochondries par l'intermédiaire du transporteur à monocarboxylate ou du transporteur mitochondrial, la carnitine (Nguyen et al., 2007), où ils sont estérifiés en esters de CoA par des synthétases spécifiques

1.1. L'acétate

1.1.1. Activation et prélèvement

Dans l'hépatocyte, le C2 doit tout d'abord être activé avant d'être métabolisé. Chez les bovins l'activation se ferait dans la mitochondrie, alors que chez les ovins elle aurait lieu dans le cytoplasme. Chez les ruminants, l'activité hépatique de l'acétyl-CoA synthétase est faible.

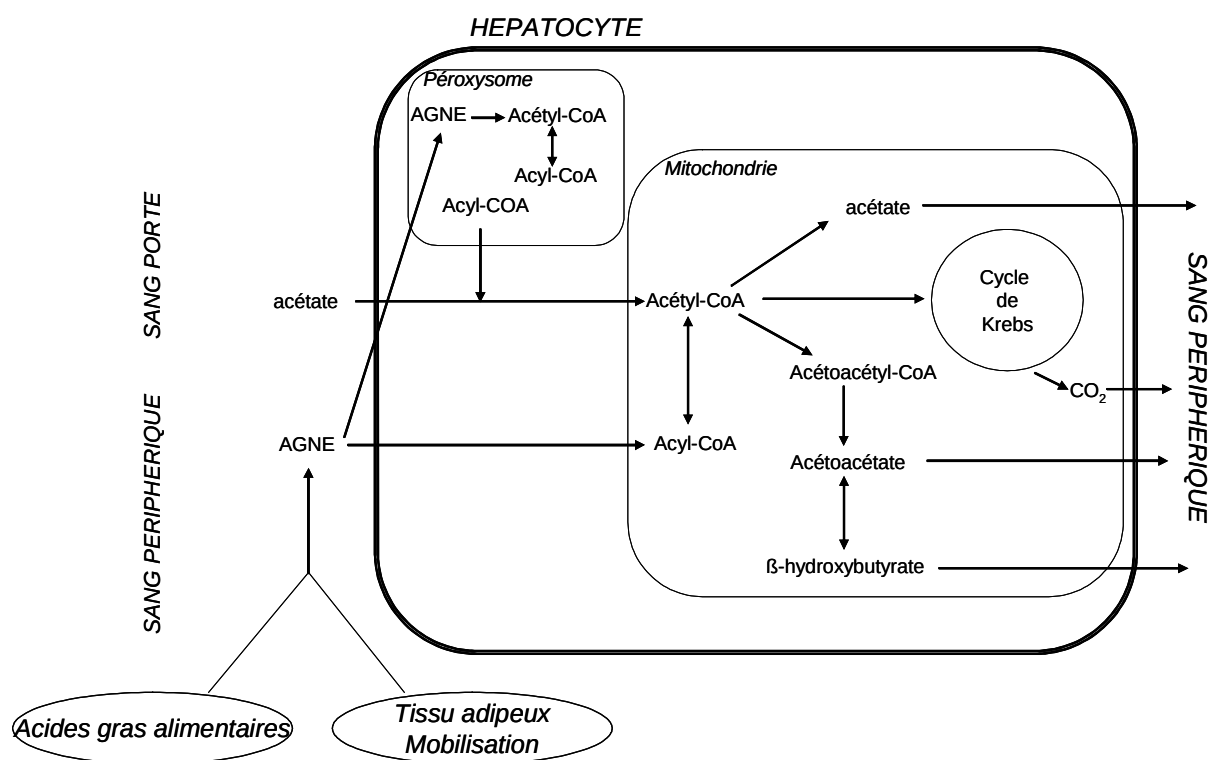


Figure 17 : Voie métabolique du métabolisme hépatique de l'acétate

Le métabolisme hépatique du C2 est donc quantitativement peu important (Cook et al., 1969; Ash and Baird, 1973). Il est le seul AGV à n'être pas épuré du sang lors de son passage par le foie. En effet, chez les bovins et les ovins, la légère captation de C2 par le foie (Bergman and Wolff, 1971; Kristensen and Harmon, 2004c) est compensée par une plus grande synthèse amenant à une émission nette de C2 par le foie (Reynolds, 1995).

1.1.2. Formation d'acétate endogène

Une des principales questions repose sur l'origine du C2 synthétisé par le foie (Figure 17). La régulation et la signification de la production hépatique de C2 ne sont pas claires (Drackley et Andersen, 2006). S'il semble clair que les AG longs interviennent dans la formation du C2 endogène, la question n'est pas encore totalement résolue aujourd'hui et il semblerait que plusieurs précurseurs puissent être mis en jeu. Ainsi, le C2 émis proviendrait du pool intramitochondrial d'acétyl-CoA après hydrolyse d'un thioester par l'acétyl-CoA hydrolase qui est largement distribuée dans les tissus avec cependant une activité supérieure dans le foie (Knowles et al., 1974). Bell (1980) a émis l'hypothèse que le C2 émis par le foie était synthétisé principalement à partir des AG longs captés sous forme libre ou après hydrolyse des formes estérifiées, comme le BHBA.

La synthèse hépatique du C2 proviendrait aussi de la β -oxydation péroxysomale des AG longs car l'acétyl-CoA péroxysomal ne serait pas disponible pour le métabolisme mitochondrial (van den Bosch et al., 1992).

Le modèle mécaniste du métabolisme hépatique de Hanigan et al (2004) chez la vache laitière suggère que l'augmentation de l'émission de C2 par le foie est concomitante à l'augmentation de la fourniture en AG long au foie. Si la β -oxydation péroxysomale est à la source du C2 hépatique, les AG à très longues chaînes carbonées (C20 – C24), branchés ou poly-insaturés pourraient en être les principaux précurseurs (van den Bosch et al., 1992). Les AG alimentaires pourraient aussi potentiellement participer à l'émission de C2 par le foie dans les mitochondries et le péroxysome (Drackley et al., 1991 ; Reynolds et al., 2003) mais les relations ne sont pas proportionnelles (Pethick et al., 1981). L'hydrolyse de l'acétyl-CoA n'est cependant pas suffisante pour expliquer quantitativement la production hépatique de C2 observée *in vivo* chez des moutons (Costa et al., 1976).

Secondairement, chez les animaux alimentés à de hauts NA (par exemple les bovins en finition), d'autres métabolites peuvent potentiellement participer à la production de C2 endogène comme le C4 (Annison et al., 1963), les AGV et l'éthanol provenant des ensilages (Buckley and Williamson, 1977), ou encore les AA (Pethick et al., 1981).

Ainsi le C2 est majoritairement transporté vers les tissus périphériques pour l'oxydation ou la synthèse d'AG à chaîne longue, et son émission hépatique est donc fortement corrélée à son ANP.

Son métabolisme hépatique est quantitativement très limité, mais interagit avec celui de nombreux nutriments car son pivot métabolique, l'acétyl-CoA, est commun à de nombreuses voies métaboliques. Généralement il existe une émission nette de C2 par le foie.

Les précurseurs potentiels de ce C2 endogène ne sont pas encore totalement identifiés, même s'il apparaît clairement que les AG longs contribuent à la formation du C2. Il semblerait ainsi que les précurseurs dépendent soit de l'absorption de lipides soit de la mobilisation de lipides corporels de l'animal. Pour les animaux à haut NA, en BE hautement positif, d'autres métabolites (AA, AGV, éthanol) peuvent intervenir dans la production endogène de C2.

1.2. Le Propionate

1.2.1. Activation et prélèvement:

Après pénétration dans la cellule hépatique, le C3 doit être activé dans la mitochondrie en propionyl-CoA, en présence d'une propionyl-CoA synthase ATP dépendante. L'activité de la propionyl-CoA est 4 à 5 fois supérieure à celle de l'acétyl-CoA synthase et 1 à 2 fois supérieure à celle de la butyryl-CoA synthase (Elliot, 1980), ce qui explique la forte capacité des hépatocytes à utiliser le C3.

Le prélèvement hépatique du C3 est corrélé à sa concentration en veine porte (Majdoub, 2002) et environ 86 à 100% de l'ANP est captée par le foie. Le métabolisme hépatique du C3 peut être saturé à des concentrations élevées (2 à 5 mmol/L *in vitro*; Armantano et al., 1992). *In vivo*, à haut niveau d'apport de C3, par exemple par infusion intraruminale chez des agneaux (Berthelot, 2000) ou intra-mésentérique chez des moutons (Peters et al., 1983) ou des vaches laitières (Baird et al., 1980), les taux d'extraction hépatique du C3 sont réduits (81-85 vs 70-75%), même si la capacité des hépatocytes à capter le C3 n'est généralement pas saturée (Berthelot et al., 2002).

Le prélèvement hépatique du C3 est inhibé par le C4. L'augmentation de la fourniture en C4 au foie diminue le prélèvement hépatique de C3 *in vitro* (Aiello et al., 1989) et *in vivo* au moins à court terme (moins de 24h, Kristensen et Harmon, 2004). Cet effet inhibiteur dépend principalement du ratio C3/C4 afférent au foie (Reynolds et al., 1992; Berthelot et al., 2002).

Dans une moindre mesure, le NH₃ inhibe le prélèvement et le métabolisme du C3. Cet effet inhibiteur a été expliqué par le manque d'ATP pour l'activation et l'accumulation consécutive de glutamate et d'aspartate aux dépens de l'oxaloacétate et du 2-oxoglutarate (Overton et al., 1999).

Le prélèvement hépatique du C3 peut également être réduit en présence d'une concentration en éthanol supérieure à 1 mM (Demigné et al., 1991).

1.2.2. Devenir métabolique

Dans les hépatocytes, le C3 est utilisé pour la synthèse de glucose, de L-lactate, alanine ou de glycogène, ou pour l'oxydation (Danfaer, 1994 ; Lozano et al., 2000). Les premières étapes sont communes aux 4 métabolites. Le propionyl-CoA est tout d'abord carboxylé en méthyl-malonyl-CoA dans une réaction ATP et biotine dépendante. Le méthyl-malonyl-CoA est ensuite converti en succinyl-CoA, en présence de vitamine B12 (Rémésy et al., 1995).

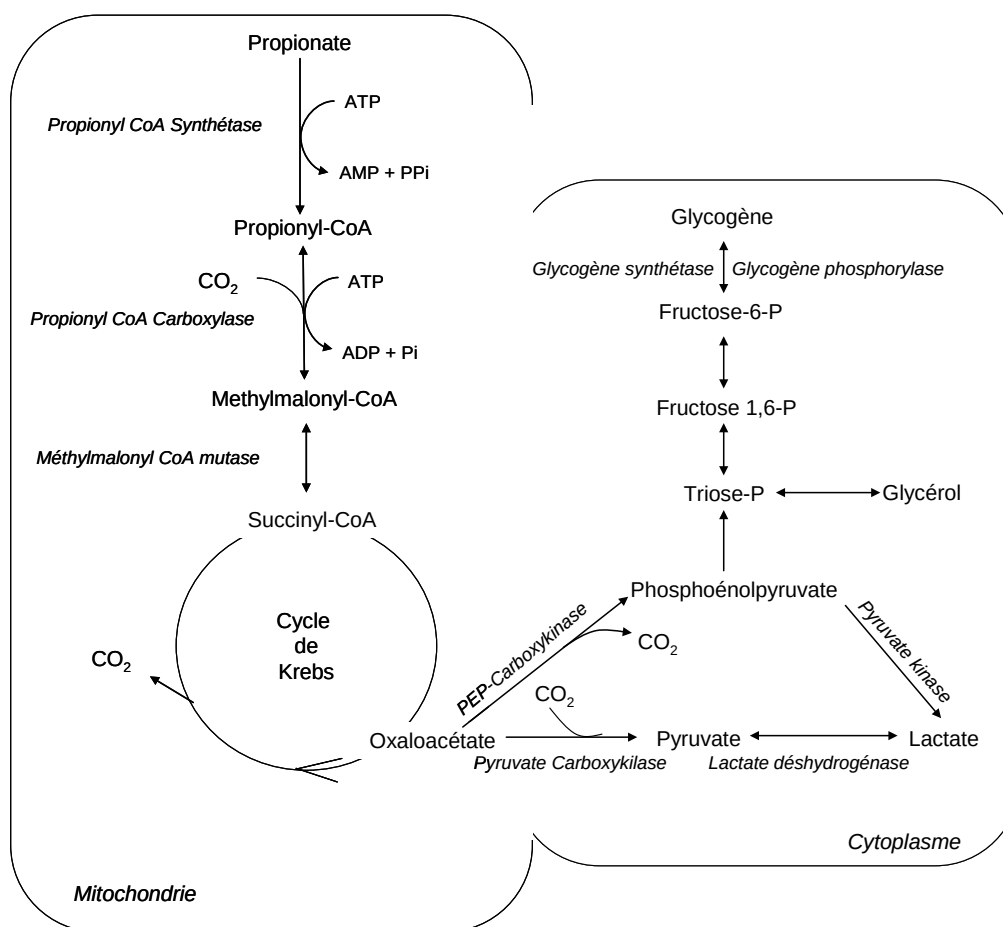


Figure 18 : Voies métaboliques du propionate

Un déficit de vitamine B12 hépatique (concentration de 0,1 µg/g vs 1,5 µg/g dans des conditions normales) entraîne une accumulation de propionyl-CoA et de méthyl-malonyl-CoA dans le foie, perturbant ainsi le métabolisme du C3 (Ortigue-Marty et al., 2005).

Ensuite, le succinate synthétisé par la succinyl-CoA synthétase entre dans le cycle de Krebs pour être soit oxydé soit transformé en phosphoénol-pyruvate (Figure 18). Le phosphoénol-pyruvate sera ensuite métabolisé en glucose, pyruvate, L-lactate ou alanine.

Chez les ruminants, la conversion du C3 en L-lactate est faible probablement en raison de l'activité réduite de la L-lactate déshydrogénase (Demigné et al., 1991).

Le C3 peut également contribuer à la synthèse de glycogène dans le foie, probablement via le lactate (Baird et al., 1983).

Répartition quantitative entre voies métaboliques

In vivo chez les vaches laitières et les moutons, le taux de conversion du C3 en glucose pourrait s'élever à 90-95% (Steinhour et Bauman, 1988; Brockman, 1990). Des taux plus faibles ont également été mesurés (50 à 60%, Bergman et al., 1996), probablement par manque de correction pour le recyclage du carbone traceur entraînant alors une sous estimation (Bergman, 1990). La répartition quantitative *in vivo* du C3 dans les autres voies métaboliques (taux de conversion du C3 en L-lactate, alanine, glycogène ou CO₂, Figure 18) n'est pas totalement connue chez le ruminant. *In vitro*, 13% du C3 marqué au [1-14C]-C3 et capté par les hépatocytes serait converti en L-lactate et pyruvate, 37,5% oxydé et 30% converti en glucose (Faulkner et Pollock, 1986; cité par Majdoub et al., 2003). La répartition du C3 entre ces voies métaboliques est soumise à variation comme cela a été étudié *in vitro*.

Voie de la néoglucogenèse : *In vitro* le taux de conversion du C3 en glucose augmente de 65 à 85% avec la concentration en C3 (variant de 1 à 5 mM; Demigné et al., 1991).

L'introduction dans le milieu d'incubation d'autres substrats énergétiques tels que le C4 ou le palmitate réduit la conversion du C3 en glucose (Faulkner et Pollock, 1986; cité par Majdoub et al., 2003).

Une injection de phlorizine (Veenhuizen et al., 1988) augmente le taux apparent de conversion du C3 en glucose de 40 à 54% suggérant que la conversion de C3 en glucose dépend des besoins en glucose des animaux.

Autres voies : *In vitro*, une augmentation des concentrations en C3 (1 à 5 mM, Demigné et al., 1991) favorise la conversion du C3 en L-lactate probablement suite à une stimulation de l'enzyme malique et une augmentation du rapport NADH/NAD⁺.

Un apport important de C3 stimule l'activité de la glycogène synthase hépatique (Morand et al., 1990). Cet effet est comparable à celui du glucose chez les monogastriques (Stangassinger et Giesecke, 1986) et semble être lié à un effet direct de l'insuline.

Ainsi, l'ensemble des données indique une production de L-lactate et de glycogène accrue en situation de prélèvement élevé de C3 par le foie mais ne permet pas de conclure à des modifications de la répartition du C3 entre la synthèse de glucose et les autres voies métaboliques.

Le C3 apparaissant en veine porte est très fortement prélevé par le foie, de l'ordre de 90%. Les liens entre son ANP et son émission hépatique sont donc forts.

Son principal devenir métabolisme dans le foie est la synthèse de glucose. Sa répartition dans les autres voies métaboliques dépend en partie de son niveau d'apport.

Les principaux facteurs de variation du prélèvement et du métabolisme du C3 sont l'apport de C4, les hormones telles que l'insuline, mais également le NA et la nature du régime donné aux animaux (conditionnant la fourniture de C3 au foie).

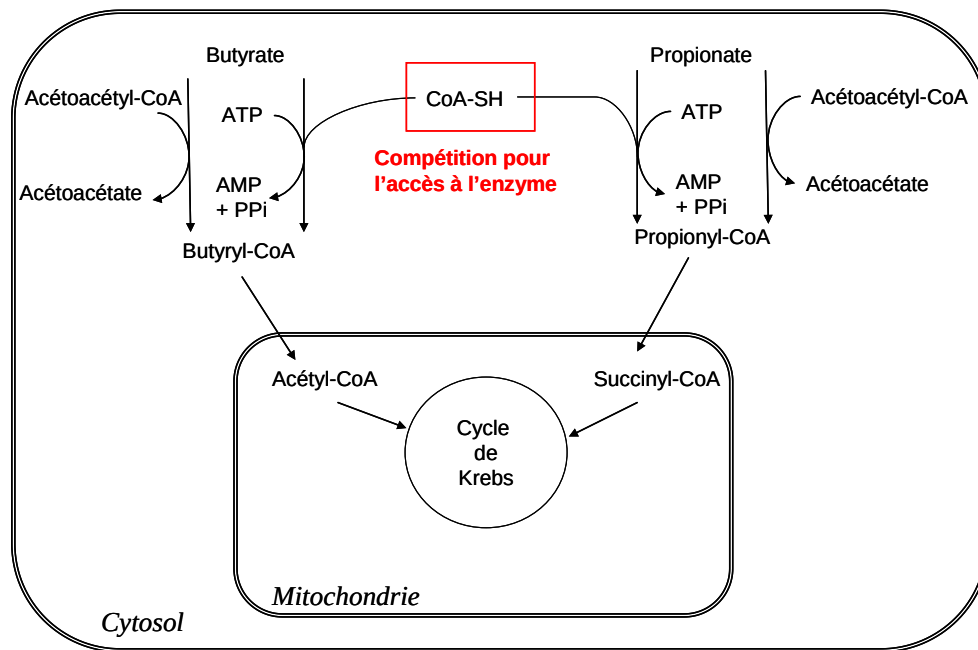


Figure 19 : Convergence des voies métaboliques du butyrate et du propionate

1.3. Le Butyrate

Quantitativement, le foie métabolise moins de C4 que de C3, principalement en raison d'un apport plus faible. Seul 25% du C4 absorbé est émis en veine porte indiquant ainsi que le foie ne métabolise que 20% de la production de C4 ruminale, comparé au 90% pour le C3. Bergman et Wolff (1971) ont estimé qu'environ 80% du C4 apparaissant en veine porte est prélevé par le foie lors du premier passage. L'extraction hépatique du C4 est donc légèrement inférieure à celle du C3. La nécessité de ne pas induire de compétition entre le C3 et le C4 pour l'acétyl-CoA synthétase hépatique, pourrait être à l'origine du métabolisme préférentiel du C4 par l'épithélium ruminal (Kristensen and Harmon, 2004b). En effet, le C3 et le C4 sont tous deux activés via l'acétyl CoA-synthétase (Figure 19). Cette même compétition existe pour le C2, mais l'activité réduite de l'acétyl-CoA synthétase dans le foie limite le phénomène. En compartimentant ainsi le métabolisme des AGV en différents tissus, la compétition entre substrats est limitée.

Dans le foie, le C4 est métabolisé en corps cétoniques, et notamment en BHBA. Il contribue pour 10 à 90% de l'émission nette de BHBA par le foie (Brockman, 1990). Ce taux varie avec le NA et le statut physiologique des animaux.

En effet, chez les animaux alimentés, le C4 est présent en quantité non négligeable et participe donc activement à la synthèse de BHBA. Lorsque le NA diminue, le C4 est moins disponible, pour devenir minoritaire en cas de sous nutrition ou de jeun. D'autres précurseurs interviennent donc dans la synthèse du BHBA, notamment les AGNE mobilisés par les tissus adipeux. Ces phénomènes sont en partis responsables des variations de contribution du C4 à la cétogenèse et seront décrits plus en détails dans la partie traitant du BHBA.

Les voies biochimiques de transformation du C4 en BHBA par le foie sont identiques à celles déjà décrites pour l'épithélium ruminal. Elles passent ainsi par l'activation du C4 en butyryl-CoA. Le butyryl-CoA activé est ensuite converti en crotonyl-CoA et L-β-hydroxybutyryl-CoA. Il est ensuite converti en acétoacétyl-CoA, acétoacétate et finalement en BHBA ou directement converti en D-hydroxybutyryl-CoA qui est ensuite converti en BHBA.

Ainsi les quantités de C4 apparaissant en veine porte sont relativement faibles. Il est majoritairement prélevé par le foie. Les liens entre son ANP et son émission hépatique sont donc forts.

Dans le foie, le C4 est principalement métabolisé en BHBA. L'importance de cette synthèse de corps cétoniques dépend principalement du statut nutritionnel et physiologique des animaux, conditionnant l'apport en C4 au foie.

2. BETA-HYDROXYBUTYRATE

Une particularité des ruminants, par rapport aux monogastriques, porte sur les taux élevés de corps cétoniques émis en veine porte, compris entre 200 à 300 nmoles/min (240 μ mol/min en moyenne) chez les moutons (Heitmann et al., 1986). Les trois principaux corps cétoniques sont l'acétoacétate, l'acétone et le BHBA, ce dernier étant quantitativement le plus important. Le ratio BHBA/acétoacétate est compris entre 4 et 6, en fonction de l'alimentation (Ballard et al., 1968). En conditions normales d'alimentation et lorsque les animaux sont en BE positif, la principale source de corps cétoniques dans l'organisme reste le rumen. Cependant, le foie est capable de synthétiser et d'émettre des corps cétoniques. Sa contribution à la synthèse totale des corps cétoniques peut être élevée, notamment chez des animaux en BE négatif.

Seul le BHBA sera considéré dans cette thèse. Les autres corps cétoniques ne seront pas étudiés. Il existe en effet très peu de données sur leur ANP et leur émission splanchnique.

2.1. Synthèse hépatique

Le BHBA est principalement formé à partir du C4. Toutefois, chez les vaches laitières, les quantités de C4 prélevées par le foie sont très largement insuffisantes pour justifier de l'émission hépatique de BHBA. La source de carbone du BHBA émis par le foie est probablement, en plus du C4, l'acétoacétate provenant du sang portal (Lomax and Baird, 1983) et les AG longs, eux même issus de l'alimentation ou de la mobilisation des réserves corporelles (Bell, 1980). Le point commun à toutes les voies de synthèse du BHBA est l'acétoacétate. La voie de synthèse du BHBA à partir du C4 ayant déjà été décrite, seule sa synthèse via les acides gras non estérifiés (AGNE) est présentée ici.

Voie des AGNE:

Lorsque les animaux sont en BE négatif ou lorsque les rations contiennent de fortes teneurs en lipides, de grandes quantités d'AG arrivent au foie. En situation de lipolyse, les triglycérides sont dégradés en glycérol et en AGNE ; les AGNE sont transportés dans le sang liés à l'albumine (Emery, 1992 ; Hocquette et Bauchart, 1999). Les AGNE peuvent être utilisés comme source énergétique par de nombreux tissus dont la glande mammaire et les muscles. Ces derniers les oxydent complètement en CO₂. Le foie capte aussi une part importante des AGNE circulants (au moins 25%, Herdt, 2000).

Une fois prélevés, la répartition des AGNE vers la voie de l'estérification ou celle de l'oxydation est régulée en partie par 2 protéines de liaison, la Fatty Acid Binding Protein et l'Acyl-Coenzyme A Binding Protein. Ces protéines agiraient en créant 2 pools cytoplasmiques d'AG, le premier correspondant aux AG non activés et le second aux AG liés au CoA. Les AG activés seraient ensuite orientés vers les sites hépatiques d'estérification (qui ne seront pas traités dans cette thèse) ou d'oxydation (Hocquette et Bauchart, 1999). Les AGNE sont transformés en acyl-CoA par acylation avec formation d'une liaison thioester (réaction d'activation) dans le cytoplasme des hépatocytes. Ces acyl-CoA, qui constituent la forme activée des AG, vont être oxydés soit dans les peroxysomes, soit dans les mitochondries. Les acyl-CoA pénètrent dans la mitochondrie à l'aide d'un système de transport transmembranaire (Bruss, 1999) pour y être oxydés en acétyl-CoA (Herdt et Emery, 1992). Des enzymes appelées Acyl-carnitines transférases (CAT) assurent ce rôle. Il en existe de 2 types : les CAT1 qui transforment les acyl-CoA cytosoliques en acyl-carnitines, capables de traverser la paroi mitochondriale, et les CAT 2 qui captent les acyl-carnitines une fois dans la mitochondrie et les retransforment en acyl-CoA (Mac Garry et Brown, 1997).

Le peroxysome se présente comme une voie alternative pour la β -oxydation des AG, mais cette voie est préférentiellement dirigée vers les AG à très longue chaîne (20 atomes de carbone et plus, Guzman et Geelen, 1993). Le mécanisme par lequel les acides gras pénètrent dans le peroxysome n'est pas encore très bien compris.

Les acyl-CoA mitochondriaux vont subir une réaction β -oxydation (1^{ère} étape de l'oxydation des AG) conduisant à la formation d'acétyl-CoA. Ces acétyl-CoA subiront soit une oxydation complète dans le cycle de Krebs, soit une oxydation partielle en C2 ou en corps cétoniques (acétoacétate et BHBA, Emery et al., 1992). La réaction de β -oxydation (Figure 13) fractionne ainsi les AG à chaîne longue avec formation de NAD^+ à partir du NADH et de FAD^+ à partir de FADH (Hocquette et Bauchart, 1999). Cette réaction est catalysée par la β -hydroxybutyrate déshydrogénase mitochondriale qui permet la transformation de l'acétoacétate en BHBA en consommant du NADH (Emery et al., 1992 ; Hocquette et Bauchart, 1999).

Au niveau peroxysomial, la β -oxydation, se présente comme un mécanisme d'oxydation partielle, puisqu'elle ne réalise qu'un raccourcissement des chaînes carbonées (Guzman et Geelen, 1993). Suite à la β -oxydation peroxysomiale, les AG raccourcis quittent le peroxysome pour rejoindre le cytosol, et gagnent ensuite soit la mitochondrie pour y subir une β -oxydation complète, soit le réticulum endoplasmique, pour participer à la synthèse des triacylglycérols (Guzman et Geelen, 1993 ; Zammit, 1999).

2.2. Régulation de la cétogénèse et interaction avec la néoglucogénèse

La β -oxydation est inhibée par l'augmentation du ratio NADH/NAD^+ dans la matrice mitochondriale. Le NADH étant généré par β -oxydation, il s'agit donc d'un mécanisme d'automodulation. Afin de permettre à la β -oxydation de se poursuivre, une oxydation intramitochondriale du NADH est nécessaire (Zammit, 1999). Chez le ruminant, l'activité hépatique intramitochondriale de β -hydroxybutyrate déshydrogénase est extrêmement faible (Malki et al., 1992) et ne permet donc pas de diminuer le ratio NADH/NAD^+ . La diminution du ratio est assurée par le couplage entre la cétogénèse et la néoglucogénèse. En effet, en cas de balance énergétique négative, comme par exemple en début de lactation chez la vache laitière, la néoglucogénèse à partir du C3 et à partir d'autres précurseurs (lactate et l'alanine) est également activée. Ces derniers génèrent du pyruvate qui est transformé en oxaloacétate. La transformation de l'oxaloacétate en malate par la malate déshydrogénase mitochondriale (avec consommation de NADH) permet ensuite à β -oxydation de se poursuivre.

Parallèlement, l'acétoacétate généré dans la mitochondrie par la cétogénèse est exporté dans le cytosol et transformé en BHBA grâce à β -hydroxybutyrate déshydrogénase cytosolique en consommant du NADH. Ce NADH peut provenir de deux réactions distinctes intervenant dans la voie de la néoglucogénèse. Il peut tout d'abord être produit grâce à la transformation du lactate en pyruvate par la lactate déshydrogénase. La seconde origine fait intervenir le malate intramitochondrial : celui-ci migre vers le cytosol grâce au système de transport des dicarboxylates et est reconverti en oxaloacétate grâce à la MDH cytosolique en produisant du NADH. La phosphoénolpyruvate carboxykinase cytosolique catalyse ensuite la transformation de l'oxaloacétate en phosphoénolpyruvate, en vue de produire du glucose (Zammit, 1999).

Chez les non ruminants, il a été montré que le malonyl-CoA inhibait l'activité de CAT 1. Ainsi, lorsque la disponibilité en glucose est maximale, beaucoup plus de glucose entre dans le cycle de Krebs que nécessaire (Figure 20). Il en résulte une accumulation intramitochondriale des intermédiaires du cycle de Krebs, dont le citrate. Celui-ci, lorsqu'il est en excès sort de la mitochondrie. Les acyl-CoA sont alors estérifiés en triglycérides (Herdt, 2000). Chez le ruminant, la cétogénèse hépatique peut également être inhibée par le malonyl-CoA ou d'autres esters de CoA (méthylmalonyl-CoA, acétyl-CoA). Tous ces esters ont la propriété d'inhiber l'entrée des acyl-CoA dans la mitochondrie en agissant sur l'acyl-carnitine transférase 1 (Zammit, 1999).

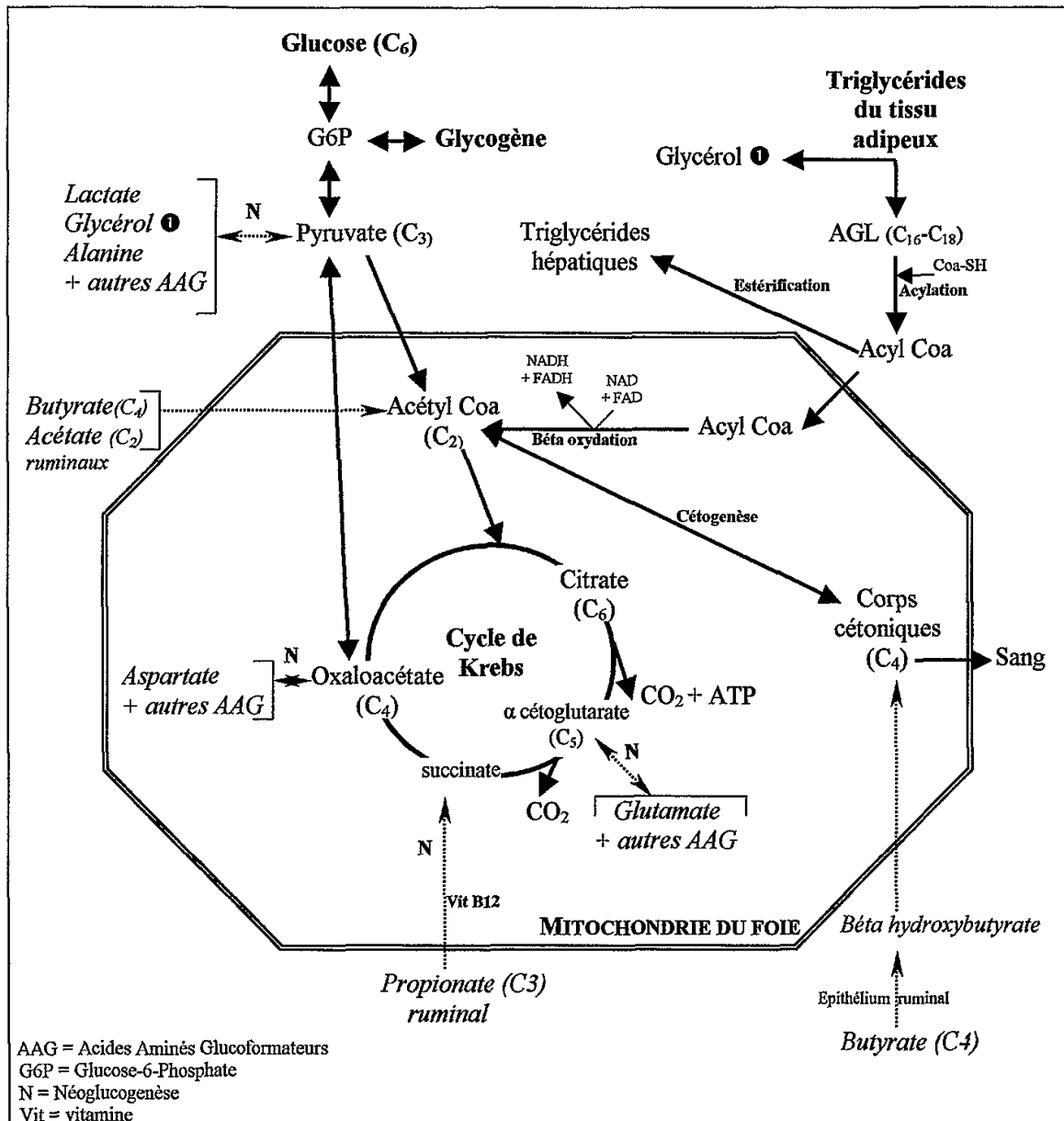


Figure 20 : Cétogénèse et néoglucogénèse (D'après Herdt, 1988)

Par ailleurs, la β -oxydation des AG est inhibée par le propionyl-CoA, premier métabolite intermédiaire lors de la néoglucogenèse. Le propionyl-CoA inhibe en effet une flavoenzyme de la voie de la β -oxydation, l'acyl-CoA déshydrogénase pour AG à courte chaîne (Shaw et Engel, 1985). Le C3 possède également la faculté d'inhiber les CAT 1 par le biais du méthylmalonyl-CoA qui empêche la pénétration des acyl CoA dans la mitochondrie (Brindle et al., 1985). Il existe donc un contrôle par les produits terminaux des fermentations ruminales sur le métabolisme hépatique (Figure 20).

La diminution du taux d'insuline en début de lactation augmente la lipolyse dans les tissus adipeux et diminue la lipogenèse intrahépatique. Dans les hépatocytes, l'insuline diminue le taux de malonyl-CoA, et permet d'augmenter l'oxydation intrahépatique des AG et la formation de corps cétoniques.

2.3. Influence du statut nutritionnel et physiologique

D'un point de vue quantitatif, la cétogenèse varie fortement avec la quantité d'AG longs arrivant au foie. Le statut physiologique et nutritionnel des animaux qui fait varier le degré de mobilisation des réserves adipeuses, influence donc la cétogenèse.

En situation de mobilisation des réserves adipeuses, la quantité d'AG libres prélevée par le foie augmente proportionnellement à l'apport puisque le taux fractionnel d'extraction hépatique varie peu (entre 10 et 20% des substrats disponibles, Katz et Bergman, 1969b). La production nette de BHBA par le foie devient supérieure à celle des TDVP (Lomax and Baird, 1983; Reynolds and Huntington, 1988) en cas de jeun. En considérant que le C4 et les AGNE prélevés par le foie sont convertis en totalité en BHBA, leur contribution potentielle à l'émission de BHBA s'élève à 76,3% (Reynolds et al., 1988).

En fin de gestation, la mobilisation des réserves adipeuses est aussi responsable d'une augmentation de la cétogenèse hépatique de 3 à 5 fois (Sensenig et al., 1985).

Les concentrations circulantes de corps cétoniques augmentent durant la lactation (Sensenig et al., 1985). Les taux de cétogenèse alimentaire et hépatique sont 10 à 15 fois supérieurs chez les vaches laitières (Baird and Young, 1975; Baird, 1977).

En conclusion, en l'absence d'apport notable d'AGNE au foie le BHBA est formé à partir du C4. Les quantités de BHBA formées sont alors limitées.

Par contre, lorsque l'apport d'AGNE au foie est important, notamment en situation de mobilisation adipeuse, des quantités importantes de BHBA pourront être synthétisées à partir des AGNE puis émises par le foie.

La prédiction de l'émission du BHBA devra donc faire intervenir à la fois des paramètres de fermentation ruminale (pour l'apport de C4 au foie) mais également des paramètres reflétant la mobilisation des réserves (pour l'apport d'AGNE).

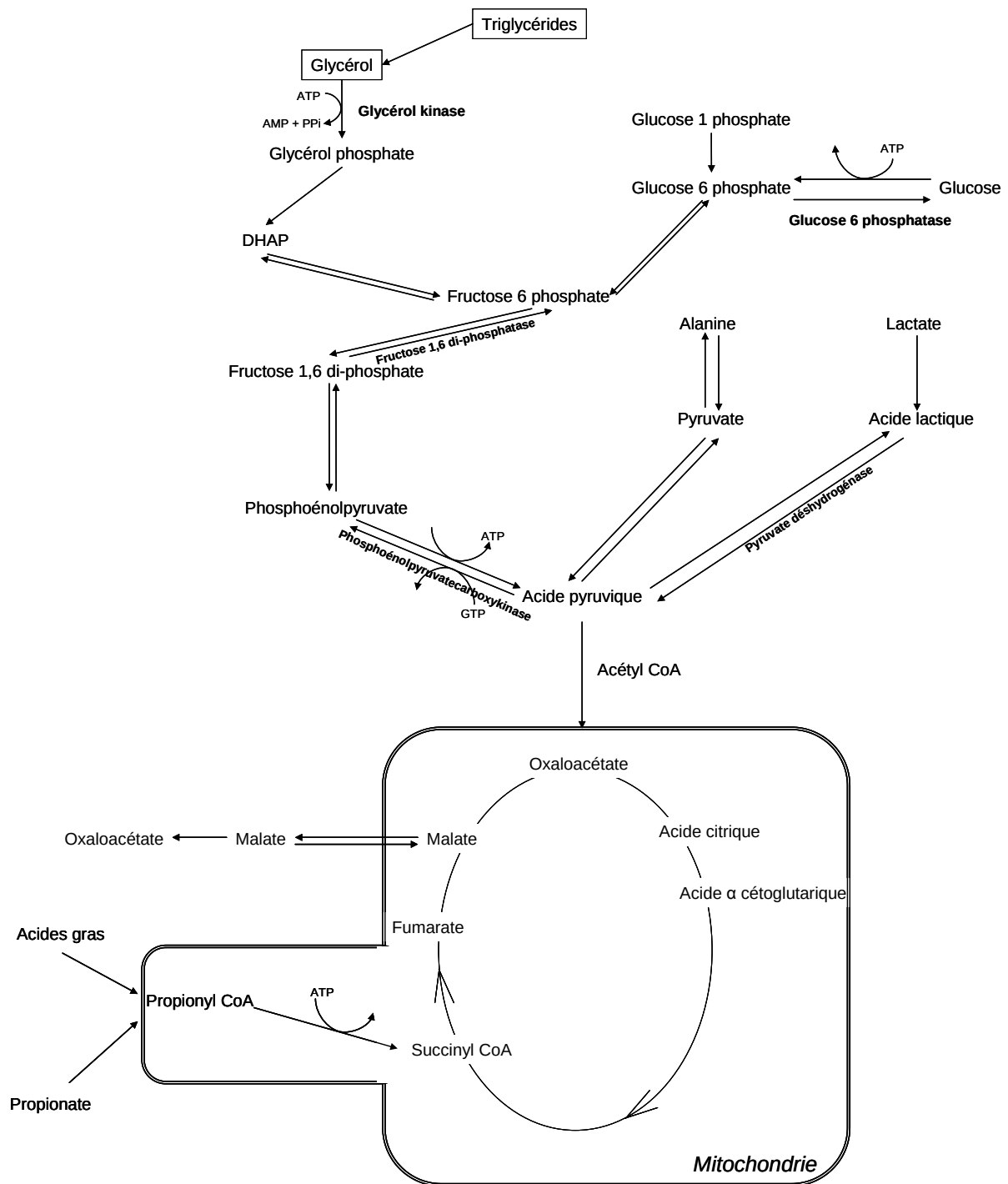


Figure 21 : Voies de la néoglucogenèse

3. LE GLUCOSE

Indépendamment des quantités de glucose pouvant être absorbées au niveau intestinal, les organes responsables de la fourniture de glucose au ruminant sont le foie et les reins. Le foie est quantitativement le plus important producteur de glucose chez les ruminants. La néoglucogenèse hépatique représente entre 80 et 90% du turnover du glucose au niveau du corps entier (Bergman, 1975; Ndi Bualonji et Godeau, 1993; Danfaer et al., 1995).

3.1. Voie de la néoglucogenèse

Dans le foie, la glycolyse et la néoglucogenèse sont les 2 voies métaboliques contrôlant le flux de glucose entre le sang et les hépatocytes. Les enzymes clés de ces 2 voies sont l'hexokinase, la glucokinase et la glucose-6-phosphatase, qui interviennent dans la phosphorylation et la déphosphorylation du glucose (Stangassinger et Giesecke, 1986).

Le glucose est synthétisé dans le foie à partir de substrats à 3 carbones. Les principaux substrats glucoformateurs sont le C3, les AA glucoformateurs, le L-lactate et le glycérol (Figure 21). Ces substrats entrent dans la voie de la néoglucogenèse au niveau d'un intermédiaire du cycle de Krebs (succinate et α -cétoglutarate) dans le cas du C3 et du glutamate, au niveau du pyruvate dans le cas du L-lactate, de l'alanine et de la glycine et au niveau d'un triose-phosphate dans le cas du glycérol (Ndi Bualonji and Godeau, 1993).

La voie de synthèse du glucose à partir du C3 est plus active que la voie empruntant le pyruvate. En effet, la synthèse de glucose à partir du C3 implique uniquement la phosphoénolpyruvate carboxykinase dont l'activité est élevée chez les ruminants, alors que la synthèse de glucose à partir d'autres substrats implique au moins une autre enzyme, la pyruvate carboxylase. L'activité de cette dernière est supposée faible (Demigné et al., 1991) mais a aussi été montrée similaire à celle de la phosphoénolpyruvate carboxykinase dans les hépatocytes de bovins (Madsen 1983 ; Armentano, 1992). L'utilisation préférentielle du C3 à tout autre substrat pourrait aussi être liée au fait que la pyruvate carboxylase est plus sujette aux régulations nutritionnelles, physiologiques et hormonales que la phosphoénolpyruvate carboxykinase (Brockman, 1993). La voie du C3 est également privilégiée à cause d'un coût énergétique réduit. En effet, la production d'une molécule de glucose à partir du C3 nécessite 4 ATP au lieu de 6 ATP à partir du L-lactate ou 10 ATP à partir de l'alanine (Demigné et al., 1991). Par comparaison la synthèse de glucose à partir de L-lactate est limitée, probablement car elle implique la L-lactate-déshydrogénase dont l'activité est faible chez les ruminants (Demigné et al., 1991).

3.2. Contribution des différents précurseurs à la néoglucogenèse

La contribution vraie des précurseurs du glucose est difficile à déterminer car elle est soumise aux limites méthodologiques d'emploi de traceurs (Van Houtert, 1993). Cependant, malgré les difficultés, un grand nombre d'auteurs ont proposé des estimations sur la contribution potentielle maximale des différents précurseurs.

Cette notion se base sur la disponibilité en précurseurs, sans tenir compte de l'utilisation éventuelle de ces précurseurs dans d'autres voies métaboliques hépatiques. La contribution potentielle surestime la contribution réelle (Majdoub, 2002), ce qui peut expliquer les grandes plages de variations observées.

3.2.1. Contribution du propionate :

La contribution potentielle maximale du C3 à la synthèse hépatique de glucose a été estimée entre 27 et 76% (Majdoub, 2002). Chez des moutons adultes nourris à l'entretien avec du foin, la contribution potentielle du C3 à la synthèse de glucose a été estimée entre 25-30% (Bergman, 1973) et 42% (Lindsay, 1978). Chez des bovins en croissance la production endogène de glucose provenait à 43% du C3 ruminal (Veenhuizen et al., 1988).

Néanmoins toutes ces valeurs sont sous-estimées car le recyclage du traceur n'a pas été pris en compte. En appliquant une correction a posteriori, la contribution du C3 à la synthèse de glucose s'élèverait à 50 - 70% de la production hépatique de glucose (Majdoub, 2002).

Ainsi, d'un point de vue quantitatif, le C3 est le principal précurseur de la néoglucogenèse, participant jusqu'à 76% de la synthèse hépatique de glucose (Reynolds et al., 1994). La synthèse hépatique de glucose est donc prioritairement dépendante de la disponibilité en C3.

Chez les animaux sous-alimentés ou à jeun, le C3 est bien entendu moins disponible. Le foie utilise alors d'autres sources endogènes de substrat. Le glycérol provenant de la lipolyse devient alors un précurseur plus important pour le glucose. Il en est de même des autres précurseurs. Ainsi leurs contributions relatives augmentent, bien que le taux de néoglucogenèse soit réduit (Lomax et Baird, 1983).

3.2.2. Contribution du L-lactate

La contribution réelle moyenne du L-lactate à la synthèse de glucose serait comprise entre 15 et 20 % de la production hépatique de glucose chez des moutons adultes à l'entretien (Brockman, 1993). La contribution potentielle maximale varie, quant à elle, entre 7 et 44%,

(Reynolds et al., 1992 ; Krehbiel et al., 1992 ; Lozano et al., 2000) chez des bovins recevant un régime mixte ou riche en sorgho. La contribution potentielle du L-lactate dépend des conditions nutritionnelles et physiologiques (Stangassinger et Giesecke, 1986).

3.2.3. Contribution des acides aminés

De nombreux AA peuvent potentiellement contribuer à la synthèse de glucose, et ils sont considérés comme le 2^{ème} précurseur de glucose. Quantitativement, leur contribution potentielle s'apparente à celle du L-lactate.

Les principaux AA glucoformateurs sont l'alanine, la glutamine et la glycine avec une prédominance de l'alanine qui est absorbée en plus grande quantité. Cependant, comme dans le cycle de Cori, une partie de l'alanine, émise par les TDVP et prélevée par le foie, est elle-même un produit du métabolisme du glucose et représente un mécanisme de recyclage des carbones (Reynolds, 2005). Chez l'agneau, 21% des carbones du glucose sont ainsi recyclés en alanine (Majdoub et al., 2003)

La contribution potentielle de l'AA-N à la production de glucose est comprise entre 11 et 30% (Reynolds et al., 1992a,b; Lozano et al., 2000). Wolff et Bergman (1972) ont estimé la contribution réelle des AA à 11% chez des moutons recevant du foin de luzerne à l'entretien. Sur la base du travail de Lindsay (1978), Vernon et Peaker (1984) ont estimé des contributions similaires chez des moutons adultes à l'entretien. La contribution potentielle des AA est légèrement supérieure à la contribution vraie en raison des autres voies d'utilisation hépatique des AA glucoformateurs (en particulier la glycine), notamment pour la synthèse protéique.

3.2.4. Contribution du glycérol :

Seul le glycérol libre peut être utilisé dans le foie pour la synthèse de glucose. Chez les ruminants nourris et qui ne sont pas en état de mobilisation lipidique, la majorité du glycérol est combinée aux AG, et seule une petite quantité se trouve sous forme libre. Dans ce cas sa contribution à la néoglucogenèse est faible et ne dépasse pas 5% (Brockman, 1993). En cas de mobilisation des réserves la contribution du glycérol à la synthèse de glucose peut atteindre 40% (Bergman et al., 1968)

3.3. Régulations de la néoglucogenèse

La néoglucogenèse hépatique est régulée par un certain nombre de facteurs nutritionnels et hormonaux, modulant la contribution potentielle des différents précurseurs.

3.3.1. Régulations nutritionnelles et influence du statut physiologique

Un mouton adulte à l'entretien produit environ 25 mmol/h de glucose (Bergman et al., 1974).

La néoglucogenèse hépatique est réduite lors d'un jeûne, en raison d'un déficit en précurseurs d'origine alimentaire et digestive (Reynolds, 20005). Les contributions respectives des substrats notamment endogènes augmentent.

Lorsque le NA augmente, on observe une augmentation de la production de glucose, et les animaux nourris *ad libitum* produisent environ 50 fois plus de glucose que s'ils étaient nourris avec une ration d'entretien (Wilson et al., 1983).

Le taux d'augmentation de la production de glucose varie probablement avec le NA. Dans une étude relativement récente Lapiere et al. (2000) ont observé une augmentation de la production hépatique de glucose de 91% chez des bovins en croissance lorsque le NA est passé de 0,7 à 1 fois le besoin d'entretien, alors qu'elle n'a pas été modifiée entre 1 fois et 1,8 fois l'entretien.

Par ailleurs, à un NA donné, la nature du régime ne semble pas avoir d'effet sur la production totale de glucose, tout en modifiant la contribution des différents précurseurs (Reynolds et al., 1991b). Un régime favorisant les fermentations ruminales de type propionique semblerait réduire l'utilisation des AA et du L-lactate par le foie et augmenter leur émission vers les tissus périphériques (Reynolds et al., 1991b).

Les femelles en gestation produisent, à NA identique, plus de glucose, avec une augmentation de près de 50% en fin de gestation (Wilson et al., 1983), suggérant une utilisation de sources endogènes de précurseurs du glucose ou une amélioration de l'efficacité de conversion des précurseurs en glucose.

Le plus haut taux de production du glucose est mesuré chez les animaux en lactation, lié en partie mais non en totalité à l'augmentation du NA (Wilson et al., 1983). Chez des vaches laitières en phase de mobilisation des réserves, le niveau des AA glucogéniques circulants diminue. La glycémie restant constante, une augmentation de la contribution des AA à la néoglucogenèse est probable (Reynolds, 2005).

3.3.2. Régulation de la néoglucogenèse par l'insuline et le glucagon:

L'insuline et le glucagon sont les principales hormones qui régulent la synthèse, notamment hépatique, et l'utilisation du glucose. Leur sécrétion est fortement influencée par le glucose, le C3 et le C4.

Peu d'études ont porté sur l'effet du C3 sur la sécrétion d'insuline par les TDVP. Casse et

al. (1994) ainsi que Majdoub et al. (2003a) ont montré une augmentation de 49 à 246% de la sécrétion d'insuline par les TDVP suite à une infusion intra mésentérique ou intra-ruminale de C3. L'insuline sécrétée est dégradée dans le foie.

Chez l'agneau, le taux de clairance est en moyenne de 33%. Il augmente significativement avec une supplémentation en C3 (Majdoub et al., 2003a), expliquant l'absence de modifications des concentrations artérielles en insuline suite à des infusions de C3 (Sano et al., 1993).

La sécrétion insulinaire est aussi stimulée par l'absorption de C4 (Mineo et al., 1990), mais plus faiblement qu'avec du C3 (Harmon, 1992). Ainsi, Krehbiel et al. (1992) et Reynolds et al. (1992) n'ont pas observé de modification de la sécrétion d'insuline suite à des infusions intra-ruminales de C4 chez des bovins en croissance.

Au niveau hépatique, l'insuline inhibe la néoglucogenèse, en particulier à partir du L-lactate, du glycérol et des AA (Brockman, 1990). Une augmentation des concentrations porte d'insuline induit une réduction de la production hépatique de glucose et du prélèvement hépatique net des substrats glucoformateurs - et de leur contribution potentielle - à l'exception de celle du C3 qui n'est pas modifiée (Brockman, 1990).

Le glucagon au contraire stimule la néoglucogenèse chez les ruminants (Brockman et al. 1975) en augmentant l'activité de la pyruvate carboxylase de 25 à 40% (Brockman et Manns, 1974). Toutefois, Donkin et al. (1995) n'ont pas observé d'effet du glucagon sur la néoglucogenèse hépatique dans les hépatocytes de veaux ruminants. Des interactions existent entre les effets de l'insuline et ceux du glucagon et peuvent être à l'origine de ces contradictions. A faibles concentrations d'insuline les hépatocytes sont plus sensibles au glucagon et la néoglucogenèse à partir du lactate est favorisée. A des concentrations plus élevées cet effet disparaît (Donkin et al., 1997). Le C3 et le C4 stimulent également la sécrétion de glucagon (Harmon, 1992).

3.3.3. Influence des besoins en glucose :

Si le NA est un paramètre important de la néoglucogenèse, dans le sens où il détermine l'apport et la nature des précurseurs au foie, il n'est cependant pas le seul moteur de la synthèse de glucose par le foie. En effet, différentes études ont mis en exergue l'influence des besoins en glucose. Ainsi, à NA égal, le turnover du glucose suit les besoins en glucose de la vache laitière (Drackley et al., 2001). La contribution de l'alanine à la synthèse du glucose a été multipliée par 2,8 dans des hépatocytes de moutons traités avec de la phlorizine, celle du C3 a été augmentée mais d'une façon moindre (Overton et al., 1999).

Les besoins en glucose des ruminants en croissance sont moins variables que ceux des ruminants en lactation. Kempton et Leng (1983) ont rapporté une corrélation forte entre le turnover du glucose et le gain moyen quotidien des agneaux.

Il semble aussi que le turnover du glucose chez les ruminants en croissance (Seal et Parker, 1994) soit plus élevé que chez les ruminants adultes (Sano et al., 1999 ; Ortigues-Marty et al., 2003).

3.4. Lien entre la néoglucogenèse et la cétogenèse

Le métabolisme des acyl CoA dans le cycle de Krebs dépend d'une quantité suffisante d'oxaloacétate issu du glucose, et lorsque ce n'est pas le cas, les acyl-CoA sont orientés vers la cétogenèse (Hamada et al., 1982). L'oxaloacétate est donc considéré comme un métabolite régulateur entre la néoglucogenèse et la cétogenèse (Pearson et Maas, 2002). Ainsi lorsqu'il existe un déficit en glucose circulant, comme chez les vaches laitières hautes productrices, l'oxaloacétate est majoritairement utilisé pour la néoglucogenèse et les acyl CoA sont dirigés vers la cétogenèse (Hippen, 2000). Ce facteur ne peut cependant expliquer à lui seul les interactions entre la néoglucogenèse et la cétogenèse. La translocation des acyl-CoA à travers la membrane mitochondriale pourrait aussi réguler la cétogenèse. En effet, le système de transport CAT des acyl-CoA est régulé directement par la disponibilité en glucose grâce à des facteurs endocriniens et métaboliques (Bruss, 1999 ; Hippen, 2000). Une glycémie basse stimule le transport.

Ainsi, le glucose est synthétisé dans le foie à partir du C3, L-lactate, AA glucoformateurs et glycérol. La production hépatique de glucose dépend prioritairement mais pas uniquement du NA ni de l'apport de nutriments. Dans le cas où l'alimentation est restreinte elle dépend probablement de l'apport des précurseurs. Par contre, lorsque l'apport des précurseurs n'est pas limitant, la néoglucogenèse est régulée par d'autres mécanismes.

La contribution vraie de chacun des précurseurs à la production de glucose est insuffisamment connue, au profit de la contribution potentielle maximale. Cette dernière varie avec la quantité et la nature de chacun des précurseurs, et en particulier de la disponibilité en C3. Le taux de conversion des précurseurs en glucose, et ses variations, n'ont pas été déterminés.

Le statut physiologique des animaux modifie également la synthèse du glucose en faisant varier les besoins en glucose. Plus ces besoins augmentent, plus la production de glucose est élevée, à condition que la quantité de précurseurs (alimentaires ou endogènes) disponibles soit suffisante.

L'insuline et le glucagon, dont la sécrétion est régulée par les nutriments (glucose, C3, C4) régulent l'intensité de la néoglucogenèse et en particulier la contribution potentielle du L-lactate.

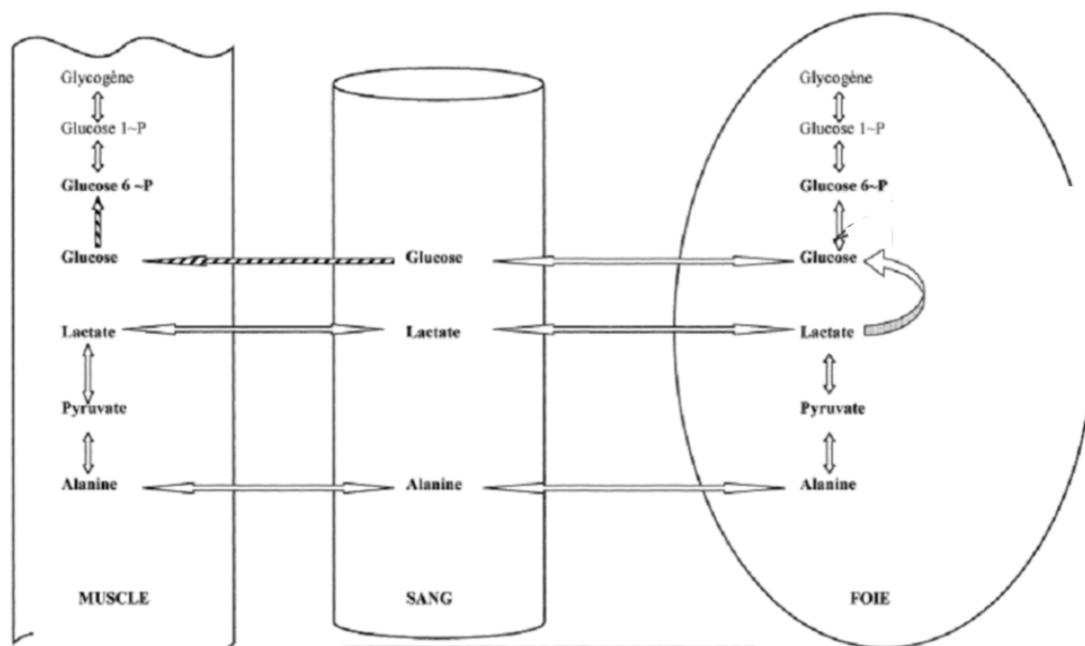


Figure 22 : Cycle de Cori (D'après Dassenoy et al., 1996)

4. LE L-LACTATE

Le métabolisme hépatique du L-lactate est particulier, dans le sens où un prélèvement net ou une émission nette par le foie peuvent tous deux être mesurés, en fonction des statuts nutritionnels et physiologiques des animaux.

4.1. Utilisation hépatique nette

Très peu de L-lactate est absorbé à l'issue des fermentations bactériennes du lumen gastro-intestinal. La quasi-totalité du L-lactate arrivant au foie est d'origine métabolique provenant soit des tissus gastro-intestinaux, soit des tissus extra-splanchniques. Quantitativement le flux afférent de L-lactate est équivalent à celui de C3 (Armentano, 1992). Chez les vaches allaitantes, l'apport de L-lactate au foie est de 765 mmol/h, dont 28% est issu de l'ANP (Reynolds et al., 1988b). Chez les brebis en gestation ces valeurs atteignent 104 mmol/h et 8%, respectivement, et chez les brebis allaitantes, 173 mmol/h et 9%, respectivement (van der Walt et al., 1983). Le L-lactate d'origine métabolique est lui-même issu du métabolisme du glucose. Vingt-et-un pour cent du turnover de glucose-C est reconverti en L-lactate chez des agneaux (Majdoub et al., 2003).

La fourniture de L-lactate au foie est donc plus importante en situation d'économie de carbones, comme en période de mobilisation des réserves corporelles. Dans ce cas, le flux de L-lactate issu du métabolisme du muscle et du tissu adipeux s'accroît. Le foie en prélève (Benson et al., 2002).

Dans l'hépatocyte, le L-lactate est principalement utilisé pour la néoglucogenèse (Figure 22). *In vitro* les hépatocytes de veau ont une capacité de conversion du L-[U-¹⁴C]-L-lactate en glucose égale à la moitié de celle du [2-¹⁴C]-C3, lorsque ces substrats sont présents en concentrations supra-physiologiques (Donkin et al., 1991). Dans des hépatocytes de chèvre la conversion du L-lactate en glucose s'élevait à 10% de la conversion du C3 en glucose (Aiello et Armentano, 1987).

Cependant, seule une fraction minoritaire du L-lactate corporel est convertie en glucose : 30 - 34% chez la brebis en gestation et la vache laitière, 16% chez la brebis allaitante et 27% chez la vache gestante (Baird et al., 1983). Au niveau hépatique, moins de 25% du lactate prélevé est utilisé dans la synthèse de glucose (van der Walt et al., 1983). Une portion significative de L-lactate est donc utilisée à d'autres fins dans les hépatocytes, notamment pour la synthèse de glycogène (Stangassinger et Giesecke, 1986 ; Figure 22).

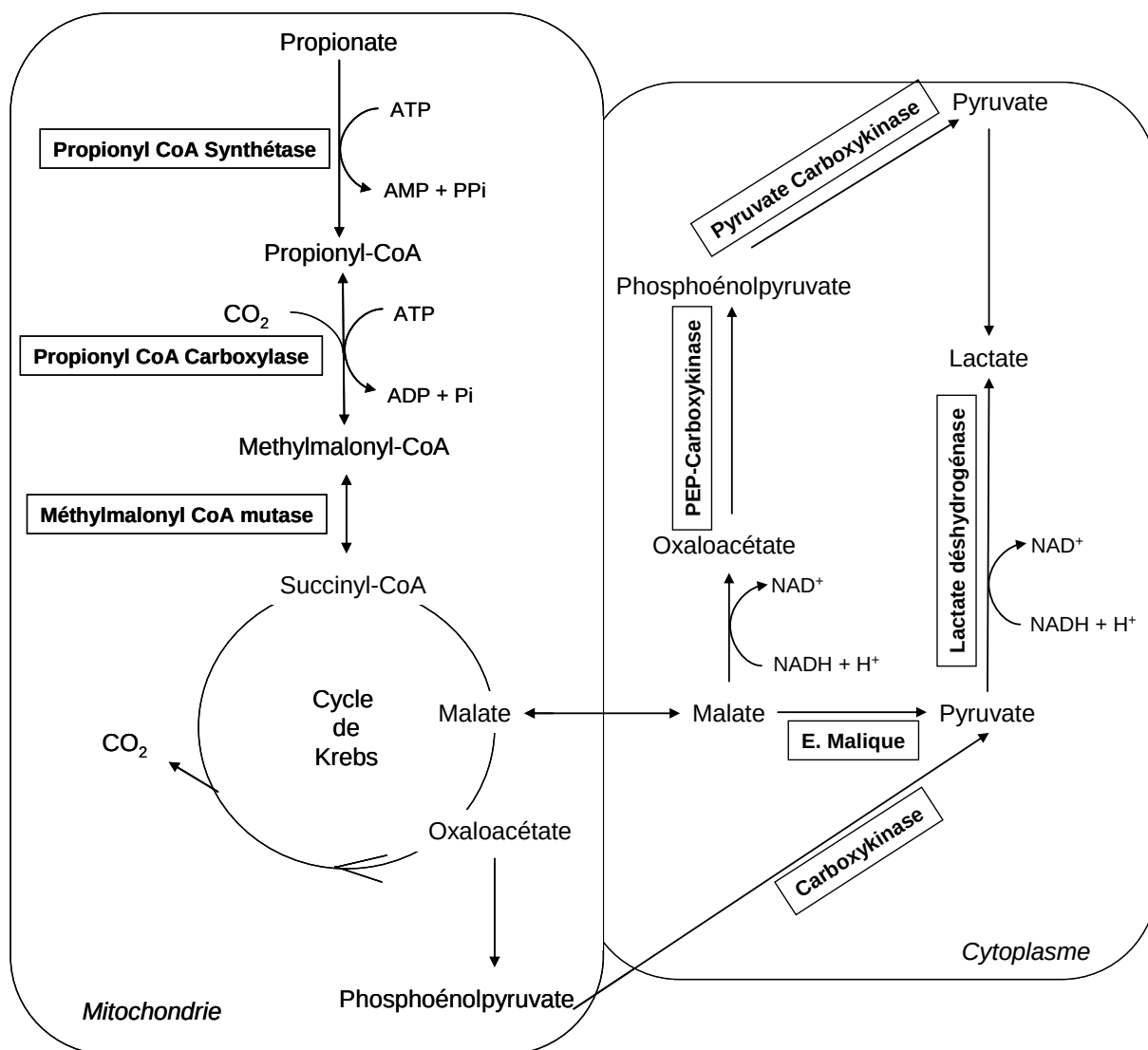


Figure 23 : Conversion du propionate en lactate (D'après Majdoub, 2002)

4.2. Production hépatique nette

Le foie est aussi capable d'émettre du L-lactate. La synthèse hépatique de L-lactate s'effectue à partir du C3 comme décrit plus haut. Les études *in vitro* sur le foie des bovins suggèrent l'existence d'un cycle intensif des carbones du C3 vers l'oxaloacétate, le phosphoénolpyruvate et le pyruvate (Figure 23). *In vitro*, 13% du [1-14C]-C3 capté par les hépatocytes serait converti en L-lactate et pyruvate (Faukner et Pollock, 1986).

Toujours *in vitro*, Demigné et al. (1991) ont montré qu'une augmentation des concentrations en C3 (1 à 5 mM) augmente la conversion du C3 en L-lactate suite à une stimulation de l'enzyme malique et une augmentation du rapport NADH/NAD⁺. L'ensemble des données indique une production de L-lactate et de glycogène accrue en situation de prélèvement élevé de C3 par le foie.

4.3. Régulation du métabolisme du L-lactate par le propionate

À la différence du C3 et de l'alanine, dont le taux de prélèvement par le foie semble être dicté par leur ANP, le prélèvement net du L-lactate par le foie est sensible à l'ANP des autres précurseurs du glucose (Reynolds, 1995). La contribution du L-lactate à la balance du glucose hépatique représente un point de flexibilité métabolique qui reflète le statut énergétique des animaux.

Pour un NA donné, l'augmentation de l'ANP du C3 ou de l'alanine augmente leur prélèvement par le foie, réduisant alors le prélèvement hépatique de L-lactate. Cette réduction favorise la fourniture de L-lactate aux tissus périphériques, où il peut être employé pour la synthèse du tissu adipeux ou le métabolisme musculaire (Reynolds, 2005).

L'exposition à court terme des hépatocytes bovins à des concentrations physiologiques d'insuline réduit la conversion du C3 en glucose, mais pas celle du L-lactate. Cependant même en présence d'insuline, le L-lactate est converti en glucose à un taux inférieur de celui du C3 (Donkin et al., 1991). Ces comparaisons suggèrent que le métabolisme du L-lactate remplit une fonction de régulation non définie. De ce fait l'intensité du métabolisme hépatique du L-lactate reste inférieure à la capacité maximum *in vivo* du foie.

Ainsi, le L-lactate peut être soit prélevé soit émis par le foie, en fonction des statuts nutritionnels et physiologiques des animaux.

Le prélèvement de L-lactate est directement lié à la fourniture de L-lactate au foie, dictée par son ANP et la mobilisation des réserves corporelles (muscles et tissu adipeux). Lorsque le BE est négatif, le prélèvement de L-lactate par le foie augmente et contribue à la néoglucogenèse avec une contribution quantitative variable.

L'émission hépatique de L-lactate semble dépendre principalement de l'ANP du C3 et du flux afférent de L-lactate.

L'ANP de C3, de L-lactate et le BE seront donc des prédicteurs potentiels de ces 2 aspects du métabolisme du L-lactate.

5. LES ACIDES AMINES

Comme nous l'avons déjà précisé, nous n'avons considéré les nutriments azotés dans ce travail de thèse qu'en raison de leur contribution à la fourniture d'énergie. Ainsi, seuls les AA gluco- ou céto-formateurs sont ciblés. Cette bibliographie n'a pas l'ambition de décrire le métabolisme des AA individuels, ni celui de l'urée ou de l'ammoniac (qui ont fait l'objet d'une revue récente chez les ruminants par Kraft et al., 2009). Elle est ciblée sur le métabolisme hépatique de la somme des AA, appréciée par la mesure de la somme des AA ou de l'AA-N.

5.1. Utilisation et émission hépatique nette de l'azote alpha aminé

En moyenne, le foie prélève des AA selon la loi d'action de masse et donc de leur ANP. Chez la vache laitière, le prélèvement net hépatique d'AA s'élève en moyenne à 45 % (16 à 69 %) de l'ANP (Lapierre et al., 2005).

Il existe une grande variabilité dans le prélèvement net hépatique des AA individuels, ce qui modifie le profil efférent des AA par rapport au profil afférent (Hanigan et al., 2005). Parmi les AA non indispensables, certains sont utilisés par le foie (alanine, asparagine, glycine, serine), alors que d'autres sont émis (aspartate, ornithine, glutamate ; Hanigan et al., 2005). Les AA indispensables sont globalement captés par le foie (Savary-Auzeloux et al., 2003a,b).

Les AA prélevés par le foie sont principalement utilisés pour les voies anaboliques, c'est-à-dire la synthèse des protéines hépatiques constitutives et exportées et la néoglucogenèse (Kraft et al., 2009a).

L'alanine, la glutamine, le glutamate et la glycine contribuent le plus à la synthèse de glucose chez les Ruminants. Leur contribution potentielle est extrêmement variable (2 – 40 % ; Danfaer et al., 1995). Les sources de variation (contribution potentielle vs. vraie, conditions physiologiques et nutritionnelles) sont nombreuses (Kraft et al., 2009).

Les AA utilisés pour la néoglucogenèse sont d'origine alimentaire, digestive ou endogène (issus de la dégradation des protéines hépatiques ou musculaires). La part d'AA utilisés d'origine « endogène » représente donc une source de flexibilité métabolique, pour compenser une baisse des apports alimentaires et de disponibilité en C3 (Kraft et al., 2009).

Les AA prélevés par le foie peuvent également participer à l'uréogénèse. Ainsi, les AA peuvent donc transférer leur azote aminé vers l'aspartate par transamination (ex : alanine) ou indirectement (glutamate) via l'activité de l'aspartate amino transferase (Milano, 1997).

A l'exception des immunoglobulines, presque toutes les protéines du plasma sont synthétisées par les hépatocytes (Ruot, 2001). L'albumine représente environ 45 % des protéines plasmatiques et 8-17 % de la synthèse protéique hépatique correspond à de la synthèse d'albumine (Connell et al., 1997 cité par Kraft et al., 2009). Si on suppose que toutes les protéines plasmatiques sont d'origine hépatique, il a été estimé que celles-ci représentent 38 - 51 % de la synthèse des protéines hépatiques totales (Connell et al., 1997).

5.2. Régulation de l'utilisation de l'azote alpha aminé

La loi d'action de masse qui prévaut sur le prélèvement d'AA par le foie est soumise à régulation. A nature de régime identique, le prélèvement hépatique augmente avec le NA l'ingestion (Lapierre et al., 2000, Savary-Auzeloux et al., 2003).

Le prélèvement hépatique d'AA s'accroît lorsque le niveau d'azote protéique de la ration augmente (Kraft et al., 2009). L'efficacité du transfert des AA alimentaires vers les protéines de lait est ainsi réduite lors d'une supplémentation en protéines (Raggio et al., 2004). Tous les AA ne sont cependant pas affectés de la même façon (Kraft et al., 2009).

La majorité des études a montré que le ratio fourrage/concentré de la ration modifiait peu l'ANP des AA (Lapierre et Lobley, 2001), alors que le prélèvement hépatique d'AA était augmenté dans le cas de régimes riches en fourrages (Huntington, 1989 ; Reynolds et al., 1991). Kraft et al. (2009a) ont confirmé récemment que le rapport énergie/azote de la ration influençait le devenir métabolique des acides aminés dans le foie chez des agneaux.

Avec un régime déficitaire en azote d'environ 20%, le foie réduit son prélèvement net en AA, avec une baisse probable de leur catabolisme et le maintien de la synthèse des protéines exportées. Une plus grande efficacité d'utilisation des AA a été mise en évidence ex vivo (Kraft et al., 2009b). Une augmentation de l'activité des transporteurs d'AA est supposée. A l'inverse, un déficit énergétique d'environ 20% favorise le prélèvement hépatique d'AA avec augmentation conjointe de la néoglucogenèse et de l'uréogenèse, en réponse à des mécanismes de régulation externes (nutriments, insuline, glucagon).

Ainsi, le foie prélève des quantités importantes d'AA mais variables selon les AA. La néoglucogenèse peut contribuer à hauteur de 40% au devenir des AA prélevés par le foie. Cette contribution est très variable selon l'état physiologique et nutritionnel de l'animal.

L'augmentation du NA ne modifie pas la loi d'action de masse du prélèvement hépatique d'AA, au contraire de variations dans l'équilibre énergétique et azoté.

Matériels et méthodes

Item	Essential data
Reference	- Title - Year of publication - Journal - Volume - Pages - Possible reference to associate publication(s)
Animals	- Species, breed, age, sex - Total number of animals per group - Physiological state
Surgical preparation	- Anatomical location of catheters in the body of the animal
Experimental treatment	- Nature of the treatment - Number of animals involved per treatment - average animal weight - Duration of the treatment - Type of treatment (nutritional, physiological stage, ...)
Feeding, feed	- Category (concentrate, forage, ...) - Mode of conservation – nature (hay, silage, ...) - Vegetal family – product (grass, leguminous, ...) - Vegetal species (Bermud grass, ...) - Mode of preparation (pellets, ...)
Feeding, diet	- Name of the diet - Type of diet (forage alone, ...) - % of dry matter of the concentrate - Composition of the diet in the feeds (% dry matter)
Feeding, intake	- Diet number - Quantity parameter (dry matter intake (g.d^{-1}), ...) - Value - “Reported/calculated” criteria - Reference for calculation
Feeding, composition of the feeds and diets	- Name of the parameter of chemical composition^a - Value - “Reported/calculated/estimated” criteria - Reference for estimate - Reference for calculation
Feeding, substrate infusion	- Use of a mixture of substrates - Nature of the infused substrate - Site of infusion - Quantity parameter (metabolisable energy, nitrogen, ...) - Amounts administered per day - Unit - Duration of the infusion - Nature of the diluant (water, ...) - PH - Osmolarity

Figure 24 : Identification des données à extraire des publications pour renseigner FLORA (d’après Vernet et Ortigues-Marty, 2006)

A. Présentation de la base de données FLORA

Mon travail a reposé sur l'existence de la base de données FLORA (Flux of nutrients across tissues and organs in ruminants, Vernet et Ortigues-Marty, 2006), mise en place par l'équipe Nutriments et Métabolismes (NEM) de l'Unité de Recherches sur les Herbivores (URH). Cette base de données est une compilation exhaustive d'environ 250 publications internationales traitant des flux de nutriments dans l'air splanchnique chez les ruminants, régulièrement mise à jour par les utilisateurs. FLORA définit les critères issus des publications qui doivent être renseignés (Figure 24).

1. Description de la structure de FLORA

Au cours de ma thèse, FLORA a été une base de données du type ACCESS, fonctionnant avec le langage Visual Basic. Elle était composée de 24 tables principales (Figure 25). Ces tables contenaient l'ensemble des données extraites des publications. Elles renseignaient sur les animaux (espèce, statut physiologique, sexe, nombre et stade de lactation...), les régimes (composition centésimale des régimes en aliments, quantités ingérés, composition chimique des aliments et des rations...), le protocole expérimental (méthodes de mesure, dispositif statistique, préparation chirurgicale des animaux...), les résultats obtenus (débit sanguins, concentrations et flux de nutriments, parfois gain de poids, production laitière...). Associées à ces tables, de nombreuses requêtes ont été mises en place pour relier les tables entre elles et obtenir la synthèse de plusieurs types de résultats dans un même tableau.

2. Les données contenues dans FLORA

Le critère de sélection des publications à renseigner dans FLORA portait sur l'existence de mesures de flux sanguins de nutriments au niveau splanchnique chez les ruminants.

2.1. Animaux

Flora est constituée de 223 publications, correspondant à 775 traitements ; 48% des publications (Figure 26) portent sur ovins (dont 33% adultes non productifs et 39% en croissance), 50,5% sur bovins (dont 50% en croissance, 29 % lactation) et 1,5% sur caprins

2.2. Régimes

Quarante deux pour cent de régimes renseignés dans FLORA (Figure 27) sont riches en fourrages (> 75% MS) et 26% riches en concentrés (> 75% MS). Les fourrages secs sont les plus représentés, (66%), les fourrages verts ou ensilés représentant 34 % des fourrages.

Item	Essential data
Experimental period	- Number of days of measurement per treatment - Number of days between 2 successive treatments - number of days of recovery after surgery - Number of days of adaptation to the diet
Blood sampling	- Mode of sampling (continuous or spot sampling) - Number of samples collected per day and time interval of collection - Volume of blood collected per day
Methods of measurement of blood flow	- Principle of the method - Site of measurement - Criteria "blood/plasma"
Methods of determination of blood nutrients	- Principle of the method - Criteria "blood/plasma" - Products used for anticoagulation, deproteinisation, ... - Conditions of refrigeration and conservation of samples - type of sample (individual or pooled)
Statistics	- Experimental design - Analysis of results
Results on rumen parameters	- Name of the nutrient - Time of measurement - Type of result (concentration, ...) - Value - Unit of the result - Number of animals - Criteria "reported/calculated"
Results on blood flow	- Name of the nutrient - Time of measurement - Value and name of the vessel - Criteria "blood/plasma" - Criteria "reported/calculated" - Number of animals - Reference for time - Reference for calculation
Results on blood fluxes	- Name of the nutrient - Time of measurement - Name of the vessel or organ or tissue - Type of result (concentration, difference of concentration, net flux, extraction rate) - Value of the result - Unit - Criteria "blood/plasma" - Criteria "reported/calculated" - Number of animals - Reference for time - Reference for calculation
Errors on blood flows	- Anatomical site of measurement - Type of result (average standard error, error term calculated for all treatments) - Criteria "blood/plasma" - Criteria "reported/calculated" - Value - Type of error (SEM, average SE)
Errors on blood fluxes	- Name of the nutrient - Type of result (concentration, ...) - Name of the vessel or organ or tissue - Criteria "blood/plasma" - Criteria "reported/calculated" - Unit - Type of error (SEM, average SE)

Figure 24 (suite) : Identification des données à extraire des publications pour renseigner FLORA

Parmi les fourrages secs, on compte 19% de fourrages de légumineuses (luzerne déshydratée en particulier). Les concentrés sont principalement des céréales, le maïs occupant la première place (60% des concentrés), le blé l'orge et le sorgho venant ensuite.

2.3. Flux de nutriments

Pour chaque publication sont présentés les résultats de flux de nutriments (concentrations artérielle, porte, hépatique ; débit sanguin et/ou plasmatique, bilan net au niveau de la veine porte, hépatique et splanchnique) ainsi que les méthodes de dosage sanguin des nutriments et de mesures des débits.

3. Méthodologie d'obtention des résultats de flux contenus dans FLORA

La mesure de bilan artério-veineux de nutriments dans l'air splanchnique nécessite la mise en place d'un dispositif relativement lourd: des animaux multicathétérisés (équipé chirurgicalement de cathéters sanguins), la mesure des concentrations en nutriments dans les vaisseaux afférents et efférents aux tissus d'intérêt, la mesure des débits sanguins afférents et efférents aux tissus d'intérêt.

3.1. Préparations chirurgicales

La pose des cathéters en amont et en aval d'un compartiment tissulaire est fortement dépendante de la physiologie vasculaire et est spécifique à chaque espèce. La concentration artérielle en nutriments étant identique quelle que soit l'artère considérée, le choix du site artériel à cathétériser est indépendant des tissus d'intérêt. Une cathétérisation de l'aorte (ou d'une artère mésentérique, Ortigues-Marty et al., 1994) est généralement pratiquée.

Concernant le tube digestif, la physiologie vasculaire (Figure 8) permet de différencier deux groupes tissulaires : les tissus drainés par la veine mésentérique (caillette, duodénum, iléon et tissu adipeux mésentérique) et les TDVP (tissus drainés par la veine mésentérique plus le rumen, aire distale du tube digestif, pancréas, rate, tissu adipeux ; Seal et Reynolds, 1993).

Le foie a la particularité de recevoir deux sources sanguines afférentes : la VP et l'artère hépatique (**A**) alors que les veines sus-hépatiques (**VSH**) sont les seules voies efférentes du foie. La compartimentalisation du métabolisme hépatique entre les différents lobes est supposée ne pas influencer la composition du sang drainé par les différentes VSH.

Par conséquent, seule la pose de trois cathéters est nécessaire pour mesurer le bilan net en nutriment au niveau hépatique : A, VP et VSH.

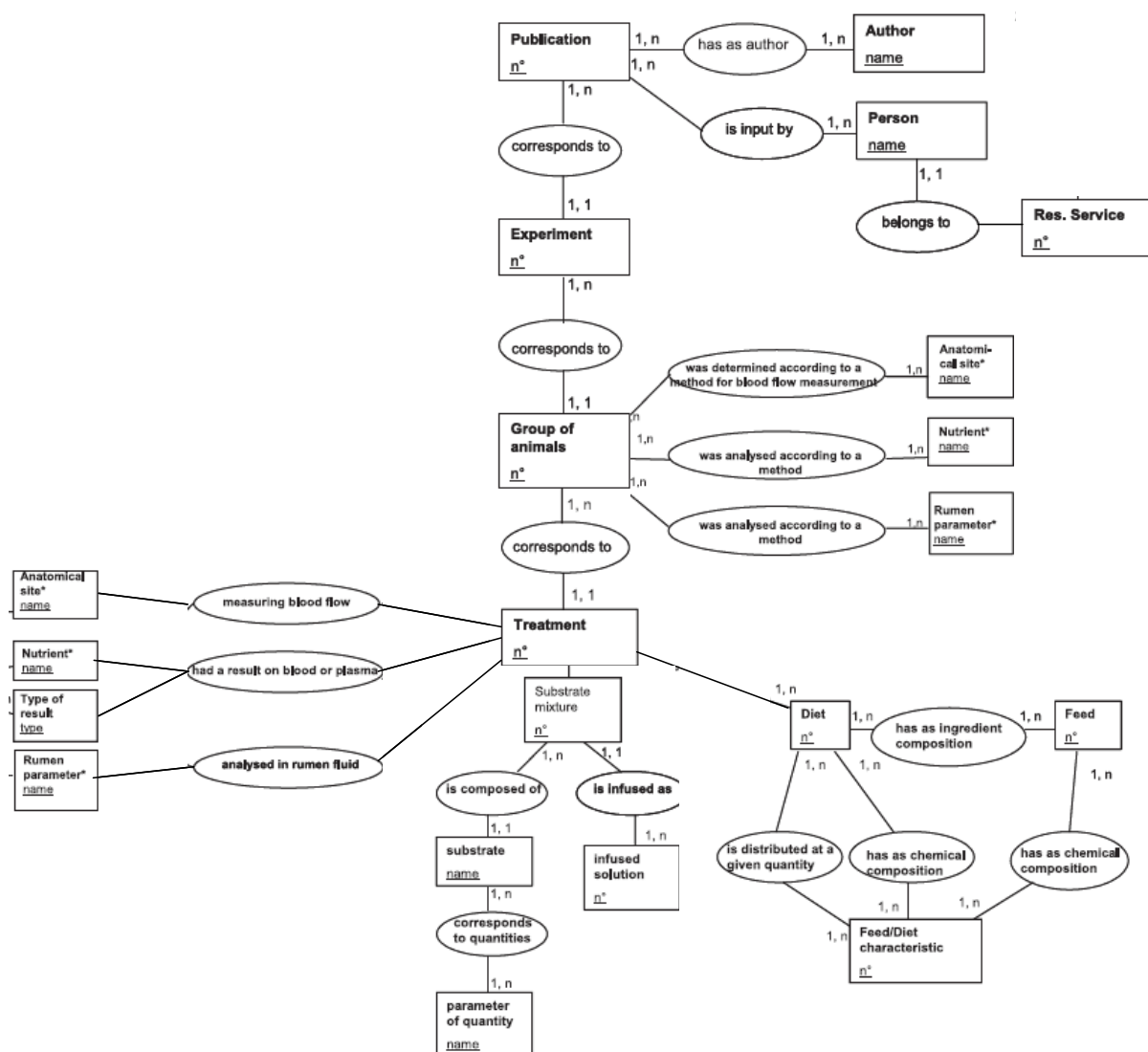


Figure 25 : Modèle conceptuel des données de FLORA (Vernet et Ortigues-Marty, 2006)

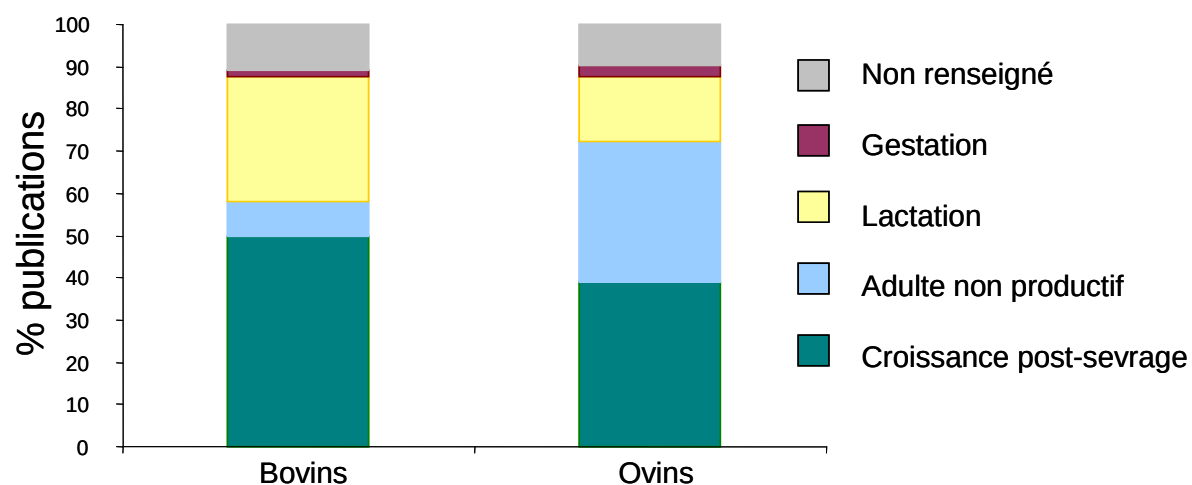


Figure 26 : répartition des animaux

3.2. Mesure des débits sanguins au niveau splanchnique

Les débits sanguins peuvent être mesurés de différentes manières, principalement par dilution (Huntington et al., 1990) ou par débitmétrie.

La dilution consiste à perfuser un marqueur non métabolisé par les tissus d'intérêt et à mesurer la concentration de ce marqueur (acide para-amino hippurique: PAH (Ortigue-Marty et al., 1994), ou vert d'indocyanine (Wester et al., 2000) au niveau afférent et efférent. Le marqueur est infusé au niveau d'une veine mésentérique et les prélèvements sont réalisés en A, VP et VSH (aval ; Isserty et Ortigue, 1994; Blouin et al., 2002).

La débitmétrie ultrasonique a prouvé sa fiabilité pour mesurer les débits de sang en VP (Rémond et al., 1998). Elle nécessite la pose chirurgicale d'une sonde ultrasonique placée autour du vaisseau dont on veut mesurer le débit (Huntington et al., 1990). Chez le ruminant, l'absence d'une A hépatique individualisée ne permet pas la pose d'une sonde débitométrique. Le débit artériel peut être estimé à partir du débit en VP (5,3% du débit porte chez le mouton ; Majdoub et al., 2003, 10% chez le bovin ; Reynolds, 2006). Vernet et al. (2005) ont montré que la contribution du débit de l'A hépatique au débit hépatique global n'était pas modifiée avec l'ingéré.

3.3. Mesure des concentrations plasmatiques ou sanguines en nutriments

La méthode d'extraction et de dosage des nutriments est fonction du nutriment considéré. Plusieurs méthodes de dosage peuvent exister pour un même nutriment. Aini, après déprotéiniser des échantillons (Annison, 1954), les AGV peuvent être extraits par la vapeur (Annison, 1954), les solvants (Madhadevan et Zieve, 1969), l'éthanol (Remesy et Demigné, 1974), la sublimation sous vide (Pethick et al., 1981 ; Reynolds et Huntington, 1988) ou par colonnes échangeuses d'ions (Reynolds et al., 1986). Cette dernière est aujourd'hui la méthode la plus couramment utilisée. Ces méthodes varient par leurs taux de récupération. Par exemple le taux de récupération est faible pour la sublimation sous vide (Pethick et al., 1981) (85 à 95%). Les AGV sont ensuite séparés et quantifiés par chromatographie en phase gazeuse. Le BHBA, et le glucose sont principalement dosés par des méthodes enzymatiques (BHBA déshydrogénase + hydrazine ; hexokinase + glucose 6 phosphate déshydrogénase ou oxypéroxydase respectivement). Le lactate peut être dosé de manière enzymatique (lactate déshydrogénase ou oxydase) ou par électrode spécifique associée à la fluorimétrie ou la spectroscopie. L'azote alpha aminé est dosé par le biais de la ninhydrine ou du TNBS.

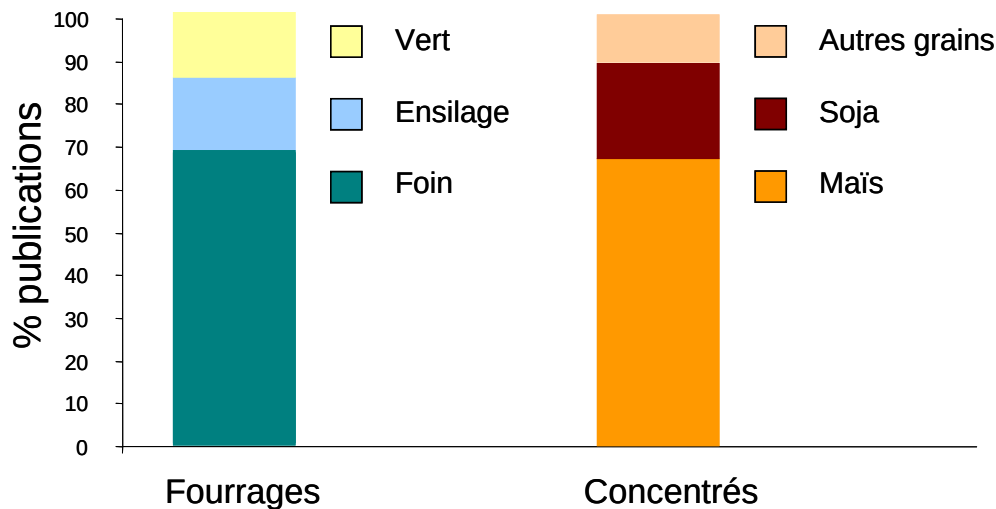


Figure 27 : Répartition des fourrages et des concentrés

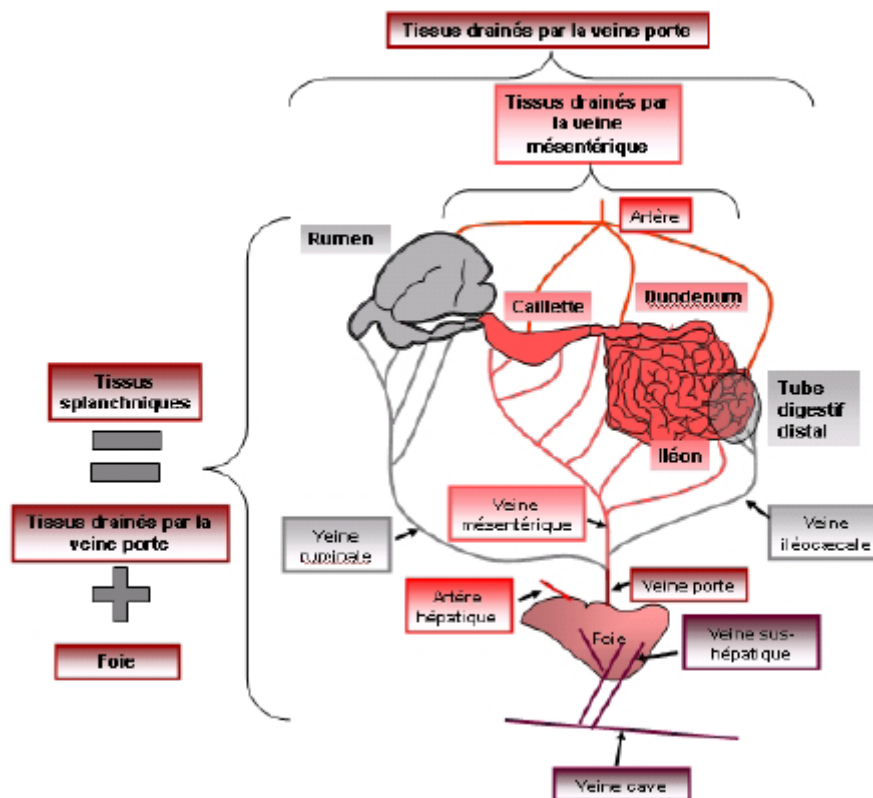


Figure 28 : Représentation schématique de la physiologie vasculaire de l'aire splanchnique chez les ruminants. (D'après Seal & Reynolds 1993).

Les tissus drainés par la veine mésentérique regroupent la caillette, le duodénum et l'iléon. Ils sont alimentés par le sang artériel et le sang efférent s'écoule dans la veine mésentérique.

Les tissus drainés par la veine porte regroupent les tissus drainés par la veine mésentérique plus le rumen et le tube digestif distal. D'autres organes, non présent sur la figure, comme le pancréas, la rate et le tissu adipeux mésentérique et omental font également partie des tissus drainés par la veine porte. Le sang efférent du rumen est drainé par la veine ruminale et le sang efférent du tube digestif distal est drainé par la veine iléocœcale. Ces vaisseaux se regroupent avec la veine mésentérique pour former la veine porte. La veine porte chez les ruminants a la particularité d'être très courte.

Enfin **les tissus splanchniques** regroupent les tissus drainés par la veine porte et le foie. Le sang afférent est artériel et le sang efférent s'écoule par les veines sus-hépatiques qui ne sont pas externalisées au niveau du foie et qui se jettent séparément dans la veine cave.

Le bilan net est obtenu par différence entre au moins deux concentrations multipliée par un débit numériquement élevé. Une précision dans les mesures de concentrations en nutriments est nécessaire afin d'obtenir des bilans les plus précis possibles.

3.4. Calcul des bilans

Les débits sanguins (D) splanchniques peuvent être calculés à partir de l'équation de Katz et Bergman (1969) :

$$D_{VP} = I \text{ (mg/min)} / (C_{VP} - C_A)$$

$$D_{VSH} = I \text{ (mg/min)} / (C_{VSH} - C_A)$$

$$D_{AH} = D_{VSH} - D_{VP}$$

Avec D_{VP} , D_{VSH} et D_{AH} : débit en veine porte, hépatique et artère (mL/min); I : taux d'infusion (mg/min) du PAH ; C_{VP} , C_A et C_{VSH} concentration en PAH dans le sang porte, artériel et sus hépatique respectivement.

Dans le cas de mesure par sonde débimétrique, ils peuvent également être estimés à partir du débit en artère selon :

$$D_{AH} = 0.0526 \times D_{VP}$$

$$D_{VSH} = D_{AH} + D_{VP}$$

Avec D_{VP} , D_{VSH} et D_{AH} : débit en veine porte, hépatique et artère (mL/min)

Le débit plasmatique est déterminé à partir de l'hématocrite par :

$$\text{Débit plasmatique} = \text{Débit sanguin} \times (1 - \text{hématocrite du vaisseau étudié})$$

Les bilans nets au sein des différents tissus sont le résultat de la différence entre le flux entrant et le flux sortant. Un bilan positif indique une apparition/production nette, alors qu'un bilan négatif indique une utilisation nette. Les flux entrants et sortants sont calculés de la manière suivante :

$$FE_{TD} = D_{VP} \times [A] \text{ nutriment}$$

$$FE_F = (D_{VP} \times [VP] \text{ nutriment}) + (D_{AH} \times [A] \text{ nutriment})$$

$$FE_{TS} = D_{VSH} \times [A] \text{ nutriment}$$

$$FS_{TD} = D_{VP} \times [VP] \text{ nutriment}$$

$$FS_F = FS_{TS} = D_{VSH} \times [VSH] \text{ nutriment}$$

$$B_{TD} = FS_{TD} - FE_{TD}$$

$$B_F = FS_F - FE_F$$

$$B_{TS} = FS_{TS} - FE_{TS}$$

Avec FE_{TD} : flux entrant du tube digestif (mmol ou g/min), FE_F : flux entrant du foie (mmol ou g/min), FE_{TS} : flux entrant du tissu splanchnique (mmol ou g/min), FS_{TD} : flux sortant du tube digestif (mmol ou g/min), FS_F : flux sortant du foie (mmol ou g/min), FS_{TS} : flux sortant du tissu splanchnique (mmol ou g/min), D_{VP} : débit en veine porte, D_{AH} : débit en artère hépatique, D_{VSH} : débit en veine sus hépatique, $[A]$: concentration artérielle du nutriment (mmol ou g/L), B_{TD} : bilan tube digestive (= apparition nette en veine porte, mmol ou g/min), B_F : bilan foie (mmol ou g/min), B_{TS} : bilan tissus splanchniques (mmol ou g/min).

Les méthodes de bilans artério-veineux permettent donc de mesurer l'utilisation ou la production nette d'un certain nombre de nutriments dans les TDVP et le foie. Cependant, un bilan ne sera fiable que si une différence de concentrations en nutriments obtenue entre la sortie et l'entrée d'un tissu est supérieure à l'incertitude associée à la mesure.

Afin de s'assurer qu'il n'y avait pas d'erreur de saisie ou de calculs, j'ai revérifié l'ensemble des résultats au niveau du foie et des tissus splanchniques (les résultats en veine porte avaient déjà été vérifiés), par le croisement des données de débit, de concentration et de flux. Certains résultats non mentionnés dans les publications ont également été ainsi rajoutés dans la base de données.

B. Caractérisation homogène de la composition chimique et valeur des aliments et des régimes

Dans les publications renseignées dans FLORA la caractérisation de la composition chimique des aliments et des rations n'est pas complète, et leur valeur énergétique n'est ni complète ni homogène. Or, le travail envisagé nécessitait d'avoir connaissance de la composition chimique des aliments pour toutes les publications utilisées dans les méta-analyses, de manière complète et homogène.

1. Choix du système INRA

Nous avons décidé de caractériser l'ensemble des régimes issus des publications de FLORA, à partir d'un même système. Le système INRA de caractérisation des aliments a été choisi. Les tables INRA des aliments (2007) présentent l'originalité et l'avantage de caractériser de nombreux fourrages et concentrés et de bénéficier des avancées récentes sur leur caractérisation chimique, ainsi que sur la digestibilité et la vitesse de digestion des constituants. Outre la caractérisation homogène et complète des régimes, cette démarche présentait aussi l'avantage d'évaluer la capacité du système INRA de valeur des aliments pour ruminants à prédire les flux de nutriments apparaissant en veine porte et émis au niveau périphérique. Elle s'inscrivait parfaitement dans la démarche actuelle d'évolution des systèmes INRA d'alimentation. Enfin, ce choix permettait de comparer les résultats obtenus pour l'ANP des nutriments avec ceux issus d'autres bases de données (Prod AGV, Nozière et al., 2007) utilisant aussi la caractérisation des aliments selon l'INRA.

La caractérisation de la composition chimique des aliments et de rations selon le système INRA a aussi été utilisée dans le calcul de la valeur énergétique des rations selon le NRC (2001), comme explicité dans la publication^o 2.

2. Sélection des aliments à partir des tables INRA

Chaque aliment mentionné dans les publications a été associé à un aliment présent dans les tables INRA 2007 pour ruminants. Le choix de l'aliment a été réalisé en plusieurs étapes.

Tout d'abord en fonction du type d'aliment. Cela a conduit souvent à plusieurs choix possibles. Par exemple, pour une publication faisant référence à un foin de dactyle, les tables INRA offrent un choix de 13 foins de dactyle différents. La sélection s'opère sur la base des autres informations de la publication. La présence ou non de conservateur, le cycle de récolte, le mode de conservation, etc. sont tout d'abord repérés.

Toutefois, ces informations sont peu rapportées dans les publications, en particulier pour les fourrages. La sélection finale se fait alors en fonction des caractéristiques chimiques. Malheureusement, la composition chimique des aliments pris individuellement n'est que rarement renseignée dans la publication, un peu plus souvent cependant lorsqu'il s'agit d'un fourrage. Le choix des aliments se fait donc de manière plus globale, en considérant la composition chimique de l'ensemble de la ration. Ainsi les aliments sont sélectionnés pour que la composition chimique de la ration estimée selon les tables INRA soit la plus proche possible de la composition chimique de la ration rapportée dans la publication.

Dans certains cas, les rations contenaient des aliments non recensés dans les tables INRA. Ce type d'aliment a donc nécessité une caractérisation particulière. Préférentiellement, la caractérisation s'opérait à partir d'un aliment du même type directement issu des tables et dont la composition chimique était proche de l'aliment en question. Par exemple dans le cas du foin de blé, absent des tables INRA, un foin de graminée a été utilisé. Si aucun aliment n'était suffisamment proche du point de vue de sa composition chimique pour représenter l'aliment, celle-ci a été estimée par combinaison de deux aliments issus des tables, permettant de se rapprocher de la composition de l'aliment en question.

3. Validation des estimations

La caractérisation des rations à partir d'un référentiel commun pouvait entraîner des biais méthodologiques, intrinsèques au choix des aliments dans les tables INRA. Nous avons donc recherché des règles de bonnes pratiques pour la caractérisation des aliments et mis en place des étapes de vérification.

La démarche de sélection des aliments s'est avérée subjective. Afin d'éviter tous biais liés à cette subjectivité, j'ai assumé seule la caractérisation des aliments. Ainsi, 1596 ont été caractérisés.

Afin de valider les estimations, les valeurs de composition chimique des rations rapportées par les auteurs (Y) ont été comparées à celle obtenues après estimation par les tables INRA (X). Un modèle GLM incluant l'effet publication a été utilisé.

Cette comparaison s'est focalisée sur la teneur en MOD, cellulose brute (CB) et matière azotée totale (MAT) qui sont les critères les plus communément rapportés dans les publications. La teneur en EM, souvent rapportée, a aussi été utilisée. Toutefois, ces valeurs étaient elles-mêmes en majorité issues d'estimation à partir des tables des aliments utilisées dans le pays et à la date d'origine de l'étude, faisant parfois appel à différentes méthodes de détermination de la teneur en EM.

Ce critère a donc été évalué en acceptant une plus grande marge d'incertitude. Afin d'utiliser les résultats d'une publication, au moins 1 de ces critères devait être rapporté.

Les estimations étaient considérées comme valides si le modèle GLM obtenu présentait une ordonnée à l'origine non significativement différente de 0, et une pente non significativement différente de 1. Cependant, les tests statistiques de pente et d'ordonnée font intervenir les écarts types, eux-mêmes dépendants des données disponibles. J'ai donc fixé une condition supplémentaire. Pour être acceptable, l'erreur résiduelle (RMSE) des modèles devait être proche des incertitudes de mesure de la composition chimique des aliments. De façon générale, les incertitudes sur la composition chimique des aliments dépendent de la méthode d'analyse considérée. Par exemple, l'incertitude de détermination de la MAT a été évaluée à partir de la reproductibilité des dosages réalisés dans 40 à 60 laboratoires différents, pour 68 échantillons d'aliments concentrés simples. Pour une teneur moyenne en MAT de 22.87 %, l'incertitude était de 2.4 % pour 75% des laboratoires (Sauvant et al.,1987). Les incertitudes sur la composition chimique sont aussi associées à la variabilité de composition chimique d'un aliment selon sa variété végétale, ses conditions culturales, climatiques, etc. Elles sont naturellement beaucoup plus élevées que l'incertitude due au dosage seul. La variabilité de composition chimique est faible dans le cas du maïs, de l'orge et du blé, qui sont les céréales les plus utilisées dans l'alimentation du bétail. Elle est plus importante dans le cas des sous-produits (sons, gluten feeds, tourteaux, pulpes d'agrumes) car les traitements technologiques varient selon la provenance des aliments. Cependant, ces aliments sont généralement utilisés en faible quantité dans les régimes des ruminants et il faudrait relativiser l'incertitude par le taux d'incorporation de ces aliments dans les régimes.

Je n'en ai pas tenu compte dans mon travail de thèse. Enfin, des incertitudes existent sur les mesures de digestibilité (MO ou énergie). A l'INRA, avec des mesures réalisées sur 6 animaux pendant 6 jours au moins, l'écart-type sur dMO ou DE est de l'ordre de 2.0 points.

Les seuils limites de RMSE ont donc été définis sur l'ensemble de ces considérations, en gardant à l'esprit qu'au niveau d'un régime les incertitudes de justesse sur un constituant pouvaient être compensées partiellement par les incertitudes sur un autre constituant.

Ces seuils sont les suivants : 2,5 g/100 g MS, 12,5 g/100 g MS ; 17,5 g/100 g MS et 1,0 MJ/kg MS respectivement pour la teneur en MOD, MAT, CB et EM des régimes sur la base des communications personnelles de M. Vermorel et D. Sauvant. Cette démarche de validation a été appliquée sur chaque jeu de données utilisé dans ce travail de thèse.

C. Caractérisation du statut nutritionnel des animaux

L'orientation du métabolisme hépatique étant partiellement dépendante de l'état nutritionnel de l'animal (ex. émission hépatique de BHBA), des critères de caractérisation de l'état nutritionnel de l'animal ont été utilisés. Deux critères ont été identifiés : l'énergie nette de production et le BE. Ils permettaient de prendre en compte le niveau d'alimentation des animaux et le niveau (éventuel) de mobilisation des réserves corporelles. Aucun de ces critères n'était renseigné dans les publications. Ils ont donc été estimés pour l'ensemble des publications utilisées dans FLORA, de manière homogène à partir du système INRA (1988).

Aucun résultat individuel n'étant rapporté dans les publications, l'état nutritionnel a été estimé pour la moyenne des animaux utilisés pour un même traitement.

1. Calcul des besoins d'entretien et de l'énergie nette de production

Les besoins d'entretien (MEm) ont été calculés en fonction du poids métabolique

⇒ des vaches laitières ou bovins en croissance ou à l'engraissement :

$$\text{MEm} = 115 \text{ kcal EM/ j / kg P}^{0.75}$$

⇒ des vaches taries ou agneaux sevrés en croissance :

$$\text{MEm} = 105 \text{ kcal EM/ j / kg P}^{0.75}$$

Aucun ajustement n'a été appliqué pour tenir compte des conditions dans lesquelles les besoins d'entretien avaient été déterminés (INRA, 1988), soit à l'attache pour les vaches laitières, soit en stabulation libre pour les agneaux. Il a été considéré que l'amélioration de la justesse serait faible.

Lorsque l'EMI (exprimée par unité de poids métabolique) était supérieure à MEm, l'EN de production ($\text{kcal EM/j/kg P}^{0.75}$) disponible dans la ration a été calculée selon la formule :

$$(\text{EMI} - \text{MEm}) \times k$$

Avec k, rendement d'utilisation de l'énergie métabolisable, spécifique à chaque niveau et/ou type de production et calculé en fonction de la métabolisabilité de la ration ($q = \text{EM} / \text{EB}$) :

⇒ Adultes non productifs, nourris à des niveaux proches de l'entretien :

$$k_m = 0,287 \times q + 0,554$$

⇒ Vaches laitières et animaux en croissance/engraissement à niveaux de production modérés :

$$k_l = 0,249 \times q + 0,463.$$

⇒ Animaux en gestation :

$$k_g = 0,13$$

2. Détermination du bilan énergétique

Le BE a ensuite été calculé à partir des besoins d'entretien (MEM), de l'EN de production (soit disponible dans la ration, soit effective et calculée d'après les performances des animaux) et des rendements k. Le BE a été exprimé en EN. Le calcul différait selon les types d'animaux et les niveaux de production (plus variés qu'en conditions réelles d'élevage en raison des contraintes expérimentales associées aux études métaboliques sur animaux catéthérisés) pour tenir compte des données disponibles.

Dans le cas des animaux adultes non productifs nourris à des niveaux inférieurs à l'entretien, où EMI (exprimée par unité de poids métabolique) était inférieure à MEM, le BE (exprimée par unité de poids métabolique) a été obtenu par :

$$\Rightarrow BE = (MEI - BE) \times km$$

Dans le cas des animaux en croissance ou en engraissement, nourris à des niveaux d'alimentation modérés mais supérieurs à l'entretien :

$$\Rightarrow BE = \text{énergie nette de production} = (MEI - BE) \times kl.$$

Dans le cas des vaches laitières et des femelles gestantes, le BE a été calculé par différence entre l'EN de production disponible dans la ration et l'énergie de production effective calculée à partir de la production laitière ou du stade de gestation :

$$\Rightarrow BE = (\text{EN disponible dans la ration}) - (\text{énergie effective des productions}),$$

Avec l'énergie effective des productions calculée de la façon suivante :

$\Rightarrow$ Production laitière (litre) corrigée à 4% de MG $\times$ 740 kcal / L de lait à 4% de MG) ; dans les cas où le taux butyreux n'était pas rapporté, il a été considéré comme étant égal à 4%.

L'EN du fœtus et des annexes a été estimée d'après les tables INRA et les caractéristiques des races d'animaux (Herd-books) pour les fœtus bovins (Holstein, 40 kg à la naissance) à 968 kcal/j ; pour les agneaux Dorset (agneau simple, 4.5 kg à la naissance) à 91 kcal/j et pour les agneaux Lacaune (agneaux doubles, 2.5 kg à la naissance) à 146 kcal/j pour les deux agneaux.

3. Validation des estimations

Les estimations de BE ont été validées par comparaison aux valeurs mesurées en chambre respiratoire et rapportées dans les publications qui étaient disponibles (5 publications sur bovins ou ovins, en croissance ou à l'engrais), selon un modèle GLM en intra-étude. L'ordonnée à l'origine de ce modèle a été non significativement différente de 0 et la pente égale à 0,93 ($\pm$ 0,05). Sur cette base, les estimations ont été considérées comme étant fiables.

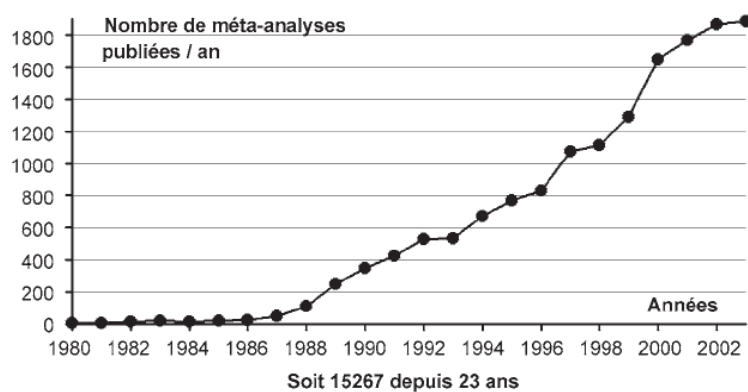


Figure 29 : Evolution de la ‘pénétration’ des méta-analyses dans les publications scientifiques (d'après Sauvart et al., 2005; source pub med)

D. Méta-analyses

Dans le but d'établir les lois de réponse des flux sanguins de nutriments aux variations d'alimentation et selon les caractéristiques des animaux, l'ensemble de ce travail de thèse s'est appuyé sur des méta-analyses mises en œuvre selon les principes développés par St Pierre (2001) et Sauviant et al. (2005, 2008). La méthode utilisée a donc été similaire pour tous les modèles développés. Elle est résumée dans chaque publication. Le principe de la méthode et ses différentes étapes sont présentés plus en détail ci-dessous et de façon générique sans citer de variable particulière. L'accent est mis sur les avancées méthodologiques en méta-analyse que j'ai proposées et mises en œuvre au cours de ma thèse.

1. Principes.

La méta-analyse est une technique statistique visant à combiner les résultats d'une série d'études indépendantes. Cette méthode, le plus souvent utilisée en médecine, n'en est qu'à ses débuts en matière de nutrition animale (Figure 29). La méta-analyse part du principe qu'une seule expérience n'est guère représentative d'effets ou de relations observés pour un problème donné (Sauviant et al., 2005). Tout d'abord, une expérience unique dépend forcément des conditions expérimentales. Sa taille peut de plus s'avérer limitée. Enfin, il est difficile de mesurer au sein d'une même expérience, l'ensemble des paramètres pertinents. C'est d'ailleurs pour cela que l'on cherche à confirmer les premiers résultats par d'autres expérimentations.

Ainsi, pour un même sujet d'étude, de nombreuses études expérimentales sont généralement réalisées et publiées par des auteurs différents. Chaque étude, toutefois, a ses spécificités.

Afin de recouper ces différents résultats, une synthèse bibliographique qualitative classique est envisageable. Cependant, une telle synthèse laisse place à la subjectivité et à un manque d'exhaustivité dans le choix des publications à rapporter.

De ce fait, les conclusions peuvent s'avérer biaisées. En particulier les conclusions quantitatives peuvent être faussées faute d'avoir utilisé les techniques statistiques appropriées.

La méta-analyse constitue une alternative intéressante. Elle consiste à rassembler les résultats quantitatifs de publications ainsi que les méta-données associées et à les réanalyser au moyen d'outils statistiques.

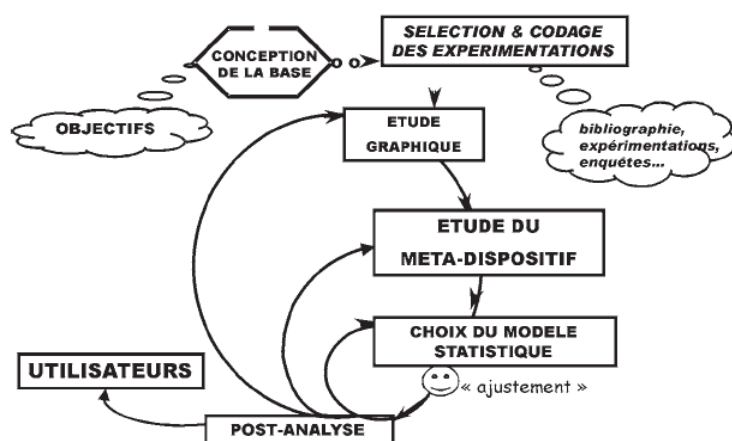


Figure 30 : Les principales étapes d'une méta-analyse (d'après Sauviant et al., 2005).

2. Les étapes d'une méta-analyse.

La réalisation d'une méta-analyse passe par plusieurs étapes (Figure 30) qui sont les suivantes :

2.1. Définition des objectifs de la méta-analyse.

La première étape d'une méta-analyse consiste à définir la question à laquelle elle doit répondre. Il s'agit ainsi de déterminer une problématique, qui va directement conditionner les étapes suivantes. Il convient pour cela de décider de la population concernée et de la ou des variables à expliquer.

2.2. Définition des critères de sélection des publications

Une étape importante consiste à optimiser la base de recueil des données en s'assurant que l'ensemble des facteurs d'études sont renseignés dans chacune des publications, tout en limitant les données rapportées par trop peu de publications. Trop de renseignements peut nuire à la clarté des données et trop peu peut entraîner un manque d'informations essentielles. Il convient donc de décider des critères indispensables à remplir pour qu'une publication soit incluse dans la future base de données.

La méta-analyse implique de rassembler de façon exhaustive toutes les études publiées cohérentes avec les objectifs du travail et remplissant les critères établis.

Ainsi, les publications doivent tout d'abord rapporter les résultats sur les critères d'étude. Avant d'intégrer une publication dans la base de données, celle-ci est soumise à une critique minutieuse du travail, afin de détecter d'éventuelles erreurs ou problèmes méthodologiques. Ainsi, chaque publication sera analysée attentivement par une ou plusieurs personnes spécialisées, et les critères d'inclusion dans la base de données seront vérifiés. Si la publication est retenue, ses données seront transférées dans la base de données.

Dans le cas de ma thèse, la majorité des données traitant des flux de nutriments dans l'aire splanchnique avait déjà été recensé dans la base de données FLORA. J'ai simplement contribué à la mise à jour de FLORA.

2.3. Sélection des publications

Pour chaque question de recherche, les publications pertinentes, par exemple présentant des résultats pour le nutriment sélectionné au niveau du vaisseau sanguin considéré (VP, VSH, A), ont été extraites de FLORA.

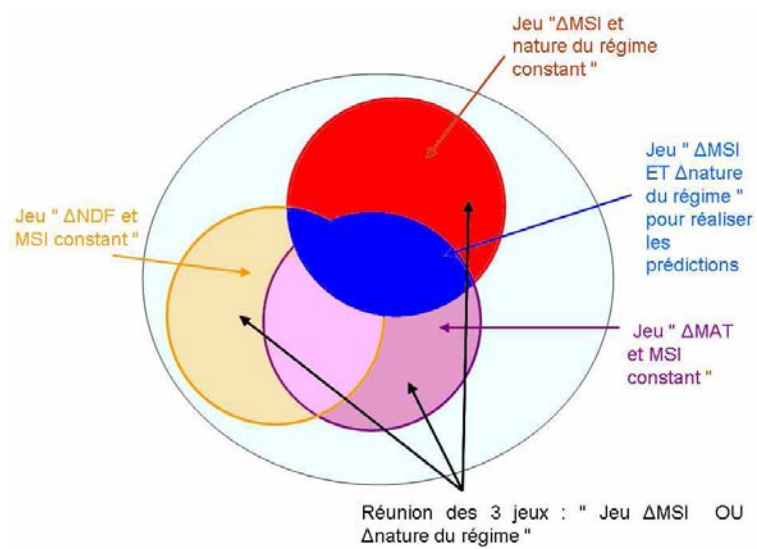


Figure 31: Exemple de la sélection d'un jeu de données après codage

La sélection a aussi porté sur les facteurs de variation d'intérêt (ex. variation de composition du régime et de NA). Les publications présentant des facteurs de variations secondaires ont donc été exclues. Ce type de sélection peut réduire considérablement le spectre des données disponibles mais est essentiel à la bonne interprétation des résultats.

Pour la majorité des questions traitées dans ma thèse, les facteurs de variations secondaires incluaient les traitements faisant appel à des infusions ou des injections (dans les veines mésentérique, jugulaire ou fémorale, dans le rumen, la caillette ou l'intestin grêle) de nutriments (composés azotés ou AGV) ou d'hormones (insuline). Les publications dont les régimes incluaient des additifs ou des substances susceptibles de modifier la digestion ou le métabolisme (insuline, ionophore, phlorizine, hormones, monensin, aliments contaminés par des toxines) ont également été exclues. De la même façon, les essais portant sur des conditions d'alimentation particulières (alimentation diurne vs. nocturne, alimentation fractionnée) n'ont pas été pris en compte. Certains de ces facteurs de variation secondaires ont été étudiés de façon spécifique, en complément des principales questions de recherche et ont alors fait l'objet d'une sélection particulière des publications.

2.4. Synthèse des principales caractéristiques des publications sélectionnées

Cette étape permet de vérifier la cohérence des méta-données et des résultats tirés des publications et d'identifier les données manquantes. Dans certains cas, certaines données manquantes peuvent être estimées à partir des autres critères présents dans les publications. Cette étape permet aussi d'identifier les études dont la méthodologie ou les conditions de mise en oeuvre diffèrent des autres publications. Même si ces études répondent aux critères pré établis de sélection, elles peuvent biaiser les résultats des modèles si leur poids est statistiquement important. Il est cependant important de conserver ces publications « hors sujet » qui peuvent contribuer à mettre en évidence des effets de facteurs de variation.

Le plus souvent, il s'agit du même facteur de variation appliqué avec des modalités différentes. Mais plusieurs facteurs de variation peuvent aussi avoir été considérés dans une même expérience, selon un schéma factoriel, tels que les quantités d'aliments ingérés et la nature du fourrage ou du concentré.

Le codage (Figure 31) a pour objectif de grouper, les traitements pertinents d'une même étude pour étudier les facteurs de variation définis selon la question. Des sous-groupes de traitements pourront donc être constitués au sein d'une publication. Les traitements d'une publication variant selon le même facteur de variation seront codés de la même façon.

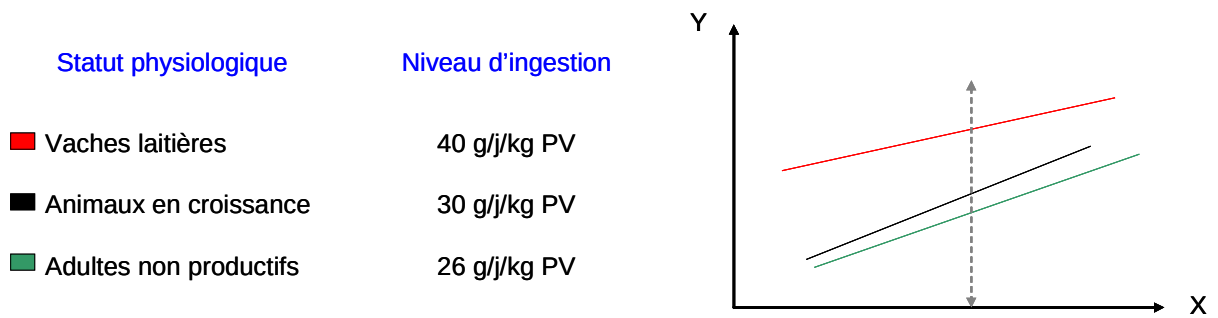


Figure 32 : Identification de facteurs de confusion potentiels dans la loi de réponse de Y en fonction de X

Ce graphique montre que pour un même X, Y est supérieur pour les vaches laitières. L'hypothèse d'un effet du statut physiologique pourra être avancée. Une analyse préalable du méta-dispositif aura pu montrer une différence de niveau d'alimentation entre vaches laitières et autres animaux. Les connaissances en physiologie serviront à interpréter s'il s'agit d'un effet strict du statut physiologique ou d'un effet du niveau d'ingestion.

L'étape de codage est nécessaire pour étudier l'effet d'une variable explicative sur une variable à expliquer. Elle permet de ne considérer que des traitements faisant varier le niveau de la variable explicative, et non pas plusieurs facteurs simultanément. Ce codage conduit à définir, au sein du même jeu de données présélectionnées des sous-groupes de données variant chacun selon des facteurs de variations différents (Figure 31).

2.5. Exploration du méta-dispositif

Dans chaque méta-analyse, il convient d'explorer minutieusement les données afin de cerner parfaitement le méta-dispositif disponible. Cette exploration est à la fois graphique et statistique. Les différentes étapes d'exploration ont été mises en œuvre de façon systématique dans chacune des méta-analyses de ce travail de thèse.

2.5.1. Visualisation graphique :

L'exploration graphique permet d'appréhender de façon globale les informations, de s'assurer de la cohérence des données, et de détecter des « valeurs aberrantes ». Les relations intra-publications entre les variables X et Y peuvent aussi être visualisées. Les histogrammes de fréquence des variables quantitatives renseignent sur la répartition des X et les plages quantitatives sur lesquelles ont porté les efforts de recherche.

2.5.2. Statistiques descriptives :

Les variables et méta-données quantitatives doivent être décrites selon des statistiques descriptives : moyenne, écart-type, minimum, maximum, quartiles, nombre de données renseignées. En ce qui concerne les variables ou méta-données qualitatives, l'étude de leurs effectifs respectifs permet de s'assurer de l'homogénéité des données disponibles entre classes ou d'en caractériser l'hétérogénéité. Des statistiques descriptives peuvent aussi être établies par classe, par exemple en fonction de l'espèce ou du statut physiologique des animaux. Des tests de comparaison de moyennes et des analyses de variance permettent de tester les différences entre sous-populations du jeu de données.

Cette étape est importante pour mettre en évidence de potentiels facteurs de confusion, en tenir compte dans la suite des analyses et leur interprétation (ex. Figure 32).

Enfin, les statistiques descriptives permettent d'identifier les publications pour lesquelles les valeurs de certaines variables quantitatives seraient supérieures ou inférieures à la moyenne ± 2 écart-types. Ces publications peuvent présenter des conditions particulières.

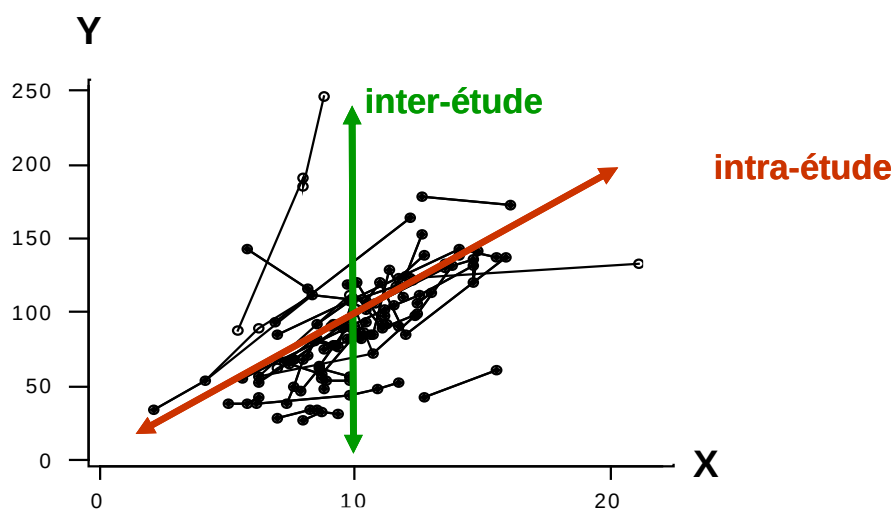


Figure 33 : Les corrélations inter et intra étude

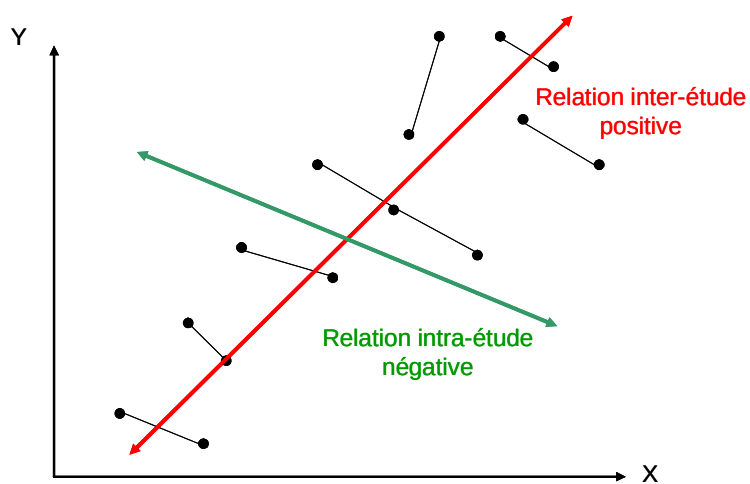


Figure 34 : exemple de relation opposée en inter et intra étude

2.5.3. Corrélations entre variables

Les corrélations entre les différentes variables du jeu de données devront être testées selon deux modalités (Figure 33). Les corrélations classiques, en inter-étude, (coefficient de Pearson) permettent de tester la liaison de 2 variables (X et Y) sans tenir compte du fait que certains traitements sont issus de la même étude. Elles renseignent sur la dispersion globale des données. Les corrélations intra-étude, quant à elles, sont testées par des modèles GLM incluant l'effet publication, et permettent de tester la liaison entre les variables en tenant compte du fait que certains résultats proviennent de la même étude. Elles s'affranchissent de la dispersion des données selon l'axe des ordonnées.

Enfin, des analyses en composantes principales permettent de mettre en évidence des corrélations entre un nombre de variables plus élevées.

2.5.4. Analyse des pentes individuelles

Pour chaque étude pré-sélectionnée, la pente individuelle (intra-étude) de Y en fonction de X doit être calculée. Elle peut être différente de la pente globale inter-étude (Figure 34). Le calcul des pentes individuelles s'effectue suite à deux analyses de variance séparées, l'une de X et l'autre de Y en prenant comme facteur de variation le facteur « étude ». Le rapport entre les résidus de l'Anova sur Y par ceux de l'Anova sur X définit les pentes individuelles. Dans le cas d'études comprenant uniquement 2 traitements, le calcul des pentes est direct et sans incertitude. Pour les études à 3 traitements ou plus, les pentes individuelles sont calculées avec une incertitude de calcul. Ces incertitudes peuvent faire l'objet d'analyse et en cas de valeur élevée, l'étude en question pourra être éliminée de l'analyse des pentes individuelles. Dès lors, l'analyse des pentes permet d'obtenir une indication sur la nature de la relation entre les variables X et Y (relation positive ou négative, linéaire ou quadratique) et de repérer éventuellement des études particulières (pente très élevée...) à retirer du modèle. On peut également tester l'influence d'autres facteurs de variations (que X) sur les pentes, grâce à des analyses de corrélations ou de variance.

Ces facteurs, quantitatifs ou qualitatifs, sont dits « interférents » sur les pentes individuelles. Si un facteur est identifié comme étant interférent sur les pentes individuelles, on devra essayer de l'introduire dans le modèle statistique, soit en remplacement de la variable X, soit associé à celle-ci. Dans tous les cas, il faudra reformuler la question de recherche puis constituer un nouveau jeu de données. Il peut également s'avérer que la variable explicative X ait, elle-même, un effet significatif sur les pentes. Dans ce cas, un modèle curvilinéaire de Y en fonction de X pourra être testé (Sauvant et al., 2005).

2.5.5. Normalité, homogénéité des variances

Enfin, avant toute utilisation des tests statistiques, et notamment des GLM, il convient de vérifier la répartition normale des données ainsi que l'homogénéité des variances. Le test de Shapiro-Wilk permet de vérifier la normalité des variables quantitatives avec une bonne puissance. Le test de Levene sert à vérifier l'hypothèse nulle d'égalité des variances.

2.6. Etablissement des équations de réponse

La sélection des publications, leur codage et l'analyse du méta-dispositif contribuent au choix des prédicteurs et à établir la loi de réponse, selon un processus heuristique.

2.6.1. Choix des prédicteurs potentiels

Le choix des prédicteurs potentiels s'effectue par étapes. Le premier critère de choix s'appuie sur l'état des connaissances sur les aliments, la digestion et le métabolisme. Dans mon travail de thèse, les prédicteurs ont été choisis prioritairement parmi les critères d'ordre alimentaire (quantités ingérées, composition chimique et digestibilité des régimes), du statut de l'animal (statut nutritionnel et physiologique) et des données métaboliques (flux afférents ou flux nets de nutriments, concentrations ou différences de concentrations sanguines...). Le choix des prédicteurs peut ensuite être modulé par l'interprétation des corrélations entre variables qui ont été mises en évidence dans l'étude du méta-dispositif. Ainsi, la corrélation entre la concentration en AGNE et le BE des animaux a conduit à tester le BE comme prédicteur du bilan hépatique du BHBA.

2.6.2. Définition de la variation minimale sur les X

Une fois les prédicteurs potentiels définis et avant établissement d'un modèle, la sélection des publications est revisitée. En effet, l'établissement d'une loi de réponse de Y à une variation de X, ne peut se faire que si X varie et si la variation de X a une signification biologique d'intérêt (et non pas par exemple méthodologique). Elle a donc pour but de ne conserver que les publications dont les variations sont suffisantes pour la variable X considérée. Cette étape permet également de vérifier que le codage des publications a été réalisé de façon adéquate. Dans le cas où aucune variation de X n'est observée entre traitements, la publication est éliminée de l'étude en cours. Elle pourra être réintroduite en cas de changement de prédicteur et donc de facteur de variation. Les histogrammes des fréquences de X (Sauvant et al., 2005) acceptables n'ont pu être appliqués ici pour identifier les variations minimales car ils conduisaient à éliminer trop de traitements.

J'ai donc établi une autre définition de la variation minimale sur X :

$$\Delta X_{\min} = \mu (\Delta X_{ij}) - | 2 \times SD \Delta X |$$

Avec $\Delta X_{ij} = |X_{\text{traitement } i} - X_{\text{traitement } j}|$ et $SD \Delta X$ = écart type de ΔX_{ij} .

J'ai aussi fixé la condition de ne pas éliminer plus de 15% des publications pré-sélectionnées.

2.6.3. Choix du modèle

Un critère essentiel dans le choix du modèle statistique porte sur le mode de prise en compte de l'effet étude. Ainsi, les modèles de régression linéaire simple devaient prendre en considération l'effet étude, sous risque de biaiser l'estimation des paramètres α et β (St Pierre, 2001).

$$Y_i = \alpha + \beta X_i + \varepsilon_i$$

Tous les modèles de méta-analyse que nous avons mise en œuvre recourent donc à une analyse intra-étude. L'effet étude peut cependant être considéré comme fixe (St Pierre, 2001) ou aléatoire (Sauvant et al., 2005). Il est considéré comme fixe si chaque étude peut être vue comme étant issue d'une population particulière. C'est le cas lorsque, par exemple, les méthodes d'études (méthodes de mesures, d'analyses biochimiques...) varient entre publications et que l'on suppose que ces méthodes conditionnent les résultats obtenus. A l'inverse, l'effet étude sera pris comme aléatoire si chaque étude peut être considérée comme un échantillon pris au hasard dans une population plus large. Compte tenu des jeux de données traités au cours de ma thèse (nombre limité de publications, différences méthodologiques, ...), l'effet étude a été considéré comme étant fixe.

Le modèle statistique de base a donc été un modèle de variance-covariance, de la forme :

$$Y_{ij} = \mu + \mu_i + \beta X_{ij} + \beta_i X_{ij} + e_{ij}$$

Avec :

- i l'indice du facteur étude	- j l'indice du numéro de traitement
- Y_{ij} la variable expliquée	- X_{ij} la variable explicative quantitative
- μ l'ordonnée générale fixe à l'origine	- μ_i effet fixe de l'étude i sur l'ordonnée à l'origine
- β coefficient général fixe de régression	- β_i effet fixe de l'étude i sur la pente
- e_{ij} erreur résiduelle aléatoire	

Le terme $(Y_{ij} - e_{ij})$ désigne la part expliquée par le modèle, effet publication inclus. On parle de valeurs ajustées du modèle, c'est-à-dire la part de variance strictement expliquée par le modèle, erreur exclue. Lorsque β_i est nulle, la partie $(Y_{ij} - \mu_i - e_{ij})$ représente la part expliquée par le modèle sans l'effet publication, on parle alors de valeurs estimées.

Au sein d'une étude les animaux sont souvent les mêmes. Lorsque le statut de l'animal a été identifié comme étant interférent sur les pentes et/ou les ordonnées à l'origine, un modèle hiérarchique peut être utilisé pour définir une relation par sous-classes (espèce animale, stade physiologique,...) :

$$Y_{ij} = \mu + \mu_i (Z_i) + Z_i + \beta X_{ij} + Z_i X_{ij} + e_{ij}$$

Avec :

- i l'indice du facteur étude
- j l'indice du numéro de traitement
- Y_{ij} la variable expliquée
- X_{ij} la variable explicative quantitative
- μ l'ordonnée générale fixe à l'origine
- μ_i effet fixe de l'étude i sur l'ordonnée à l'origine
- β coefficient général fixe de régression
- Z_i effet de la caractéristique z de l'étude i
- e_{ij} erreur résiduelle aléatoire

Pour l'ensemble de ma thèse, ce type de modèle a été utilisé très fréquemment. Il a permis de tester l'effet de l'espèce animale et du statut physiologique des animaux.

2.7. Recherche de facteurs interférents

Malgré la démarche minutieuse suivie avant de tester des modèles de variance-covariance, une hétérogénéité de réponse peut subsister. Il convient donc de vérifier la stabilité du modèle. L'influence de facteurs de variations secondaires sera testée sur chacun des paramètres du modèle et l'introduction dans le modèle de ces facteurs de variations additionnels sera testée (à condition qu'ils ne soient pas corrélés à la variable X identifiée). L'amélioration du modèle peut être évaluée par l'augmentation du R^2 et la diminution du RMSE mais aussi par d'autres critères, plus implicites. Ainsi, la réduction des écarts types associés aux coefficients suggèrent que la prédiction sera plus précise. D'autre part, la diminution du nombre d'αi significatifs témoigne de l'augmentation de l'explication de la variance non associée aux effets publications.

2.7.1. Facteurs interférents sur les pentes individuelles

Comme indiqué précédemment, l'introduction dans le modèle des facteurs interférents sur les pentes individuelles pourra être testée.

2.7.2. Facteurs interférents sur les LSMeans

Dans toutes les analyses GLM, nous avons testé si l'étude avait un effet significatif (α_i) sur l'ordonnée à l'origine du modèle, autrement dit, si certaines études présentent des valeurs moyennes de Y significativement plus élevées ou plus faibles que la moyenne générale.

Si l'effet est significatif, ceci implique qu'aucune loi prédictive générale ne peut être établie car la variable Y dépend du facteur étude. Il faut alors rechercher les facteurs de variation de l'effet étude sur l'ordonnée à l'origine. Il peut s'agir de facteurs quantitatifs (composition chimique du régime, NA...) ou qualitatifs (stade physiologique des animaux, espèce, méthode de dosage...).

Les ordonnées à l'origine ($\alpha + \alpha_i$) présentent l'inconvénient de se situer souvent en dehors de la plage de validité des modèles. Pour y palier, on calcule généralement la moyenne ajustée (**LSMeans**) pour chaque étude. Elle correspond à la projection de la pente intra-étude sur la moyenne de X (sous le logiciel SAS) ou sur l'axe des ordonnées (sur le logiciel Minitab).

Tout comme pour les pentes individuelles, si un facteur interférent sur les LSMeans est mis en évidence, son inclusion dans le modèle en tant que deuxième covariable est testée. Comme le facteur interférent est lié aux α_i , il peut éventuellement être inclus dans le modèle en remplacement des termes α_i , l'effet étude n'étant alors plus pris en compte dans le modèle.

2.7.3. Facteurs interférents sur les résidus

Les résidus du modèle, calculés par différence entre les valeurs prédites et les valeurs observées, sont aussi étudiés. Une corrélation entre les résidus et une autre variable indique que la part de variance non expliquée par le modèle est liée à un autre facteur de variation. Son inclusion dans le modèle est alors testée.

2.7.4. Inclusion des facteurs interférents

La décision d'inclure les facteurs interférents dans le modèle, peut conduire à reformuler la question de recherche initiale et constituer un nouveau jeu de données, avec un nouveau codage. L'analyse des facteurs interférents est donc une étape extrêmement importante de la méta-analyse. Elle permet de déterminer les autres facteurs de variation d'Y, en complément de la première force motrice identifiée. La décision d'inclure ou non un facteur interférent dans un modèle dépend des objectifs et de la stratégie de recherche. Il se peut que l'inclusion du facteur interférent, bien que significative, n'améliore pas sensiblement le modèle, ou le rende trop difficile à appliquer, si ce facteur est difficile à déterminer. Par exemple, si l'insulinémie améliore la prédiction d'une variable Y, son inclusion dans un modèle de recherche peut être pertinente, mais pas dans un modèle utilisable en rationnement.

Cette démarche de retour en arrière, à chaque étape et en particulier pour la recherche et l'inclusion de facteurs interférents laisse à l'opérateur son libre arbitre. Elle est communément appelée démarche heuristique.

2.7.5. La sélection du meilleur modèle

Lorsque plusieurs modèles de prédiction ont été établis pour une même variable Y, le meilleur modèle est sélectionné sur la base de plusieurs critères, statistiques et pratiques.

D'un point de vue statistique, le modèle le plus précis présente le RMSE le plus faible et le R^2 ajusté le plus élevé. Le modèle le plus stable est celui qui présente le moins de facteurs interférents. Enfin, l'écart type de la pente rapporté à la valeur de la pente doit être aussi faible que possible. Ce critère présente l'intérêt d'être indépendant du nombre de données, contrairement au R^2 .

D'un point de vue pratique, il est important que le critère de prédiction retenu soit cohérent quantitativement avec les connaissances en physiologie. Pour ce travail, je me suis aussi assurée que le critère de prédiction était facile à déterminer et suffisamment générique pour être introduit, à terme, dans les pratiques de rationnement.

2.8. Les post analyses

Des démarches post-analytiques ont été appliquées après établissement du modèle statistique (Sauvant et al., 2005), pour détecter les valeurs influentes (outliers)

2.8.1. Les résidus studentisés du modèle

Les données influentes sur les variables explicatives ont été recherchées par calcul de résidus studentisés. Statistiquement, un résidu exclu de l'intervalle $[-2 ; 2]$ identifie une donnée influente. Elle peut être due à la mesure elle-même, ou aux conditions expérimentales. Dans notre travail, le nombre de publications disponibles étant parfois limité, le poids de chaque publication peut se révéler important. Nous avons décidé de revoir le seuil de tolérance à la hausse. Nous l'avons fixé à 3.

La répartition des résidus doit suivre une loi normale ce qui peut être vérifié par le test de Shapiro-Wilk testant l'hypothèse nulle de normalité des résidus, ou via la droite de Henry.

2.8.2. Les effets de levier

Le calcul de l'effet de levier [$h_i = 1/n + (X_i - \bar{X})^2 / \sum (X_i - \bar{X})^2$] permet de détecter la présence de valeurs influentes sur la variable explicative X, et pouvant avoir un fort impact sur le modèle. Dans le cas d'une seule variable explicative, l'effet levier est fonction de l'écart entre la valeur de X et la moyenne de X. Plus une valeur possède un écart relatif à la moyenne de X important, plus elle aura de poids dans la détermination des paramètres du modèle.

Il est souvent intéressant d'analyser les valeurs d'effet levier excédant la valeur $3(p + 1) / n$, avec p le nombre de variables explicatives et n le nombre d'observations.

Toutes les situations où les valeurs de X sont éloignées de la moyenne générale, sans pour autant être statistiquement aberrantes, doivent être examinées avec attention. La décision de conserver ces données peut être prise, à condition de pouvoir expliquer les raisons de cette dispersion.

2.8.3. La détermination de l'influence ou distances de Cook

L'influence est évaluée par les distances de Cook de chaque observation. Bien qu'un seuil limite statistique puisse être fixé, comme étant le 50^{ème} percentile de la loi de Fisher-Snedecor $F(p, n - p)$, une observation est souvent considérée comme influente lorsque sa distance de Cook se démarque de celles des autres observations.

Ainsi, les traitements trop influents dans la détermination des paramètres du modèle statistique peuvent être mis en évidence, puis éventuellement retirés du modèle. L'impact de leur élimination sur le modèle doit alors être testé.

2.9. Evaluation du modèle obtenu

2.9.1. Evaluation statistique

Tout modèle doit être évalué. En toute rigueur, un modèle doit être validé sur un jeu externe de données. Dans notre cas, cette validation, dite externe, n'a pas vraiment été réalisable dans la mesure où l'ensemble des données publiées a été utilisé pour générer les modèles. La méthode de cross validation (Garcia et Agabriel, 2008) n'a pas pu être appliquée, car il n'était pas possible de faire suffisamment de sous-groupes de données. Nous avons donc vérifié uniquement l'absence de biais systématique des modèles. Ainsi, sur des jeux de données incluant à la fois les données ayant servi à construire les modèles et les outliers, les variables Y ont été prédites à partir de nos modèles.

Des analyses GLM incluant l'effet publication ont ensuite été réalisées afin de comparer les valeurs de Y observées (Y_{obs} , en variable expliquée) aux valeurs de Y prédites (Y_{pred} , en variable explicative).

L'absence de biais était établie si l'ordonnée à l'origine de cette analyse GLM était non différente de 0 et si la pente était non significativement différente de 1, et si le RMSE n'était pas trop élevé.

2.9.2. Cohérence quantitative

Dans un deuxième temps, les modèles ont été évalués sur la base de leur cohérence quantitative entre eux et par comparaison à d'autres modèles. Pour les modèles d'ANP des nutriments, il a ainsi été vérifié que la somme des flux prédits était quantitativement cohérente avec l'EM ingérée par les animaux. La cohérence des modèles de prédiction de l'ANP des AGV a été évaluée par comparaison avec d'autres modèles développés à partir de bases de données différentes (ProdAGV, Nozière et al., 2007), mais utilisant les mêmes principes de caractérisation des aliments.

2.9.3. Première évaluation sur données externes

Des résultats de flux splanchniques de nutriments ont été obtenus sur agneaux cathétérisés dans le cadre de la thèse de G. Kraft (2009). Ces résultats ont été mis à ma disposition pour initier une évaluation externe de mes modèles. Les conclusions de cette ébauche de validation sont présentées uniquement en discussion générale.

E. Stratégie de travail

La stratégie générale de mon travail de thèse était d'établir des modèles de prédiction de l'ANP et de l'émission splanchnique de nutriments à partir des variations du régime et des caractéristiques des animaux. Ce sont donc des critères alimentaires qui ont été recherchés comme prédicteurs principaux. Pour la prédiction de l'émission splanchnique de nutriments, j'ai aussi recherché les relations entre l'émission (ou le prélèvement) nette hépatique de nutriments et leur fourniture au foie. La combinaison des modèles d'ANP et de flux nets hépatiques a alors permis d'établir les modèles de prédiction de l'émission splanchnique de nutriments. A ce stade, mes efforts ont porté sur la recherche de critères de prédiction intégratifs, comme cela est décrit dans mes différentes publications.

Résultats

A. Prédiction de l'apparition portale des nutriments énergétiques

La quantité et la nature des produits terminaux de la digestion disponibles pour l'absorption par le tube digestif, ou l'ensemble des nutriments mis à disposition des tissus de l'organisme dépend de la digestion ruminale et intestinale. Les modèles de prédiction de l'apparition nette portale de nutriments énergétiques doivent s'appuyer sur ces connaissances.

On compte aujourd'hui un grand nombre de modèles de digestion ruminale (Murphy et al., 1982; Murphy, 1984 ; Baldwin et al., 1987; Dijkstra et al., 1992 ; Neal et al., 1992; Bannink et al., 1997 ; Bannink et al., 2006; Offner et Sauvant, 2004). Ces modèles, ont évolué conjointement à l'accumulation de données expérimentales et au développement de l'informatique. Ils ont pour principal objectif de prédire les variations des flux de produits terminaux de la digestion dans le rumen. Ces modèles diffèrent par le nombre de variables considérées (entre 7 et 23). Ils représentent tous la dégradation des substrats de façon relativement similaire. Ils distinguent pour chaque nutriment une fraction potentiellement digestible (soluble ou insoluble) et une fraction indigestible, dont les méthodes d'estimation sont parfois différentes, notamment dans le cas des fibres. Une des limites à l'utilisation de ces modèles est la prise en compte de certaines entités chimiques, qui ne sont pas directement disponibles en routine (Bateman et al., 2005). De plus, ces systèmes ne sont pas réellement capables de prédire avec de bonnes précisions la quantité et la nature des produits terminaux de la digestion disponibles pour absorption à travers le tube digestif, notamment parce que les paramètres stœchiométriques sont difficiles à évaluer (Friggens et al., 1998; Nozière et al., 2009).

Plus récemment, une stratégie de modélisation empirique (Nozière et al., 2007) a montré qu'il était possible de prédire les quantités d'AGV totaux et individuels produits dans le rumen. Ces prédictions ont l'inconvénient de ne s'appliquer qu'à un domaine de validité réduit. Elles ont l'avantage majeur de produire des résultats quantitatifs fiables.

D'autres modèles de digestion ont été établis, notamment pour modéliser les phénomènes de digestion intestinale. Offner et Sauvant (2004) ont ainsi mis en place un modèle intégrant la digestion ruminale mais aussi intestinale de l'amidon. Plus récemment, Bannink et al. (2009) ont proposé un modèle de digestion ruminale de l'amidon chez la vache laitière.

Cependant, en ce qui concerne l'apparition des nutriments en veine porte, peu de modèles sont actuellement disponibles. Le principal effort de représentation du métabolisme des AGV par les tissus drainés par la veine porte est le modèle mécaniste de Bannink et al. (2008).

Ce modèle tient compte des deux voies d'absorption des AGV à travers l'épithélium

ruminal, à savoir la diffusion passive ou le transport facilité. Cependant, le modèle ne tient compte que d'une petite fraction (45%) des proportions molaires d'AGV.

Néanmoins, les modèles existants ne permettent pas de prédire quantitativement tous les nutriments apparaissant en veine porte. Il apparaît clair aujourd'hui que le développement conjoint des modèles empiriques et des modèles mécanistes à compartiments est prometteur pour progresser et relever les défis actuels (Martin et Sauvant., 2007).

La première partie de mon travail de thèse a ainsi consisté à établir des modèles de prédiction de l'apparition nette en veine porte (ANP) de l'ensemble des nutriments énergétiques (AGV totaux, profil en AGV, glucose, β -hydroxybutyrate, L-lactate et azote- α -aminé). Nous avons pour cela recherché les meilleurs prédicteurs parmi les critères de caractérisation des aliments du système INRA (2007) pour ruminants. Nous nous sommes attachés à mettre en évidence des critères facilement mesurables et suffisamment génériques pour pouvoir intégrés, à terme, dans les pratiques de rationnement.

Pour caller la démarche, il a été choisi dans un premier temps de modéliser l'ANP du glucose. En effet, les travaux d'Offner et Sauvant (2004) avaient montré qu'il était possible à partir des critères INRA de prédire la part d'AMNdR. Ce travail a donné lieu à une communication orale au congrès international ISEP (International Symposium on Energy and Protein Metabolism) à Vichy en 2007, dont le texte est repris en annexe (*Communication n°4*).

Dans un deuxième temps, nous avons appliqué une démarche similaire pour développer des modèles de prédiction de l'ANP des AGV totaux, du profil en AGV, du glucose, β -hydroxybutyrate et du L-lactate, à partir de critères issus du système INRA de caractérisation des aliments pour ruminants. Ce travail a fait l'objet d'une publication scientifique de rang A, qui a été publiée dans J. Anim. Sci. et constitue la première partie des résultats présentés ici (*Publication n°1*).

Afin de prédire l'ensemble des nutriments énergétiques apparaissant en veine, il était nécessaire de prendre en compte les nutriments azotés à part entière. L'azote-alpha-aminé a été considéré car faisant l'objet d'un nombre conséquent de données publiées. L'ANP d'acides aminés individuels est en cours d'analyse par l'équipe d'Hélène Lapierre (Agro and Agri Food, Canada) dans le contexte de la collaboration sur la base FLORA et ne fait pas partie de ce travail de thèse. Un modèle de prédiction de l'ANP de l'azote alpha aminé à partir des PDI a donc été développé (*Communication n°1*). Il a donné lieu à un poster au congrès Rencontre autour des Recherches sur les Ruminants, à Paris en 2008.

Il était aussi nécessaire de prendre en compte les pertes d'énergie associées à l'oxydation

des nutriments, communément évaluée d'après la consommation d'oxygène des tissus digestifs. La prédiction de la consommation d'oxygène par les tissus drainés par la veine porte (*Communication n°2*) a été réalisée lors du stage de Master 2 (Statistiques et traitement des données, Université Blaise Pascal, Clermont Ferrand) de Sylvie Amblard, que j'ai encadrée. Ce stage s'est étalé de mars à septembre 2008. Il a permis de proposer une communication qui a été acceptée sous forme de poster au congrès organisé par l'ASAS ADSA CSAS (Joint Annual Meeting) qui s'est tenu en 2009 à Montréal.

Enfin, dans le but de réaliser une évaluation quantitative des différents modèles établis et de s'assurer qu'il était possible de faire évoluer le concept d'Energie Métabolisable vers la notion de Nutriments, nous avons cherché à évaluer la cohérence quantitative entre le concept de Nutriments Absorbés (la somme des nutriments énergétiques apparaissant en veine porte et oxydés par les tissus drainés par la veine porte) et l'Energie Métabolisable. Ce travail a fait l'objet d'une communication orale au 7e Workshop International: Modelling Nutrient Digestion and Utilization in Farm Animals, qui s'est tenu à Paris (2009) et qui est présenté en *Communication n°3*.

Ces différentes étapes ont donc permis de mettre en évidence qu'il était possible de prédire de manière satisfaisante la quantité et la nature des nutriments énergétiques apparaissant en veine porte à partir des critères issus du système INRA. L'évolution et le rayonnement international du système américain d'évaluation des aliments pour ruminants nous a conduit à réaliser le même travail de prédiction de l'ANP des nutriments à partir des critères de caractérisation des aliments issus du NRC (National Research Council, 2001). Ceci a permis dans un premier temps de vérifier si les modèles de prédiction obtenus à partir des critères INRA pouvaient être améliorés par l'emploi de critères issus d'autres systèmes, en particulier celui du NRC. D'autre part, ce travail a permis de comparer la capacité des systèmes INRA et NRC d'évaluation des aliments à prédire les flux de nutriments apparaissant en veine porte. Compte tenu du temps disponible pour ma thèse, seuls les modèles d'ANP des AGV ont été établis (*Publication n°2*, en cours de correction).

Publication n°1 :

*Prédiction empirique de l'apparition nette en veine porte
des acides gras volatils, du glucose et de leurs métabolites secondaires
(β -hydroxybutyrate, lactate) à partir des caractéristiques de l'alimentation
chez les ruminants : approche par méta-analyse*

C. Loncke, I. Ortigues-Marty, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant and P. Nozière

Cet article a fait l'objet d'une publication dans *Journal of Animal Science* 87: 253-268.

Résumé:

L'évolution actuelle des systèmes d'alimentation énergétique pour les ruminants vers un système basé sur les nutriments exige de caractériser l'énergie apportée par l'alimentation en termes de quantité et de nature des nutriments absorbés. L'objectif de cette étude était d'établir des équations de réponse de l'apparition nette portale (ANP) des AGV et du glucose ainsi que de leur métabolites secondaires β -hydroxybutyrate (BHBA) et lactate, aux variations du niveau d'alimentation et des caractéristiques chimiques des rations basées sur des critères de caractérisation des aliments issus du système INRA d'évaluation des aliments pour ruminants. Des techniques de méta-analyse ont été appliquées sur les données de la base FLORA qui est une compilation exhaustive des publications internationales traitant des flux nets splanchniques de nutriments chez les ruminants multi-cathétérisés. Pour chaque nutriment plusieurs variables prédictives ont été testées. Nous avons obtenu des modèles robustes pour des quantités ingérées allant jusqu'à 30 g MS/j/kg PV et des rations comprenant moins de 70 g de concentrés/100 g MS. Ces modèles ont permis de prédire l'ANP (mmol/h/kg PV) des AGV totaux à partir des quantités de matière organique fermentescible dans le rumen (MOF) ingérées [R^2 ajusté (R^2 adj) = 0,95; erreur résiduelle du modèle (RMSE) = 0,24], de prédire le profil en AGV (mol/100 mol AGV totaux) à partir de la nature de la MOF ingérée (acétate : R^2 adj = 0,85; RMSE = 2,2; propionate : R^2 adj = 0,76, RMSE = 2,2; butyrate : R^2 adj = 0,76 ; RMSE = 1,09), et de prédire l'ANP (mmol/h/kg PV) de glucose à partir des quantités d'amidon digéré dans l'intestin grêle indépendamment de l'espèce, et avec des modèles ne présentant pas de facteurs interférents sur les pentes individuelles.

Le modèle permettant de prédire l'ANP (mmol/h/kg PV) de BHBA à partir des quantités de MOF ingérées (R^2 adj = 0,91; RMSE = 0,036) était dépendant de l'espèce, et le modèle prédisant l'ANP (mmol/h/kg PV) du lactate à partir de l'amidon digéré dans le rumen (R^2 adj = 0,77; RMSE = 0,042) présentait une large dispersion. Cependant, l'ANP (mmol/h/kg PV) de BHBA était reliée à l'ANP de butyrate (R^2 adj = 0,85; RMSE = 0,054) et d'acétate (R^2 adj = 0,85; RMSE = 0,052), et l'ANP (mmol/h/kg PV) du lactate était reliée à l'ANP du propionate (R^2 adj = 0,51; RMSE = 0,096). Cette étude a montré qu'il était possible de prédire de manière satisfaisante la quantité et la nature des flux de nutriments à partir des caractéristiques des rations chez les moutons et les bovins. Ce travail a pour ambition de quantifier les conséquences de la digestion et du métabolisme des tissus drainés par la veine porte sur la disponibilité des nutriments. Ces résultats peuvent augmenter les connaissances sur les processus biologiques et participer au développement de nouveaux outils de formulation des rations.

Empirical prediction of net portal appearance of volatile fatty acids, glucose, and their secondary metabolites (beta-hydroxybutyrate, lactate) from dietary characteristics in ruminants: a meta-analyses approach¹

C. Loncke, * I. Ortigues-Marty, * J. Vernet, * H. Lapierre, † D. Sauvant, § P. Nozière, *²

* Institut National de la Recherche Agronomique, UR 1213, Unité de Recherches sur les Herbivores, Theix, 63122 St Genès Champanelle, France

† Dairy and Swine Research and Development Centre, Agriculture and Agri-Food Canada, Sherbrooke, Quebec J1M1Z3, Canada

§ UMR 791, Physiologie de la Nutrition et Alimentation, INRA-AgroParisTech, 75231 Paris, France

¹The authors wish to thank INZO and LIMAGRAIN as well as the *Association Nationale de la Recherche Technique* for funding this project.

²Corresponding author: noziere@clermont.inra.fr

The current trend in energy feeding systems for ruminants toward a nutrient-based system requires dietary energy supply to be determined in terms of amount and nature of absorbed energy-yielding nutrients. The objective of this study was to establish response equations on the net portal appearance (NPA) of VFA and glucose, and their secondary metabolites β -hydroxybutyrate (BHBA) and lactate, to changes in intake level and chemical dietary characteristics based on the Institut National de la Recherche Agronomique Feed Evaluation System for Ruminants. Meta-analyses were applied on published data compiled from the FLORA database, which pools the results on net splanchnic nutrient fluxes in multi-catheterized ruminants from international publications. For each nutrient, several prediction variables were tested. We obtained robust models for intakes up to 30 g of DM·d⁻¹·kg of BW⁻¹ and diets containing less than 70 g of concentrate per 100 g of DM. These models were designed to predict the NPA (mmol·h⁻¹·kg of BW⁻¹) of total VFA based on the amount of ruminally fermented OM (RfOM) intake [adjusted R² (R² adj) = 0.95; residual means square errors (RMSE) = 0.24], to predict VFA profile (mol/100 mol of total VFA) based on type of RfOM intake (acetate: R² adj = 0.85, RMSE = 2.2; propionate: R² adj = 0.76, RMSE = 2.2; butyrate: R² adj = 0.76, RMSE = 1.09), and to predict the NPA (mmol·h⁻¹·kg of BW⁻¹) of glucose based on the starch digested in the small intestine independent of ruminant species, and while presenting no interfering factors on the residuals and individual slopes. The model predicting the NPA (mmol·h⁻¹·kg of BW⁻¹) of BHBA based on the amount of RfOM intake (R² adj = 0.91; RMSE = 0.036) was species-dependent, and the model predicting NPA (mmol·h⁻¹·kg of BW⁻¹) of lactate based on starch digested in the rumen (R² adj = 0.77; RMSE = 0.042) presented a wide dispersion.

However, the NPA ($\text{mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg of BW}^{-1}$) of BHBA was related to the NPA of both butyrate ($R^2 \text{ adj} = 0.85$; $\text{RMSE} = 0.054$) and acetate ($R^2 \text{ adj} = 0.85$; $\text{RMSE} = 0.052$), and the NPA ($\text{mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg of BW}^{-1}$) of lactate was related to the NPA of propionate ($R^2 \text{ adj} = 0.51$; $\text{RMSE} = 0.096$). This research showed that it is possible to accurately predict the amount and nature of absorbed nutrient fluxes based on dietary characteristics in both sheep and cattle. This work aims to quantify the consequences of digestion and portal-drained viscera metabolism on nutrient availability. These results can provide deeper insight into biological processes and help develop improved tools for dietary formulation.

Key words: diet composition, energy, intake level, meta-analyses, portal-drained viscera, ruminant

INTRODUCTION

The feeding systems developed for ruminants were designed to adjust feed allowances to fit the production potential of the animals (Vermorel and Coulon, 1998). Major progress has been made in feed characterization for predicting ME intake, but energy is still evaluated as an aggregated unit. The new challenges of ruminant nutrition require that feed evaluation systems evolve toward more precise and mechanistic nutrient-based systems (Reynolds, 2000). Improvements to diet formulation depend on our capacity to predict the amount and the nature of the nutrients absorbed by the portal-drained viscera (**PDV**; Dijkstra et al., 2007). Bermingham et al. (2008) used meta-analyses to quantify the incremental responses of the net portal appearance (**NPA**) of energy-yielding nutrients to increases in DMI and digestible OM (**dOM**) intake at fixed diet composition, but the prediction of nutrient absorption after a change in diet composition was not addressed. The objectives of the present work were to compare several descriptors of ruminant diets for their ability to predict the NPA responses of nutrients derived from digestion (i.e., VFA and glucose) or from gut metabolism [i.e., β -hydroxybutyrate (**BHBA**) and lactate]. The response equations to changes in both intake and diet composition were established by meta-analyses run on published results using the best descriptors. It was assumed that the relevant predictors differed depending on the nature of the energy substrate, its digestibility, and site of digestion. The newly revised Institut National de la Recherche Agronomique (**INRA**) Feed Tables (INRA, 2007) were used for detailed feed and diet descriptions. They include all recent advances in feed characterization for a wide range of forages and concentrates.

MATERIALS AND METHODS

Animal Care and Use Committee approval was not obtained for this study because the data were obtained from an existing database (FLORA; Vernet and Ortigues- Marty, 2006).

Selection of Publications from the FLORA Database

The FLORA database was used. It is an exhaustive base from approximately 200 international publications reporting results of net splanchnic nutrient fluxes in multi-catheterized ruminants. The Scopus and Current Contents Connect online bibliographic databases were queried. The structure of FLORA has been described in detail by Vernet and Ortigues-Marty (2006). Animals were identified according to species (sheep, cattle) and physiological status (nonproductive adult, growing, gestating, or lactating animals). Chemical composition and calculated nutritional value of feeds and diets, plus catheter location, blood sampling, metabolite analyses methods, and results for blood or plasma flows, metabolite concentrations, and fluxes were entered into the FLORA database after systematic verification steps. In the present study, only a limited number of publications reported results for each target nutrient after a dietary treatment. There were 29, 55, 38, and 29 publications for total VFA, glucose, lactate, and BHBA, respectively. These publications were selected as being relevant to studying the response of nutrient NPA to changes in dietary intake and composition.

Description and Calculation of the Nutritional Values of Diets

Publications featuring net splanchnic nutrient fluxes in ruminants do not systematically report the chemical composition and nutritional value of feeds and diets, making it necessary to produce a consistent description of the chemical composition and nutritional values of the feeds and diets used in all relevant published reports. We chose to describe all feeds according to the INRA Feed Tables (INRA, 2007), which give detailed chemical composition and nutritional values for about 160 concentrates and 1,260 forages. After selection of the most representative feed ingredients, the estimated chemical composition and nutritional values of the diets were calculated assuming additivity. The estimated values were validated by comparison with the values reported by the authors. Comparisons focused primarily on OM digestibility, ME and CP concentrations, and subsequently on crude fiber concentrations in DM, which were reported in 18, 45, 60, and 15% of the selected publications, respectively. If a publication did not report at least one of these criteria, it was excluded from the models.

Differences between the estimated values and those reported by the authors were analyzed by GLM analyses including a publication fixed effect. If the difference was greater than the measurement uncertainties for OM digestibility (± 2.5 g/100 g), ME concentration (± 1.0 MJ/kg or DM), or CP concentration (± 12.5 g/kg of DM), then the publication was excluded from the models. If the difference was greater than the measurement uncertainty for crude fiber concentration (± 17.5 g/kg of DM), then the publication was only excluded from the models if it was subsequently identified as an outlier.

Choice of Explanatory Variables to Predict Variations in Nutrient NPA

Considering the importance of digestibility in the nutritive value of ruminant diets, dOM intake level was considered as a predictor of the variations in NPA for all studied nutrients (VFA, BHBA, glucose, and l-lactate). The proportion of concentrate in the diet (DM basis), albeit partly linked to dOM intake, was also factored in. Other potential predictors were identified for each individual nutrient, based on current knowledge of digestion and PDV metabolism, as described below. The first criterion for predicting the NPA of total VFA [i.e., acetate (**C2**) plus propionate (**C3**) plus butyrate (**C4**)] was the amount of ruminally fermentable OM (**RfOM**) intake. Ruminally digestible NDF (**RdNDF**) intake and ruminally digestible starch (**RdS**) intake were also tested as predictors of total VFA NPA. Variations in molar proportions of individual VFA and the C2:C3 ratio in the net portal flux were predicted from the dietary concentration of RdNDF and RdS, with their respective contribution to RfOM (RdNDF:RfOM, RdS:RfOM) used as indexes of the type of fermentable energy because of the absence of link between the molar percentage of VFA and DMI (Bermingham et al., 2008). Soluble sugars in feeds could not be taken into account, because they are highly variable and insufficiently reported (INRA, 2007). Ruminally fermentable OM concentrations were calculated according to INRA (2007; i.e., $\text{RfOM} = \text{dOM} - \text{fat} - \text{undegradable CP} - \text{undegradable starch} - \text{fermentation products}$, where undegradable CP and undegradable starch were estimated by the in sacco method). Ruminally digested starch values were calculated from starch concentrations and in sacco degradability (INRA, 2007) and the empirical model of ruminal starch digestion (Offner and Sauvant, 2004). This model takes into account the differences between in sacco and in vivo ruminal degradation of starch and the effects of intake level. For RdNDF, we assumed that 90% of digestible NDF was digested in the rumen, and thus we calculated RdNDF as $\text{digestible NDF} \times 0.90$.

Because the INRA Feed Tables (INRA, 2007) report the NDF digestibility for forages only, the digestible NDF of concentrates was estimated as: $\text{digestible NDF} = [\text{NDF} - (\text{undigestible}$

OM – undigestible CP – undigestible fat – undigestible starch)]. Values for undigestible OM, undigestible CP, undigestible fat, and undigestible starch were based on the INRA Feed System (INRA, 2007), assuming a constant fat digestibility of 80% (Doreau and Ferlay, 1994). These calculations were validated by comparing estimated with measured data (Sauvant et al., 2008a). Concentrates accounted for less than 20% of dietary digestible NDF. Dietary digestible NDF was then calculated by additivity. Variations in BHBA NPA were predicted from the same explanatory variables as for VFA (i.e., RfOM intake, RdNDF intake, and RdS intake). Furthermore, the responses of the C4:BHBA ratio to the percentage of concentrate and RdS, RdNDF, RdNDF:RfOM, and RdS:RfOM contents were tested. Variations in glucose NPA were predicted by calculating the amount of starch digested in the small intestine (**SIdS**). Because the meta-analyses approach requires a minimum variation in the explanatory variable, the model based on SIdS only included the experiments with at least 1 starch-containing diet. The amount of SIdS was predicted from in sacco starch degradation (INRA, 2007) and the empirical model of ruminal and intestinal starch digestion (Offner and Sauvant, 2004). For diets containing no starch, potential predictors of glucose NPA were RdNDF intake, RfOM intake, and DMI. Given that lactate NPA results from both ruminal fermentation and net production (from C3, valerate, or glucose) by the PDV (Leng et al., 1967; Weeks and Webster, 1975; Weigand et al., 1975), we used the same explanatory variables as for the NPA of VFA and glucose (i.e., RfOM intake, RdNDF intake, RdS intake, and SIdS). Relationships between the NPA of lactate (Y) and the NPA of glucose or C3 (X) were tested on all the publications reporting results on the effects of diet on the relevant NPA. Similarly, relationships between the NPA of BHBA (Y) and the NPA of C4 and C2 (X) were also tested with a variance-covariance model.

Meta-Analyses

Data Coding. To select relevant experiments for subsequent meta-analyses, all publications within FLORA were coded in several steps (Sauvant et al., 2005). A first coding step dealt with the experiments and the type of experimental factors within each publication. Then, within an experiment, experimental groups were defined as the groups of treatments that changed due to the variable of interest and were coded accordingly (Sauvant et al., 2005; Vernet et al., 2005).

Data Expression and Minimum Between-Treatment Variation on the Explanatory Variables. Nutrient intake and NPA were expressed as a function of BW^{1.0}. Indeed, although across-species metabolic processes are best described as a function of BW^{0.75} (Brody, 1964),

intake as well as nutrient digestion and absorption have been shown to be similar between sheep and cattle when expressed as a function of BW^{1.0} (Vernet et al., 2005; Sauvant et al., 2006a). Calculation of reliable within-experiment responses requires a minimum variation on each explanatory variable (X) within that experiment (Sauvant et al., 2005). Therefore, the minimum acceptable variation of X ($\Delta X_{\min}$) was determined from all the selected publications for each target nutrient, as follows:

$$\Delta X_{\min} = \mu (\Delta X_{ij}) - |2 \times \text{SD } \Delta X|;$$

with $\Delta X_{ij} = |X_{\text{treatment } i} - X_{\text{treatment } j}|$ and $\text{SD } \Delta X = \text{SD of } \Delta X_{ij}$.

Thus, variations of X were considered relevant for the subsequent statistical analyses when the variation between within-experiment control and experimental treatments was greater than 10 g of concentrate DM/100 g of total DM, 30 g of RdNDF/100 g of DM, 25 g of RdS/100 g of DM, 1.2 g of dOM intake $\cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg of BW}^{-1}$, 1 g of RfOM intake $\cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg of BW}^{-1}$, 0.8 g of RdNDF intake $\cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg of BW}^{-1}$, 0.5 g of RdS intake $\cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg of BW}^{-1}$, 0.2 g of SIdS $\cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg of BW}^{-1}$, 0.1 g of RdNDF/g of RfOM, and 0.1 g of RdS/g of RfOM. This selection led to the elimination of only 3 to 15% of the treatments depending on the explanatory variable.

Meta-Design, Variance-Covariance Models, and Post-Optimization Analyses. Descriptive statistics (μ , SD, range of values) were generated for each variable in the selected data sets as well as matrix of correlation between all the nutritional parameters. Normal distribution of data and homogeneity of variances were tested by Shapiro-Wilk and Levene tests, respectively. Relationships between Y (nutrient NPA, molar percentage of VFA, C2:C3, or C4:BHBA in net portal flux) and the explanatory variable X were studied with a variance-covariance model: $Y = \alpha + \beta X + \text{species} + \alpha_i (\text{species}) + \text{species} \times X + e$,

where α = the overall intercept and α_i = the effect of the experimental group i on the intercept α , nested within species, and β is the slope of the relationship. If appropriate, quadratic models were also fitted to the data and compared with the linear model. The fit of each relationship was then examined by studying the Studentized residuals of the model and normality of the residuals. Outliers were identified first on the basis of residuals and then by h_i leverage [$h_i = 1/n + (\bar{X}_i - \bar{X})^2 / \sum (X_i - \bar{X})^2$], Cook's distance, and DFITS (difference between the predicted values calculated with and without the i th observation; Sauvant et al., 2005).

Considering that several qualitative factors in the available publications differed between experiments, such as animal species (cattle vs. sheep), physiological stages, and the blood or plasma matrix used for nutrient analyses, it appeared appropriate to consider experiment as a

fixed factor in the models and to test the influence of these qualitative factors on the parameters of the models. Moreover, because the statistical effect of the covariate (i.e., the main objective of the present study) is not dependent on whether the experiment factor is fixed or random (Sauvant et al., 2008b), all statistical analyses were consequently carried out using the GLM model (Minitab, Version 14, State College, PA). Once models were generated, sensitivity analyses were carried out to test whether the models could be improved by a heuristic process (Sauvant et al., 2008b). The rationale was that between-study differences in experimental conditions can lead to differences in response among studies. Individual within-experiment slopes were regressed on interfering factors to check that the model did not need an additional X variable. The residuals and the least squares means (**LSMeans**) of the model, representing for each experimental group i the predicted Y_i for the covariable X averaged across all experimental groups (X_{ij}), were also regressed on the major potentially quantitative interfering factors. The interfering factors tested corresponded to variables describing level of intake and diet composition, including DMI, dietary concentration, and intake level of dOM, RfOM, starch, RdS, NDF, RdNDF, the percentage of concentrate, and the dietary concentrations of ADF, crude fiber, CP, digestible CP, fermentable CP, ME, and proteins digestible in the intestine. When potential interfering factors were qualitative, LSMeans subclasses were compared to clarify the nature of the interaction. Thus, ANOVA was run on LSMeans to test for the influence of species, physiological stage, and matrix (blood or plasma) effects. If a significant interfering factor was detected, it was tested to establish whether its inclusion in the model improved the fit. Parameters and correlations were considered significant at $P < 0.05$, whereas $P < 0.10$ indicated a trend. Thorough graphical examinations were carried out at each stage of the meta-analyses process. For each nutrient, models obtained with the different predictors were compared. The criteria used to identify the best predictor were absence of interactions with species and intercept, residual means square errors (**RMSE**), adjusted R^2 (**R^2 adj**), and absence of interfering factors on slopes, residuals, and LSMeans.

RESULTS

Evaluation of the Estimated Chemical Composition and Nutritional Values of the Diets

The GLM analyses showed that the estimated and actual chemical composition of the diets were closely correlated with slopes not significantly different from 1 (0.913 ± 0.057 , $P = 0.54$

for OM digestibility; 0.930 ± 0.021 , $P = 0.24$ for ME; 0.954 ± 0.078 , $P = 0.83$ for crude fiber; and 0.817 ± 0.062 , $P = 0.44$ for CP concentration). The coefficients of correlation were 0.935, 0.996, 0.965, and 0.949, and the RMSE were 2.0 g/100 g, 0.30 MJ/kg of DM, 16 g/kg of DM, and 7.4 g/kg of DM for OM digestibility, ME, crude fiber, and CP contents, respectively. Moreover, the intercept was not different from 0 for OM digestibility (4.94 ± 3.8 g/100 g, $P = 0.20$), crude fiber (8 ± 21 g/kg of DM, $P = 0.72$), and CP content (27 ± 26 g/kg of DM, $P = 0.45$), but was different from 0 for ME concentration (0.615 ± 0.22 MJ/kg of DM, $P = 0.05$).

Description of the Selected Data and Meta-Design

Table 1 presents numbers of treatments, means, SD, and ranges of all parameters considered, for all preselected data. Although DMI ($\text{g} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg of BW}^{-1}$) was similar between species ($P = 0.23$), diets fed to sheep had decreased proportions of concentrate ($P < 0.001$), dOM ($P < 0.001$), digestible CP ($P < 0.001$), starch ($P < 0.001$), and ME concentrations ($P < 0.001$), and greater cell wall concentrations ($P < 0.001$) than diets fed to cattle. In contrast, there were no significant differences in dietary RfOM ($P = 0.57$) and rumen-fermentable CP ($P = 0.66$) contents between diets offered to both species. Intake level appeared to be independent of RfOM ($P = 0.19$), starch ($P = 0.57$), NDF ($P = 0.38$), and percentage of concentrate ($P = 0.61$). There was no correlation between RfOM concentration and percentage of concentrate ($P = 0.13$) or starch concentration ($P = 0.13$), whereas RfOM concentration tended to be correlated ($P = 0.08$) to NDF concentration. Moreover, the nature of the RfOM (RdNDF:RfOM and SdR:RfOM) was independent of RfOM ($P = 0.50$ and 0.11 , respectively) itself.

Table 1. Description of animals and diets used for the meta-analyses¹ of net portal appearance of volatile fatty acids, β -hydroxybutyrate, glucose and lactate

	Cattle					Sheep					Species effect
	n	mean	SD	Min	Max	n	mean	SD	Min	Max	P-value
Physiological stage											
Non productive adult	4					63					
Growing	51					19					
Gestation	0					6					
Lactation	19					2					
Dietary composition, ² g / kg DM											
Crude fiber	74	153	86	46	321	90	280	78	68	398	< 0.001
NDF	74	310	136	149	601	90	532	131	172	750	< 0.001
ADF	74	167	92	53	360	90	304	79	80	429	< 0.001
Starch	74	342	216	0	673	90	91	155	0	563	< 0.001
CP	74	146	31	97	247	90	137	40	71	228	0.11
Digestible OM	74	728	78	530	844	90	603	82	458	854	< 0.001
Digestible NDF	74	191	92	95	427	90	313	94	113	490	< 0.001
Digestible CP	74	99	25	46	166	90	88	36	34	186	0.029
Rumen fermentable OM	74	512	56	417	631	90	507	55	413	628	0.57
Rumen digestible NDF	74	172	83	86	384	90	282	84	102	441	< 0.001
Rumen fermentable CP	74	86	30	44	168	86	88	33	45	189	0.66
PDIE	74	100	14	58	126	90	88	13	63	118	< 0.001
PDIN	74	102	19	66	155	90	91	27	47	147	0.003
ME, MJ/kg DM	74	11.3	1.2	8.0	13.0	90	9.2	1.4	6.7	13.2	< 0.001
Proportion of concentrate, g/100 g DM	74	64	33	0	100	90	18	30	0	100	< 0.001
Intake, g.d ⁻¹ .kg BW ⁻¹											
DM	74	18.3	6.5	0	36.9	90	20.1	9.6	0	47.5	0.23
Digestible OM	74	13.5	4.9	0	28.6	90	12.2	6.1	0	30.1	0.14
Rumen fermentable OM	74	9.5	3.5	0	17.4	90	10.2	4.9	0	25.4	0.27
Rumen digestible starch ³	74	4.6	3.2	0	12.6	90	1.4	2.5	0	10.1	< 0.001
Rumen digestible starch ^{3,4}	68	5.0	3.0	0	12.6	44	2.8	2.9	0	10.1	< 0.001
Rumen digestible NDF	74	3.2	1.9	0	9.0	90	5.7	3.3	0	14.3	< 0.001
Starch digested in small intestine ³	74	0.91	0.73	0	3.66	90	0.35	0.71	0	3.64	< 0.001
Starch digested in small intestine ^{3,4}	68	0.99	0.71	0	3.66	44	0.71	0.83	0	3.64	< 0.001

Renvois du tableau 1.

¹ Publications used: Katz and Bergman, 1969; Bergman and Wolff, 1971; Baird et al., 1980; Huntington et al., 1980; Huntington, 1983a,b; Huntington and Prior, 1983; Huntington and Reynolds, 1983; Huntington et al., 1983; Heitmann et al., 1986; Huntington and Reynolds, 1986; Wieghart et al., 1986; Gross et al., 1988; Harmon et al., 1988; Huntington et al., 1988; Reynolds and Huntington, 1988a,b; Reynolds et al., 1988b; Eisemann and Nienaber, 1990; Burrin et al., 1991; Kreikemeier et al., 1991; Lush et al., 1991; Reynolds and Tyrrell, 1991; Reynolds et al., 1991; Lapiere et al., 1992; Maltby et al., 1992; Seal et al., 1992; Goetsch et al., 1994; Ortigues et al., 1994; Goetsch and Ferrell, 1995; Krehbiel et al., 1995; Kreikemeier and Harmon, 1995; Patil et al., 1995a,b; Eisemann et al., 1996; Huntington et al., 1996; Krehbiel et al., 1996; Kristensen et al., 1996a; DeVisser et al., 1997; Goetsch et al., 1997; Freetly and Cundiff, 1998; Krehbiel et al., 1998; Linington et al., 1998; Bohnert et al., 1999; Lozano et al., 2000; Nozière et al., 2000b; Ferrell et al., 2001; Han et al., 2002; Majdoub et al., 2003; Del Sole et al., 2004

²Dietary composition and intake calculated by additivity according to INRA Feed Tables (INRA, 2007); PDIE (PDIN): protein digestible in the intestine when energy (degraded N) is a limiting factor.

³ Rumen digestible starch and starch digested in small intestine calculated by additivity from in sacco data according to INRA Feed Tables (INRA, 2007) and corrected according to Offner and Sauvant's (2004) empirical model of starch digestion to account for differences between in sacco and in vivo ruminal degradation, intake level, and digestibility of starch in the small intestine.

⁴ Values and numbers of experimental groups related to diets containing starch only.

For each nutrient, the number of treatments was similar between cattle and sheep and between females and males (data not shown). The major physiological stages represented were growing animals, followed by non-productive adult animals for sheep and lactation for cattle. Considering the data used in the models, net fluxes were mainly determined on blood for VFA (n blood = 55, n plasma = 0) and BHBA (n blood = 56, n plasma = 4), whereas the number of treatments determined on blood and plasma were similar for glucose (n blood = 21, n plasma = 29) and lactate (n blood = 65, n plasma = 44). Consequently, the matrix effect on the LSMeans was only tested for glucose and lactate and proved not significant ($P = 0.58$ and $P = 0.31$, respectively). Normal distribution of data was shown in the different data sets as well as homogeneity of variances.

Adjusted Models of Nutrient NPA

Tables 2 and 3 present final adjusted models, R^2 adj, and RMSE after elimination of the outliers and indicate the number of experimental groups and number of treatments used. The number of outliers was small, representing between 5 and 15% of the initial number of treatments, depending on the models. The models were compared for each dependent variable (NPA of each given nutrient) as reported further below. Criteria for comparison were absence of significant species effect and species $\times$ X interaction. Moreover, models having no interfering factors on the slope, residuals, or LSMeans were considered as being the most stable. Figures 1 and 2 present the best adjusted model for each nutrient, with the associated individual within-experiment relationships and meta-design (links between DMI and the percentage of concentrate).

Net Portal Flux of VFA. The NPA of total VFA was significantly related to explanatory variables dOM intake, RfOM intake, and RdNDF intake ($P < 0.001$), but not to percentage of concentrate or RdS intake (Table 2). Unlike RdNDF intake, both dOM intake and RfOM intake models were independent of species ($P = 0.98$ and $P = 0.65$, respectively). These models presented the lowest RMSE and the greatest R^2 adj explaining 95% of the variability, interexperiment variations included. For these 2 models, the intercepts were not significantly different from 0 ($P = 0.78$ for RfOM and $P = 0.31$ for dOM), which is consistent with 0 VFA NPA in the absence of fermentable OM. The linear slopes suggested that a $1 \text{ g} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg}$ of BW^{-1} increase in dOM intake or RfOM intake induced an increase in VFA NPA of 4.68 and $5.93 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}$ of BW^{-1} , respectively.

In the dOM intake model, percentage of concentrate significantly and negatively influenced both individual slopes and residuals, whereas in the RfOM intake model, LSMeans were greater ($P < 0.05$) for cattle than for sheep and tended to be greater ($P < 0.10$) for growing sheep than nonproductive adult sheep. Consequently, out of the variables tested, RfOM intake was considered the best predictor of variations in NPA of total VFA (Figure 1). The percentage of concentrate was linearly ($P < 0.01$) related to the molar proportion of C2 and C4 but not C3 ($P = 0.62$; Table 2). This explanatory variable highlighted a species effect (cattle greater than sheep, $P < 0.01$) for C4. Both the RdNDF:RfOM model and the RdS:RfOM model explained 76 to 93% of the variance ($P < 0.01$) in the molar proportions of the 3 major VFA. These linear models were independent of animal species ($P > 0.15$) and presented no interfering factors on LSMeans. However, with RdS:RfOM (Table 2), the individual VFA slopes and the residuals for C4 were positively influenced by intake level ($P < 0.05$) and tended to be influenced by diet composition ($P < 0.1$). The C2:C3 ratio in NPA was significantly and linearly related to percentage of concentrate ($P < 0.1$), RdNDF:RfOM ($P < 0.001$), and RdS:RfOM ($P < 0.001$), with RdNDF:RfOM ($P < 0.001$) providing the best adjustment. The RdNDF:RfOM model was affected by species (cattle greater than sheep; $P < 0.001$), and the individual slopes of all models tended to be affected ($P < 0.1$) by diet composition (except for percentage of concentrate). Models based on dietary concentrations of RdNDF or RdS were not clearly significant for C4 ($P = 0.076$ and $P = 0.085$, respectively) and were less adjusted (greater RMSE and less R^2 adj) than models obtained with RdNDF:RfOM or RdS:RfOM for C2, C3, and C2:C3 (data not shown). Between-model comparisons based on interactions with species, RMSE, R^2 adj, interfering factors on the slope, and on the residuals clearly showed that RdNDF:RfOM was the best predictor of variations in molar proportion of individual major VFA in NPA (Figure 2). An increment of 0.1 RdNDF:RfOM increased the molar proportion of C2 (25.1 percentage units) at the expense of C3 (18.9 percentage units) and C4 (−7.3 percentage units).

Net Portal Flux of BHBA and C4:BHBA Ratio. The RdS intake and percentage of concentrate were not related to BHBA NPA ($P = 0.17$ and $P = 0.53$, respectively). Models generated from dOM intake, RfOM intake, and RdNDF intake ($P < 0.01$) presented a species effect (cattle greater than sheep; $P < 0.01$; Table 3). The model obtained with RdNDF intake showed a quadratic response ($P < 0.001$), even when experimental groups with fasting treatments [number of experimental groups = 2, nt (ntreatments) = 3] were removed from the data set.

The LSMeans were greater for cattle than for sheep ($P < 0.001$) and were greater ($P < 0.05$) for growing animals and dairy cattle than nonproductive adult animals, with all 3 models, whereas no interfering factors were detected on the residuals.

Based on the lack of interfering factors on individual slopes, RfOM intake was considered the best predictor of variations in BHBA NPA (Figure 2). No significant within-experiment relationships could be obtained between the C4:BHBA NPA ratio and the qualitative components of the diet (data not shown). β -Hydroxybutyrate NPA was related to the C4 NPA (Figure 3A) and C2 NPA (Figure 3B) in within-experiment linear relationships.

Net Portal Flux of Glucose. No significant model was obtained with dOM intake ($P = 0.15$). In contrast, SIdS intake yielded a linear model ($P < 0.001$) and percentage of concentrate yielded a quadratic model ($P < 0.001$; Table 3).

These models presented no interfering factors either on individual slopes, residuals, or LSMeans. However, the intercept was species-dependent with the percentage of concentrate model ($P = 0.001$) but not with the SIdS model ($P = 0.42$). Moreover, the model obtained with SIdS presented a better adjustment (greater R^2 adj and less RMSE). The negative intercept, significantly different from 0, reflected the metabolic utilization of glucose by PDV tissues. The slope of 0.094 indicated that an increment of 1 g of SIdS $\cdot d^{-1} \cdot kg$ of BW^{-1} led to a 0.41 g $\cdot d^{-1} \cdot kg$ of BW^{-1} increase in glucose NPA. Figure 2 shows the within-experiment relationships between SIdS and glucose NPA. Experiments that did not use any starch-containing diets showed no significant within-experiment relationships between glucose NPA and any dietary characteristic. Only significant interexperiment relationships could be obtained with dOM intake, RfOM intake, and RdNDF intake, but with low explained variance (R^2 adj < 0.07).

Net Portal Flux of Lactate. Significant linear models were obtained with dOM intake ($P < 0.001$), RfOM intake ($P < 0.001$), RdNDF intake ($P < 0.01$), RdS intake ($P < 0.001$), SIdS intake ($P < 0.01$), and percentage of concentrate ($P < 0.001$; Table 3). However, only the model based on RdS intake was speciesindependent ($P = 0.39$). It presented a good adjustment (R^2 adj = 0.77 and RMSE = 0.042 mmol $\cdot h^{-1} \cdot kg$ of BW^{-1}), although less than the other models, and no interfering factors on residuals and LSMeans. The model predicted that an increment of 10 g of RdS intake $\cdot d^{-1} \cdot kg$ of BW^{-1} would lead to a 0.136 mmol $\cdot h^{-1} \cdot kg$ of BW^{-1} increase in lactate NPA. This incremental response was, however, positively influenced by dietary N concentration (CP, fermentable CP, digestible CP, and proteins digestible in the intestine).

Table 2: Responses of the net portal appearance of total VFA ($\text{mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1} \text{BW}$) and of the molar percentages of individual VFA ($\text{mol}/100 \text{ mol total VFA}$) to variations in rumen fermentable OM (RfOM, $\text{g} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$) intake, digestible OM (dOM, $\text{g} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$) intake, rumen digestible starch (RdS, $\text{g} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$) intake, rumen digestible NDF (RdNDF, $\text{g} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1} \text{BW}$) intake, proportion of concentrate in the diet (Concentrate, $\text{g}/100 \text{ g DM}$) and the ratios RdNDF/RfOM and RdS/RfOM

Y	X	Numbers ¹				Intercept		Slope		RMSE	R ² _{adj}	P-value		Interfering factors ²			
		n _{ex}	n _{ai}	n	n _r	α	SE	β	SE			species	X×species	Slope	residuals	LSMeans	
		p															
Total VFA	RfOM intake	16	8	36	4	0.06	NS	0.20	0.247 ***	0.022	0.243	0.95	0.65	0.36	none	none	Sp* ; phy†
	dOM intake	19	10	43	7	0.20	NS	0.19	0.195 ***	0.016	0.236	0.95	0.98	0.25	- %CONC*	- %CONC†	none
	RdS intake	13	nd	27	1	2.80	***	0.20	0.061 NS	0.052	0.588	0.76	0.74	0.055	nd	nd	nd
	RdNDF intake ³	18	10	40	7	1.40	***	0.23	0.213 ***	0.044	0.345	0.90	< 0.001	< 0.001	none	none	Sp**, phy**
	Concentrate	10	nd	20	1	3.13	***	0.19	-0.0005 NS	0.0049	0.468	0.84	0.52	0.051	nd	nd	nd
Acetate	RdNDF/RfOM	10	3	20	3	58.7	***	2.5	25.1 ***	5.1	2.23	0.85	0.29	0.15	none	none	none
	SdR/RfOM	10	2	20	3	74.0	***	1.6	-9.4 *	4.1	3.38	0.85	0.43	0.27	-DMI* ; -ME* -NDF† ; +S**	none	none
	Concentrate	8	2	18	1	75.9	*	0.94	-0.094 **	0.023	2.23	0.92	0.57	0.27	+S* ; -ADF*	none	none
Propionate	RdNDF/RfOM	10	2	20	2	34.0	***	2.5	-18.9 **	5.0	2.18	0.76	0.23	0.22	none	none	none
	SdR/RfOM	10	3	20	2	21.6	***	1.3	8.0 *	3.3	2.65	0.85	0.17	0.19	+DMI* ; +ME* -S* ; +ADF†	none	none
	Concentrate	8	nd	18	nd	21.2	*	0.99	0.060 NS	0.024	2.36	0.86	0.23	0.22	nd	nd	nd
Butyrate	RdNDF/RfOM	11	2	22	0	7.9	***	1.1	-7.3 **	2.1	1.10	0.76	0.47	0.27	none	none	none
	SdR/RfOM ⁴	9	5	18	1	2.88	***	0.33	6.1 ***	0.23	0.70	0.93	0.060	0.37	+DMI† ; +ME† +NDF* ; +RdNDF** S** ; +ADF† -S** ; +ADF*	none	none
	Concentrate ⁵	9	4	19	0	2.96	*	0.41	0.033 **	0.010	1.02	0.84	0.011	0.54	none	none	none
Acetate / propionate	RdNDF/RfOM ⁶	9	4	18	7	0.43	*	0.18	4.5 ***	0.34	0.181	0.97	< 0.001	0.22	+ME†	none	none
	SdR/RfOM	11	4	22	3	3.60	***	0.16	-2.1 ***	0.37	0.392	0.87	0.24	0.36	-ME† ; -NDF† +S* ; -CF*	none	Sp†
	Concentrate ⁷	10	2	21	0	3.76	***	0.24	-0.0092 †	0.0055	0.618	0.89	0.019	0.39	none	none	None

Renvois du tableau 2.

¹ n_{exp} : number of experimental groups in the model; n_{ai} : number of experimental groups with α_i significantly different from 0; n : number of treatments in the model; n_r : number of treatments rejected from the model (outliers)

² Dietary concentration of digestible NDF (dNDF); rumen digestible NDF (RdNDF), starch (S), %CONC: dietary concentration of concentrate; sp: species; phy: physiological stage. The minus sign indicates a negative effect on the net portal appearance; the plus sign indicates a positive effect on the net portal appearance

³ Species effect on the intercept ($\Delta = 1.614$ for cattle and -1.614 for sheep) and the slope ($\Delta = -0.183$ for cattle and 0.183 for sheep)

⁴ Species effect on the intercept: $\Delta = 0.656$ for cattle and $\Delta = -0.656$ for sheep.

⁵ Species effect on the intercept: $\Delta = 1.0386$ for cattle and $\Delta = -1.0386$ for sheep.

⁶ Species effect on the intercept: $\Delta = 0.570$ for cattle and $\Delta = -0.570$ for sheep.

⁷ Species effect on the intercept: $\Delta = 0.481$ for cattle and $\Delta = -0.481$ for sheep.

nd: not determined (because slope not significant).

*** $P < 0.001$; ** $P < 0.01$; * $P < 0.05$; † tendency at $P < 0.10$

NS: not significant, $P > 0.10$

Table 3: Responses of the net portal appearance of β -hydroxybutyrate (BHBA; $\text{mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}\text{BW}$), glucose and lactate to variations in rumen fermentable OM (RfOM $\text{g}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$) intake, digestible OM (dOM $\text{g}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$) intake, rumen digestible NDF (RdNDF, $\text{g}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$) intake, small intestine digestible starch (SIaS, $\text{g}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$) intake and proportion of concentrate (Concentrate, g/100 g DM) in the diet

Y	X	Numbers ¹				Intercept		Linear term		Quadratic term		RMSE	R^2_{adj}	P-value		Interfering factor ²		
		n_{exp}	n_{ai}	n	n_r	α	SE	β_1	SE	β_2	SE			species	X*species	Slope	Residuals	LSMeans
BHBA	RfOM intake ³	17	6	38	3	0.114 ***	0.033	0.0105 **	0.0035	NS		0.036	0.91	< 0.001	0.46	none	none	sp*** phy*
	dOM intake ⁴	22	5	50	1	0.101***	0.038	0.0109 **	0.0032	NS		0.048	0.89	< 0.001	0.27	+DMI†	none	sp*** phy***
	RdNDF intake ⁵	18	6	38	1	0.006 NS	0.041	-0.084 ***	0.0180	-0.0060 ***	0.0016	0.033	0.93	< 0.001	0.76	-RfOM*, -NDF* -RdNDF*, +S*, +RdS*	none	sp*** phy**
	RdS intake	13	nd	27	3	0.229 ***	0.019	0.00018 NS	0.0056	NS		0.044	0.84	< 0.001	0.60	nd	nd	nd
	Concentrate	15	nd	41	2	0.240 ***	0.037	-0.0006 NS	0.0009	NS		0.10	0.43	0.001	0.27	nd	nd	nd
Glucose	dOM intake	54	nd	141	nd	-0.123 ***	0.035	0.0031NS	0.0028	NS		0.078	0.53	0.003	0.029	nd	nd	nd
	Concentrate ⁶	16	4	34	8	-0.174 ***	0.018	0.0061 ***	0.0010	-0.00005 **	0.00001	0.046	0.82	0.001	0.15	none	none	none
	SIaS intake	18	10	41	6	-0.103 ***	0.0094	0.0913 ***	0.0088	NS		0.035	0.89	0.42	0.30	none	none	none
Lactate	RfOM intake ⁷	29	15	67	16	0.098 ***	0.013	0.0098 ***	0.0014	NS		0.022	0.94	0.094	< 0.001	none	-ADF***	sp**
	DOM intake ⁸	27	11	62	16	0.093 ***	0.012	0.0077 ***	0.0010	NS		0.021	0.94	0.054	< 0.001	+CP**, +dCP**, +fCP*	none	phy**
	RdS intake	24	8	53	3	0.156 ***	0.015	0.0136 ***	0.0031	NS		0.042	0.77	0.39	0.87	+CP*, +fCP*, +dCP†; +PDIN*	none	none
	SIaS intake ⁹	21	13	47	7	0.180 ***	0.0073	0.0277 **	0.0068	NS		0.026	0.91	< 0.001	0.13	+DMI†; +ME** +dOM**; -NDF**-RdNDF*, +S*, - CF** -ADF**	none	none
	RdNDF intake ¹⁰	20	12	42	11	0.256 ***	0.021	-0.0119 **	0.0042	NS		0.033	0.87	< 0.001	0.18	+DMI***; +ME* +dMO*, -NDF*, -CF* +%CONC***	nd	nd
	Concentrate	14	7	30	8	0.168 ***	0.0087	0.0006 **	0.0002	NS		0.027	0.90	0.12	0.29	none	none	none

¹ n_{exp} : number of experimental groups in the model; n_{ai} : number of experimental groups with ai significantly different from 0; n: number of treatments in the model; n_r : number of treatments rejected from the model (outliers); ² Dietary contents of digestible OM (dOM), rumen fermentable OM (RfOM), rumen digestible NDF (RdNDF), starch (S), rumen digestible starch (RdS), crude fiber (CF), fermentable CP (fCP), PDIN : proteins digestible in the intestine when N is the limiting factor, concentrate (%CONC), sp: species; phy: physiological stage. The minus sign indicates a negative effect on the net portal appearance; the plus sign indicates a positive effect on the net portal appearance; ³ Species effect on the intercept: $\Delta = 0.0880$ for cattle and -0.0880 for sheep.; ⁴ Species effect on the intercept: $\Delta = 0.0932$ for cattle and -0.0932 for sheep.; ⁵ Species effect on the intercept: $\Delta = 0.0957$ for cattle and -0.0957 for sheep.; ⁶ Species effect on the intercept: $\Delta = 0.0337$ for cattle and -0.0337 for sheep ⁷ Species effect on the intercept ($\Delta = -0.0428$ for cattle and 0.0428 for sheep) and the slope ($\Delta = 0.00855$ for cattle and -0.00855 for sheep); ⁸ Species effect on the intercept ($\Delta = -0.0236$ for cattle and 0.0236 for sheep) and the slope ($\Delta = 0.00477$ for cattle and -0.00477 for sheep); ⁹ Species effect on the intercept ($\Delta = 0.0257$ for cattle and -0.0257 for sheep) ; ¹⁰ Species effect on the intercept ($\Delta = 0.0305$ for cattle and -0.0305 for sheep) nd: not determined (because slope not significant). *** $P < 0.001$; ** $P < 0.01$; * $P < 0.05$; † tendency at $P < 0.10$; NS: not significant, $P > 0.1$

Figure 1. Meta-design according to DMI and proportion of concentrate in the diet in the data set used for total VFA model (1A) and proportion of acetate (C2; 2A), propionate (C3; 3A), and butyrate (C4; 4A) models. Within-experiment relationships between the rumen-fermentable OM (RfOM) intake and the net portal appearance (NPA; $\text{mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}$ of BW^{-1}) of total VFA (1B) and between the proportion of rumen-digestible NDF in the RfOM (RdNDF/RfOM) and the proportion of C2 (2B), C3 (3B), and C4 (4B). Values within a same experiment are linked, and a dotted line indicates outliers of the model. Open symbols represent the sheep and shaded symbols the cattle. Adjusted models of the NPA of VFA (1C), and proportion of C2 (2C), C3 (3C), and C4 (4C). The lines represent the predicted values, and the points represent the values corresponding to the sum of predicted values and residuals.

Only models obtained with RfOM intake and percentage of concentrate presented no interfering factors on the individual slopes, but the RfOM model showed a significant species effect on the slope ($P < 0.001$; cattle greater than sheep). Thus, RdS intake was considered the best predictor of variations in lactate NPA (Figure 2). Lactate NPA was not significantly related to glucose NPA ($P = 0.87$), but was linearly and positively related to propionate NPA ($P < 0.01$) in a within-experiment relationship (Figure 3C).

DISCUSSION

Over the years, several mechanistic models have been developed to describe ruminal digestion (Baldwin and Koong, 1977; Danfaer, 1990; Dijkstra et al., 1992; Lescoat and Sauvant, 1995), PDV metabolism of AA (Hanigan et al., 2004), and hepatic metabolism (Waghorn, 1982; Freetly et al., 1993; Danfaer, 1994), most focusing on dairy cows. To our knowledge, no models have yet been developed to predict the NPA of energyyielding nutrients, prompting the present work. Indeed, the major progress made in feed characterization for ruminants has now made it possible to predict the NPA of energyyielding nutrients from dietary characteristics (Chesson, 2000; France et al., 2000). Rather than using a mechanistic approach, we opted for an empirical method employing a limited number of variables. This decreases the uncertainty of prediction, resulting in well-adjusted quantitative prediction models representing state-of-the art knowledge. The limit to this approach lies in the range of validity of the models, which is highly dependent on the source data available. This empirical approach also tests the quantitative consistency between all data and it will improve our understanding of biological processes (Lindsay, 1993) and help develop tools for dietary formulation.

Diet Characterization

The empirical models that have been developed in the present work were based on a full and homogenous description of diets according to INRA (2007) to have a common reference system for all data and all models. The diversity of feeds present in the INRA Feed Tables made it possible to characterize about 95% of the experimental diets. Some forages or concentrates happened to be missing from these tables or were not sufficiently diversified, notably tropical forages and wheat hay. In such cases, feeds that were equivalent in terms of ME, CP, and dOM concentrations were used to obtain the same nutritional values as those given by the authors.

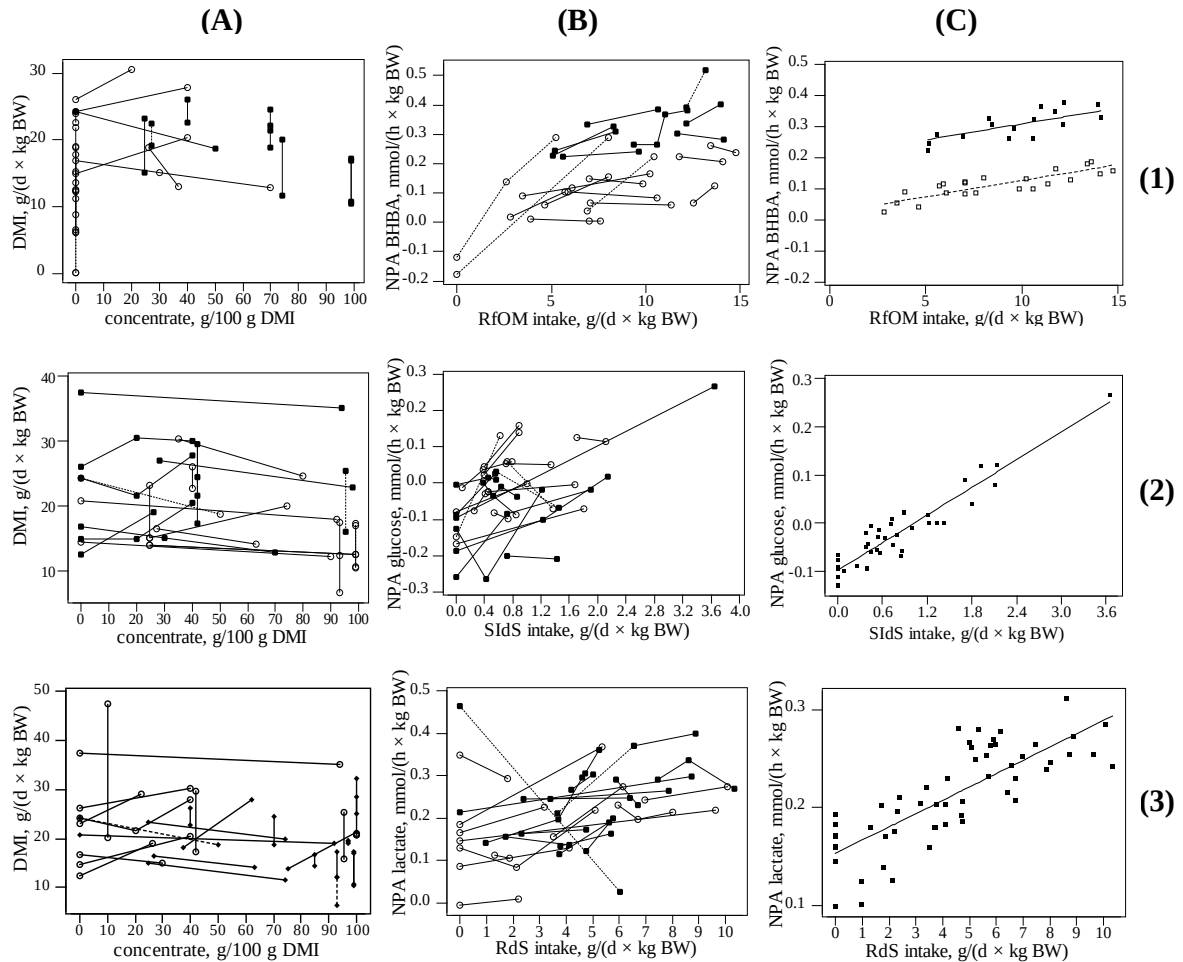


Figure 2. Meta-design according to DMI and proportion of concentrate in the diet in the data set used for β -hydroxybutyrate (BHBA; 1A), glucose (2A), and lactate (3A) models. Within-experiment relationships between the rumen-fermentable OM (RfOM) intake and the net portal appearance (NPA; $\text{mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}$ of BW^{-1}) of BHBA (1B), between intake of starch digested in the small intestine (SIdS) and the NPA of glucose (2B), and between intake of rumen digestible starch (RdS) and the NPA of lactate (3B). Values within a same experiment are linked, and a dotted line indicates outliers of the model. Open symbols represent the sheep and shaded symbols the cattle. Adjusted models of the NPA of BHBA (1C), glucose (2C), and lactate (3C). The lines represent the predicted values, and the points represent the values corresponding to the sum of predicted values and residuals.

The overall approach was considered valid, because there was close agreement between estimated and reported (when existing) chemical composition and nutritional values. In the INRA (2007) feeding system, digestive interactions and effects of intake level are taken into account in the NE allowances rather than in the dietary energy value. In the present study, therefore, we assumed additivity for dOM, RfOM, and dNDF. We tested the influence of this assumption on the results. Based on the model of Sauvant (2003), the influence of digestive interactions on diet dOM intake in the present data set would account for 0.7 ± 0.8 g of dOM intake $\cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg}$ of BW^{-1} for cattle and 0.4 ± 1.2 g of dOM intake $\cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg}$ of BW^{-1} for sheep, representing 4% of average dOM intake. Considering this fairly low level of digestive

interactions, the models obtained can be considered as unbiased within the range of validity of the models.

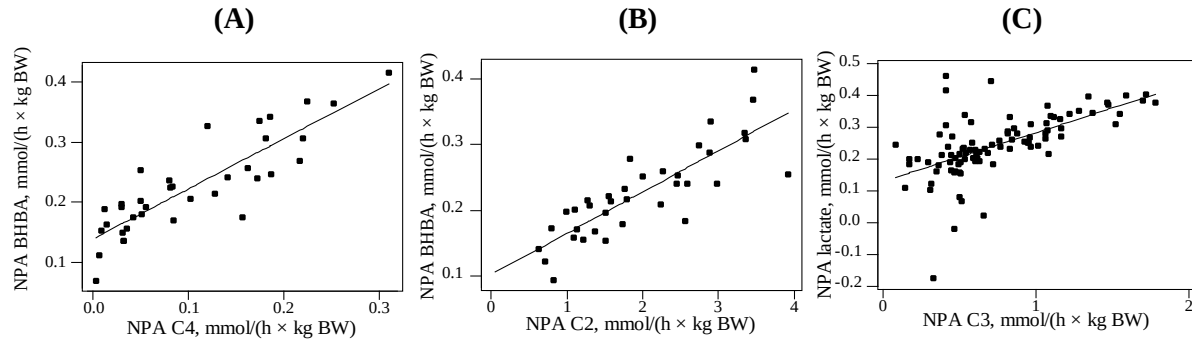


Figure 3. Relationships between (A) the net portal appearance (NPA; mmol·kg of BW⁻¹) of butyrate (C4) and the NPA of β -hydroxybutyrate (BHBA): BHBA NPA = $0.138 \pm 0.0364 + 0.839 \pm 0.321 \times C4$ NPA [residual means square error (RMSE) = 0.0540; adjusted R2 (R2 adj) = 0.846]; (B) the NPA of acetate (C2) and the NPA of BHBA: BHBA NPA = $0.101 \pm 0.0461 + 0.0631 \pm 0.0222 \times C2$ NPA (RMSE = 0.0520; R2 adj = 0.853); (C) the NPA of propionate (C3) and the NPA of BHBA: lactate NPA = $0.130 \pm 0.0406 + 0.155 \pm 0.0519 \times C3$ NPA (RMSE = 0.0960; R2 adj = 0.514). The adjusted models are given along. The lines represent the predicted values, and the points represent the values corresponding to the sum of predicted values and residuals.

Representativity of the Meta-Design

The data published on NPA of energy-yielding nutrients in ruminants proved relevant to establishing prediction models in both sheep and cattle at different physiological stages. It should be pointed out that there are only limited data from lactating and gestating animals and from goats. The range of validity of the models needs to be defined as accurately as possible in terms of intake level and diet composition. Most of the source data available for building the models was obtained in animals fed at intakes less than 30 g of DMI·d⁻¹·kg of BW⁻¹ and with concentrate proportions of below 70 g/100 g of DM. This reflects most real-world settings, except for high-producing dairy females receiving up to 40 g of DMI·d⁻¹·kg of BW⁻¹, or for feeding management strategies based on high-concentrate dry feeds. It should also be stressed that models developed in the current study do not account for specific feed additive effects (buffers, essential oils, ionophores, etc.), which may affect the profile of digestion end products and absorbed nutrients. Special attention, including thorough graphical examination, was paid to examining possible confounding effects, especially between species, levels of intake, and diet composition. Ruminally fermentable OM predicted variations in NPA of energy-yielding nutrients of rumen origin (total VFA and the derived BHBA) similarly for both species despite being mainly composed of cell walls (RdNDF) in sheep diets and starch (RdS) in cattle diets. Also, it was statistically independent of intake level. Similarly, models of the proportion of individual VFA, glucose, and lactate NPA were

species-independent, suggesting that the known digestive differences between sheep and cattle had a small quantitative effect on the chosen predictors.

NPA and Profiles of VFA

Changes in total VFA NPA could be significantly predicted from changes in RfOM intake and dOM intake with a similar quality of adjustment, but RfOM intake appeared to be a more general predictor. Noteworthy, RfOM intake-driven variations in total VFA NPA appear to be due to concomitant variations in portal blood flow (probably due to intake) and arteriovenous differences (probably due to the nature of the diets). It should be underlined that RfOM is a calculated variable that includes several variables, whereas dOM is either measured or predicted from a decreased number of variables (INRA, 2007). Assuming that RfOM is transformed into 30% microbial matter, 18% gas, and 52% VFA (Sauvant et al., 2006b), ruminal production of total VFA is estimated at 7.8 mol/kg of RfOM. The slope obtained for total VFA NPA with RfOM intake (5.9 mol of total VFA NPA/kg of RfOM) is consistent with this estimate, assuming a net portal recovery of about 80% (Kristensen, 2005). Among all the variables tested, RfOM intake appeared to be the most accurate and integrative factor for predicting variations in total VFA NPA. Thus, despite a partly conventional definition, RfOM intake is closer to the actual absorbed flow of VFA than dOM intake. Predictive models of the variations in molar proportions of individual VFA and of the C2:C3 ratio in the net portal flux were based on the nature of the fermentable OM (RdNDF:RfOM and RdS:RfOM) and the proportion of concentrate in the diet. Of these, RdNDF:RfOM was the best predictor of variations in molar proportion of individual major VFA. Moreover, RdNDF:RfOM can be applied even for starch-free diets and is consistent with the responses commonly observed in the rumen, with a positive slope for C2 and negative slopes for C3 and C4. Surprisingly, the present models predicted linear responses of the molar proportion of individual VFA, whereas empirical rumen models have classically described quadratic variations, as observed in response to proportion of concentrate in the diet (Lescoat and Sauvant, 1995; Archimède et al., 1997). The linear responses in the present work could be explained by the small number of publications with large fermentative deviations, the large treatment differences within these publications, or the lack of experiments specifically designed to test dose responses. The ability of PDV metabolism to limit variations in molar VFA proportions between diets cannot be ruled out, but there is little experimental evidence. Our results suggest a relative enrichment in C2 and C3 and loss of C4 between the rumen and

the portal blood. This is classically observed in trials in which both rumen concentrations and NPA of VFA are reported (reviewed by Huntington, 1999).

It is also related to the known differences between VFA in terms of extent of their PDV-driven metabolism [Kristensen, 2005; Nozière and Hoch, 2005; i.e., low first-pass extraction of C2 and C3 and large first-pass extraction of C4 (for oxidation and ketogenesis) by the rumen epithelium]. Variations in the NPA of individual VFA could be predicted by successively applying the above-mentioned models (total VFA NPA from RfOM intake and molar percentage of each VFA from RdNDF:RfOM), because RfOM and RdNDF:RfOM were not correlated. Comparative analyses of the NPA of each VFA measured by the authors (*Y*) vs. predicted by our models (*X*) using a GLM analyses for the 3 VFA showed intercepts not different from 0 (0.14 ± 0.29 for C2, 0.067 ± 0.099 for C3, and 0.017 ± 0.014 for C4) and slopes close to 1. Indeed, the slope was equal to 1.04 ± 0.16 , 0.94 ± 0.16 , and 0.93 ± 0.13 , respectively, for C2, C3, and C4. The R^2 adj were high (> 0.83), and the RMSE values were rather low (0.35, 0.13, and 0.025 mmol·h⁻¹·kg of BW⁻¹, for C2, C3, and C4, respectively).

NPA of BHBA

Although BHBA is not directly derived from digestion processes, variations in BHBA NPA could be significantly predicted from dOM intake, RfOM intake, and RdNDF intake. The best of these 3 significant predictors was RfOM intake, despite the fact that variations in BHBA NPA were significantly greater when RfOM intake changes were induced by variations in intake than by variations in diet composition (data not shown). This is consistent with the data of Reynolds and Huntington (1988a), who suggested that BHBA NPA depended primarily on intake rather than on nature of the diet. The intercepts and LSMeans of the 3 significant models (dOM intake, RfOM intake, and RdNDF intake) presented significant effects of species, physiological stage, or both. A 1-way ANOVA carried out using data obtained in sheep and cattle fed at similar intakes with similar types of diet revealed that the species differences in BHBA NPA were related to significantly greater arteriovenous difference (0.194 vs. 0.0528 mM) and tendency toward decreased portal blood flows (1.81 vs. 2.38 L·h⁻¹·kg of BW⁻¹, respectively) in cattle than in sheep, in agreement with Bermingham et al. (2008). The species differences in arteriovenous differences were not related to differences in arterial concentrations, which were also greater in cattle than in sheep (0.336 vs. 0.129 mM). Several hypotheses can be put forward to explain the greater NPA of BHBA in cattle: 1) a stronger expression of the enzyme converting C4 into BHBA in the rumen wall or the liver in cattle or 2) a decreased PDV utilization of arterial BHBA in cattle. There is still a lack of

experimental data in support of these hypotheses. There was a significant within-experiment relationship between C4 or C2 NPA and BHBA NPA.

These relationships are partly related to blood flow, reflecting the global effect of intake level, although specific effects of C2 or C4 on ruminal ketogenesis may not be excluded. Ruminal ketogenesis from C2 was shown to be limited, whereas portal BHBA was primarily derived from the partial oxidation of C4 in the rumen wall (Kristensen et al., 1996b; Nozière et al., 2000a). The PDV uptake of arterial BHBA has been shown to account for 13% of arterial supply in sheep (Kristensen et al., 2000). Interestingly, the 2 studies that included fasting treatments, both in sheep (Katz and Bergman, 1969; Heitmann and Fernandez, 1986), recorded a similar net PDV uptake of BHBA in fasted animals, averaging $0.15 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}$ of BW^{-1} . This is consistent with a preferential PDV use of BHBA during fasting. To conclude, variation in BHBA NPA is mainly affected by intake, whereas RfOM intake appears the most relevant predictor. However, we obtained no valid unique predictive model for both sheep and cattle, and the models were less adjusted than for VFA, reflecting the fact that BHBA is primarily derived not from digestion but from PDV metabolism, contrary to VFA or glucose.

NPA of Glucose

In the present work, dOM intake, SIdS intake, and percentage of concentrate were tested for their ability to predict variations in glucose NPA. No significant model was obtained with dOM intake, confirming preliminary results obtained by Bermingham et al. (2008) using a more restricted data set. The amount of starch digested in the small intestine, which takes into account between-diet differences in site and extent of starch digestion, was the best predictor of variations in glucose NPA. This confirms the relevance of the Offner and Sauvant (2004) model to predict the amount of starch apparently digested in vivo in the small intestine, 43% of which was recovered net in the portal vein, as indicated by the slope. This is consistent with the 25 to 51% net portal recovery of glucose after starch infusion into the abomasum or duodenum (Reynolds et al., 2001). This reduced level of recovery is probably due to increased utilization of arterial glucose subsequent to an increase in glycemia. However, even when arterial glucose utilization by PDV was taken into account, the starch apparently digested in the small intestine was still not fully recovered in the portal vein. This may be partly due to metabolism of glucose within the small intestine to supply glycerol for the absorption of long-chain fatty acids, as suggested by Reynolds et al. (1988a). It may also be

partly due to residual microbial fermentation of glucose after hydrolysis of starch in the small intestine, as suggested by Larsen and Kristensen (2007).

Baseline PDV utilization of arterial glucose, which appeared in the negative intercept obtained with RdS intake ($0.110 \text{ mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg of BW}^{-1}$), was similar to the mean net portal uptake of glucose calculated with starch-free diets ($\mu = 0.123 \text{ mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg of BW}^{-1}$; $nt = 87$; $SEM = 0.008$) that nevertheless presented a high variability, ranging from $0.1 \text{ mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg of BW}^{-1}$ to $0.3 \text{ mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg of BW}^{-1}$. The only variable that was found to significantly explain this interstudy variability was intake level (particularly RdNDF intake). The negative slope between RdNDF intake and net portal flux of glucose may reflect an increase in glucose utilization by the PDV induced by an increase in digesta mass as discussed in a previous study (Loncke et al., 2007).

NPA of Lactate

All of the 6 explanatory variables tested (i.e., dOM intake, RfOM intake, RdS intake, RdNDF intake, SIdS intake, and percentage of concentrate) were significantly related to lactate NPA. In absence of any species effect on overall intercept and slope, RdS intake appeared to be a useful predictor of variations in lactate NPA in animals fed diets containing starch. Interestingly, the NPA (and arteriovenous differences) of C3 appeared significantly and positively related to NPA (and arteriovenous differences) of lactate, which was not the case for glucose. Although this does not demonstrate an actual contribution of C3 to lactate NPA, this result is consistent with the fact that the net portal release of lactate is mainly driven by stomach tissues (Reynolds et al., 1988a; Rémond et al., 2003). The factors of variation in lactate NPA remain unclear. Although Bermingham et al. (2008) found no clear effect of DMI, all of the predictors identified in the present work were related to intake, strongly suggesting an interaction between intake and nature of the diet. However, the models obtained are less adjusted than for VFA or glucose, again reflecting the fact that lactate is not directly derived from digestion but from PDV metabolism.

Conclusion and Perspectives

The objective of the present study was to establish response equations for the NPA of energy-yielding nutrients in relation to combined changes in intake and diet composition in ruminants. We showed that with detailed knowledge of the chemical composition of the diets and the site and extent of digestion, although estimated from INRA Feed Tables (INRA,

2007), we were able to generate generic models for both cattle and sheep, with few interfering factors and few outliers.

Even though all the models included a significant experiment effect, the lack of interfering factors on residuals, individual slopes, and LSMeans indicated that they could not be improved by including additional factors, suggesting that the best models were built using the most generic driving variables on X . The accuracy of these empirical models was clearly similar to the variability inherent to NPA measurements. Given that certain experimental groups presented a significantly different individual intercept from the overall intercept ($\alpha_i \neq 0$), and that LSMeans highlighted some species and physiological stage effects, the predictive ability of these models remains to be fully demonstrated. This is a key issue for further work. Robust, consistent models were obtained for the NPA of total VFA and glucose and for the molar proportions of individual VFA in the net portal flux in absence of large fermentative deviations, or in absence of incorporation of additives in the rations. Although the source data for establishing these models presented a wide range of intake levels and diet compositions, additional data are needed at high intake levels for lactating ruminants and for high-concentrate diets. Improvements in the empirical prediction of absorbed VFA will be obtained by comparing production rates and concentrations of VFA in the rumen and their NPA. Models predicting BHBA and lactate NPA will be improved by further exploring relationships with their tissue precursors and with species differences. The subsequent challenge will be to establish predictive models of the exchange (and use) of these nutrients between (and by) tissues. This research improves our understanding of biological processes and represents the first step toward developing new tools for dietary formulation.

LITERATURE CITED

- Archimède, H., D. Sauvant, and P. Schmidely. 1997. Quantitative review of ruminal and total tract digestion of mixed diet organic matter and carbohydrates. *Reprod. Nutr. Dev.* 37:173-189.
- Baird, G. D., M. A. Lomax, H. W. Symonds, and S. R. Shaw. 1980. Net hepatic and splanchnic metabolism of lactate, pyruvate and propionate in dairy cows in vivo in relation to lactation and nutrient supply. *Biochem. J.* 186:47-57.
- Baldwin, R. L., and L. J. Koong. 1977. Dynamic model of ruminant digestion for evaluation of factors affecting nutritive value. *Agricultural Systems* 2:255-288.

- Bergman, E. N., and J. E. Wolff. 1971. Metabolism of volatile fatty acids by liver and portal-drained viscera in sheep. *Am. J. Physiol.* 221:586-592.
- Bermingham, E. N., P. Nozière, J. Vernet, H. Lapierre, S. Léger, D. Sauvant, and I. Ortigues-Marty. 2008. The relationships between intake and net portal fluxes of energy metabolites in ruminants: A meta-analysis. *Anim. Feed Sci. Technol.* 143:27-58.
- Bohnert, D. W., B. T. Larson, S. J. Lewis, C. J. Richards, K. C. Swanson, D. L. Harmon, and G. E. Mitchell Jr. 1999. Net nutrient flux in visceral tissues of lambs fed diets differing in supplemental nitrogen source. *J. Anim. Sci.* 77:2545-2553.
- Brody, S. 1964. Basal energy and protein metabolism in relation to body weight in mature animals of different species. Pages 352-398 in *Bioenergetics and Growth*. Hafner Publ. Co., New York.
- Burrin, D. G., C. L. Ferrell, J. H. Eisemann, and R. A. Britton. 1991. Level of nutrition and splanchnic metabolite flux in young lambs. *J. Anim. Sci.* 69:1082-1091.
- Chesson, A. 2000. Feed evaluation for animal production. Pages 11-34 in *Feeding Systems and Feed Evaluation Models*. M. K. Theodorou and J. France, ed. CABI Publishing, London.
- Danfaer, A. 1990. A dynamic model of nutrient digestion and metabolism in lactating dairy cows. PhD Diss. National Institute of Animal Science, Foulum, Denmark.
- Danfaer, A. 1994. Nutrient metabolism and utilization in the liver. *Livest. Prod. Sci.* 39:115-127.
- Del Sole, M. J., M. I. Recavarren, and G. D. Milano. 2004. Splanchnic energy expenditure and net nutrient flux in sheep fed diets with varying concentrate: Forage ratios. *J. Anim. Feed Sci.* 13:307-310.
- DeVisser, H., H. Valk, A. Klop, J. VanderMeulen, J. G. M. Bakker, and G. B. Huntington. 1997. Nutrient fluxes in splanchnic tissue of dairy cows: Influence of grass quality. *J. Dairy Sci.* 80:1666-1673.
- Dijkstra, J., E. Kebreab, J. A. N. Mills, W. F. Pellikaan, S. Lopez, A. Bannink, and J. France. 2007. Predicting the profile of nutrients available for absorption: From nutrient requirement to animal response and environmental impact. *Animal* 1:99-111.
- Dijkstra, J., H. Neal, D. E. Beever, and J. France. 1992. Simulation of nutrient digestion, absorption and outflow in the rumen - model description. *J. Nutr.* 122:2239-2256.
- Doreau, M., and A. Ferlay. 1994. Digestion and utilization of fatty-acids by ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* 45:379-396.

- Eisemann, J. H., G. B. Huntington, and D. R. Catherman. 1996. Patterns of nutrient interchange and oxygen use among portal-drained viscera, liver and hindquarters of beef steers from 235 to 525 kg body weight. *J. Anim. Sci.* 74:1812-1831.
- Eisemann, J. H., and J. A. Nienaber. 1990. Tissue and whole-body oxygen uptake in fed and fasted steers. *Br. J. Nutr.* 64:399-411.
- Ferrell, C. L., H. C. Freetly, A. L. Goetsch, and K. K. Kreikemeier. 2001. The effect of dietary nitrogen and protein on feed intake, nutrient digestibility, and nitrogen flux across the portal-drained viscera and liver of sheep consuming high-concentrate diets *ad libitum*. *J. Anim. Sci.* 79:1322-1328.
- France, J., M. K. Theodorou, R. S. Lowman, and D. E. Beever. 2000. Feed evaluation for animal production. Pages 1-9 in *Feeding systems and feed evaluation models*. M. K. Theodorou and J. France, ed. CABI Publishing, London.
- Freetly, H. C., and L. V. Cundiff. 1998. Reproductive performance, calf growth, and milk production of first-calf heifers sired by seven breeds and raised on different levels of nutrition. *J. Anim. Sci.* 76:1513-1522.
- Freetly, H. C., J. R. Knapp, C. C. Calvert, and R. L. Baldwin. 1993. Development of a mechanistic model of liver-metabolism in the lactating cow. *Agric. Syst.* 41:157-195.
- Goetsch, A. L., and C. L. Ferrell. 1995. Effect of dietary maize level on net flux across splanchnic tissues of oxygen and nutrients in wethers consuming *ad-libitum* different forages. *Anim. Sci.* 61:43-55.
- Goetsch, A. L., C. L. Ferrell, and H. C. Freetly. 1994. Effect of different supplements on splanchnic oxygen consumption and net fluxes of nutrients in sheep consuming brome grass (*Bromus inermis*) hay *ad libitum*. *Br. J. Nutr.* 72:701-712.
- Goetsch, A. L., A. R. Patil, Z. S. Wang, K. K. Park, D. L. Galloway, J. E. Rossi, and B. Kouakou. 1997. Net flux of nutrients across splanchnic tissues in wethers consuming grass hay with or without corn and alfalfa. *Anim. Feed Sci. Technol.* 66:271-282.
- Gross, K. L., D. L. Harmon, and T. B. Avery. 1988. Net portal nutrient flux in steers fed diets containing wheat and sorghum grain alone or in combination. *J. Anim. Sci.* 66:543-551.
- Han, X. T., P. Nozière, D. Rémond, J. Chabrot, and M. Doreau. 2002. Effects of nutrient supply and dietary bulk on O₂ uptake and nutrient net fluxes across rumen, mesenteric- and portal-drained viscera in ewes. *J. Anim. Sci.* 80:1362-1374.

- Hanigan, M. D., C. K. Reynolds, D. J. Humphries, B. Lupoli, and J. D. Sutton. 2004. A model of net amino acid absorption and utilization by the portal-drained viscera of the lactating dairy cow. *J. Dairy Sci.* 87:4247-4268.
- Harmon, D. L., T. B. Avery, G. B. Huntington, and P. J. Reynolds. 1988. Influence of ionophore addition to roughage and high-concentrate diets on portal blood flow and net nutrient flux in cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 68:419-429.
- Heitmann, R. N., and J. M. Fernandez. 1986. Autoregulation of alimentary and hepatic ketogenesis in sheep. *J. Dairy Sci.* 69:1270-1281.
- Heitmann, R. N., S. C. Sensenig, C. K. Reynolds, J. M. Fernandez, and D. J. Dawes. 1986. Changes in energy metabolite and regulatory hormone concentrations and net fluxes across splanchnic and peripheral tissues in fed and progressively fasted ewes. *J. Nutr.* 116:2516-2524.
- Huntington, G. B. 1983a. Feedlot performance, blood metabolic profile and calcium status of steers fed high concentrate diets containing several levels of calcium. *J. Anim. Sci.* 56:1003-1011.
- Huntington, G. B. 1983b. Net nutrient absorption in beef steers fed silage or high concentrate diets containing four levels of limestone. *J. Nutr.* 113:1157-1164.
- Huntington, G. B. 1999. Nutrient metabolism by gastrointestinal tissues of herbivores. Pages 312-336 in *Nutritional Ecology of Herbivores*. H. J. G. Jung and G. C. Fahey, ed. Amer. Soc. Anim. Sci., Savoy, IL.
- Huntington, G. B., and R. L. Prior. 1983. Digestion and absorption of nutrients by beef heifers fed a high concentrate diet. *J. Nutr.* 113:2280-2288.
- Huntington, G. B., R. L. Prior, and R. A. Britton. 1980. Glucose and lactate absorption and metabolic interrelationships in lambs switched from low to high concentrate diets. *J. Nutr.* 110:1904-1913.
- Huntington, G. B., and C. K. Reynolds. 1986. Net absorption of glucose, L-lactate, volatile fatty acids, and nitrogenous compounds by bovine given abomasal infusions of starch or glucose. *J. Dairy Sci.* 69:2428-2436.
- Huntington, G. B., and P. J. Reynolds. 1983. Net volatile fatty acid absorpton in nonlactating holstein cows. *J. Dairy Sci.* 66:86-92.
- Huntington, G. B., P. J. Reynolds, and H. F. Tyrrell. 1983. Net absorption and ruminal concentrations of metabolites in nonpregnant dry Holstein cows before and after intraruminal acetic acid infusion. *J. Dairy Sci.* 66:1901-1908.

- Huntington, G. B., G. A. Varga, B. P. Glenn, and D. R. Waldo. 1988. Net absorption and oxygen consumption by Holstein steers fed alfalfa or orchardgrass silage at two equalized intakes. *J. Anim. Sci.* 66:1292-1302.
- Huntington, G. B., E. J. Zetina, J. M. Whitt, and W. Potts. 1996. Effects of dietary concentrate level on nutrient absorption, liver metabolism, and urea kinetics of beef steers fed isonitrogenous and isoenergetic diets. *J. Anim. Sci.* 74:908-916.
- INRA. 2007. Alimentation des bovins, ovins et caprins - besoins des animaux - valeurs des aliments - tables Inra 2007, Quae, Versailles, France
- Katz, M. L., and E. N. Bergman. 1969. Hepatic and portal metabolism of glucose, free fatty acids, and ketone bodies in the sheep. *Am. J. Physiol.* 216:953-960.
- Krehbiel, C. R., R. A. Britton, D. L. Harmon, J. P. Peters, R. A. Stock, and H. E. Grotjan. 1996. Effects of varying levels of duodenal or midjejunal glucose and 2-deoxyglucose infusion on small intestinal disappearance and net portal glucose flux in steers. *J. Anim. Sci.* 74:693-700.
- Krehbiel, C. R., C. L. Ferrell, and H. C. Freetly. 1998. Effects of frequency of supplementation on dry matter intake and net portal and hepatic flux of nutrients in mature ewes that consume low-quality forage. *J. Anim. Sci.* 76:2464-2473.
- Krehbiel, C. R., R. A. Stock, D. W. Herold, D. H. Shain, G. A. Ham, and J. E. Carulla. 1995. Feeding wet corn gluten feed to reduce subacute acidosis in cattle. *J. Anim. Sci.* 73:2931-2939.
- Kreikemeier, K. K., and D. L. Harmon. 1995. Abomasal glucose, maize starch and maize dextrin infusions in cattle - small-intestinal disappearance, net portal glucose flux and ileal oligosaccharide flow. *Br. J. Nutr.* 73:763-772.
- Kreikemeier, K. K., D. L. Harmon, R. T. J. Brandt, T. B. Avery, and D. E. Johnson. 1991. Small intestinal starch digestion in steers: Effect of various levels of abomasal glucose, corn starch and corn dextrin infusion on small intestinal disappearance and net glucose absorption. *J. Anim. Sci.* 69:328-338.
- Kristensen, N. B. 2005. Splanchnic metabolism of volatile fatty acids in the dairy cow. *Anim. Sci.* 80:2-9.
- Kristensen, N. B., A. Danfaer, and N. Agergaard. 1996a. Diurnal patterns of ruminal concentrations and portal appearance rates of short-chain fatty acids in sheep fed a hay or a concentrate/straw diet in two meals daily. *Acta Agric. Scand. Sect. A Anim. Sci.* 46:227-238.

- Kristensen, N. B., A. Danfaer, V. Tetens, and N. Agergaard. 1996b. Portal recovery of intraruminally infused short-chain fatty acids in sheep. *Acta Agric. Scand. Sect. A Anim. Sci.* 46:26-38.
- Kristensen, N. B., S. G. Pierzynowski, and A. Danfaer. 2000. Portal-drained visceral metabolism of 3-hydroxybutyrate in sheep. *J. Anim. Sci.* 78:2223-2228.
- Lapierre, H., C. K. Reynolds, T. H. Elsasser, P. Gaudreau, P. Brazeau, and H. F. Tyrrell. 1992. Effects of growth hormone-releasing factor and feed-intake on energy-metabolism in growing beef steers - net hormone metabolism by portal-drained viscera and liver. *J. Anim. Sci.* 70:742-751.
- Larsen, M., and N. B. Kristensen. 2007. Effect of abomasal glucose infusion on splanchnic glucose metabolism in freshening dairy cows. Pages 339-340 in *Proc. 2nd Int. Symposium on Energy and Protein Metabolism and Nutrition*, Vichy, France.
- Leng, R. A., J. W. Steel, and J. R. Luick. 1967. Contribution of propionate to glucose synthesis in sheep. *Biochem. J.* 103:785-790.
- Lescoat, P., and D. Sauvant. 1995. Development of a mechanistic model for rumen digestion validated using the duodenal flux of amino acids. *Reprod. Nutr. Dev.* 35:45-70.
- Lindsay, D. B. 1993. Making the sums add up - the importance of quantification in nutrition. *Aust. J. Agric. Res.* 44:479-493.
- Linington, M. J., J. H. F. Meyer, and J. G. van der Walt. 1998. Ruminal vfa production rates, whole body metabolite kinetics and blood hormone concentrations in sheep fed high- and low-fibre diets. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 28:82-98.
- Loncke, C., I. Ortigues-Marty, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant, and P. Nozière. 2007. Assessment of duodenal starch as a predictor of portal absorption of glucose in ruminants. Pages 575-576 in *Proc. 2nd Int. Symposium on Energy and Protein Metabolism and Nutrition*, Vichy, France.
- Lozano, O., C. B. Theurer, A. Alio, J. T. Huber, A. Delgado-Elorduy, P. Cuneo, D. DeYoung, M. Sadik, and R. S. Swingle. 2000. Net absorption and hepatic metabolism of glucose, L-lactate, and volatile fatty acids by steers fed diets containing sorghum grain processed as dry-rolled or steam-flaked at different densities. *J. Anim. Sci.* 78:1364-1371.
- Lush, J. M., J. M. Gooden, and E. F. Annison. 1991. The net portal absorption of metabolites and the oxygen consumption of the portal-drained viscera in merino sheep. Page 145 in *Proc. 16th Annual Scientific Meeting Nutrition Society of Australia*, Canberra, A.C.T., Australia

- Majdoub, L., M. Vermorel, and I. Ortigues-Marty. 2003. Ryegrass-based diet and barley supplementation: Partition of energy-yielding nutrients among splanchnic tissues and hind limbs in finishing lambs. *J. Anim. Sci.* 81:1068-1079.
- Maltby, S. A., M. A. Lomax, D. E. Beever, and C. J. Pippard. 1992. The effect of increased ammonia and amino acid supply on post prandial portal-drained viscera and hepatic metabolism in growing steers fed maize silage. Pages 20-22 in *Proc. 12th Symposium on Energy Metabolism of Farm Animals*, Zurich, Switzerland.
- Nozière, P., and T. Hoch. 2005. Modelling fluxes of volatile fatty acids from rumen to portal blood. Pages 40-47 in *Nutrient digestion and utilization in farm animals: Modelling approaches*. E. Kebreab, J. Dijkstra, A. Bannink, W. J. J. Gerrits and J. France, ed. CABI, Cambridge.
- Nozière, P., C. Martin, D. Rémond, N. B. Kristensen, R. Bernard, and M. Doreau. 2000a. Effect of composition of ruminally-infused short-chain fatty acids on net fluxes of nutrients across portal-drained viscera in underfed ewes. *Br. J. Nutr.* 83:521-531.
- Nozière, P., D. Rémond, L. Bernard, and M. Doreau. 2000b. Effect of underfeeding on metabolism of portal-drained viscera in ewes. *Br. J. Nutr.* 84:821-828.
- Offner, A., and D. Sauvant. 2004. Prediction of in vivo starch digestion in cattle from in situ data. *Anim. Feed Sci. Technol.* 111:41-56.
- Ortigues, I., A. L. Visseiche, and D. Durand. 1994. Adaptation to undernutrition in ewes: Net nutrient fluxes across the portal drained viscera, the liver and the hindquarters. Page 89 in *Proc. 13th Symposium on Energy Metabolism of Farm Animals*, Granada, Spain.
- Patil, A. R., A. L. Goetsch, K. K. Park, B. Kouakou, D. L. Galloway, and Z. B. Johnson. 1995a. Influence of grass source on net flux of nutrients across splanchnic tissues in sheep with restricted intake. *Arch. Anim. Nutr.* 48:257-269.
- Patil, A. R., A. L. Goetsch, K. K. Park, B. Kouakou, D. L. Galloway, C. P. West, and Z. B. Johnson. 1995b. Net flux of nutrients across splanchnic tissues in sheep fed tropical vs temperate grass hay of moderate or low qualities. *Livest. Prod. Sci.* 43:49-61.
- Rémond, D., L. Bernard, B. Chauveau, P. Nozière, and C. Poncet. 2003. Digestion and nutrient net fluxes across the rumen, and the mesenteric- and portal-drained viscera in sheep fed with fresh forage twice daily: Net balance and dynamic aspects. *Br. J. Nutr.* 89:649-666.

- Reynolds, C. K. 2000. Feed evaluation for animal production. Pages 87-108 in Feeding systems and feed evaluation models. M. K. Theodorou and J. France, ed. CABI Publishing, London.
- Reynolds, C. K., S. B. Cammell, D. J. Humphries, D. E. Beever, J. D. Sutton, and J. R. Newbold. 2001. Effects of postrumen starch infusion on milk production and energy metabolism in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84:2250-2259.
- Reynolds, C. K., and G. B. Huntington. 1988a. Partition of portal-drained visceral net flux in beef steers. 2. Net flux of volatile fatty acids, D-beta-hydroxybutyrate and L-lactate across stomach and post-stomach tissues. *Br. J. Nutr.* 60:553-562.
- Reynolds, P. J., and G. B. Huntington. 1988b. Net portal absorption of volatile fatty acids and L-lactate by lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 71:124-133.
- Reynolds, C. K., G. B. Huntington, H. F. Tyrrell, and P. J. Reynolds. 1988a. Net portal-drained visceral and hepatic metabolism of glucose, L-lactate and nitrogenous compounds in lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 71:1803-1812.
- Reynolds, C. K., G. B. Huntington, H. F. Tyrrell, and P. J. Reynolds. 1988b. Net metabolism of volatile fatty acids, D-beta-hydroxybutyrate, nonesterified fatty acids, and blood gasses by portal-drained viscera and liver of lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 71:2395-2405.
- Reynolds, C. K., and H. F. Tyrrell. 1991. Effects of mesenteric vein L-alanine infusion on liver metabolism in beef heifers fed on diets differing in forage - concentrate ratio. *Br. J. Nutr.* 66: 437-450.
- Reynolds, C. K., H. F. Tyrrell, and P. J. Reynolds. 1991. Effects of diet forage-to-concentrate ratio and intake on energy metabolism in growing beef heifers: Net nutrient metabolism by visceral tissues. *J. Nutr.* 121:1004-1015.
- Sauvant, D. 2003. Modélisation des effets des interactions entre aliments sur les flux digestifs et métaboliques chez les bovins. *Renc. Rech. Rum.* 10:151-158.
- Sauvant, D., C. Assoumaya, S. Giger-Reverdin, and H. Archimède. 2006a. Etude comparative du mode d'expression du niveau d'alimentation chez les ruminants. *Renc. Rech. Rum.* 13:103.
- Sauvant, D., P. Chapoutot, and P. Schmidely. 2008a. Calcul de la digestibilité des parois des aliments concentrés et co-produits par les ruminants. *Renc. Rech. Rum.* 15:(in press).
- Sauvant, D., S. Giger-Reverdin, and F. Meschy. 2006b. Le contrôle de l'acidose ruminale latente. *INRA Prod. Anim.* 19:69-78.

- Sauvant, D., P. Schmidely, and J. J. Daudin. 2005. Les méta-analyses des données expérimentales : applications en nutrition animale. *INRA Prod. Anim.* 18:63-73.
- Sauvant, D., P. Schmidely, J. J. Daudin, and N. R. St-Pierre. 2008b. Meta-analyses of experimental data in animal nutrition. *Animal* 2:1203-1214.
- Seal, C. J., D. S. Parker, and D. P. J. Avery. 1992. The effect of forage and forage concentrate diets on rumen fermentation and metabolism of nutrients by the mesenteric-drained and portal-drained viscera in growing steers. *Br. J. Nutr.* 67:355-370.
- Vermorel, M., and J. B. Coulon. 1998. Comparison of the National Research Council energy system for lactating cows with four European systems. *J. Dairy Sci.* 81:846-855.
- Vernet, J., H. Lapierre, P. Nozière, S. Léger, D. Sauvant, and I. Ortigues-Marty. 2005. Prediction of blood nutrient supply to issues of economical interest in ruminants: A first step with the prediction of portal blood flow. Pages 163-173 in *Proc. 1st Open International Conference on Modelling and Simulation*, Clermont Ferrand, France.
- Vernet, J., and I. Ortigues-Marty. 2006. Conception and development of a bibliographic database of blood nutrient fluxes across organs and tissues in ruminants: Data gathering and management prior to meta-analysis. *Reprod. Nutr. Dev.* 46:527-546.
- Waghorn, G. C. 1982. Modeling analyses of bovine mammary and liver metabolism. PhD Diss. Univ. California, Davis.
- Weekes, T. E. C., and A. J. F. Webster. 1975. Metabolism of propionate in the tissues of the sheep gut. *Br. J. Nutr.* 33:425-438.
- Weigand, E., J. W. Young, and A. D. McGilliard. 1975. Volatile fatty acid metabolism by rumen mucosa from cattle fed hay or grain. *J. Dairy Sci.* 58:1294-1300.
- Wieghart, M., R. Slepetis, J. M. Elliot, and D. F. Smith. 1986. Glucose absorption and hepatic gluconeogenesis in dairy cows fed diets varying in forage content. *J. Nutr.* 116:839-850.

Communication n°1 :

*Capacité du système PDI à prédire les quantités d'azote alpha-aminé absorbées
en veine porte chez les ruminants*

**Communication présentée lors du congrès annuel Rencontre autour des Recherches sur
les Ruminants, Paris, 2008.**

Capacité du système PDI à prédire les quantités d'azote alpha-aminé absorbées en veine porte chez les ruminants

Capacity of the PDI system to predict the amount of absorbed alpha-amino nitrogen in the portal vein in ruminants

C. Loncke¹, I. Ortigues-Marty¹, J. Vernet¹, H. Lapierre², D. Sauvant³, P. Nozière¹

¹INRA, UR 1213, Theix, France, ²Agriculture and Agri-Food Canada, Sherbrooke, QC, Canada, ³INRA-AgroParisTech, UMR 791 Paris, France.

INTRODUCTION

La compréhension et la prédiction des réponses animales aux pratiques alimentaires nécessitent de connaître les quantités et la nature des nutriments mis à disposition puis utilisés par l'animal. Ainsi, l'apparition nette en veine porte (ANP) des principaux nutriments énergétiques a pu être prédite avec le système INRA (2007) d'évaluation des aliments pour ruminants (Loncke et al., 2008). Lapierre et al. (2007) ont montré que la quantité d'azote alpha aminé (N- α A) apparaissant en veine porte pouvait être prédite à partir des quantités d'azote ingéré, mais que les relations pourraient différer selon les espèces (Ovins vs. Bovins), effet cependant confondu avec des caractéristiques des rations. L'objectif de ce travail est d'évaluer la capacité du système PDI (protéines digestibles dans l'intestin, INRA 2007) à prédire la quantité d'N- α A apparaissant en veine porte.

MATERIEL ET METHODES

Ce travail a été réalisé par méta-analyses (Sauvant et al., 2005) à partir de la base de données FLORA (Vernet et Ortigues-Marty, 2006), qui regroupe les données publiées sur les flux splanchniques de nutriments chez les ruminants. Les publications sélectionnées étaient celles présentant des variations de composition du régime et de niveau alimentaire et rapportant l'ANP de N- α A. Les quantités d'azote ingérées sous forme de PDIN (PDINI), de PDIE (PDIEI) et d'azote total (NI) ont été définies à partir des Tables INRA 2007. Un modèle de variance-covariance intégrant l'effet expérience hiérarchisé dans l'espèce animale, et l'interaction entre l'espèce et la variable explicative testée (GLM model, Minitab), a été utilisé pour prédire l'effet d'une augmentation d'azote sous forme de PDIEI, PDINI et NI sur l'ANP d'N- α A. Les équations ont été établies à partir des études présentant des variations supérieures à 0,08 g N/j/kg PV. La cohérence physiologique des résultats a été testée en étudiant l'effet d'infusions de protéines dans la caillette sur l'ANP de N- α A.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les données disponibles dans la littérature ont été obtenues avec des ruminants en gestation (3%), lactation (5%), à l'entretien (43%) ou en croissance (49%) recevant des niveaux d'alimentation compris entre 0 et 42 g MSI/j/kg PV (22 ± 7) et entre 0 et 1,20 g NI/j/kg PV ($0,46 \pm 0,2$). La composition des rations variait entre 0 et 100% de concentré (36 ± 37), 45 et 220 g MAT/kg MS (134 ± 32), 27 et 116 g PDI / kg MS (86 ± 19) avec un déséquilibre (PDIN-PDIE) compris entre -58 et +92 g PDI /UF ($-4,4 \pm 22$), dont 95% des valeurs se trouvaient entre -20 et 20 g PDI /UF, compatibles avec une synthèse microbienne et une digestibilité de la ration satisfaisantes.

Les résultats montrent qu'il est possible de prédire avec une précision satisfaisante les variations intra-expérience de l'ANP de N- α A à partir des quantités de PDI ingérées (Tableau 1). Aucun effet espèce n'est observé sur les pentes. Les pentes et les résidus apparaissent indépendants d'autres caractéristiques des rations. Par contre, pour une quantité ingérée moyenne de PDI ou d'N, l'ANP de N- α A (LSMeans) varie avec le stade physiologique des animaux : elle diminue lorsque les besoins des animaux augmentent ($P = 0,04$).

Tableau 1 Equations de réponse de l'ANP de N- α A (g N/j/kg PV) aux variations de PDIE, PDIN, N ingérés, et N infusé (N_{inf}) (g N/j/kg PV)

X	n	nt	α (ET)	Espèce ¹	Pente (ET)	R ²	Syx
PDIEI	35	76	$-0,030^{\dagger}$ (0,016)	**	$0,570^{***}$ (0,046)	0,88	0,026
PDINI	25	51	$-0,016^{ns}$ (0,013)	***	$0,517^{***}$ (0,050)	0,87	0,030
N_{inf}	5	13	$0,109^{***}$ (0,009)	-	$0,622^{**}$ (0,108)	0,88	0,025
NI	36	76	$-0,020^{ns}$ (0,016)	***	$0,359^{***}$ (0,031)	0,86	0,029

n, nt : nombre d'études, de traitements; α : ordonnée à l'origine ; ¹effet espèce sur α ; ^{ns} $P > 0,1$; [†] $P < 0,1$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$

La comparaison des R² et des Syx montre que le modèle obtenu avec PDIEI est légèrement mieux ajusté. Ceci est cohérent avec l'absence de traitements en fort déficit d'azote fermentescible. La pente de ce modèle suggère que 57% de l'azote ingéré sous forme de PDIE se retrouve en veine porte sous forme de N- α A, soit 77% sous forme d'N-acides aminés (Martineau et al., 2008). Ce résultat est cohérent avec la pente du modèle infusion qui suggère que 62% de l'N protéique infusé est retrouvé en veine porte sous forme de N- α A. Le modèle obtenu avec PDIEI présente un effet espèce sur les ordonnées à l'origine plus faible que le modèle NI obtenu avec le même jeu de données ($\Delta\alpha_{bovins} = -0,009$ vs $-0,028$ respectivement).

De plus, une étude complémentaire (résultats non inclus) montre que le modèle n'est pas influencé par l'origine des variations de PDIE ingérées (niveau azoté, équilibre PDIA vs PDIM).

CONCLUSION

Ces résultats mettent en évidence la pertinence du système PDI pour prédire les quantités d' $N-\alpha A$ absorbées en veine porte lors de déséquilibres modérés entre PDIN et PDIE. Ils suggèrent qu'en moyenne 77 % de l' N des PDI apparaît en veine porte sous forme d' N -acides aminés.

Remerciements à Limagrain et INZO pour le soutien financier

REFERENCES

- INRA. 2007. Alimentation des bovins, ovins et caprins—besoins des animaux—valeurs des aliments—tables INRA 2007. Quae, Versailles, France.
- Lapierre, H., Vernet, J., Martineau, R., Sauvant, D., Nozière, P., Ortigues-Marty, I., 2007, Portal absorption of N: partition between amino acids and ammonia in relation with nitrogen intake in ruminants, Pages 579-580 in EAAP Publ. No. 124. I. Ortigues-Marty, ed. Wageningen Academic Publ., Wageningen, the Netherlands.
- Loncke, C., I. Ortigues-Marty, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant and P. Nozière, 2008, Empirical prediction of net portal appearance of volatile fatty acids, glucose, and their secondary metabolites (β -hydroxybutyrate, lactate) from dietary characteristics in ruminants: A meta-analysis approach, J. Anim. Sci., soumis.
- Martineau, R., Ortigues-Marty, I., Vernet, J., Lapierre, H., 2008, Measurements of net portal flux of nitrogen (N) compounds in ruminants : first step of a meta-analysis, Annual meeting ASDS, Indianapolis, soumis
- Sauvant, D., Schmidely, P., Daudin, J. J., 2005, Les méta-analyses des données expérimentales: Applications en nutrition animale. INRA Prod. Anim. 18:63–73.
- Vernet, J., and I. Ortigues-Marty. 2006. Conception and development of a bibliographic database of blood nutrient fluxes across organs and tissues in ruminants: Data gathering and management prior to meta-analysis. Reprod. Nutr. Dev. 46:527–546

Communication n°2

*Prédiction empirique de la consommation d'oxygène
des tissus drainés par la veine : Approche par méta-analyse*

**Communication présentée lors du congrès international Joint Annual Meeting ASAS
ADSA CSAS, Montréal, Canada, 2009.**

Empirical prediction of oxygen consumption by portal-drained viscera in ruminants: Meta-analysis approach



C. Loncke¹, I. Ortigues-Marty¹, S. Amblard², J. Vernet¹, S. Léger², H. Lapierre³, D. Sauvant⁴, P. Nozière¹

¹ URH, INRA Theix, France; ² Univ. Clermont Ferrand, France; ³ AAC, Canada; ⁴ UMR PNA, INRA AgroParisTech, France

Introduction

Energy costs of digestion and metabolism of gastro intestinal tract is currently determined by measuring blood flow through portal-drained viscera and arterio-venous differences in O₂ concentration in ruminants. This energy cost is high, accounting for about 20% of energy lost as heat by the whole animal.

In order to better estimate supplied energy to the animals for production, it is necessary to better quantify the influence of diet on the oxygen consumption of the digestive tract of the animals.

Objectives

This work aims to predict oxygen (O₂) consumption by portal drained viscera (PDV) in relation with changes in intake and dietary composition in ruminants by meta analysis.

Materials and methods

♦ **Meta-analyse on published data** (Sauvant *et al.*, 2008)
 – FLORA database on net splanchnic fluxes of nutrients (Vernet and Ortigues-Marty, 2006).
 – Diets characterized according to INRA Feed Tables (2007).

♦ **Search for the best predictor of PDV O₂ consumption** :
 – Potential predictors considered : intake and dietary concentration of DM, ME, NDF and CP.
 – Accounting for potential species effects

♦ **Variance covariance model** :
 $O_2 \text{ NPA (mmol/h/kg BW)} = f^0 [\exp(\text{species}), \text{species}, X, X^* \text{species}]$

♦ **Comparison of X : precision and genericity of models**
 – High R²
 – Low RMSE and standard deviation of the slope
 – Independence of individual slopes and residuals from other diet characteristics

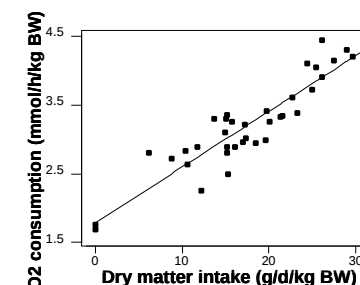
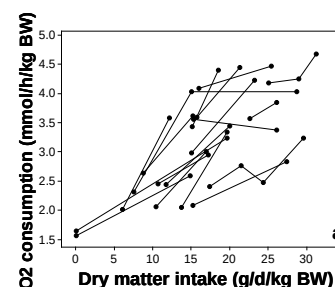
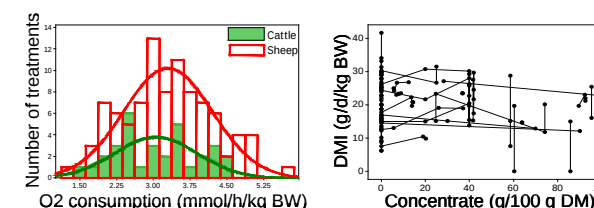
Results and discussion

♦ Meta-design :

- No significant difference of O₂ consumption between Cattle and Sheep
- Range of validity (intake level, percentage of concentrate) : wide and balanced

♦ Best model :

- Common to both sheep and cattle.
- DMI as sole predictor
- R² adj = 0.78 ; RMSE = 0.4 mmol/h/kg BW
- Adding other variables (ME, NDF and CP) did not significantly improve the model



Within-study relationship between PDV O₂ consumption from dry matter intake : raw data (a) and adjusted model (b)

The present model is the first one which predicts PDV O₂ consumption in both sheep and cattle consuming a large range of diets and intake level. It is consistent with analytical study of Han *et al.* (2002) which suggests digesta mass is a factor of variations of PDV O₂ consumption and with Goetsch's model (1998), which predicts variability in PDV energy use from DE intake (explaining 89% of the variance) and fecal NDF excretion in sheep consuming exclusively forage diets.

Conclusion

This study proposes response equation on PDV O₂ consumption to changes in intake level. It is a part of a larger programme consisting to establish empirical models of NPA of energetic nutrients from dietary characteristics (Loncke *et al.*, 2009a). This work contribute to the evolution of feed evaluation systems from aggregated unit (EM) to nutrients based system for ruminants (Loncke *et al.*, 2009b).

References : Goesch, A.L., 1998, J. Anim. Sc., 76:2737-2746; Han, X.T., Nozière, P., Rémond, D., Chabrot, J., Doreau, M., 2002, J. Anim. Sci., 80:1362-1375; Vernet, J., Ortigues-Marty, I., 2006, 5: 527-546; INRA, Tables INRA 2007, Ed Quae; Reprod. Nutr. Dev.; Loncke, C., Ortigues-Marty, I., Vernet, J., Lapierre, H., Sauvant, D., Nozière, P., 2009a, J. Anim. Sc., 87:253-268; Loncke, C., Ortigues-Marty, I., Vernet, J., Lapierre, H., Sauvant, D., Nozière, P., 2009b, Int. Symp. Mod. Nut., in press.



Agriculture et
Agroalimentaire Canada



Empirical prediction of oxygen consumption by portal-drained viscera in ruminants: Meta-analysis approach

C. Loncke¹, I. Ortigues-Marty¹, S. Amblard^{1,2}, J. Vernet¹, S. Léger², H. Lapierre³, D. Sauvant⁴, P. Nozière¹

¹INRA, UR 1213, Theix, France, ²Laboratoire de Mathématiques, Université de Clermont Ferrand II, Aubière, France, ³Agriculture and Agri-Food Canada, Sherbrooke, QC, Canada, ⁴INRA-AgroParisTech, UMR 791 Paris, France.

In Ruminant nutrition, the evolution of feed evaluation systems towards nutrient-based systems is an important challenge. Net portal appearance of volatile fatty acids, glucose, β -hydroxybutyrate, lactate and α -amino N can be estimated with response equations based on ration intake and composition (Loncke et al., 2008, 2009) characterized according to INRA Feed Tables for Ruminants and derived from a meta-analysis (Sauvant et al., 2008) on the FLORA (FLux of nutrients through Organs and tissues in Ruminant Animals) database (Vernet and Ortigues-Marty, 2006). The present objective was to extend the meta-analysis to oxygen (O₂) consumption by portal drained viscera (PDV) in relation with changes in intake and dietary composition. Data on PDV O₂ consumption in sheep and cattle (n = 38) were selected from FLORA database. Animals of the publications consumed on average 20.2 ± 7.2 g DM/d/kg BW with an average proportion of 25.6 ± 31.7 g concentrate/100g DM. The best adjustment was obtained with a variance covariance model, common to both sheep and cattle, that included only DMI as predictor and a within experiment effect ($R^2 = 0.78$; RMSE = 0.4 mmol/d/kg BW; $P < 0.001$). Adding other parameters such as diet composition (ME, NDF and CP concentration) did not improve significantly the equation. The model showed that an increase of 1g DMI/kg BW/d induces a predicted increase of 0.081 ± 0.013 mmol/kg BW/d of O₂ consumption by the PDV, independently of the nature of diet. It is coherent with the two known factors of variation of PDV O₂ consumption, i.e. physical (digesta mass) and chemical (nutrients) components (Han et al., 2002).

Key words: meta-analysis, portal-drained viscera, O₂ consumption, ruminants

Financial support from INZO and LIMAGRAIN is acknowledged.

REFERENCES:

- Han, X. T., P. Noziere, D. Remond, J. Chabrot, and M. Doreau. 2002. Effects of nutrient supply and dietary bulk on O₂ uptake and nutrient net fluxes across rumen, mesenteric- and portaldrained viscera in ewes. *J. Anim. Sci.* 80:1362–1374.
- Loncke, C., I. Ortigues-Marty, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant and P. Nozière, 2008, Capacité du système PDI à prédire les quantités d'azote alpha-aminé absorbées en veine porte chez les ruminants, *Renc. Rech. Rum.* 15:285.
- Loncke, C., I. Ortigues-Marty, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant and P. Nozière, 2009, Empirical prediction of net portal appearance of volatile fatty acids, glucose, and their secondary metabolites (β -hydroxybutyrate, lactate) from dietary characteristics in ruminants: A meta-analysis approach, *J. Anim. Sci.* 87: 253-268.
- Sauvant, D., P. Schmidely, J. J. Daudin, and N. R. St-Pierre. 2008. Meta-analyses of experimental data in animal nutrition. *Animal* 2:1203–1214.
- Vernet, J., and I. Ortigues-Marty. 2006. Conception and development of a bibliographic database of blood nutrient fluxes across organs and tissues in ruminants: Data gathering and management prior to meta-analysis. *Reprod. Nutr. Dev.* 46:527–546

Communication n°3

De l'énergie métabolisable à l'énergie des nutriments absorbés :

Comparaison quantitative de modèles.

**Communication présentée lors du congrès international 7e Workshop International:
Modelling Nutrient Digestion and Utilization in Farm Animals, Paris, 2009 (Oral).**

Cette étude fera l'objet d'une publication plus élaborée qui sera proposé pour publication dans un numéro spécial d'Animal dédié aux communications du congrès. Cette publication est actuellement en cours d'écriture.

From metabolisable energy to energy of absorbed nutrients: Quantitative comparison of models.

C. Loncke^{1*}, I. Ortigues-Marty¹, J. Vernet¹, H. Lapierre², M. Vermorel¹, D. Sauvant³, P. Nozière¹

¹INRA, UR 1213, Theix, St Genès-Champanelle, France, ²Agriculture and Agri-Food Canada, STN Lennoxville, Sherbrooke, QC, Canada, ³INRA-AgroParisTech, UMR 791 Paris, France.

*christelle.loncke@clermont.inra.fr

INTRODUCTION

Metabolisable energy (ME) is an aggregated unit, whereas feed evaluation systems for ruminants have to evolve toward nutrient-based systems. Empirical models of net portal appearance (NPA) of nutrients and of energy expenditure by the portal drained viscera (PDV-EE) have been established from dietary characteristics (Loncke et al., 2009 a,b). The quantitative coherence between dietary ME defined according to INRA (ME_{INRA}) and the amount of absorbed energy (AE), calculated as the sum of the predicted NPA and PDV-EE is here assessed as well as the difference between those models.

MATERIALS AND METHODS

All publications presenting results on NPA of nutrients were selected out of FLORA database (Vernet & Ortigues-Marty, 2006). All diets were described according to INRA, including their ME_{INRA} content. The amount of AE was defined as "energy supplied by nutrient NPA [acetate, propionate, butyrate, glucose, lactate, beta-hydroxybutyrate, total amino acids] + absorbed fatty acids (FA) + PDV-EE", predicted according to Loncke et al. (2009 a,b). Energy absorbed as FA was estimated from the dietary FA assuming an apparent digestibility of 80%. The difference between ME_{INRA} and AE was assessed. Since urinary energy (UE) contributes to absorbed energy but not heat of fermentation (HF), we first compared by GLM procedure AE to $Y = ME_{INRA} + UE - HF$ with UE and HF calculated from Sauvant & Giger-Reverdin (2007). Second, other factors responsible for this difference were investigated by testing the influence of level intake and dietary characteristics on $\Delta = AE - Y$.

RESULTS AND DISCUSSION

Studies (N=123) corresponding to 209 treatments on cattle and 205 on sheep were selected out of FLORA. Animals ate 18.1 ± 9.7 g DM/d/kg BW (ranging from 0 to 47.5) of diets containing 34 ± 34 g concentrate/100 g DM (ranging from 0 to 100), which indicated a wide range of intakes and diets. The amount of AE (MJ/d/kg BW) was linearly related to Y (MJ/d/kg BW): $Y = -0.04 + 1.38 AE$ ($N_{\text{exp}} = 123$; $N_t = 414$; $R^2_{\text{adj}} = 0.996$; $\text{RMSE} = 0.007$). The slope indicated that the amount of AE was slightly lower than Y. The Δ ranged from -0.13 to 0.03 MJ/d/kg BW. It was negatively correlated to dry matter intake (DMI, g/d/kg BW) and to the proportion of concentrate (conc, g/100 g DM), in a within study relationship: $\Delta = 0.04 - 0.0026 \text{ DMI} - 0.00038 \text{ conc}$ ($R^2_{\text{adj}} = 0.96$; $\text{RMSE} = 0.007$). This suggests that Δ could be partly attributed to digestive interactions (not accounted for in ME_{INRA}). The contribution of other absorbed entities (such as peptides, nucleic acids and aceto-acetate absorbed in portal vein, nutrients deposited in fat tissues of PDV...) could not be evaluated.

CONCLUSION

This work demonstrates that a quantitative coherence exists between models of ME and AE, and that energy systems can evolve towards systems closer to physiological bases, which represents a major step for the development of new tools for dietary formulation in ruminants.

Financial support from INZO and LIMAGRAIN is acknowledged.

REFERENCES

- Loncke, C., I. Ortigues-Marty, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant and P. Nozière, 2009a, Empirical prediction of net portal appearance of volatile fatty acids, glucose, and their secondary metabolites (β -hydroxybutyrate, lactate) from dietary characteristics in ruminants: A meta-analysis approach, *J. Anim. Sci.* 87: 253-268.
- Loncke, C., I. Ortigues-Marty, S. Amblard, J. Vernet, S. Léger, H. Lapierre, D. Sauvant, P. Nozière, 2009b, Empirical prediction of oxygen consumption by portal-drained viscera in ruminants: Meta-analysis approach, *ADSA-CSAS-ASAS Annual Meeting*
- Sauvant, D., S. Giger-Reverdin, 2007, Empirical modelling by meta-analysis of digestive interactions and CH₄ production in ruminants, Pages 575-576 in *EAAP Publ. No. 124*. I. Ortigues-Marty, ed. Wageningen Academic Publ., Wageningen, the Netherlands.
- Vernet, J., and I. Ortigues-Marty. 2006. Conception and development of a bibliographic database of blood nutrient fluxes across organs and tissues in ruminants: Data gathering and management prior to meta-analysis. *Reprod. Nutr. Dev.* 46:527–546

Publication n°2 :

*Prédiction empirique de l'apparition nette en veine porte
des acides gras volatils à partir des caractéristiques
de description des aliments du système NRC*

C. Loncke, I. Ortigues-Marty, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant et P. Nozière

Cet article est actuellement en cours de préparation. La version présentée dans ce manuscrit de thèse devra être revue et complétée en grande partie en vue d'une publication éventuelle qui sera probablement soumise à Animal.

Comparaison de la capacité des systèmes Français (INRA) et Américain (NRC) d'évaluation des aliments à prédire les flux portes: Exemple de la prédiction de l'apparition en veine porte des AGV

Nous avons montré que le système INRA pouvait être utilisé pour prédire, avec une bonne précision, l'apparition nette en veine porte des nutriments énergétiques. En particulier la matière organique fermentescible dans le rumen, la digestibilité ruminale et intestinale de l'amidon ainsi que les protéines digestibles dans l'intestin se sont avérés être des critères physiologiques et génériques, intéressants pour prédire qualitativement et quantitativement les nutriments absorbés en veine porte chez les bovins et les ovins dans des conditions normales d'alimentation. Dans cette thèse le choix des prédicteurs s'est focalisé sur les critères du système INRA d'évaluation des aliments. Toutefois, la question s'est posée de savoir si des critères de caractérisation des aliments empruntés à d'autres systèmes d'évaluation pouvaient être de meilleurs prédicteurs ou pouvaient être associés aux critères INRA pour améliorer la qualité des prédictions. Il semblait aussi important de positionner le système INRA sur le plan international sur sa capacité à prédire les flux porte de nutriments. Les systèmes d'évaluation des aliments développés aux USA (« NRC » et le « CNCPS »), en Grande-Bretagne (« Feed into milk »), ou dans les systèmes nordiques ont été pris en considération.

Pour une première approche de ces questions, il a été décidé de se limiter aux deux systèmes les plus utilisés, à savoir le NRC, le CNCPS. Une étude bibliographique sur la structure de ces systèmes et leur comparaison au système INRA a été proposée sous ma responsabilité à deux étudiantes (Céline Campéro et Clotilde Omer, promotion 148) de l'Institut Polytechnique LaSalle Beauvais, dans le cadre de leur formation. Ce travail a mis en avant les points communs et les différences entre systèmes. En particulier, il a montré que ces systèmes différaient par leurs critères de caractérisation des aliments, et par leur mode d'utilisation. De plus, il a confirmé la complexité du système CNCPS en raison du nombre important de variables d'entrée nécessaires.

Dans le cadre de ce projet, compte tenu des publications disponibles, des caractéristiques d'aliments disponibles et des contraintes de temps, nous avons limité nos objectifs à la comparaison des systèmes **INRA** et **NRC** d'évaluation énergétique des aliments pour la prédiction des flux porte d'AGV. Préalablement à la présentation des résultats obtenus (*Publication n° 2*), les bases théoriques d'évaluation de la valeur énergétique des aliments selon l'INRA et le NRC sont présentées et comparées, jusqu'à l'énergie métabolisable incluse, et en excluant l'énergie nette.

A. Les bases des modèles INRA et NRC

Les deux systèmes d'évaluation des aliments INRA et NRC ont été mis en place dans un souci de maximisation des productions animales et de l'efficacité d'utilisation des aliments. Tous les systèmes s'appuient sur la connaissance de la composition chimique des aliments et sont construits sur les concepts des différentes étapes d'utilisation de l'énergie, allant de l'énergie brute, à l'énergie digestible, puis métabolisable jusqu'à l'énergie nette (Blaxter et al., 1956 ; cité par Demarquilly et al., 1995).

1. Caractérisation de la composition chimique des aliments

1.1 INRA

La composition chimique des aliments présentée dans le système INRA est celle donnée par les analyses classiques des aliments, à savoir la teneur en cendres (matières minérales + silice) et matière sèche (MS), la matière azotée totale (MAT) définie par la méthode de Kjeldahl, la cellulose brute (CB) de Weende, les matières grasses ou plus exactement l'extrait éthéré, l'extractif non azoté (ENA), l'amidon (mesuré par la méthode d'Ewers ou par polarimétrie), les sucres, la lignine (ADL), la lignocellulose (ADF) et enfin les parois cellulaires (NDF), récemment rajoutées aux tables (2007).

A la composition chimique des aliments, déterminée en laboratoire, s'ajoute un certain nombre d'informations sur les paramètres de digestibilité des aliments, à savoir les valeurs de digestibilité de la MO, de MAT, de CB, de l'amidon, du NDF et de la MS.

1.2 NRC

Le NRC est basé sur les mêmes informations de la composition chimique des aliments que le système INRA, à la différence qu'il ne présente pas de valeur de CB. Seule la valeur de NDF est rapportée.

En ce qui concerne les paramètres de digestibilité des rations, le NRC ne définit pas les mêmes critères que le système INRA. Il se base essentiellement sur la valeur de digestibilité totale des nutriments (total digestible nutrients, TDN). Cette valeur est approximativement la somme des éléments digestibles de chaque fraction de l'aliment. Ces informations seront détaillées dans la suite du document.

Ainsi, la détermination de la composition chimique des aliments ne présente pas de pas de différence majeure entre les deux systèmes d'évaluation des aliments. C'est pourquoi nous avons choisi, dans ce travail de comparaison des systèmes, de caractériser la valeur alimentaire des aliments à partir des tables INRA, qui sont plus complètes.

Dans un premier temps, nous n'avons pas tenu compte des éventuelles différences de méthodes de mesure de la composition chimique des aliments entre pays. Ce point mériterait cependant d'être plus amplement approfondi.

A partir de cette composition chimique commune des aliments dans les systèmes du NRC et de l'INRA, nous avons calculé les valeurs alimentaires propres à chaque système.

2. Détermination de la valeur énergétique selon le système INRA

La première version publiée du système français d'évaluation des aliments et des rations, élaboré par l'INRA, date de 1978. Elle a fait l'objet de plusieurs révisions (1988, 2004, 2007). Le système d'évaluation de la valeur énergétique des aliments et des rations est basé sur une série d'équations de prédiction visant à prédire leurs teneurs en énergie brute, digestible, métabolisable et nette, à partir des données disponibles de composition chimique.

2.1 Energie Brute (EB)

La valeur d'EB d'un aliment se détermine par calorimétrie adiabatique. Elle peut également être prédite à partir de sa composition chimique. Des équations de prédiction de la teneur en énergie brute des aliments ont été établies, d'une part pour les aliments concentrés (INRA-AFZ, 2004), d'autre part pour les fourrages (INRA, 2007).

Les équations varient en fonction du type de fourrages ou de concentrés.

Pour les fourrages elles sont fonctions des teneurs en MO et en MAT des aliments, à laquelle est ajouté le pH dans le cas des ensilages.

Par exemple, pour les fourrages verts et foin de graminées, l'équation est la suivante :

$$EB \text{ (kcal/kg MO)} = 4531 + 1,735 \times MAT \text{ (g/kg MO)} + \Delta ; \text{ (INRA, 2007)}$$

Avec Δ variant en fonction de l'espèce végétale.

Pour les concentrés, elle est déterminée à partir de MAT, MG CB et ENA, exprimé en g/kg MS selon (INRA, 2007):

$$EB \text{ (kcal/kg MS)} = 5,72 \times MAT + 9,50 \times MG + 4,79 \times CB + 4,17 \times ENA + \Delta$$

Avec Δ variant en fonction de l'espèce végétale.

La teneur en EB, exprimée par unité de matière sèche, varie peu d'un aliment à l'autre.

2.2 Energie Digestible (ED)

Les équations de prédiction de l'énergie digestible ont été établies à partir de données mesurées en condition standard. La digestibilité apparente de l'énergie (dE) est alors calculée en appliquant une correction par espèce végétale à la digestibilité de la matière organique (dMO), elle-même prédite à partir de la composition chimique des aliments.

2.3 Animal et niveau alimentaire de référence:

Dans le système INRA, la digestibilité apparente des aliments est évaluée sur des moutons Texel mâles castrés, d'un poids moyen de 60 kg, placés en cages de digestibilité et avec 6 j de mesure. La mesure de digestibilité des fourrages a été réalisée sur des animaux nourris ad libitum avec un refus évalué à 10%.

Le NA atteint par les moutons a été quantifié par grands types d'aliments, et obtenu en divisant les quantités de MOD ingérées le besoin d'entretien du mouton (23g MOD/kg P^{0,75}). Les NA moyens auxquels ont été mesurées les digestibilités des aliments sont les suivants (INRA, 1978) : 1.7 pour les fourrages verts, 1.5 pour les ensilages d'herbe, 1,2 pour le maïs vert ou ensilé, 1,35 pour les foin, 0,75 pour les pailles distribuées seules.

Pour les concentrés, le niveau alimentaire a été fixé à 1,2 dans le calcul de EM/ED car la plupart des mesures de digestibilité des aliments concentrés se fait à un niveau alimentaire légèrement supérieur à l'entretien (Vermorel et al., 1987). Ces valeurs permettent de minimiser les interactions digestives, avec une ration constituée de 60% du concentré étudié et de 40% d'un foin de digestibilité connue. La digestibilité du concentré est alors calculée par différence.

Il n'est pas appliqué de corrections pour les différences de digestibilité entre espèces, même si certaines études (Alexander et al., 1962 ; Blaxter et al., 1967 ; Leaver et al., 1969) montrent des différences entre espèces, notamment lorsque les NA diffèrent de l'entretien. Les raisons en sont données plus loin.

2.4 Prédiction de la digestibilité de la matière organique des aliments:

Différentes équations de prédiction ont été établies pour les fourrages et les concentrés.

Pour les fourrages, la dMO peut être prédite à partir (INRA, 2007) :

- de la composition chimique : MAT, ADF, CB et NDF, fonction du type d'aliment.

La précision des prédictions est de l'ordre de 2 à 4 points de digestibilité.

- des caractéristiques du fourrage (âge, espèce...): les estimations sont plus précises, avec une incertitude de 1-3 points de digestibilité, mais plus difficiles d'utilisation.

La diminution de la digestibilité des foin (en fonction du NA) est plus importante que celle des fourrages verts, c'est pourquoi dans les tables INRA ont été indiquées les digestibilités des foin déterminées expérimentalement.

Pour les concentrés, 6 modèles de prédiction sont disponibles selon le type d'aliment concentré : 1) les céréales et co-produits des céréales, 2) les tourteaux de colza, tournesol, coton, coprah ou palme et les graines de coton, 3) les graines de légumineuses, tourteaux d'arachide et de soja, 4) les pulpes de betterave et pulpes d'agrumes, 5) le manioc, mélasse, vinasse et pomme de terre et 6) les fourrages déshydratés.

Ces équations ont été établies à partir de l'assemblage des banques de données INRA et du Rowett et de la caractérisation chimique des aliments, y compris des fractions pariétales (CB pour utiliser l'ensemble des données déjà acquises et NDF, ADF).

Dans le cas où les caractéristiques précises du fourrage ou des concentrés ne sont pas connues, la dMO peut être prédite à partir de la digestibilité enzymatique (pepsine-cellulase). La précision de la prédiction est alors de l'ordre de 2 à 3 points de digestibilité.

2.5 Prédiction de la digestibilité de l'énergie à partir de la digestibilité de la matière organique

Selon les caractéristiques chimiques disponibles pour l'aliment considéré, la dE peut être prédite à partir de l'une des 3 équations :

$$dE = dMO - 3.94 + 0.104 \text{ MAT} + 0.149 \text{ MG} + 0.022 \text{ NDF} - 0.244 \text{ MM}$$

$$(n=183, r=0.68, \text{ETR}=1.5)$$

$$dE = dMO - 3.50 + 0.046 \text{ MAT} + 0.155 \text{ MG}$$

$$(n=216, r=0.49, \text{ETR}=1.8)$$

$$dE = dMO - 2.90 + 0.051 \text{ MAT}$$

$$(n=250, r=0.35, \text{ETR}=2.0)$$

dE et dMO sont exprimés en %, les teneurs en MAT, MG, NDF et MM en %MS.

2.6 Influence des interactions digestives, du niveau d'alimentation et de l'espèce animale

La digestibilité des aliments est sous la dépendance d'effets associatifs éventuels entre aliments et du niveau d'alimentation (Forbes, 1933; Demarquilly et al., résultats non publiés).

Ces effets associatifs sont d'autant plus importants que la teneur en aliment concentré de la ration et la teneur en CB du fourrage sont élevées. Des différences de digestibilité existent aussi entre espèces de ruminants. Cependant, dans tous les cas, les variations de digestibilité sont partiellement compensées par des variations inverses de pertes d'énergie sous forme de méthane et d'urine (Vermorel et al., 1978). C'est pourquoi la baisse de digestibilité de la ration liée aux interactions digestives ou au niveau d'alimentation ou aux différences entre espèces animales ne sont pas prises en compte au niveau de l'ED dans le système INRA.

3. Energie Métabolisable

D'un point de vue quantitatif, l'EM représente entre 90 et 95% de l'énergie utilisable par les tissus. Elle est plus difficile à déterminer que l'ED car elle nécessite la mesure des pertes urinaires et sous forme de méthane. L'utilisation de l'EM, apporte toutefois une amélioration notable dans la précision de la valeur énergétique des aliments par rapport à l'ED. En effet, elle tient compte des pertes d'énergie urinaire, non négligeables pour des aliments riches en protéines. Elle permet aussi de prendre en compte les pertes énergétiques associées aux phénomènes digestifs, le méthane contribuant pour 8% en moyenne à l'EB.

La teneur en EM est constante pour un aliment quelque soit la fonction animale considérée (lactation, croissance, engraissement).

3.1 Prédiction de l'énergie métabolisable à partir de l'énergie digestible :

La teneur en énergie métabolisable est prédite à partir de la teneur en énergie digestible grâce au rapport EM/ED, lui même prédit à partir de la composition chimique et du niveau d'alimentation (INRA, 2007) des bovins et ovins :

$$EM/ED = 0,8417 - 9,9 \times 10^{-5} CBo - 1,96 \times 10^{-4} MATo + 0,0221 NA$$

Avec $R^2 = 0,932$ et $ETR = 0,0087$

Il faut noter que dans cette équation les teneurs en CB et en MAT ont été exprimées en g par kg de MO, par souci d'homogénéité avec les relations de prévision de l'EB et de la digestibilité des aliments. La teneur en EM a été calculée (et incluse dans les tables) pour un NA de 1,7 pour les fourrages et de 1,2 pour les concentrés, ce qui correspond à la moyenne des mesures de digestibilité effectuées sur les fourrages et concentrés respectivement. Ce NA diffère de celui utilisé pour mesurer la digestibilité des foin (1,35) et des pailles (0,7-0,8). Or, lorsque ces aliments constituent une part importante du régime, ils sont distribués à faible niveau d'alimentation. Ou lorsque ces aliments sont distribués à des animaux à forts besoins,

ils représentent une faible part de la ration. Il est donc considéré que l'erreur sur l'estimation de la teneur en EM de ces aliments n'a que peu d'incidence sur la valeur en EM de la ration. Ceci évite de corriger les apports de l'EM selon le niveau de production pour les bovins d'élevage ou à l'engrais et pour les femelles nourrices ou en production laitière limitée (moins de 10 kg de lait par jour).

3.2. Influence des interactions digestives, du niveau d'alimentation et de l'espèce animale

La diminution de la digestibilité de la MO de la ration liée à l'augmentation de la proportion de concentré dans la ration ou à l'augmentation du NA est partiellement compensée par une réduction des pertes d'énergie sous forme de méthane et d'urine. C'est pourquoi la teneur en EM varie moins que la teneur en ED et que, par conséquent, la diminution de l'EM des rations est plus faible que celle de l'ED.

Ainsi, compte tenu des connaissances disponibles et des modes d'évaluation, il a tout d'abord été jugé plus simple d'établir des corrections aux niveaux des besoins des animaux. Lors de la mise à jour du système INRA (2007) les interactions digestives liées à la proportion de concentré ont été évaluées entre 0 et 2 UFL par jour chez les vaches laitières. Pour les bovins en croissance et à l'engrais, la correction est considérée comme implicite car les besoins ont été établis de façon globale.

De la même manière, les différences de digestibilité qui existent entre espèces sont partiellement compensées par les différences de pertes énergétiques sous forme urinaire ou de méthane. En effet, la digestibilité de l'énergie est plus élevée de 0.04 à 0.06 point chez les moutons que chez les bovins. Inversement les moutons ont des pertes énergétiques plus élevées et présentent un rapport EM/ED plus faible. La teneur en EM est donc considérée comme étant similaire pour les bovins et les ovins. Les valeurs d'EM déterminées sur ovins sont donc applicables aux bovins.

4. Détermination de la valeur énergétique selon le système NRC

Le système américain d'évaluation des aliments a été élaboré par le National Research Council. Ce système se décline en plusieurs sous-systèmes applicables de façon spécifique aux vaches laitières, aux vaches allaitantes ou aux petits ruminants. La base commune de ces systèmes est représentée par le système pour les vaches laitières, les différences entre productions étant surtout exprimées au niveau de l'utilisation de l'énergie par l'animal et donc

de l'EN. C'est le système d'évaluation des aliments pour vaches laitières qui est donc décrit ici. La première version du système du NRC date de 1944. Il a subi différents changements jusqu'à la dernière version en 2001.

Dans ce système l'énergie utilisable par l'animal dépend de la quantité de nutriments digestibles et donc utilisables : les TDN (Total Digestible Nutrients).

4.1 Energie Brute

Dans la version 2001 du NRC, les teneurs en EB ne sont plus déterminées. Le système définit directement l'ED.

4.2 Energie digestible

L'ED est basée sur la digestibilité apparente des aliments. Elle est calculée à partir de l'estimation de la digestibilité des constituants alimentaires (td) et de leur teneur en EB. Elle inclut un facteur correctif pour tenir compte des constituants « métaboliques » fécaux.

La digestibilité de la fibre NDF peut être mesurée *in vitro* ou estimée en fonction de la teneur en lignine de l'aliment. La fraction des glucides non fibreux (NFC) n'est pas mesurée mais calculée en soustrayant de la MS totale les teneurs en MAT, NDF (corrigé pour l'azote lié à la fibre NDF, soit NDF-N), MG et cendres d'un aliment. Une valeur de 98 % est assignée à la digestibilité de la fraction NFC. Enfin, la teneur en AG des aliments n'est pas analysée de façon routinière, mais peut être estimée à partir de la teneur en extrait étheré (EE) ; la digestibilité est supposée égale à 100 %.

Il n'a pas été possible de trouver avec précision comment les données avaient été obtenues. Toutefois, les différents contacts que nous avons pu avoir sur ce sujet nous amènent à penser que les valeurs ont été obtenues sur moutons, à un NA voisin de 1 fois l'entretien et sur des vaches laitières à un NA voisin de 3 fois l'entretien.

4.3 Calcul des TDN à l'entretien :

La teneur en TDN d'un aliment est exprimée en %. Les TDN1x sont calculés à partir de la digestibilité de chaque fraction constitutive des aliments, c'est-à-dire les glucides non fibreux (non fiber carbohydrates, NFC), les matières azotées (crude protein, CP), les acides gras (fatty acids : FA), et le NDF. La digestibilité de chaque fraction alimentaire dans l'ensemble du tube digestif (td) est calculée à partir de la composition chimique des aliments.

Les TDN1x sont ensuite calculés à partir de la somme des éléments digestibles (%) en

soustrayant les TDN métaboliques fécaux (TDN_{1x} excrétés dans les fèces), estimés à 7% en moyenne (Conrad et al., Weiss et al.). Pour calculer les TDN_{1x} d'une ration, on multiplie le TDN_{1x} de chaque aliment par sa proportion dans la ration et on additionne les TDN_{1x} obtenus.

$$TDN_{1x} (\%) = tdNFC + tdCP + (tdFA \times 2,25) + tdNDF - 7.$$

Le facteur de 2,25 associé à $tdFA$ reflète l'EB plus élevée des MG. Le résultat de cette nouvelle approche est que la contribution d'un aliment aux besoins énergétiques d'un animal est fonction de sa composition réelle et est donc prédite avec une plus grande précision, si tant est que cette composition soit connue.

Certaines équations diffèrent entre concentrés et fourrages :

$$\text{- } TdCP \text{ pour les concentrés (\% MS)} = (CP \times \exp^{(-0,012 \times ADICP/CP)})$$

$$\text{- } TdCP \text{ pour les fourrages (\% MS)} = [1 - (0,04 \times ADICP/CP)] \times CP,$$

Avec $ADICP$ = protéines brutes indigestibles contenues dans l'ADF (%MS).

$$\text{- } TdNDF = 0,75 \times [(NDF - NDICP) - \text{Lignine}] \times [1 - \text{Lignine}/(NDF - NDICP)]^{0,667},$$

avec $NDICP$ = protéines brutes indigestibles contenues dans le NDF.

$$\text{- } TdNFC (\% \text{ MS}) = [0,98 \times (100 - [(NDF - NDICP) + CP + EE + \text{Ash}])] \times PAF.$$

Chaque terme est exprimé en % MS. Le PAF est un facteur d'ajustement (processing adjustment factor) qui tient compte du traitement technologique de l'aliment. En effet, la digestibilité de l'amidon est surestimée lorsque l'aliment subit un traitement technologique. Le PAF prend en compte l'effet de la granulométrie, de la chaleur et de la vapeur pendant les procédés de fabrication. Pour un grand nombre d'aliments le PAF est égal à 1. De même, s'il n'est pas connu, celui-ci est supposé être égal à 1.

$$\text{- } TdFA = FA = EE - 1 \text{ quand les valeurs d'AG ne sont pas disponibles dans les tables.}$$

4.4 Teneur en ED des aliments et des rations distribués à l'entretien

La teneur en ED des aliments distribués à l'entretien (DE_{1x}) se calcule en multipliant la teneur en constituants réellement digestibles (intervenant dans le calcul des TDN) par leur EB respective (4,2 Mcal/kg pour les carbohydrates fibreux et non fibreux, 5,6 Mcal/kg pour les protéines, 9,4 Mcal/kg pour les acides gras, 4,3 Mcal/kg pour le glycérol). Ces valeurs sont ensuite additionnées, avant que la fraction métabolique fécale (0,3 Mcal/kg d'aliment) soit retranchée. Ainsi, l'équation utilisée est la suivante :

$$DE_{1x} (\text{Mcal/kg}) = 4,2 \times tdNFC/100 + 5,6 \times tdCP/100 + 9,4 \times tdFA/100 + 4,2 \times tdNDF/100 - 0,3$$

4.5 Teneur en ED des aliments et des rations distribués à des niveaux d'alimentation supérieurs à l'entretien

L'ED à l'entretien n'est pas représentative de la valeur énergétique d'un aliment ou d'un régime distribué à de hauts NA. Une correction variable de la teneur en ED est appliquée en fonction de la consommation de MS, dans le but de tenir compte de la diminution de la digestibilité à de hauts NA. En conséquence, la valeur énergétique d'un aliment n'est plus une valeur fixe, mais elle varie en fonction de la ration dont il fait partie et de l'animal qui consomme cette ration. Plus le niveau d'ingestion est élevé, plus la digestibilité et, par conséquent, la valeur énergétique de la ration diminuent. L'ampleur de la diminution augmente également avec la digestibilité intrinsèque de la ration. Pour un niveau d'ingestion donné, une ration hautement énergétique est sujette à une diminution plus grande de sa digestibilité.

Le calcul se fait donc par étapes successives :

- Estimation de la DE à l'entretien (DE_{1x})
- Calcul d'un facteur de correction (discount factor, exprimé en %) pour le NA. La DE_{1x} obtenue est ensuite corrigée pour chaque multiple "n" du niveau d'entretien en utilisant un facteur correctif :

$$\text{Discount} = [(TDN_{1x} - (0,18 \times TDN_{1x} - 10,3) \times (n \times \text{maintenance} - 1)] / TDN_{1x}.$$

Par exemple, la correction à appliquer à un régime à 74% TDN à l'entretien destiné à des vaches laitières alimentées à 3 fois le niveau d'entretien serait :

$$\text{Discount} = [(74 - (0,18 \times 74 - 10,3) \times (3 - 1)] / 74 = 0,918.$$

Ce facteur de correction est une estimation des éléments qui ne sont pas digérés, mais excrétés dans les fèces, lorsque la ration est consommée par un « animal en production », par opposition à « un animal à l'entretien ». Il permet de prendre en compte la diminution de la digestibilité lorsque l'ingestion augmente.

- ED de production : L'ED au niveau de production (DE_p) est obtenue en multipliant DE_{1x} par le facteur de correction.

Ainsi: **DE_p (Mcal/kg) = $DE_{1x} \times \text{Discount}$.**

La DE_p est donc variable en fonction du niveau d'ingestion de l'animal et de la composition du régime. Pour les rations présentant un TDN_{1x} inférieur à 60%, aucune correction n'est apportée.

5. L'énergie métabolisable

L'EM est calculée à partir de DEp (Mcal/kg), quand les animaux reçoivent un apport alimentaire correspondant à leur niveau de production, qui prend déjà en compte l'influence du niveau d'alimentation. L'équation utilisée est :

$$\text{MEp (Mcal/kg)} = (1,01 \times \text{DEp} - 0.45) \times (\text{EE} - 3).$$

Pour les supplémentations en lipides (teneurs MG de la ration supérieures à 3%), la valeur de EM est supposés être égale à DE.

Dans le temps disponible pour mon travail de thèse, il n'était matériellement pas possible de comparer l'ensemble des deux systèmes. En effet, une comparaison complète aurait nécessité de prendre en compte un très grand nombre de paramètres, et aurait nécessité de repositionner les systèmes dans leur contexte d'utilisation propre.

Nous avons donc décidé de nous limiter à la comparaison stricte de la teneur en EM des aliments définis de manières différentes dans chacun des systèmes, à partir d'une même caractérisation chimique.

Nous avons cherché à établir la capacité du système NRC à prédire les flux d'AGV totaux et le profil en AGV apparaissant en veine porte. Ces modèles ont ensuite été comparés aux modèles obtenus avec le système INRA.

B. Capacité du système NRC à prédire l'apparition en veine porte des AGV (publication en préparation)

Empirical prediction of the net portal appearance of volatile fatty acids from NRC diet characteristics

C. Loncke,^{*} I. Ortigues-Marty,^{*} J. Vernet,^{*} H. Lapierre,[†] D. Ouellet, [†] D. Sauvant, [§], P. Nozière ^{*}

^{*} INRA, UR 1213, Unité de Recherches sur les Herbivores, Theix, 63122 St Genès Champanelle, France

[†]Dairy and Swine Research and Development Centre, Agriculture and Agri-Food Canada, Sherbrooke, Quebec J1M1Z3, Canada

[§]UMR 791, Physiologie de la Nutrition et Alimentation, INRA-AgroParisTech, 75231 Paris, France

INTRODUCTION

Feed evaluation systems have to evolve towards mechanistic nutrient based systems (Reynolds, 2000), while remaining compatible with the existing feeding systems which are widely applied in practice and which proved their efficacy. In this purpose, the first challenge is to characterise diets and rations by the amount and the nature of nutrients absorbed by the portal-drained viscera (Dijkstra et al., 2007) with a good accuracy. In Ruminants, the net portal appearance (**NPA**) of energy nutrients was shown to be predicted by dietary characteristics, defined according to INRA, in both sheep and cattle Loncke et al. (2009). These models proved to be quantitatively compatible with the Metabolisable Energy value of diets defined by INRA (Loncke et al., 2009).

Other feed evaluation systems use different criteria to describe the energy value of feeds and diets. Feed evaluation systems generally differ according to 1) the description of chemical composition and digestibility for individual feeds, and 2) the calculations of feed and dietary values from the chemical composition and digestibility. The present work explored the capacity of criteria describing the dietary value in NRC (2001) to accurately predict the net portal appearance of volatile fatty acids in Ruminants.

The objective of the present work was to establish predictive models of the NPA of VFA from NRC diet characteristics.

MATERIALS AND METHODS

Selection of Publications from the FLORA Database

The FLORA (FLuxes across Organs and tissues in Ruminant Animals) database was used Vernet and Ortigues-Marty (2006). It contains data from approximately 250 publications reporting results of net splanchnic nutrient fluxes in multi-catheterised ruminants. Briefly, animals are identified according to their species (sheep, cattle) and physiological status (non productive adult, growing, gestating or lactating animals). The reported chemical composition and calculated nutritional values of feeds and diets, catheter location and blood sampling, metabolite analytical methods, and the results of blood or plasma flows, metabolite concentrations and fluxes were entered in the FLORA database.

All publications reporting data on the NPA of VFA were initially selected from which publications or treatments were discarded for the following reasons: infusion or injection of N compounds or VFA (e.g., mesenteric, jugular or femoral vein, rumen, abomasum, or small intestine), use of metabolism modifiers (e.g., insulin, ionophore, plhorizin, GHRH, monensin), abnormal feeding conditions or schedule (e.g., morning vs. night feeding, every 2 h vs. once or twice a day feeding, oscillating diet, non-steady state feeding, condensed tannin inactivator, feed contaminated with toxins).

Only publications relevant to study the response of NPA of VFA to changes in dietary intake and composition were kept, i.e. 25 publications corresponding to 36 experimental groups after coding according to Loncke et al. (2009 JAS). Briefly, a first coding step dealt with the experiments and the type of experimental factors within each publication. Then, within an experiment, experimental groups were defined as the groups of treatments that changed due to the variable of interest and were coded accordingly (Sauvant et al., 2005; Vernet et al., 2005). The selected set of publications was the same as that used by Loncke et al. (2009) to establish predictive model of VFA-NPA based on INRA criteria.

Description of the chemical composition and feed values

Published studies on net splanchnic nutrient fluxes in ruminants do not systematically report the chemical composition of feeds and diets.

It was thus necessary to make a consistent and homogeneous description of chemical composition and dietary values of feeds and diets used in all relevant published work. The INRA Feed Tables report the detailed chemical composition of about 160 concentrates and 1260 forages, which already proved to cover the variety of feeds identified in FLORA,

whereas the NRC (2001) ones are more limited. Consequently, in the present work, the chemical composition of feeds was estimated from the INRA Feed Tables (2007), and the NRC (2001) criteria describing the dietary value of feeds and diets were calculated from these chemical composition values..

The description of the chemical composition according to the INRA Feed Tables (2007), has already been detailed by Loncke et al. (2009 JAS), Briefly, for each diet reported in the selected publications, feed ingredients were selected from the INRA Feed Tables with the constraint that they would be the most representative of ingredients actually used in the experiments. Validation of the estimated values was carried out by comparison with values reported by the authors, with a major focus on the OM digestibility, ME and CP concentration, and subsequently on the crude fibre concentration in the DM. Differences between the estimated values and those reported by the authors were compared by GLM analysis including a publication effect, and must be lower than the uncertainties of measurements for OMD, ME, CF or CP concentration.

Values of chemical composition, as estimated from INRA, in particularly the dietary concentration of NDF, ADF, Lignin, CP, FA and ash, were then used to calculate the NRC (2001) feed values, namely the dietary content in total digestible nutrients at maintenance (TDN_{1x}) and its components, the dietary contents in total digestible NDF (**tdNDF**), total digestible CP (**tdCP**), total digestible non fiber carbohydrate (**tdNFC**) and total digestible fatty acids (**tdFA**). TDN_{1x} concentration (g/100 g DM) was calculated as "tdNDF + tdCP + tdNFC + tdFA -7" (NRC, 2001). The tdNDF concentration (g/100 g DM) were calculated as $0.45 \times (\text{NDFn} - L) \times [1 - (L/\text{NDFn})^{0.667}]$, with NDFn (g/100 g DM) = NDF – neutral detergent insoluble CP (NDICP, g/100 g DM), with L = lignin (g/100 g DM). As no NDICP value is reported in the INRA Feed Tables, it was estimated at 7% of the NDF content (NRC, 2001). The tdCP (g/100 g DM) was calculated as $\text{CP} \times e^{-1.2 \times (\text{ADICP}/\text{CP})}$ for forages, and as $[1 - (0.4 \times (\text{ADICP}/\text{CP}))] \times \text{CP}$ for concentrates, with ADICP equal to the acid detergent insoluble CP.

Again, since no ADICP values were reported in the INRA Feed Tables, they were estimated according to Van Soest (1970). The tdNFC concentration was calculated as $0.98 [100 - (\text{NDFn} + \text{CP} + \text{EE} + \text{Ash})] \times \text{PAF}$, with PAF representing the process adjustment factor. The PAF values reported in the NRC Feed Tables were used. Finally, the tdFA concentration was calculated as FA if EE > 1, else FA was considered to be equal to 0. For all variables, in order to take into account the intake level, the discounted variable was applied according to NRC 2001, as Discount = $[(\text{TDN}_{1x} - (0.18 \times \text{TDN}_{1x} - 10.3)) \times (n \text{ maintenance} - 1)] / \text{TDN}_{1x}$

Choice of Explanatory Variables to Predict Variations in volatile fatty acids Net Portal Appearance.

Potential predictors from the NRC system were identified based on current knowledge of digestion and PDV metabolism, and on previous results obtained from INRA feed tables (Loncke et al 2009). The first criterion tested for predicting the NPA of total VFA [i.e., acetate (C2) plus propionate (C3) plus butyrate (C4)] was the amount of TDN1x discounted intake. Second, the discounted intakes of tdNDF, tdCP and tdNFC taken as covariables were tested. Variations in molar proportions of individual VFA and the C2:C3 ratio in the net portal flux were predicted from the dietary concentration of discounted TDN1x, tdNDF, tdNFC, and the combination of tdNDF and tdNFC, taken as covariable in the same model. Moreover, tdNDF and discounted tdNFC, expressed relatively to TDN1x (tdNDF:TDN1x; tdNFC:TDN1x and tdNDF:TDN1x, tdNFC:TDN1x as covariables) were also tested to predict the profile of VFA.

Meta-Analyses

Data Expression and Minimum Between-Treatment Variation on the Explanatory

Variables. Nutrient intake and NPA were expressed as a function of BW1.0. Indeed, although across-species metabolic processes are best described as a function of BW0.75 (Brody, 1964), intake as well as nutrient digestion and absorption have been shown to be similar between sheep and cattle when expressed as a function of BW1.0 (Vernet et al., 2005; Sauvant et al., 2006a).

Calculation of reliable within-experiment responses requires a minimum variation on each explanatory variable (X) within that experiment (Sauvant et al., 2005). Therefore, the minimum acceptable variation of X (ΔX_{min}) was determined from all the selected publications for each target nutrient, as follows: $\Delta X_{min} = \mu (\Delta X_{ij}) - | 2 \times SD \Delta X |$; with $\Delta X_{ij} = |X_{treatment i} - X_{treatment j}|$ and $SD \Delta X = SD \text{ of } \Delta X_{ij}$. Thus, variations of X were considered relevant for the subsequent statistical analyses when the within-study variation between the control and the experimental treatments was greater than 15 g of tdNFC/100 g of DM, 15 g of tdNDF/100 g of DM, 0.1 g tdNDF intake•d⁻¹•kg BW⁻¹, 0.16 g of tdNFC intake•d⁻¹•kg BW⁻¹, 0.06 g of tdNDF/TDN1x. This selection led to the elimination of only 3 to 8% of the treatments depending on the explanatory variable.

Meta-Design, Variance-Covariance Models, and Post-Optimization Analyses. Descriptive statistics (μ , SD, range of values) were generated for each variable in the selected data sets as well as matrix of correlation between all the nutritional parameters.

Normal distribution of data and homogeneity of variances were tested by Shapiro-Wilk and Levene tests, respectively. Relationships between Y (nutrient NPA, molar percentage of VFA, and the ratio C2:C3) and the explanatory variable X were studied with a variance-covariance model: $Y = \alpha + \beta X + \text{species} + \alpha_i (\text{species}) + \text{species} \times X + e$, where α = the overall intercept and α_i = the effect of the experimental group i on the intercept α , nested within species, and β is the slope of the relationship. If appropriate, quadratic models were also fitted to the data and compared with the linear models. The fit of each relationship was then examined by studying the residuals of the model and normality of the residuals. Outliers were identified first on the basis of residuals and then by h_i leverage [$h_i = 1/n + (X_i - X_{\text{mean}})^2 / \sum (X_i - X_{\text{mean}})^2$], Cook's distance, and DFITS (difference between the predicted values calculated with and without the i^{th} observation; Sauvant et al., 2005). Considering that several qualitative factors in the available publications differed between experiments, such as animal species (cattle vs. sheep), physiological stages, and the blood or plasma matrix used for nutrient analyses, it appeared appropriate to consider experiment as a fixed factor in the models and to test the influence of these qualitative factors on the parameters of the models.

Moreover, because the statistical effect of the covariate (i.e., the main objective of the present study) is not dependent on whether the experiment factor is fixed or random (Sauvant et al., 2008b), all statistical analyses were consequently carried out using the GLM model (Minitab, Version 14, State College, PA). Once models were generated, sensitivity analyses were carried out to test whether the models could be improved by a heuristic process (Sauvant et al., 2008b).

The rationale was that between-study differences in experimental conditions can lead to differences in response among studies. Individual within-experiment slopes were regressed on interfering factors to check if additional X variables had to be introduced in the model. The residuals (inter and intra) and the least squares means (LSMeans) of the model, representing for each experimental group i the predicted Y_i for the covariable X, averaged across all experimental groups (X_{ij}), were also regressed on the major potentially quantitative interfering factors. The interfering factors tested corresponded to variables describing level of intake and diet composition, including DMI, dietary concentration, and intake level of TDN1x, tdNDF, tdNFC, tdFA, tdCP, the percentage of concentrate, and the dietary concentrations of ADF, NDF, NDFn, CP, ADL and FA. When potential interfering factors

were of qualitative nature, LSMeans subclasses were compared to clarify the nature of the interaction. Thus, ANOVA was run on LSMeans to test for the influence of species, physiological stage, and matrix (blood or plasma) effects. If a significant interfering factor was detected, it was tested to establish whether its inclusion in the model improved the fit. This was reported in the results only when the introduction of interfering factors in the model significantly improved it. Parameters and correlations were considered significant at $P < 0.05$, whereas $P < 0.10$ indicated a trend. Thorough graphical examinations were carried out at each stage of the meta-analyses process. For each nutrient, models obtained with the different predictors were compared. The criteria used to identify the best predictor were the absence of interactions with species and intercept, residual means square errors (RMSE), adjusted R^2 (R^2_{adj}), and absence of interfering factors on slopes, residuals, and LSMeans.

In the present work, all available pertinent data have been used to establish the model. In to was thus impossible to make an external validation.

Nevertheless, in order to check the absence of systematic bias or rotation of the slope, the prediction models obtained were evaluated by comparing the observed (Y) and the predicted ANP (X), using a GLM model including an experiment effect. The model was considered unbiased when the intercept was not different from 0 and when the slope was not significantly different from 1.

RESULTS

Description of the selected data, meta-design and Comparison of NRC and INRA Feed Characteristics.

For each nutrient, the number of treatments was similar between cattle and sheep and between females and males (data not shown). The major physiological stages represented were growing animals, followed by non productive adult animals for the sheep and followed by lactation for the cattle. Considering the data used to establish the models, all net fluxes were determined on blood. Normal distribution of data was shown in the different datasets as well as homogeneity of variances.

Whereas the DMI was similar between species, diets fed to sheep had lower ($P < 0.05$) proportion of concentrate (Table 1).

Description of the meta-design based on the chemical composition of diets, evaluated according to INRA, has been detailed in Loncke et al. (2009) and indicated that diets fed to sheep had lower ($P < 0.05$) starch and higher cell wall concentrations than diets fed to cattle.

Adjusted Models

Net Portal Appearance of Total Volatile Fatty Acids. Among the potential NRC predictors tested, the discounted intakes of TDN1x and tdNDF, tdNFC were positively ($P < 0.001$) related to NPA of total VFA (Table 2).

When TDN1x intake was used as predictor, model presented low RMSE, high R^2_{adj} explaining 85 % of the variability respectively, inter-experiment variations included. The intercept of the model (Figure 1), which was different from 0 ($P = 0.008$), was affected by species, suggesting that cattle had a higher NPA-VFA than sheep at a given level of the explanatory variable.

The linear slopes suggested that an increase of intake of $1 \text{ g} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$ of TDN1x induced an increase of $1.75 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$ in NPA of VFA. Analyses showed that an increase of the percentage of concentrate ($P = 0.04$), diet concentration in TDN1x (tendency at $P = 0.06$) or to the intake of NDICP ($P = 0.07$) induced a decrease of the response of NPA-VFA to TDN1x. Moreover, the inter and intra residuals tended to be positively correlated to the intake of NDF, NDICP and ADICP. No interfering factor was observed on the LSMeans.

Model including tdNDF, tdCP and tdNFC intake was not significant for tdCP. However, model obtained using only two predictors, the discounted intakes of tdNDF and tdNFC was significant (Figure 2). The intercept was not different from 0, and the slope suggested that an increase of $1 \text{ g} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$ of tdNFC and an increase of $1 \text{ g} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$ of tdNDF intake induced respectively an increase of 2.55 and $3.78 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$ in NPA of VFA. No interfering factor was observed on the individual slopes, LSMeans and residuals of this model. It presented lowest RMSE and highest R^2_{adj} explaining 88 % of the variability, inter-experiment variations included, compare to TDN1x.

Consequently, the simultaneous use of tdNDF and tdNFC discounted intakes as covariables led to the best prediction model of NPA of total VFA (Figure 2). Comparative analyses of the NPA-VFA measured by the authors (Y) vs. predicted by the model (X) showed intercept not different from 0 (0.462 ± 0.285 , $P = 0.12$) and slope non different from 1 (0.874 ± 0.115 , $P = 0.47$). The R^2_{adj} was high (0.86) and the RMSE value rather low ($0.41 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$, i.e. 10% of the mean NPA-total VFA).

Profile of VFA Appearing in the Portal Vein.

The molar percentage of C2 in VFA-NPA can be predicted from both tdNDF/TDN1x and concentration in tdNDF-discounted, explaining respectively 78 and 79% of the variance ($P = 0.03$; Table 2).

With tdNDF/TDN1x, the slope suggested that an increment of 0.1 tdNDF/TDN1x increased the molar proportion of C2 of 19%. The model was independent of the animal species and had no interfering factor on the individual slopes. The LSMeans tended to be negatively correlated to the intake of tdNFC discounted ($P = 0.08$).

No interfering factor was observed on the inter-study residuals, whereas the intra-study residuals were positively correlated to the intake ($P = 0.07$) and diet concentration in NDF, tdNDF and NDICP, and negatively related to the percentage of concentrate ($P < 0.001$) and to the intake and diet concentration in TDN1x ($P < 0.001$) discounted and tdNFC ($P < 0.001$).

The tdNDF prediction model of the molar proportions of C2 in VFA-NPA was independent of animal species and presented no interfering factors on LSMeans nor inter-nor intra-study residuals. The general slope of this model suggested that an increase of 1 g tdNDF/100 g DM increased the molar proportion of C2 of 0.65%. However, analysis showed that an increase of DMI ($P = 0.03$) induce an increase of the response of the molar percentage of C2 to tdNDF discounted. Based on the absence of interfering factors on the individual slopes, the tdNDF:TDN1x (Figure 3) was considered to be the best predictors of the molar percentage of C2 in VFA-NPA. This model was combined with the total-VFA model (based on the simultaneous use of tdNDF and tdNFC discounted intakes) to predict the C2-NPA. Comparative analyses of the C2-NPA measured by the authors (Y) vs. predicted the present model (X) showed intercept not different from 0 (0.309 ± 0.291 , $P = 0.30$) and slope non different from 1 (0.873 ± 0.149 , $P = 0.55$). The R^2_{adj} were high (0.781) and the RMSE values rather low ($0.400 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$).

No significant model was obtained to predict the profile of C3. Meanwhile, the concentration of tdNDF ($P = 0.02$) and the ratio tdNDF/TDN1x ($P = 0.01$) were significantly related to the molar proportion of C4 explaining 75 and 72% of the variance respectively, whereas only a tendency existed with the diet concentration in tdNFC ($P = 0.1$). This later was not further considered.

Concerning the tdNDF model, it suggested that an increase of 1 g tdNDF/g DM increased the molar proportion of C4 (Figure 4) in VFA-NPA of 1.5%. The LSMeans of the model were positively correlated to the diet concentration in TDN1x discounted ($P = 0.05$), tdCP ($P = 0.009$), tdFA ($P = 0.05$) and tended to be positively related to the diet concentration in NDF ($P = 0.07$), ADICP ($P = 0.09$) and NDICP ($P = 0.07$).

No interfering factors were detected on the individual slopes nor on the inter- and intra-study residuals.

The slope obtained with the tdNDF/TDN1x model suggested that an increase of 0.1 tdNDF/TDN1x increased the molar proportion of C4 of 5%, independently of the animal species. No interfering factors were noted on the individual slopes, the inter- or intra-study residuals of the model. The LSMeans were positively related to the concentration in TDN1x discounted ($P = 0.05$), tdCP ($P = 0.002$) and tdFA ($P = 0.03$) and to the intake of TDN1x discounted ($P = 0.03$). Based on the number of interfering factors, and of the percentage of explaining variance, the tdNDF/TDN1x was considered to be the best predictor of the molar percentage of C4 in VFA-NPA. Comparative analyses of C4-NPA measured by the authors (Y) vs. predicted by the best model (X) using a GLM analyses showed intercept not different from 0 (0.015 ± 0.013 , $P = 0.26$) and a slope non different from 1 (0.872 ± 0.139 , $P = 0.95$). The R^2_{adj} were high (0.861) and the RMSE values rather low ($0.026 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$ and 2.7% respectively).

Acetate/Propionate ratio. The C2/C3 ratio in the VFA-NPA was significantly and linearly related to tdNDF ($P = 0.05$) and to tdNDF/TDN1x ($P = 0.03$), independently of the animal species (Figure 5). The best adjustment was obtained with tdNDF. It suggested that an increase of 1g tdNDF/g DM increased the ratio C2/C3 of $0.096 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$. No interfering factor was observed on the individual slopes, the LSMeans and the inter residuals whereas the intra-study residuals were positively correlated to the intake in tdNFC ($P = 0.04$) and tended to be positively related to the diet concentration in tdNFC ($P = 0.06$) and to the intake in TDN1x discounted ($P = 0.08$). Moreover the intra-study residuals were negatively related to the diet concentration in tdNDF ($P = 0.05$) and tended to be negatively related to the diet concentration in NDF ($P = 0.07$) and NDICP ($P = 0.07$).

The tdNDF/TDN1x model suggested that an increase of 0.1 tdNDF/TDN1x increased the C2:C3 ratio of 3.56, independently of the species. The individual slopes were positively related to the concentration in TDN1x discounted ($P = 0.03$) and tdFA ($P = 0.04$) and negatively to the diet concentration in ADICP (tendency at $P = 0.08$) and NDICP ($P = 0.007$). No interfering factor was obtained neither on the inter- and intra-study residuals of the model nor on the LSMeans.

Based on the number of interfering factors, and of the percentage of explaining variance, tdNDF was considered to be the best predictor of the C2:C3 ratio. Comparative analyses of the C2:C3 ratio measured by the authors (Y) vs. predicted by the model (X) using a GLM

analyses showed intercept not different from 0 (0.15 ± 1.35 , $P = 0.91$) and slope non different from 1 (0.93 ± 0.20 , $P = 0.66$). The R^2_{adj} was high (0.80) and the RMSE (0.7) value represented 20% (0.70 mmol/mmol) of the mean C2/C3.

DISCUSSION

Diet Characterization and Representativity of the Meta-Design

The empirical models that have been developed were based on a full and homogenous description of diets according to the feeds of INRA Tables (2007), in which the NRC diet characterisation has been applied. This was due to the requirement for a common feed between the previous study (Loncke et al., 2009a) based on INRA feed and diets characterization and the present work. The diversity of feeds present in the INRA Feed Tables made it possible to characterise about 95% of the experimental diets. Some forages or concentrates happened to be missing from these Tables or were not sufficiently diversified, notably tropical forages and wheat hay. The overall approach was considered valid, because there was close agreement between estimated and reported (when existing) chemical composition and nutritional values. Compared to INRA, the NRC system (2001) takes into account of the effects of digestive interactions and intake level at the digestive level (vs at the net energy level in INRA). This was represented by the application of a discounted variable on the characteristic of the diet.

As determined in the previous study (Loncke et al., 2009), the data published on NPA of energy nutrients in ruminants proved relevant to establishing prediction models in both sheep and cattle at different physiological stages. It should be pointed out that there are only limited data from lactating and gestating animals and from goats. The range of validity of the models needs to be defined as accurately as possible in terms of intake level and diet composition. This has been explained in the previous work. Briefly, most of the source data available for building the models was obtained in animals fed at intakes lower than $30 \text{ g DMI} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$ and with concentrate proportions until 98 g/100 g DM. This reflects most real-world setting. But the few number of available data comprised between 70 and 98 g concentrate/100 g DM suggest that the models must be applied carefully for high-producing dairy females receiving up to $40 \text{ g DMI} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$, or for feeding management strategies based on high-concentrate dry feeds.

Net Portal Appearance of Volatile Fatty Acids.

Total Volatile Fatty Acids. Changes in total VFA-NPA could be significantly predicted from changes in TDN_{1x} discounted intake, even if a species effect was observed on the intercept. Since diets fed by cattle contained more silage than diets fed by sheep, this may be due to a confounding effect with the fermentative products related to the silages, which also supply absorbable VFA. Indeed, whereas the fermentative products are theoretically included into the tdNFC, oven-drying before the determination of tdNFC concentration could induce VFA partial volatilization. Thus, it would be interesting to add the volatile fraction of VFAs from silages in the model. Assuming 11 mmol VFA absorbed/g fermentative products of silages (based on a compilation of 100 silage datasets, Beaumont et al., INRA, unpublished data), the inclusion of VFAs from the fermentative products into the model allows enhancing it (no species effect, higher R^2). In the same way, many interfering factors were related to the CP, and proved related to the silages by the correlation between the fermentative products and the CP ($P = 0.032$). Thus, the VFA-NPA can be predicted from the TDN_{1x}. However, many interfering factors were observed. This may be due to the fact that TDN_{1x} is an aggregated variable. Interestingly, the more analytical model including both tdNDF and tdNFC as covariables presented an intercept non different from 0, suggesting that no VFA appear in the portal vein in absence of ruminal fermentation. The coefficient associated to tdNFC discounted intake (2.55) was lower than this associated to tdNDF (3.78). This may be related to the fact that NDF digestion leads mainly to VFA production as final product in the rumen or the caecum, whereas digestion of NFC leads not only to VFA in the rumen and the caecum, but also to a substantial amount of glucose in the small intestine. According to the empirical model of Offner and Sauvant (2003), the mean of VFA produced from NFC was inferior to 63% and the diet induced NPA glucose from 0 to $2.5 \text{ g} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$.

Changes in total VFA NPA could thus be significantly predicted from changes in TDN_{1x} discounted intake, and by the combination of tdNDF and tdNFC discounted intake taken as covariables with a similar quality of adjustment, but second model appeared to be more general. Indeed, the model didn't have interfering factors contrary to the other model obtained for NPA-VFA. Interestingly the coefficient of each variable is closed to the coefficient obtained if the variable is introduced alone on the model (3.78 vs 3.83 for discounted tdNDFi, and 2.55 vs 1.78 for tdNFCi), reflecting that both covariables were statistically independent. This confirmed the stability of the model and the proper effect of each variable. Finally, the comparative analyses of the NPA-VFA measured by the authors vs. predicted by the model proved the model unbiased.

Molar proportion of Volatile Fatty Acids. Predictive models of the variations in molar proportions of C2 can be established from the diet concentration in tdNDF and the ratio tdNDF/TDN1x. This later was considered most stable because of no interfering factors on the individual slopes. The positive slope obtained (18.7 ± 8.5) is consistent with a greater proportion of C2 with high-NDF diets, as it was attended. However, the large standard error of the slope (45%) must be pointed out, and asks question for the precision of the prediction. Moreover, analysis showed that the predicted molar percentage of C2 ranged from 69 to 78%, this low range reflecting the poor sensibility of the model, observed percentage of C2 being ranging between 50 and 90%. Meanwhile, comparative analyses of the NPA-C2 and molar proportion of C2 measured by the authors (Y) vs. predicted proved the model unbiased.

Surprisingly, among the 7 tested, no significant model was obtained to predict the molar proportion of C3 from NRC criteria, whereas we evidenced that global criteria such as %CONC were significantly related to %C3 (Loncke et al., 2009).

The molar proportion of C4 in the portal vein can be predicted either from the concentration of tdNDF or from the ratio tdNDF/TDN1x. Based on the percentage of explained variance and interfering factors on the LSMeans, it was difficult to determine the best predictor between both models, but the tdNDF/TDN1x model present lesser interfering factor. This model presents negative slopes (-5.72 ± 2.06) and is thus consistent with the fact that low-NDF diets induce a lesser production of C4.

However, as for C2, the slope presents a large standard error, evidencing the poor predictive ability of this model. Again, this model appeared poorly sensible, since predicting molar percentage of C4 ranged from 3.76 to 5.0 %, whereas observed values ranged from 3.74 to 13.6 %, even if these highest values were obtained with high fermentative deviations. Meanwhile, comparative analyses of the C4-NPA measured by the authors (Y) vs. predicted proved the model unbiased.

Non linear responses of VFA molar proportions to criteria describing the fibrosity of diets are classically observed in the rumen fluid, i.e. with the proportion of concentrate (Lescoat and Sauvant, 1995; Archimède et al., 1997), or with the ratio dNDF/dOM (Nozière et al., 2009). In contrast, in the present work based on NRC criteria, as well as on a previous work based on INRA criteria (Loncke et al., 2009), equation responses of the molar proportion of VFA in the NPA were linear. This could be explained by the low number of publications with high fermentative deviations, the large treatment differences within these publications, or the lack of experiments specifically designed to test dose responses.

Acetate/Propionate ratio. The ratio C2:C3 in VFA-NPA is related to the dietary concentration in tdNDF and to tdNDF/TDN1x ratio. The tdNDF appeared to be the best predictor, with no interfering factor. The predicted C2:C3 ratio averaged 3.3 ± 0.5 . It is lesser than the observed C2:C3 ratio which averaged 3.4 ± 1.6 and reach up 9.6. However, analysis showed that only one publication presented high value (at mean 8.0) for animals fed brome grass ad libitum vs. the same diet completed with ground maize or soya-been hull or rumen degradable CP . Generally, it is admitted that traditional diet provided C2:C3 ratio ranging from 1.5 to 5 (Jouany et al., 1995; Demigné, 1991), according to the nature of the diet. A ratio reached 9.6 is thus very high but this point out the fact that capacity of model to predict the VFA profile in high fermentative deviation diets. Meanwhile, comparative analyses of the C2/C3 measured by the authors (Y) vs. predicted by the model (X) proved the model unbiased.

Comparison of Models obtained with NRC or INRA characteristics

The present work proposes empirical prediction of VFA-NPA from NRC (2001) diet characteristics. A previous study has shown that it is possible to describe rations by the amount and nature of nutrients (volatile fatty acids, glucose, β -hydroxybutyrate, lactate, and α -amino N) appearing in the portal blood (Loncke et al., 2008; Loncke et al., 2009). Response equations were based on intake and diet composition characterized according to INRA Feed Tables for Ruminants (2007). For VFAs, the total VFA-NPA was predicted from the amount of RfOM intake and the VFA profile appearing in the portal vein from the quantity of RdNDF in the RfOM described by the RdNDF/RfOM ratio. It appeared thus interesting to compare predictive models based on INRA and NRC systems. Noteworthy, models obtained from INRA system were most stable than those obtained from NRC. Indeed, INRA models generally presented no interfering factors, compare to NRC models which often presented at least one interfering factor. Moreover, INRA models were associated to higher R^2 (0.95, 0.85, 0.76, 0.76 and 0.97 respectively for VFA-NPA, molar percentage of C2, C3, C4 and C2:C3) and lesser RMSE ($0.243 \text{ mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$, 2.23%, 2.18%, 1.10% and 0.181 respectively for VFA-NPA, molar percentage of C2, and C4 and C2:C3) than NRC models (RMSE equal to $0.385 \text{ mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$, 3.03%, 2.18%, 1.00% and 0.811 and R^2 equal to 0.88, 0.79, 0.75 and 0.79 in the same order). This may be due to the fact that criteria present in INRA feed Tables more precisely describe and discriminate site and extent of digestion of dietary components. Indeed, in INRA feed tables RfOM deals more specifically with fermented OM, whereas in NRC, tdTDN deals with all digested substrates, including starch, protein, and fat digested in

the small intestine. Also, tdNFC deals with all digestible non fiber carbohydrates, and thus no not discriminate various substrates such as starch, pectins and sugars....Additionally, INRA Tables include more characteristics, allowing for example prediction of site and extent of starch digestion from tabulated in situ data (Offner et Sauvant, 2003), thus allowing prediction of partition of starch digestion end-products between VFAs and glucose.

With the NRC system, the VFA-NPA was predicted from intake of TDN1x and from both intake of tdNDF and tdNFC, this latter being the best.

The slope obtained with the intake of TDN1x (4.2 ± 0.6 mmol VFA / g TDN) was consistently lower than the slope obtained with RfOM (5.9 ± 0.5 mmol VFA / g RfOM) by Loncke et al. (2009). Indeed, the intake of TDN1x was close to the intake of RfOM in an intra study relationship, with a slope averaging 0.6 ± 0.05 g RfOM / g TDN (Figure 6). Meanwhile, the relationship between the concentration in discounted TDN (Y) and RfOM (X) was significant ($P = 0.002$) but less clear (Figure 7). Analysis showed (results not shown) that LSMeans associated to this relation were positively related to the concentration in RdNDF ($R^2 = 0.62$; $P < 0.001$) and tended to be negatively linked to the concentration in starch ($R^2 = 0.50$; $P = 0.070$).

Concerning the prediction of the VFA profile, no predictor can be obtained for the molar percentage of C3 with NRC system, contrary to the INRA feed characterisation system (Loncke et al., 2009). Noteworthy, a common predictor was found for all VFAs with the INRA.

Coefficients of the slopes obtained in the present work with tdNDF/TDN (18.7 ± 8.5 , -5.72 ± 2.06 and 3.56 ± 1.53 respectively for C2, C4 and C2:C3) are lower than those (25.1 ± 5.1 , -7.3 ± 2.1 and 4.5 ± 0.34 respectively for C2, C4 and C2:C3) obtained with RdNDF/RfOM taken from the INRA characterisation. Indeed, the ratio tdNDF/TDN integrates the total digestibility whereas the RdNDF/RfOM ratio integrates only the rumen fermentations. Nevertheless, a strong relationship was obtained between both ratios (Figure 8).

CONCLUSION AND PERSPECTIVES

The objective of the present study was to establish response equations for the NPA of energy nutrients in relation to combined changes in intake and/or diet composition in ruminants with feed characterisation taken from the NRC System and to compare them to previous models obtained from the INRA. Models were obtained for total VFA ANP, and for the profile of C2 and C4 appearing in the portal vein but no significant model was obtained

for C3. This work showed that the feed characteristics from NRC system was not able to generate more generic models for both cattle and sheep than the detailed knowledge of the chemical composition of the diets and the site and extent of digestion, although estimated from INRA Feed Tables (2007).

Indeed, the model obtained from NRC criteria presented more interfering factors than the model previously obtained with the same dataset from INRA criteria. Finally, it seems important to point out that the discounted variable from NRC applied to TDN and which aim to take into account on the intake level, didn't allow reducing the uncertainties compare to the RfOM calculated by additivity in the INRA system. This conclusion should be nuanced since in the present dataset, the digestive interactions were rather moderate (4% of average dOM intake; Loncke et al., 2009).

This research improves our understanding of biological processes, and represents the first step towards developing new tools for dietary formulation.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors wish to thank INZO and LIMAGRAIN as well as the *Association Nationale de la Recherche Technique* for funding this project.

LITERATURE CITED

- Atkinson, R.L., C.D. Toone, T.J. Robinson, D.L. Harmon, and P.A. Ludden. 2007. Effects of supplemental ruminally degradable protein versus increasing amounts of supplemental ruminally undegradable protein on nitrogen retention, apparent digestibility, and nutrient flux across visceral tissues in lambs fed low-quality forage. *J. Anim. Sci.* 85: 3331-3339.
- Baird, G.D., M.A. Lomax, H.W. Symonds, and S.R. Shaw. 1980. Net hepatic and splanchnic metabolism of lactate, pyruvate and propionate in dairy cows in vivo in relation to lactation and nutrient supply. *Biochem. J.* 186:47-57.
- Bergman, E. N., M. L. Katz, and C. F. Kaufman. 1970. Quantitative aspects of hepatic and portal glucose metabolism and turn-over in sheep. *Am. J. Physiol.* 219:785-793.
- Bohnert, D.W., B.T. Larson, S. Lewis, C.J. Richards, K.C. Swanson, D.L. Harmon, and G.E. Mitchell Jr. 1999. Net nutrient flux in visceral tissues of lambs fed diets differing in supplemental nitrogen source. *J. Anim. Sci.* 77:2545-2553.
- Brockman, R.P. 1990. Effect of insulin on the utilisation of propionate in sheep. *Br. J. Nutr.* 64:95-101.

- Brockman, R.P., and B. Laarveld. 1985. Effect of insulin on the net hepatic metabolism of acetate β -hydroxybutyrate in sheep (*Ovis aries*). *Comp. Biochem. Physiol.* 81A:255-257.
- Burrin, D.G., C.L. Ferrell, J.H. Eisemann, and R.A. Britton. 1991. Level of nutrition and splanchnic metabolite flux in young lambs. *J. Anim. Sci.* 69:1082-1091.
- Casse, E. A., H. Rulquin, and G. B. Huntington. 1994. Effect of mesenteric vein infusion of propionate on splanchnic metabolism in primiparous holstein cows. *J. Dairy Sci.* 77:3296-3303.
- De Visser, H.A. Klop, J. Van der Meulen and Van A.M Vuuren. 1998. Influence of maturity of grass silage and flaked corn starch on the production and metabolism of volatile fatty acids in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81:1028-1035.
- DeVisser, H.A., H. Valk, A. Klop, J. VanderMeulen, J.G.M. Bakker, and G.B. Huntington. 1997. Nutrient fluxes in splanchnic tissue of dairy cows: Influence of grass quality. *J. Dairy Sci.* 80:1666-1673.
- Dijkstra, J., E. Kebreab, J. A. N. Mills, W. F. Pellikaan, S. Lopez, A. Bannink and J. France. 2007. Predicting the profile of nutrients available for absorption: from nutrient requirement to animal response and environmental impact. *Animal* 1, 99-111.
- Eisemann, J.H., G.B. Huntington, and D.R. Catherman. 1996. Patterns of nutrient interchange and oxygen use among portal-drained viscera, liver and hindquarters of beef steers from 235 to 525 kg body weight. *J. Anim. Sci.* 74:1812-1831.
- Eisemann, J.H., and J.A. Nienaber. 1990. Tissue and whole-body oxygen uptake in fed and fasted steers. *Br. J. Nutr.* 64:399-411.
- Ferrell, C.L., H.C. Freetly, A.L. Goetsch, and K.K. Kreikemeier. 2001. The effect of dietary nitrogen and protein on feed intake, nutrient digestibility, and nitrogen flux across the portal-drained viscera and liver of sheep consuming high-concentrate diets ad libitum. *J. Anim. Sci.* 79:1322-1328.
- Ferrell, C. L., K.K. Kreikemeier, and H.C. Freetly. 1999. The effect of supplemental energy, nitrogen, and protein on feed intake, digestibility, and nitrogen flux across the gut and liver in sheep fed low-quality forage. *J. Anim. Sci.* 77:3353-3364.
- Freetly, H.C., and L.V. Cundiff. 1998. Reproductive performance, calf growth, and milk production of first-calf heifers sired by seven breeds and raised on different levels of nutrition. *J. Anim. Sci.* 76:1513-1522.

- Freetly, H.C., and C.L. Ferrell. 1998. Net flux of glucose, lactate, volatile fatty acids, and nitrogen metabolites across the portal drained viscera and liver of pregnant ewes. *J. Anim. Sci.* 76:3133–3145.
- Freetly, H.C., and Klindt J. 1996. Changes in gut and liver glucose, lactate, insulin and oxygen flux in mature ewes during mesenteric or abdominal vena cava glucose infusion. *J. Nutr.* 126:924-932.
- Fukuma, T., K. Tangiguchi, and T.Obitsu. 2005. Evaluation of fishmeal supplement with net nitrogen flux by the portal-drained viscera and the liver in mature sheep. *Asian-Aust J. Anim. Sci.* 18:1251-1291.
- Goetsch, A.L., and C.L. Ferrell. 1995. Effect of dietary maize level on net flux across splanchnic tissues of oxygen and nutrients in wethers consuming *ad-libitum* different forages. *Anim. Sci.* 61:43-55.
- Goetsch, A.L., C.L. Ferrell, and H.C. Freetly. 1994. Effect of different supplements on splanchnic oxygen consumption and net fluxes of nutrients in sheep consuming brome grass (*Bromus inermis*) hay ad libitum. *Br. J. Nutr.* 72:701-712.
- Goetsch, A. L., A. R. Patil, Z. S. Wang, K. K. Park, D. L. Galloway, J. E. Rossi, and B. Kouakou. 1997. Net flux of nutrients across splanchnic tissues in wethers consuming grass hay with or without corn and alfalfa. *Anim. Feed Sci. Technol.* 66:271-282.
- Goetsch, A.L., A.R. Patil, D.L. Galloway, B. Kouakou, Z.S. Wang, K.K. Park, and J.E. Rossi. 1997a. Net flux of nutrients across splanchnic tissues in wethers consuming grasses of different sources and physical forms ad libitum. 77:769-78.
- Goetsch, A.L., A.R. Patil, Z.S. Wang, K.K. Park, D.L. Galloway, J.E. Rossi, and B. Kouakou. 1997b. Net flux of nutrients across splanchnic tissues in wethers consuming bermudagrass or ryegrass-wheat hay supplemented with rumen undegradable protein. *Small Ruminant Res.* 25:119:128.
- Goetsch, A.L., A.R. Patil, D.L. Galloway, Z.S. Wang, B. Kouakou, K.K. Park, and J.E. Rossi. 1997c. Oxygen consumption by splanchnic tissues in wethers consuming ad libitum different proportions of bermudagrass and ryegrass-wheat. *Arch. Anim. Nutr.* 50:1-11.
- Goetsch, A.L., A.R. Patil, Z.S. Wang, K.K. Park, D.L. Galloway, J.E. Rossi, and B. Kouakou. 1997d. Net flux of nutrients across splanchnic tissues in wethers consuming grass hay with or without corn and alfalfa. *Anim. Feed Sci. Technol.* 66:271-282

- Harmon, D.L., K.L. Gross, K.K. Kreikemeier, K.P. Coffey, T.B. Avery, and J. Klindt. 1991. Effects of feeding endophyte-infected fescue hay on portal and hepatic nutrient flux in steers. *J. Anim. Sci.* 69:1223-1231.
- Heitmann, R.N., D.J. Dawes, and S.C. Sensenig. 1987. Hepatic ketogenesis on peripheral ketone body utilization in the ruminant. *J. Nutr.* 117:1174-1180.
- Huntington, G.B., E. Zetina, J.M. Whitt, and W. Potts. 1996. Effects of dietary concentrate level on nutrient absorption, liver metabolism, and urea kinetics of beef steers fed isonitrogenous and isoenergetic diets. *J. Anim. Sci.* 74:908-916.
- INRA, 1988. Alimentation des bovins, ovins et caprins. R. Jarrige, ed. INRA, Paris, France.
- INRA. 2007. Alimentation des bovins, ovins et caprins - besoins des animaux - valeurs des aliments - tables inra 2007, Versailles, France.
- Katz, M.L., and E.N. Bergman. 1969. Hepatic and portal metabolism of glucose, free fatty acids, and ketone bodies in the sheep. *Am. J. Physiol.* 216:953-960.
- Krehbiel, C.R., C.L. Ferrell, and H.C. Freetly. 1998. Effects of frequency of supplementation on dry matter intake and net portal and hepatic flux of nutrients in mature ewes that consume low-quality forage. *J. Anim. Sci.* 76:2464-2473.
- Krehbiel, C.R., D.L. Harmon, and J.E. Schnieder. 1992. Effect of increasing ruminal butyrate on portal and hepatic nutrient flux in steers. *J. Anim. Sci.* 70:904-914.
- Lapierre, H., C.K. Reynolds, T.H. Elsasser, P. Gaudreau, P. Brazeau, and H.F. Tyrrell. 1992. Effects of growth hormone-releasing factor and feed-intake on energy-metabolism in growing beef steers - net hormone metabolism by portal-drained viscera and liver. *J. Anim. Sci.* 70:742-751.
- Lindsay, D. B. 1978. Gluconeogenesis in ruminants. *Biochem. Soc. Trans.* 6:1152-1156.
- Loncke, C., I. Ortigues-Marty, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant, and P. Nozière. 2009. Empirical prediction of net portal appearance of volatile fatty acids, glucose, and their secondary metabolites (β -hydroxybutyrate, lactate) from dietary characteristics in ruminants: A meta-analysis approach. *J. Anim. Sci.* 87:253-268.
- Lozano, O., C.B. Theurer, A. Alio, J.T. Huber, A. Delgado-Elorduy, P. Cuneo, D. DeYoung, M. Sadik, and R.S. Swingle. 2000. Net absorption and hepatic metabolism of glucose, L-lactate, and volatile fatty acids by steers fed diets containing sorghum grain processed as dry-rolled or steam-flaked at different densities. *J. Anim. Sci.* 78:1364-1371.

- Majdoub, L., M. Vermorel, and I. Ortigues-Marty. 2003a. Ryegrass-based diet and barley supplementation: Partition of energy-yielding nutrients among splanchnic tissues and hind limbs in finishing lambs. *J. Anim. Sci.* 81:1068-1079.
- Majdoub, L., M. Vermorel, and I. Ortigues-Marty. 2003b. Intraruminal propionate supplementation modifies hindlimb energy metabolism without changing the splanchnic release of glucose in growing lambs. *B. J. Nutr.* 89:39-50.
- Maltby, S.A., M.A. Lomax, D.E. Beever, and C.J. Pippard. 1992. The effect of increased ammonia and amino acid supply on post prandial portal-drained viscera and hepatic metabolism in growing steers fed maize silage. Pages 20-22 in *Proc. 12th Symposium on Energy Metabolism of Farm Animals*, Zurich, Switzerland.
- NRC. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th rev. National Research Council ed. National Academy Press Washington, DC.
- Ortigues, I., A.L. Visseiche, and D. Durand. 1994. Adaptation to undernutrition in ewes: Net nutrient fluxes across the portal drained viscera, the liver and the hindquarters. Page 89 in *Proc. 13th Symposium on Energy Metabolism of Farm Animals*, Granada, Spain.
- Park, K.K., A.L. Goetsch, Z.B. Johnson, and J. E. Rossi. 1997. Temporal net flux pattern of nutrients across splanchnic tissues in wethers consuming different forages. *Small Ruminant Res.* 25:107-118.
- Patil, A.R., A.L. Goetsch, K.K. Park, B. Kouakou, D L. Galloway, and Z. B. Johnson. 1995a. Influence of grass source on net flux of nutrients across splanchnic tissues in sheep with restricted intake. *Arch. Anim. Nutr.* 48:257-269.
- Patil, A.R., A.L. Goetsch, K.K. Park, B. Kouakou, D.L. Galloway, and Z.B. Johnson. 1996. Influence of grass source and legume level on net flux of nutrients across splanchnic tissues in sheep *Small Ruminant Res.* 22:111-122.
- Patil, A.R., A.L. Goetsch, K.K. Park, B. Kouakou, D.L. Galloway, C.P. West, and Z.B. Johnson. 1995b. Net flux of nutrients across splanchnic tissues in sheep fed tropical vs temperate grass hay of moderate or low qualities. *Livest. Prod. Sci.* 43:49-61.
- Reynolds, P.J., and G.B. Huntington. 1988. Net portal absorption of volatile fatty acids and L(+)-lactate by lactating holstein cows. *J. Dairy Sci.* 71:124-133.
- Reynolds, C.K., G.B. Huntington, H.F. Tyrrell, and P.J. Reynolds. 1988a. Net portal-drained visceral and hepatic metabolism of glucose, L-lactate and nitrogenous compounds in lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 71:1803-1812.

- Reynolds, C.K., G.B. Huntington, H.F. Tyrrell, and P.J. Reynolds. 1988b. Net metabolism of volatile fatty acids, D-beta-hydroxybutyrate, nonesterified fatty acids, and blood gases by portal-drained viscera and liver of lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 71:2395-2405.
- Reynolds, C. K., S. B. Cammell, D. J. Humphries, D. E. Beever, J. D. Sutton, and J. R. Newbold. 2001. Effects of post-rumen starch infusion on milk production and energy metabolism in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84:2250-2259.
- Reynolds, C.K., H.F. Tyrrell, and L.E. Armentano. 1992. Effects of mesenteric vein n-butyrate infusion on liver metabolism by beef steers. *J. Anim. Sci.* 70:2250–2261.
- Reynolds, C.K., H.F. Tyrrell, and P.J. Reynolds. 1991. Effects of diet forage-to-concentrate ratio and intake on energy metabolism in growing beef heifers: Net nutrient metabolism by visceral tissues. *J. Nutr.* 121:1004-1015.
- Sauvant, D., P. Schmidely, and J.J. Daudin. 2005. Meta-analysis of experimental data: Application in animal nutrition. *INRA Prod. Anim.* 18:63-73.
- Sauvant, D., P. Schmidely, J.J. Daudin, and N.R. St-Pierre. 2008. Meta-analyses of experimental data in animal nutrition *Animal* 2:1203-1214.
- Theurer, C.B., G.B. Huntington, J.T. Huber, R.S. Swingle, and J.A. Moore. 2002. Net absorption and utilization of nitrogenous compounds across ruminal, intestinal, and hepatic tissues of growing beef steers fed dry-rolled or steam-flaked sorghum grain. *J. Anim. Sci.* 80:525-532.
- Vernet, J., and I. Ortigues-Marty. 2006. Conception and development of a bibliographic database of blood nutrient fluxes across organs and tissues in ruminants: Data gathering and management prior to meta-analysis. *Reprod. Nutr. Dev.* 46:527-546.
- Wieghart, M., R. Slepetis, J.M. Elliot, and D.F. Smith. 1986. Glucose absorption and hepatic gluconeogenesis in dairy cows fed diets varying in forage content. *J. Nutr.* 116:839-850

Table 1. Description of animals and diets used for the meta-analyses¹ of net portal appearance of volatile fatty acids.

	n	Cattle				n	Sheep				Species effect
		Mean	SD	Minimum	Maximum		Mean	SD	Minimum	Maximum	P-value
Physiological stage											
Non productive adult	0					27					
Growing	29					13					
gestation	0					4					
lactation	6					0					
Dietary composition ² , g / 100 DM											
Neutral detergent fiber	35	35.2	13.6	15.7	58.3	44	54.7	10.4	25.1	69.8	<0.001
Acid detergent fiber	35	19.0	8.76	5.39	34.3	44	31.6	7.11	11.3	42.8	<0.001
Crude protein	35	15.5	3.23	9.72	22.0	44	13.9	3.54	5.20	23.0	0.03
Total digestible non fibre carbohydrate	35	40.3	15.9	12.0	66.7	44	24.3	10.2	11.9	60.9	<0.001
Total digestible crude protein	35	19.7	3.6	10.1	24.5	44	16.1	5.5	4.9	36.2	0.001
Total digestible neutral detergent fiber	35	12.0	4.7	5.7	20.2	44	18.9	4.0	8.5	23.7	<0.001
Total digestible fatty acids	35	2.9	0.69	1.15	3.99	44	1.70	0.81	0	3.98	<0.001
Acid detergent insoluble crude protein	35	1.20	0.27	0.62	1.96	44	1.55	0.40	1.09	2.86	<0.001
Neutral detergent insoluble crude protein	35	2.46	0.95	1.10	4.08	44	3.83	0.73	1.76	4.89	<0.001
Total digestible nutrients at maintenance	35	68.0	12.5	46.2	84.6	44	54.1	11.2	41.2	86.9	<0.001
Proportion of concentrate (g / 100 g DM)	35	52.5	35.3	0	98.8	44	15.8	23.1	0	97.9	<0.001
Intake, g·d ⁻¹ ·100 g BW ⁻¹											
Dry matter	35	1.80	0.46	0.65	0.26	44	1.83	0.77	0	3.1	0.86
Total digestible NFC discounted	35	0.68	0.26	0.21	1.12	44	0.46	0.30	0	1.24	0.001
Total digestible CP discounted	35	0.34	0.10	0.11	0.54	44	0.28	0.15	0	0.77	0.04
Total digestible NDF discounted	35	0.22	0.11	0.04	0.49	44	0.34	0.15	0	0.66	<0.001
TDN 1x discounted	35	1.19	0.28	0.53	1.73	44	0.99	0.48	0	1.90	0.03
Fermentative products from silages	35	0.049	0.086	0	2.90	44	0.020	0.043	0	0.03	0.095

¹Publications used: Katz and Bergman, 1969; Bergman and Wolff, 1971; Huntington, 1983a, b; Huntington and Prior, 1983; Heitmann et al., 1986; Huntington et al., 1988; Reynolds et al., 1988b; Reynolds and Tyrrell, 1991; Reynolds et al., 1991; Lapierre et al., 1992; Seal et al., 1992; Goetsch et al., 1994; Ortigues et al., 1994; Goetsch and Ferrell, 1995; Patil et al., 1995a; Patil et al., 1995b; Eisemann et al., 1996; Huntington et al., 1996; Kristensen et al., 1996a; DeVisser et al., 1997; Freetly and Nienaber, 1998; Linington et al., 1998; Nozière et al., 2000b; Han et al., 2002; Majdoub et al., 2003; Del Sole et al., 2004

² Dietary composition and intake calculated by additivity and applying discounted coefficient according to NRC Feed Tables (NRC, 2001); Total digestible NFC discounted = Total digestible non fiber carbohydrates discounted; Total digestible CP discounted = Total digestible crude protein discounted; Total digestible NDF discounted = Total digestible non detergent fiber discounted; TDN 1x discounted = total digestible nutrients at 1 X maintenance.

Table 2: Responses of the net portal appearance ($\text{mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$) of total VFA (VFA), and of the molar percentages (mol/100mol VFA) of acetate (C2), propionate (C3) and butyrate (C4) and C2:C3; to variations in the intake ($\text{g} \cdot \text{d}^{-1} \cdot 100 \text{ g BW}^{-1}$) or diet concentration ($\text{g}/100 \text{ g DM}$) of total digestible nutrient at maintenance discounted (TDN1x), total digestible NDF intake, total digestible non fiber carbohydrates (tdNFC) and their combination.

Y	X	Numbers ¹				Intercept		Slope 1		Slope 2		RMSE	R ² _{adj}	species	Interfering factor ²		
		n _{exp}	n _{ai}	n _t	n _r	α	SE	β_1	SE	β_2	SE				Individual Slopes	Inter Residuals	LSMeans
VFA	TDN1x disc.i	22	7	51	1	0.795**	0.280	1.75***	0.265			0.453	0.853	0.003 ³	-conc**;	-NDICP†;	none
															-TDN1x†	+NDFi†; +NDICPi†	+ADICPi†
%C2	tdNDFi, tdNFCi	19	5	43	3	0.0192 NS	0.292	3.78***	0.754	2.55***	0.328	0.385	0.881	NS	none	none	none
	TDN1x disc	11	ND	25	ND	86.47***	5.71	-0.211†	0.098			3.133	0.680	NS	ND	ND	ND
	tdNDF disc.	11	2	25	2	63.37***	4.69	0.646 *	0.269			3.031	0.794	NS	+DMI*;	none	none
	tdNFC disc.	11	ND	25	ND	78.95***	2.27	-0.156 NS	0.077			3.179	0.673	NS	ND	ND	ND
	tdNDF disc, tdNFC disc	11	ND	25	ND	62.25**	15.39	0.693 NS	0.632	0.0145 NS	0.174	3.154	0.777	NS	ND	ND	ND
%C3	tdNDF/TDN1x	11	2	25	2	68.30***	2.90	18.71*	8.48			3.107	0.784	NS	none	none	-tdNFCi†
	tdNFC/TDN1x	11	ND	25	2	79.78***	3.62	-10.99 NS	7.17			3.352	0.748	NS	ND	ND	ND
	tdNDF/TDN, dNFC/TDN	11	ND	25	ND	51.37	15.87	41.99†	22.93	19.60 NS	17.97	3.084	0.786	NS	ND	ND	ND
	TDN1x disc	12	ND	29	ND	14.10*	5.78	0.141 NS	0.100	3.172	5.78	3.173	0.711	NS	ND	ND	ND
	tdNDF disc.	12	ND	29	ND	30.17***	4.62	-0.475 NS	0.272			3.065	0.730	0.081	ND	ND	ND
	tdNFC disc.	12	ND	29	ND	21.63***	2.68	0.056 NS	0.082			3.018	0.614	NS	ND	ND	ND
	tdNDF disc, tdNFC disc	12	ND	29	ND	35.02*	15.50	-0.663 NS	0.637	-0.0575 NS	0.175	3.176	0.711	0.089	ND	ND	ND
	tdNDF/TDN1x	12	ND	29	ND	26.81***	2.75	-14.63 NS	8.37			3.064	0.731	0.075	ND	ND	ND
%C4	tdNFC/TDN1x	12	ND	29	ND	21.174***	4.12	4.425 NS	7.943			3.034	0.812	NS	ND	ND	ND
	tdNDF/TDN, dNFC/TDN	12	ND	29	ND	42.55*	15.75	-36.11 NS	22.76	-18.09 NS	17.83	3.060	0.731	0.065	ND	ND	ND
	TDN1x disc	14	ND	30	ND	-0.295	2.90	0.0716 NS	0.0501			1.590	0.485	NS	ND	ND	ND
	tdNDF disc.	13	1	28	3	6.30	0.979	-0.015*	0.058			1.00	0.748	NS	none	none	+TDN1x*; +tdCP**
																	+tdFA*; +NDF†;
C2/C3																	+ADICP†; +NDICP†
	tdNFC disc.	14	ND	30	ND	2.24	1.20	0.0534 NS	0.0390			1.598	0.480	0.044	ND	ND	ND
	tdNDF disc, tdNFC disc	14	ND	30	ND	1.33 NS	8.11	0.0377 NS	0.333	0.0627 NS	0.0915	1.663	0.437	0.074	ND	ND	ND
	tdNDF/TDN1x	14	3	27	1	5.44***	0.681	-5.72*	2.06			1.043	0.727	NS	none	none	+TDN1x*; +tdCP*
																	+tdFA*; +TDN1xi*
	tdNFC/TDN1x	14	ND	30	ND	5.02***	0.833	-2.76 NS	1.64			0.780	0.776	NS	ND	ND	ND
	tdNDF/TDN, dNFC/TDN	14	ND	30	ND	5.73***	8.54	-5.85 NS	12.34	0.187 NS	9.67	1.660	0.439	NS	ND	ND	ND
	TDN1x disc	17	ND	40	ND	6.46***	1.31	-0.048 †	0.022			0.740	0.798	NS	ND	ND	ND
	tdNDF disc.	17	3	40	0	1.77*	0.780	0.096*	0.045			0.811	0.788	NS	none	none	none
	tdNFC disc.	17	ND	40	ND	4.70***	0.560	-0.0351†	0.0180			0.758	0.789	NS	ND	ND	ND
	tdNDF disc, tdNFC disc	17	ND	40	ND	2.24 NS	3.76	-0.0097 NS	0.042	0.102 NS	0.154	0.774	0.780	NS	ND	ND	ND
	tdNDF/TDN1x	17	3	40	0	2.25***	0.505	3.56*	1.53			0.796	0.796	NS	+TDN1x*; +tdFA*	none	none
															-ADICP†; -NDICP**		
	tdNFC/TDN1x	17	ND	40	ND	5.025***	0.833	-2.75 NS	1.64			0.780	0.776	NS	ND	ND	ND
	tdNDF/TDN, dNFC/TDN	17	ND	40	ND	-1.72 NS	3.59	9.95 †	5.18	4.61 NS	4.12	0.714	0.812	0.071	ND	ND	ND

¹Publications: Katz and Bergman, 1969; Bergman and Wolff, 1971; Huntington, 1983a, b; Huntington and Prior, 1983; Heitmann et al., 1986; Huntington et al., 1988; Reynolds et al., 1988b; Reynolds and Tyrrell, 1991; Reynolds et al., 1991; Lapierre et al., 1992; Seal et al., 1992; Goetsch et al., 1994; Ortigues et al., 1994; Goetsch and Ferrell, 1995; Patil et al., 1995a; Patil et al., 1995b; Eiseemann et al., 1996; Huntington et al., 1996; Kristensen et al., 1996a; DeVisser et al., 1997; Freely and Nienaber, 1998; Linnington et al., 1998; Nozière et al., 2000b; Han et al., 2002; Majdoub et al., 2003; Del Sole et al., 2004; ² Dietary composition and intake calculated by additivity and applying discounted coefficient according to NRC Feed Tables (NRC, 2001); Total digestible NFC discounted = Total digestible non fiber carbohydrates discounted; Total digestible CP discounted = Total digestible crude protein discounted; Total digestible NDF discounted = Total digestible non detergent fiber discounted; TDN 1x discounted = total digestible nutrients at 1 X maintenance.

Figure 1: Within-study relationships between the net portal appearance (NPA) of the total volatile fatty acids (VFA) and the discounted intake of total digestible nutrient.

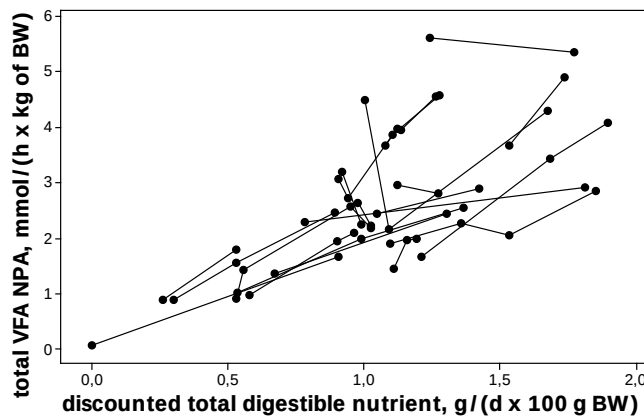


Figure 2: Within-study relationships between the net portal appearance (NPA) of the total volatile fatty acids (VFA) and the discounted intake of total digestible non fiber carbohydrates (tdNFC; A) and the total digestible NDF (td NDF; B)

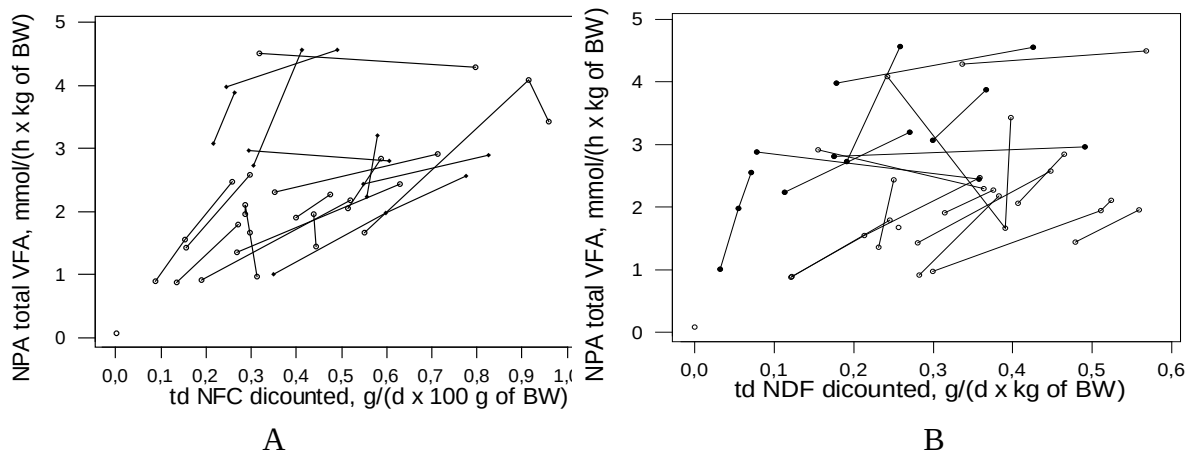


Figure 3: Within-study relationships between the percentage of acetate appearing in the portal vein and the ratio of total digestible NDF / total digestible nutrients (tdNFDTDN; A) and the discounted intake of total digestible NDF (B)

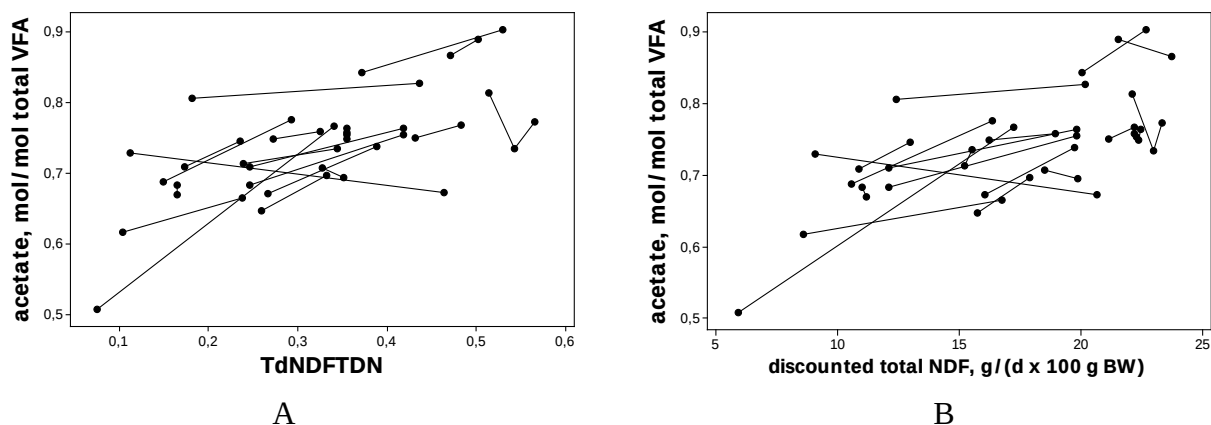


Figure 4: Within-study relationships between the percentage of butyrate appearing in the portal vein and the ratio of total digestible NDF / total digestible nutrients (tdNFD/TDN; B) and the discounted intake of total digestible NDF (A)

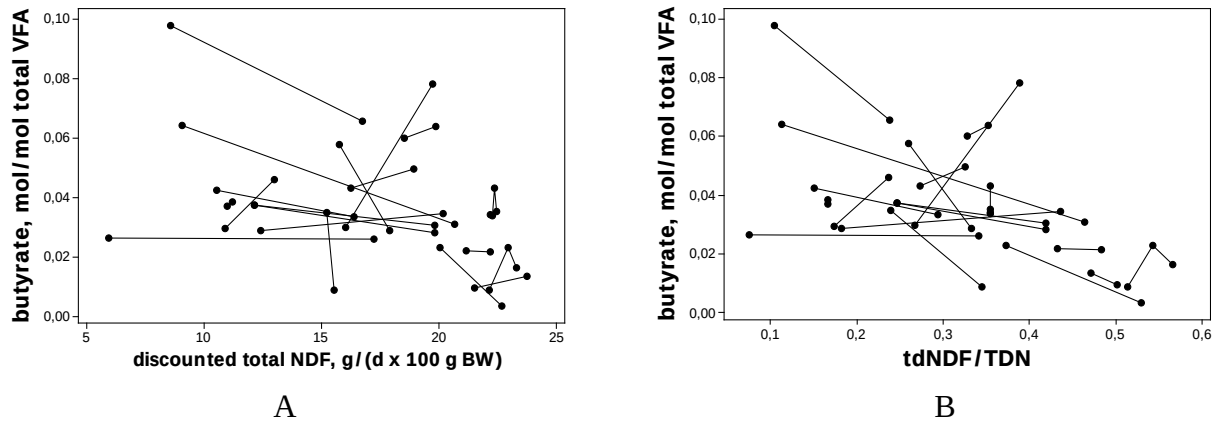


Figure 5: Within-study relationships between the ratio acetate/propionate appearing in the portal vein and the ratio of total digestible NDF / total digestible nutrients (tdNFD/TDN; A) and the discounted intake of total digestible NDF (B)

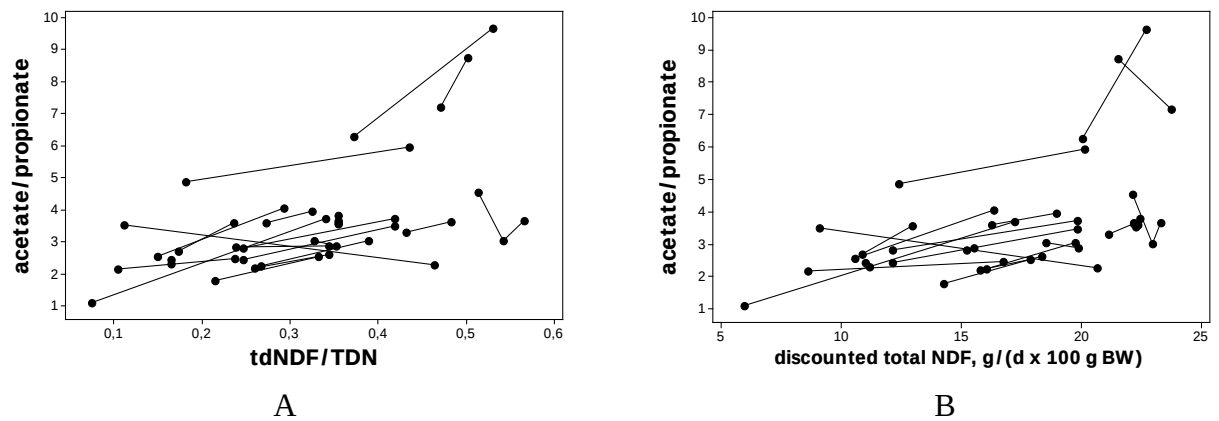
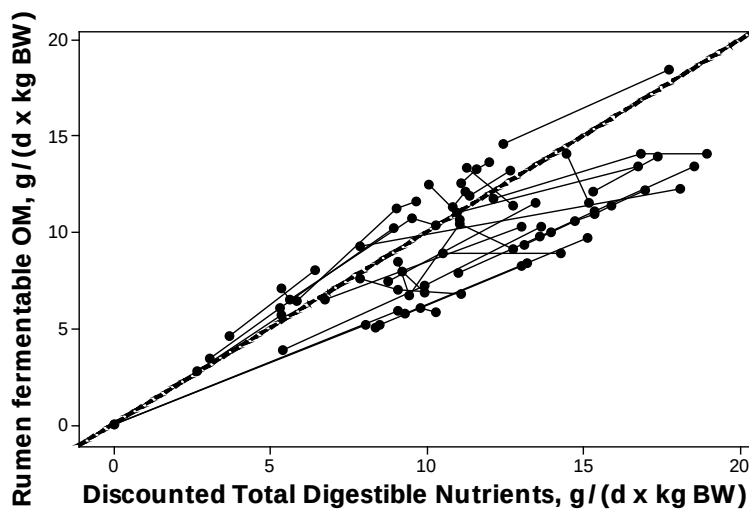
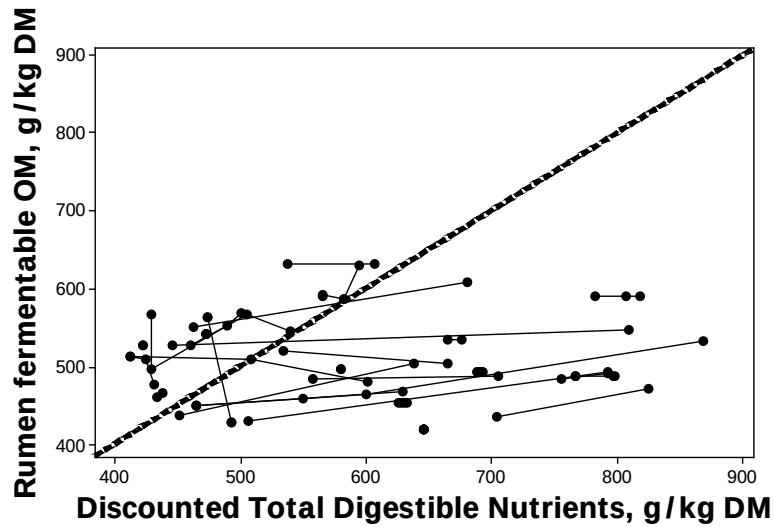


Figure 6: Within -study relationship between the intake of Ruminally fermentable OM and the discounted intake of total digestible nutrients.



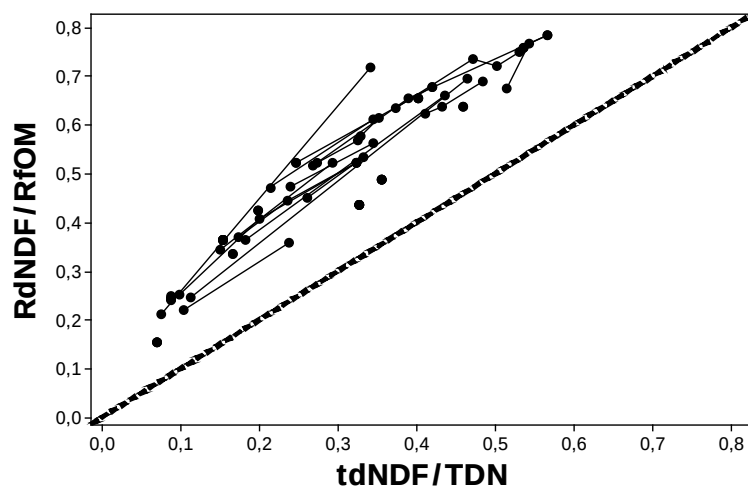
RfOM intake (g/d/kg BW) = $2.73^{***} \pm 0.55 + 0.611^{***} \pm 0.051$ discounted TDN intake (g/d/kg BW); n = 78; RMSE = 1.041; $R^2_{adj} = 0.909$

Figure 7: Within-study relationship between the diet concentration (g/kg DM) in RfOM and discounted TDN



RfOM (g/kg DM) = $421.2 \pm 26.3 + 0.143 \pm 0.044$ discounted TDN (g/kg DM); $n = 79$; RMSE = 24.54; R^2 adj = 0.799

Figure 8: Within-study relationship between RdNDF/RfOM and tdNDF/TDN



RdNDF/RfOM = $0.146 \pm 0.0145 + 1.173 \pm 0.048$ tdNDF/TDN; $n = 79$; RMSE = 0.026; R^2 adj = 0.977

B. Prédiction de l'émission hépatique et splanchnique des nutriments énergétiques

Dans l'optique prédire la quantité et la nature des nutriments disponibles pour la production, ou les tissus d'intérêt zootechnique, la prédiction seule de l'ANP des nutriments n'est pas suffisante. En effet, le métabolisme hépatique est très intense et le profil des nutriments émis par le foie est bien souvent différent du profil portal. Une question majeure non totalement résolue est de savoir si le foie joue un rôle actif dans la coordination du métabolisme des différents tissus, ou simplement passif (Ortigue-Marty et al., 2003). Dans le premier cas, les nutriments potentiellement disponibles pour les tissus correspondent aux nutriments émis par le foie. Dans le second cas, les nutriments disponibles pour les tissus peuvent être assimilés aux nutriments absorbés en veine porte, correction faite des besoins spécifiques du foie en certains nutriments pour ses propres fonctions. Il est probable que le raisonnement diffère selon la nature du nutriment considéré.

Il existe aujourd'hui des modèles représentant le métabolisme hépatique chez le Ruminant, bien qu'ils soient moins nombreux que les modèles de digestion ruminale. Le métabolisme azoté est le plus souvent représenté (France et al., 1999; Hanigan et al., 2004). L'intégralité des modèles mécanistes du foie publiés concerne les vaches laitières et la plupart d'entre eux sont des sous-parties de modèles corps entier (Waghorn, 1982; Baldwin et al., 1987; Danfaer, 1990 ; Martin et Sauvant, 2007). La plupart de ces modèles sont des modèles de recherche (Freetly et al., 1993) alors que d'autres, moins nombreux, sont focalisés sur des désordres métaboliques tel que la cétose (Guo et al., 2008). Cependant, aucun n'a comme objectif direct de prédire l'émission splanchnique des nutriments.

Il était donc évident qu'une partie de ce travail de thèse devait s'attacher à la prédiction des quantités et du profil des nutriments utilisés par le foie et émis par l'aire splanchnique. Une approche empirique similaire au travail réalisé sur l'ANP a été mise en place afin de développer des modèles de prédiction de l'émission des nutriments vers les tissus périphériques à partir de critères de prédiction simples et robustes. La première étape a consisté à rechercher les lois de réponse entre la fourniture de nutriments au foie et le prélèvement ou l'émission nets de ces nutriments (ou de leurs métabolites secondaires) par le foie. L'établissement de ces lois de réponse s'est basé sur les connaissances actuelles du métabolisme hépatique des différents nutriments.

Deux grands types de lois de réponse ont été identifiés, le premier dépendant uniquement (ou prioritairement) de l'apparition nette portale de nutriments et le second dépendant aussi du métabolisme des autres tissus corporels.

La seconde étape a porté sur le développement de modèles de prédiction de l'émission splanchnique des nutriments vers les tissus périphériques à partir des caractéristiques non seulement des rations mais aussi des animaux. La recherche de prédicteurs a nécessité de faire également appel aux connaissances globales de physiologie afin de prendre en compte les différences entre les animaux (espèce, état physiologique : adulte non productif, jeûne, croissance/engraissement, lactation, gestation), notamment en terme de besoins pour le type de production considéré (production laitière, engraissement).

Ce travail s'est déroulé en deux temps, avec tout d'abord la prédiction de l'émission splanchnique des nutriments cétogéniques (acétate, butyrate, β -hydroxybutyrate) qui ont fait l'objet d'une publication (*Publication n°3*) actuellement soumise, puis la prédiction de l'émission splanchnique des nutriments glucogéniques (propionate, azote -aminé, lactate, glucose) qui a également donné lieu à une publication (*Publication n°4, en cours de correction*) qui est actuellement en préparation pour soumission à *Animal*. Les modèles finaux obtenus sont basés sur la combinaison des modèles d'ANP et des modèles d'émission hépatique.

Publication n°3 :

Prédiction empirique de l'émission splanchnique d'acétate, butyrate et beta-hydroxybutyrate chez le ruminant: Approche par méta-analyses

C. Loncke, P. Nozière, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant and I. Ortigues-Marty

Cet article a fait l'objet d'une publication qui a été soumise à Journal of Animal Science.

Résumé:

L'évolution actuelle des systèmes d'alimentation énergétique pour les ruminants vers un système basé sur les nutriments exige de caractériser l'énergie apportée par l'alimentation en terme de quantité et de nature des nutriments absorbés. L'objectif de cette étude était d'établir des équations de réponse des flux nets hépatiques (NHF) et d'émission nette splanchnique (NSR) de l'acétate (C2), butyrate (C4) et du β -hydroxybutyrate (BHBA) aux changements de régimes et de caractéristiques des animaux. Des méthodes de méta-analysis ont été appliquées aux données issues de base FLORA qui est une compilation exhaustive des résultats de flux nets sur des animaux multi cathétérisés. Les variables de prédiction ont été identifiées à partir des connaissances actuelles sur la digestion et sur le métabolisme hépatique. Ainsi des prédicteurs physiologiques, puis intégratifs ont été obtenus. Des modèles robustes ont été établis pour des niveaux d'ingestion allant jusqu'à 30 g MS/j/kg PV et des régimes contenant moins de 70 g concentrés/100 g MS. Les modèles prédisent le NHF de chaque nutriment à partir de son apparition nette en veine porte et des caractéristiques de l'animal. Les modèles d'émission nette splanchnique (mmol/h/kg PV) ont ensuite été établis par la combinaison des modèles d'apparition nette en veine porte existants et des modèles de flux nets hépatiques obtenus. Les émissions nettes splanchniques de C2 et de C4 ont ainsi été prédites à partir des quantités de matière organique fermentescible (MOF) ingérées et de la nature de la MOF (C2: $R^2_{adj} = 0.95$; RMSE = 0.21; C4: $R^2_{adj} = 0.98$; RMSE = 0.01). L'émission net de BHBA a été prédite à partir des quantités de MOF ingérées et du BE des animaux ($R^2_{adj} = 0.94$; RMSE = 0.035). Les modèles obtenus étaient indépendants de l'espèce animale et présentaient peu de facteurs interférents sur les résidus, les LSMeans et les pentes individuelles. Ils ont mis en évidence l'importance de l'état physiologique de l'animal pour la prédiction du métabolisme splanchnique.

Ce travail a montré qu'il est possible de prédire, avec une bonne précision, la quantité et la nature des nutriments cétogéniques émis par le foie chez les bovins et les ovins, à différents statuts physiologiques. Ces résultats peuvent augmenter les connaissances sur les processus biologique et participer au développement de nouveaux outils de formulation des rations.

Empirical prediction of net splanchnic release of ketogenic nutrients, acetate, butyrate and beta-hydroxybutyrate in ruminants: a meta-analysis¹

C. Loncke,^{*} P. Nozière,^{*} J. Vernet,^{*} H. Lapierre, † D. Sauvant, § I. Ortigues-Marty,^{*2}

^{*} INRA, UR 1213, Unité de Recherches sur les Herbivores, Theix, 63122 St Genès
Champanelle, France

†Dairy and Swine Research and Development Centre, Agriculture and Agri-Food Canada,
Sherbrooke, Quebec J1M1Z3, Canada

§UMR 791, Physiologie de la Nutrition et Alimentation, INRA-AgroParisTech, 75231 Paris,
France

¹The authors thank INZO and LIMAGRAIN as well as the *Association Nationale de la Recherche Technique* for funding this project.

²Corresponding author: isabelle.ortigues@clermont.inra.fr

ABSTRACT: The current trend in energy feeding systems for ruminants towards a nutrient-based system requires dietary energy supply to be determined in terms of amount and nature of nutrients. The objective of this study was to establish response equations on the net hepatic flux (NHF) and net splanchnic release (NSR) of acetate (C2), butyrate (C4) and β -hydroxybutyrate (BHBA) to changes in diet and animal profiles. Meta-analysis was applied on published data compiled from the FLORA database, which pools the results on net splanchnic nutrient fluxes in multi-catheterised ruminants from international publications. Prediction variables were identified from current knowledge on digestion, hepatic and other tissue metabolism. Subsequently, physiological and more integrative predictors were obtained. Robust models were established for intakes up to 30 g DM.d⁻¹.kg BW⁻¹ and diets containing less than 70 g concentrate per 100 g DM. Models predicted the NHF of each nutrient from its NPA and from animal profile. The NSR (mmol.h⁻¹.kg BW⁻¹) models were then based on the combination of previous NPA models and NHF models. The NSR-C2 and NSR-C4 were thus predicted from the amount of ruminally-fermented OM (RfOM) intake and the nature of RfOM (C2: R²_{adj} = 0.95; RMSE = 0.21; C4: R²_{adj} = 0.98; RMSE = 0.01). The NSR-BHBA was predicted from RfOM intake and the energy balance of the animals (R²_{adj} = 0.94; RMSE = 0.035). Models obtained were independent of ruminant species, and presented low interfering factors on the residuals, LSMeans or individual slopes.

They highlighted the importance of physiological status in predicting splanchnic metabolism. This work showed that it is possible to accurately predict the amount and nature of ketogenic nutrients released towards peripheral tissues in both sheep and cattle at different physiological status. These results provide deeper insight into biological processes and will contribute to the development of improved tools for dietary formulation.

Key words: diet characteristic, ketogenic nutrients, meta-analysis, physiological status, ruminant, splanchnic release,

INTRODUCTION

In ruminant nutrition, the evolution of feed evaluation systems towards more precise and mechanistic nutrient-based systems represents an important challenge (Reynolds, 2000). Ketosis causes economic losses in dairy herds directly by decreasing milk production and indirectly by increasing the risk for other diseases. Its development results from the complicated interaction between glucose and lipid metabolism. Ruminal epithelium is the major site of production of the β -hydroxybutyrate (**BHBA**) in fed animals. Meanwhile, during fasting or in high producing animals, as precursor supply increases, the liver becomes an important BHBA producing organ. For the development of nutrient-based models, the prediction of hepatic BHBA production and more generally of the splanchnic release of ketogenic nutrients is thus an important challenge.

Mechanistic prediction models have been developed for lactating ruminants (Waghorn, 1982; Baldwin et al, 1987; Danfaer, 1990), sometimes as part of whole animal models. These models are generally research tools (Freetly et al., 1993) and some of them are focused on metabolic disorders (Guo et al., 2008). However none of these models are generic enough to apply to the different ruminant species or to the different physiological stages. Additionally they are difficult to use in rationing practices.

Previous research showed that ME can be quantitatively defined in terms of nutrients using an empirical meta-analysis approach (Loncke et al., 2008; 2009). Prediction of the net hepatic uptake or release of nutrients constitutes the next step forward in the development of nutrient-based systems. The liver is at the metabolic crossroad between nutrient supply and requirements and plays an important role in coordinating the metabolic fate of the absorbed nutrients to the animal's ability to use these nutrients (Ortigue-Marty et al., 2003).

Whether nutrient fate across the liver is regulated by intake (push) or requirements (pull) is still equivocal and might vary depending on the nutrient.

This work aims 1) to compare several descriptors for their ability to predict the net hepatic fluxes (**NHF**) of acetate (**C2**), butyrate (**C4**) and β -hydroxybutyrate (**BHBA**), 2) to identify the best predictors of the net splanchnic release (**NSR**) of these nutrients, and 3) to quantify the contributions of push and pull predictors in the response equations for NHF and NSR. Predictors had to be easy to determine and as generic as possible to be used ultimately in rationing purposes.

MATERIALS AND METHODS

Animal Care and Use Committee approval was not obtained for this study because the data were obtained from an existing database (FLORA, Vernet and Ortigues-Marty, 2006).

Selection of Publications from the FLORA Database

We used the FLORA (FLuxes of nutrients across Organs and tissues in Ruminant Animals) database which collects data extracted from approximately 250 international publications on splanchnic fluxes in multi-catheterized ruminants. The structure of FLORA has been described in detail in Vernet and Ortigues-Marty (2006). Briefly, animals were identified according to species (sheep, cattle) and physiological status (non-productive adult, growing, gestating, or lactating animals). Chemical composition and calculated nutritional values of feeds and diets, plus catheter location, blood sampling, metabolite analysis methods, and results for blood or plasma flows, metabolite concentrations and fluxes were entered into the FLORA database.

A first screen-through selected a total of 35, 31 and 36 publications (corresponding to 136, 126 and 140 treatments, respectively) reporting the NHF and NSF of C2, C4 and BHBA, respectively. From this selection, publications or treatments were discarded for the following reasons: infusion or injection of N compounds or VFA (e.g. mesenteric, jugular or femoral vein, rumen, abomasum, or small intestine), use of feed additives and metabolism modifiers (e.g. insulin, ionophore, phlorizin, GHRH, monensin), abnormal feeding conditions or schedules (e.g. morning vs. night feeding, every 2 h vs. once-daily or twice-daily feeding, oscillating diet, non-steady-state feeding, condensed tannin inactivator, toxin-contaminated feed). Thus, the final eligible database consisted of 25 (61), 22 (59) and 24 (58) experimental groups (treatments) for C2, C4 and BHBA, respectively.

Description of the Nutritional Values of Diets

The selected publications did not systematically report the chemical composition and nutritional value of feeds and diets. Since data aggregation required consistent, homogenous and exhaustive ration descriptions, the feeds and diets from all relevant publications were described according to the INRA Feed Evaluation System (2007) as described by Loncke et al. (2009). Briefly, after selection of the most representative feed ingredients, the estimated chemical composition and nutritional values of the diets were calculated assuming additivity. These estimated values were validated by comparison against the values reported by the authors, when existing, using an analysis of variance with the GLM procedure, including a publication effect. Comparisons focused on OM digestibility, ME and CP concentrations, and subsequently on crude fibre concentrations in DM. For all publications used, at least one of these parameters was reported.

Calculation of the Energy Balance of Animals

Hepatic metabolism depends both on nutrient supply and the animal requirements (Ortigue­s-Marty et al., 2003). Tissue energy deposition or mobilization, defined as the energy balance (**EB**) of the animal and expressed on a net energy basis, was considered a useful indicator of nutrient demand, and was calculated for all relevant publications. Maintenance requirements in ME (**ME_m**) were taken as $481 \text{ kJ ME} \cdot \text{d}^{-1} \cdot (\text{kg BW}^{0.75})^{-1}$ for dairy cattle and beef cattle and $439 \text{ kJ ME} \cdot \text{d}^{-1} \cdot (\text{kg BW}^{0.75})^{-1}$ for dry and gestating cattle and for sheep (INRA, 1988).

A negative difference between ME intake and ME_m, as was observed for a few non-productive adult animals, indicated tissue mobilization. In these cases, EB was obtained directly, by difference, as $(\text{ME intake} - \text{ME}_m) \times \text{km}$. In contrast, a positive difference between ME intake and ME_m indicated that animals either retained or exported energy (as milk). The expected NE for production (**NEP**) was then calculated as $(\text{ME intake} - \text{ME}_m) \times k$, using the appropriate k values. Theoretical efficiencies of ME utilization were calculated as $k_m = 0.287 \times q + 0.554$, $k_l = 0.249 \times q + 0.463$ and $k_g = 0.13$, for maintenance, lactation or gestation, respectively, with q being diet metabolizability (ME/GE; INRA, 1988). For growing animals, since intake levels ($1.49 \pm 0.54 \times$ maintenance requirements) and production were moderate, k_l was used instead of k_g , according to INRA (1987). When positive, expected NEP was compared to observed NEP as calculated from reported animal performances. Calculations were adjusted to physiological stage of the animals.

For growing animals, the reported NEP was considered as equal to the EB due to lack of information on energy or live weight gain data. For lactating cows, the observed NEP was calculated from reported milk production, assuming a milk energy content of $3,096 \text{ kJ} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$ of milk at 4% of fat content, unless the publication also reported milk fat content, in which case ($n = 5$ experimental groups) milk fat content ranged from 3.6% to 4.5%. For gestating animals, observed NEP (amount of energy required to support fetus plus *adnexa* growth) was estimated according to species and breed. It was estimated at 4,050 kJ/d for Holstein (assuming a birth weight of 40 kg), 381 kJ/d for Dorset sheep (assuming a single lamb with a birth weight of 4.5 kg) and 611 kJ/d for Lacaune sheep (assuming two lambs with birth weights of 2.5 kg each), based on INRA (1988). EB was then calculated as the difference between expected and observed NEP. A positive difference indicated tissue energy deposit while a negative difference indicated tissue energy mobilization.

Estimation of the Hepatic Fatty Acid Supply

Fatty acids provided from dietary sources or from body fat mobilization are ketogenic precursors (Chilliard et al., 1987; Drackley, 2000). The liver can convert NEFA to ketone bodies (acetoacetate and BHBA) particularly in starvation or negative EB (Bauchart, 1993; Grummer, 1993). As most publications lacked information on hepatic NEFA supply, estimations were carried out as described below.

Hepatic supply of dietary fatty acids was estimated assuming that fat intake was composed only triglycerides with 18C fatty acids and a fat digestibility of 80% (Glasser et al. 2008).

Hepatic supply of endogenous NEFA was assumed to be equivalent to the splanchnic arterial supply of NEFA, considering that little arterial NEFA is deposited in portal-drained-viscera fat tissues and assuming that all mobilized fatty acids come from non-splanchnic tissues. Arterial plasma NEFA concentrations (mM) were calculated from EB ($\text{kcal} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-0.75}$) using an exponential equation: $\text{NEFA concentration} = 0.225 \times e^{-0.0151 \times \text{EB}}$, borrowed from Chilliard (1985). These data ($n = 108$; $R^2 = 0.71$) were obtained on 22 dairy goats, from week -17 to +18 of lactation, used in 3 different experiments and fed different proportions of alfalfa hay and corn. The hepatic supply of NEFA ($\text{mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$) was thus calculated as the product of calculated arterial NEFA concentrations and reported splanchnic plasma flow.

The net fractional hepatic uptake of NEFA is shown to be relatively constant, at between 15% and 23% (Bell, 1980; Reynolds et al., 2003; Drackley & Andersen, 2006).

This work considered a constant value of 20%. Consequently, the total net hepatic uptake of NEFA was estimated as the sum of dietary fatty acids and arterial splanchnic NEFA taken up by the liver.

Potential Predictors of Variation in Nutrient Net Hepatic Flux and Net Splanchnic Release

Potential predictors of the NHF of nutrients were identified from current knowledge on hepatic metabolism. Where NHF was negative (net hepatic uptake), potential predictors were the NPA of the relevant nutrient or its dietary predictors (Loncke et al., 2009) and the NPA of interacting nutrients. Where NHF was positive (net hepatic release), potential predictors were the NPA of the known precursors of the relevant nutrient in addition to interacting nutrients. Interacting nutrients were identified from significant correlations between NHF-C2, C4 or BHBA and fractional hepatic extraction or release rates (**HER**) or concentrations of other nutrients.

Concerning C2, given the limited quantitative importance of NHF-C2, emphasis was placed on prediction of NSR-C2 from NPA-C2 and its predictors, i.e. ruminally-fermented OM intake (RfOMI) and RfOM/RdNDF (Rumen digestible NDF, Loncke et al., 2009). Acetate is not intensively metabolized by the liver. It is the only short-chain fatty acid that is not cleared from the blood on passage through the liver, on a net flux basis. There is a small unidirectional uptake of C2, but the liver is actually a net C2 producer (Reynolds, 1995). The regulation and significance of hepatic C2 production is unclear (Drackley & Andersen, 2006). Acetate is produced from intramitochondrial acetyl-CoA from the β -oxidation of long-chain fatty acids along with BHBA, which may account for endogenous C2 production (Knowles et al., 1974). Hydrolysis of acetyl-CoA in sheep liver was sufficient to account for rates of hepatic acetate production *in vivo* (Costa et al., 1976). The present study looked to pinpoint predictors of NHF-C2 and tested relationships between NHF-C2 and the total net hepatic uptake of NEFA or EB.

Butyrate is highly taken up and metabolized by the liver in order to limit the quantity of C4 in the general blood circulation (Ash and Baird, 1973). More than 80% of the absorbed C4 is removed in a single pass through the liver (Bergman and Wolff, 1971). Net portal appearance of C4 was focused on as the primary predictor.

Hepatic ketogenesis is driven by the known BHBA precursors (C4, C2 and NEFA; Annison et al., 1967; Heitmann et al., 1987; Demigné et al. 1988).

Their net hepatic uptake (NHF-C4 + NHF-C2 when negative + estimated net hepatic NEFA uptake) expressed in mmol of C was first tested as a predictor of NHF-BHBA.

Secondly, to avoid the use of the estimates of net hepatic NEFA uptake and to obtain generic predictors, the EB of the animals (as an index of NEFA uptake) and RfOMI (as a precursor of both C2 and C4 hepatic supply) were also tested as predictors of NHF-BHBA.

There was too little available data on aceto-acetate ($n = 7$ treatments; data not shown) for consideration in the models.

Net splanchnic release of nutrients results from both nutrient NPA and nutrient net hepatic metabolism. Therefore, for each nutrient, NSR was determined by summing NPA and NHF. Predictors of NPA have already been identified from dietary characteristics (Loncke et al., 2009).

Meta-Analyses

Data Coding and Expression. In order to select relevant studies for subsequent meta-analyses, the full set of selected publications were coded in several steps (Sauvant et al., 2005). A first coding step dealt with the experiments, where studies within a given experiment were defined as the groups of treatments that changed due to dietary or animal characteristics (nature of the diet, intake level, percentage of concentrate, and animal species) and the type of experimental factors within each publication (Sauvant et al., 2005; Vernet et al., 2005). Due to the potential influence of physiological status on nutrient NHF (Bergman et al., 1970; Heitmann et al., 1987; Reynolds et al., 2005), the physiological status was considered as a variable of interest and specifically coded.

Nutrient intake and NPA were expressed as a function of $BW^{1.0}$ which allowed normal distribution of the variables. Normality was not achieved when data were expressed as a function of $BW^{-0.75}$.

A reliability criterion was defined for eligible data for the within-study meta-analysis. When the reported blood or plasma concentrations of nutrients were inferior to the analytical limits of quantification (Ortigue-Marty et al., 2003) determined in our laboratory (limit of quantification = 0.692 for C2, 0.22 mM for BHBA and 0.049 for C4), the data were considered relatively unreliable. These data would have been removed from the dataset if justified by post-optimization analyses, but there were no such cases in the selected publications.

Meta-design, Variance-Covariance Models, Post-Optimization Analyses.

Descriptive statistics (μ , SD, range of values) were generated for each parameter in the selected datasets. The selected data were analyzed by one-way ANOVA to test species and

physiological status effects. Starting out, the unbalanced data distribution prompted us to establish the matrix of correlation between dietary parameters, arterial, portal and hepatic venous concentrations, and nutrient NPA, NHF and NSR. When relevant, principal component analyses were carried out to establish potential relationships over the full dataset. Normal data distribution and homogeneity of variances were tested by Shapiro-Wilk and Levene tests, respectively.

Relationships between Y (nutrient NHF or NSR) and the explanatory variable X were studied using a variance-covariance model:

$$Y = \alpha + \beta X + \text{animal profile} + \alpha_i (\text{animal profile}) + \text{animal profile} \times X + e$$

where α is the overall intercept and α_i is the effect of study i on intercept α . It is nested within animal profile, i.e. animal species or physiological state. Parameter β is the slope of the relationship. Quadratic models were also tested. The models integrated studies as fixed factors because experimental conditions were specific to each study and the influence of these conditions on the model parameters were tested. Moreover, the statistical effect of the covariate is not dependent on whether the study effect is fixed or random (Sauvant et al., 2008). All statistical analyses were carried out using GLM models (Minitab, Version 14 and SAS, Version 9.0). The normality of residuals was checked, and outliers were identified based on residuals, HI leverage, Cook's distance, and DFITS according to Sauvant et al. (2005).

The percentage of variance explained by each variable was calculated by the percentage of the variance explained by the target variable on total variance minus publication and error effects.

Post-optimization analyses were carried out to evaluate the models, as previously described (Loncke et al., 2009). Briefly, once models were generated, sensitivity analyses were carried out to test whether the models could be improved by a heuristic process (Sauvant et al., 2008). The benefits of adding another X variable to the model were evaluated by studying the influence of potentially interfering factors on the individual within-study slopes and the least-squares means (**LSMeans**) of the model. Regressions were established between these parameters and potential quantitative interfering factors. Potential quantitative interfering factors were variables describing nutrient and hormonal status (concentrations, NPA, NHF and NHR of C2, propionate, C4, BHBA, glucose, alpha-amino-N, lactate and NEFA and insulin concentrations), intake level and diet composition [DMI, dietary

concentration and intake level of digestible OM, rumen-fermentable OM, starch, rumen-digestible starch, NDF, rumen-digestible NDF, percentage of concentrate, and the dietary concentrations of ADF, crude fibre, CP, digestible CP, ME, proteins digestible in the

intestine and N/energy ratio (expressed as g CP/MJ EM)]. Potential qualitative interfering factors (blood or plasma matrix, physiological state and animal species) were also tested by ANOVA one way on the LSMeans sub-classes. If a significant interfering factor was detected, it was tested to establish whether its inclusion in the model improved the fit. Thorough graphical examinations were carried out at each stage of the meta-analysis process.

Parameters and correlations were considered significant at $P < 0.05$, whereas $P < 0.10$ indicated a trend. The model was considered stable when the post-optimization analyses showed a low residual mean square error (**RMSE**), a high adjusted R^2 (**R^2_{adj}**), absence of interfering factors on slopes, residuals and LSMeans, and absence of interactions between the slope or intercept and species or physiological state.

The present work used all available relevant data to establish the models, meaning external validation was impossible. Nevertheless, in order to check the absence of systematic bias or slope rotation, the prediction models obtained were evaluated by comparing the observed (Y) and the predicted NHF or NSR (X), on the datasets used to establish the models, using a GLM model including a study effect. The model was considered unbiased when the intercept was not different from 0 and when the slope was not significantly different from 1.

RESULTS

Critical Evaluation of the Estimated Dietary Characteristics and Animal Energy Balances

The estimated chemical compositions of the diets were closely correlated to actual values when reported. Slopes of GLM analyses were not significantly different from 1 (0.931 ± 0.088 , $P = 0.35$, $n = 30$ for OM digestibility; 0.920 ± 0.067 , $P = 0.34$, $n = 32$ for ME; 1.023 ± 0.084 , $P = 0.84$, $n = 33$ for crude fiber; 0.970 ± 0.075 , $P = 0.81$, $n = 64$ for CP concentration). The coefficients of correlation were 0.906, 0.949, 0.972 and 0.918 and the RMSE were 2.2 g/100 g, 0.24 MJ/kg DM, 16.6 g/kg DM and 1.4 g/kg DM for OM digestibility, ME, crude fiber and CP contents, respectively. Moreover, the intercept was not significantly different from 0 for OM digestibility (9.63 ± 6.2 g/100 g, $P = 0.13$), crude fiber (-11.4 ± 22 g/kg of DM, $P = 0.61$) and CP content (4.96 ± 10 g/kg of DM, $P = 0.64$), but tended to be different from 0 for ME concentration (0.615 ± 0.62 MJ/kg of DM, $P = 0.06$).

To critically evaluate the estimation of animal EB, we used the publications that reported EB data measured in respiratory chambers.

Data were only available in growing and finishing steers and in positive EB. The expected EB, calculated as indicated above, was compared to the retained energy reported in the publications. Although only 5 studies (10 treatments) could be used, GLM analyses (that

included a within-study effect) showed that the estimated EB and reported EB of the animals were closely correlated. The slope was not significantly different from 1 (1.07 ± 0.064 , $P = 0.50$) and the intercept was not different from 0 ($0.48 \pm 0.57 \text{ kcal}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$, $P = 0.42$). Coefficient of correlation was 0.983 and RMSE was $1.53 \text{ kcal}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$. Moreover, the within-study effect was not significant ($P = 0.75$).

Description of the Selected Data and Meta-Design

There was normal data distribution in the different datasets and variance homogeneity.

Diets and Intake Levels. Across species (data not shown), DMI was similar but diet composition differed. Compared to cattle, diets fed to sheep had lower proportions of concentrate ($P < 0.001$), lower dOM ($P < 0.001$), lower digestible CP ($P < 0.001$), lower rumen-fermentable CP ($P < 0.001$), protein digestible in intestine ($P < 0.001$), lower starch ($P < 0.001$) and lower ME ($P < 0.001$) content but greater cell wall concentrations ($P < 0.001$). Intakes of these components were therefore different between species. Only dietary RfOM content and intake were similar ($P = 0.20$) between both species.

Differences in intake and diet composition were greater between physiological stages (Table 1) than between species. Lactating cows were fed at the greatest level of DMI on diets that contained the greatest proportions of concentrate ($P = 0.013$), starch ($P < 0.001$), digestible OM ($P < 0.001$) and dietary ME ($P < 0.001$) content and the lowest proportions of crude fiber and NDF ($P < 0.001$). Ruminally-fermented OM content and intake were also greatest for dairy cows than for growing, non-productive adults and for gestating animals ($P = 0.002$).

Nutrient Measurement Methods. In the eligible dataset, nutrient concentrations were mainly determined on blood (n blood = 59 and n plasma = 4 for C2 and C4, and n blood = 55 and n plasma = 7 for BHBA), except for insulin which was determined on plasma. The matrix effect was not tested due to imbalance between datasets. Given that choice of matrix (plasma vs. blood) has no impact on net BHBA (Nozière et al., 1998) or C4 fluxes (Reynolds & Huntington, 1988) and presents only a small underestimation of NPA-C2 when measured in plasma (by 7%, Nozière et al., 1998), no attempt was made to homogenize data and correct plasma into blood concentrations and fluxes. Moreover, the analytical method for measuring BHBA (BHBA-dehydrogenase plus hydrazine) was similar between publications.

Butyrate and C2 were extracted by ion exchange resin in all but 1 (solvent extraction) of the selected publications, and thus no correction was made to homogenize data on C3 concentrations. Finally, the validity of splanchnic blood flows was not questioned despite

recent queries raised by Kristensen et al. (2009) when splanchnic blood flows were measured in cattle using the PAH down-stream dilution method.

Animals. Species (data not shown) and physiological stage differences were recorded in arterial concentrations and net fluxes of nutrients (Table 2). These results are presented below along with the models. For each nutrient, there were similar data numbers between cattle and sheep and between females and males. The majority of data was obtained on non-productive adults, followed by growing, lactating and gestating dry animals. Data numbers were sufficient to test the effect of physiological stage, despite the smaller gestation dataset. Concerning lactation, only dairy cattle were represented, and were between 11 and 240 days in milk (12 treatments for the first 80 days in milk and 8 treatments for 120 to 240 days in milk). All gestating animals were in late gestation (≤ 2 months before calving). Estimated EB data showed a wide range of EB for each physiological status (Table 1).

The dataset contained confounding effects between animal species and physiological status. The widest differences in diet intake and composition were recorded among physiological stages rather than among species. Considering the fact that metabolism was primarily affected by the physiological status, only the latter was reported.

Adjusted Models of Net Hepatic and Splanchnic Fluxes of Ketogenic Nutrients

Non-esterified fatty acids. Only a limited number of publications reported arterial NEFA concentrations ($n = 20$ treatments). In other cases, NEFA concentrations were estimated from EB to allow their inclusion in the models as potential precursors of BHBA.

Sheep showed greater reported arterial NEFA concentrations ($P = 0.001$) than cattle. Reported arterial NEFA concentrations averaged 0.33 mmol/L and were greatest in non-productive adults (fasting included, $P = 0.015$), intermediate in lactating animals, and lowest in other physiological states. Plasma NEFA concentrations estimated from EB averaged 0.26 mmol/L. The comparison between reported vs. predicted NEFA concentrations ($n_{\text{exp}} = 9$; $n_{\text{t}} = 20$; RMSE = 0.09; $R^2_{\text{adj}} = 0.95$) indicated an intercept that was not different from 0 (0.05 ± 0.06 ; $P = 0.43$) and a slope non-different from 1 (0.87 ± 0.14 ; $P = 0.26$). Estimated NEFA concentrations averaged 0.23 ± 0.10 , 0.12 ± 0.050 , 0.22 ± 0.010 , 0.32 ± 0.18 , 0.88 ± 0.23 mmol/L in animals that were non-productive adults, growing, gestating, lactating and fasting, respectively.

These estimates were close to measured NEFA, which averaged 0.28 (1 value), 0.11 ± 0.011 , 0.14 ± 0.09 , 0.28 ± 0.10 , 0.89 ± 0.03 mmol/L for animals that were non-productive adults, growing, gestating, lactating and fasting, respectively.

Acetate. Sheep presented greater arterial acetate concentrations, NPA and NSR than cattle, whereas net hepatic release of C2 was similar between species (data not shown). The NPA and NSR of C2 were greater in lactating cows, lowest in non-productive animals, and intermediate in growing and gestating animals (Table 2).

There was a net hepatic release of C2 in growing and lactating animals (representing 10% and 24% of NPA-C2, respectively) whereas NHF-C2 was not significantly different from 0 in gestating and non-productive adults. NHF-C2 prediction models were investigated for the cases of net C2 hepatic release. For growing/finishing animals ($n_{\text{exp}} = 12$; $n_{\text{t}} = 25$), analysis revealed a positive relationship between NHF-C2 and dietary fatty acid supply inter-study ($P = 0.002$; $R^2 = 0.60$) which was reproduced within-study ($P = 0.017$; $R^2_{\text{adj}} = 0.81$). The model obtained indicated an intercept that was non-different from 0 (0.13 ± 0.35 ; $P = 0.72$) and the slope indicated that an increase of 1 g dietary fatty acids $\cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$ induced an increase of $2.67 \pm 0.97 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$ of NHF-C2. Nevertheless, we found no relationship ($P = 0.59$) between NHF-C2 and total (dietary + endogenous) net hepatic NEFA uptake. In the dairy cattle group, the relationship between NHR of C2 and the hepatic uptake of its main precursor (NEFA, $n = 10$ treatments) was evaluated, but there were neither inter-study ($P = 0.69$) nor within-study ($P = 0.23$) relationships. Moreover, although the relationship between NHF-C2 and EB was not significant ($P = 0.23$), the NHF of C2 was positively correlated to arterial concentrations of BHBA, which may be an indicator of body mobilization in both inter-study ($P = 0.005$, linear) and within-experiment ($P = 0.06$, quadratic) relationships. Clearly, the amount of carbon potentially supplied by dietary and mobilized NEFA ($2.17 \pm 0.335 \text{ mmol C} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$) was much greater than NHR-C2 ($0.90 \pm 0.16 \text{ mmol C} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$). Consequently, we could not establish an NHR-C2 prediction model based on the information available.

Considering the limited capacity of the liver to release C2, the NSR of C2 was significantly related to the NPA of C2 intra-study ($P < 0.001$). Individual slopes were independent of intake and dietary concentrations ($P > 0.13$ for all parameters) as well as physiological status ($P = 0.92$). The model predicting NSR-C2 from NPA-C2 (Table 3 and Figure 1) showed a low RMSE ($0.21 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$) and a high R^2_{adj} explaining 95% of the variability (inter-experiment included).

The intercept was not significantly different from 0 ($P = 0.68$). The linear slope suggested that an increment of 1 $\text{mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$ of C2 NPA induces a $1.05 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$ increase in C2 NSR. The model was not significantly affected by animal species ($P = 0.52$) or physiological status ($P = 0.18$). Post-optimization analyses showed that the model's

LSMeans and residues were independent of intake and dietary concentration ($P > 0.12$ and $P < 0.77$, respectively, for all parameters tested), animal species ($P = 0.90$ and $P = 0.61$) and physiological status ($P = 0.71$ and $P = 0.24$).

As RdNDF/RfOM had been identified as a predictor of C2 NPA (Loncke et al., 2009), we tested its relevance as a predictor of C2 NSR. C2 NSR was unrelated to RdNDF/MOF (data not shown, $P = 0.12$) but significantly related to RfOMI ($P < 0.001$). We obtained a quadratic model of predicted NSR-C2 from RfOMI (Table 3) nested on physiological status ($R^2_{\text{adj}} = 0.85$; $\text{RMSE} = 0.37 \text{ mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$). The slope suggests a $1 \text{ g RfOMI}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$ increase induces a $0.0137 \text{ mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$ increase of C2 NSR. We noted that the intercept was not significantly different from 0. No interfering factors were detected on the individual slopes ($P > 0.15$) and residuals of the models ($P > 0.62$). However, the model presented a slight effect of physiological status (growth > lactation > gestation > non productive adults; $P < 0.001$) on the intercept. In addition, the LSMeans were affected by percentage of concentrate ($P = 0.017$), NDF intake ($P = 0.012$) and RdNDF intake ($P = 0.034$).

Based on the lack of interfering factors and RMSE, C2 NPA was the best predictor of variations in C2 NSR, but RfOMI could be used if there is no NPA data (Table 4).

Butyrate. Sheep had greater arterial butyrate concentrations, NPA and NSR than cattle (data not shown). Net hepatic uptake of C4 averaged $111 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$ across the full dataset. Net hepatic uptake of C4 was significantly greater in gestating, growing and lactating animals, and was associated with greater NPA-C4 (Table 2). Consequently, NSR-C4 was similar among physiological stages, except for lactating cows which maintained a greater NSR. On average, $50 \pm 16\%$ of hepatic C4 influx (via portal + arterial flow) was extracted by the liver. Between-physiological status differences were not significant ($P = 0.19$), despite numerical differences. Fractional extraction rate was lowest for growing animals ($43\% \pm 13\%$) and greatest for lactating animals ($60 \pm 9.4\%$).

Net hepatic flux of C4 was linearly related to NPA-C4 ($P < 0.001$). Consequently, NHF-C4 could be predicted from NPA. The model obtained (Table 3 and Figure 2) had a low RMSE ($0.01 \text{ mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$) and a high R^2_{adj} explaining 98% of variability. The intercept was not significantly different from 0 ($P = 0.74$).

The linear slope suggested that on average, an increment of $1 \text{ mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$ of NPA-C4 induced an $0.756 \text{ mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$ increase in net hepatic C4 uptake. However, the slope and the intercept of this model were influenced by physiological status ($P < 0.01$). In growing animals, only 51% ($P = 0.005$, data not shown) of the increased NPA-C4 was taken up by the liver, and the intercept was negative ($\alpha = -0.035$; $P = 0.011$). No dietary interfering

factors were detected on the individual slopes, LSMeans or residues of the model. Nevertheless, the LSMeans of NHF-C4 tended to be negatively correlated to the NPA-C3 and hepatic uptake of C3 ($P = 0.068$ and $P = 0.076$ respectively). Thus, the response of NSR-C4 ($\text{mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$) can be predicted from intake and diet composition by combining the existing model of C4 NPA (Loncke et al., 2009) with the new NHF-C4 model in Table 4.

β -hydroxybutyrate. The NSR and NPA of BHBA were greater in sheep than in cattle, whereas arterial concentrations were similar (data not shown). The NHF and NSR of BHBA were remarkably similar among physiological stages, while arterial concentrations and NPA were significantly greater in lactating cows than non-productive adults or growing and gestating animals (Table 2). The NHF-BHBA averaged $6.48 \pm 4.7 \text{ mmol}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$ independently of physiological status ($P = 0.48$) or species ($P = 0.99$).

Under an inter-study approach, NHF-BHBA correlated positively to RfOMI (correlation coefficient = 0.37; $P = 0.005$, fasting animals excluded) and NPA-C2 (correlation coefficient = 0.38; $P = 0.013$), NPA-C3 (correlation coefficient = 0.35; $P < 0.001$) and NPA-C4 (correlation coefficient = 0.52; $P = 0.021$) but not NPA-BHBA ($P = 0.18$). The C2, C3 and C4 NPA were themselves correlated to RfOMI ($P < 0.001$). The principal component analyses (results not shown) confirmed the positive correlation between RfOMI and NHF-BHBA (68% of variance explained by the first axis) while indicating that NHF-BHBA was also positively related to reported arterial NEFA concentrations (22% of variance explained by the second axis).

Since the dataset was not complete for all relevant nutrients (C2, C4, NEFA, BHBA), it was not possible to develop a model that took all these parameters into account. As explained below, EB was considered as an index of NEFA hepatic inflow while RfOMI was considered as an index of C2 and C4 NPA. On these bases, a prediction equation of BHBA NHF was established in response to variations in RfOMI ($P = 0.005$) and EB ($P < 0.001$). The model (Table 3 and Figure 3) presents a good fit with a low RMSE ($0.035 \text{ mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$) and a high R^2 adj (0.938). It had a significant physiological status effect on the quadratic variable (EB^2). Results showed that variation in EB explained 49.7% of variance while RfOMI explained 13.9% of variance.

The interaction between EB and physiological status explained 36.4% of the variance model. No interfering factors were observed on the individual slopes, LSMeans or residuals of the model. Thus, model predicting NSR-BHBA ($\text{mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$) from diet and EB was defined by the sum of the existing model of BHBA NPA and the present model on NHF-BHBA. It is presented in Table 4.

We also attempted to establish another model based on potential precursor supply, relying on measured (when possible) or estimated (dietary fatty acids and net plasma NEFA hepatic uptake) values. It showed that NHF-BHBA was related ($P = 0.092$) to the sum of carbon precursors ($\text{RMSE} = 0.21 \text{ mmol C}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$; $R^2_{\text{adj}} = 0.89$) in a within-study relationship. The intercept was not different from 0 (0.22 ± 0.26). The slope equaled 0.40 ± 0.23 but was influenced by physiological status ($P = 0.04$). Separate models were thus tested for non-productive adults, dairy cattle and growing/finishing animals. The sum of carbon precursors was closely related to NHF-BHBA for growing animals ($P = 0.026$; $\text{RMSE} = 0.22 \text{ mmol C}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$; $R^2_{\text{adj}} = 0.72$) and dairy cattle ($P < 0.001$; $\text{RMSE} = 0.073 \text{ mmol C}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$; $R^2_{\text{adj}} = 0.99$) but not for non-productive adults ($P = 0.22$). The slopes indicated that an increase of $1 \text{ mmol C}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$ from precursors induces an increase of 0.48 ± 0.19 and $0.53 \pm 0.05 \text{ mmol C}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$ NHF-BHBA for growing animals and dairy cattle, respectively. Although not significant, the slope indicated a 0.19 increase in NHF-BHBA when carbon precursors increase from $1 \text{ mmol C}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$ for non-productive adults.

Based on the RMSE and on the fact that the model obtained from EB and RfOMI could be applied on all physiological states, EB and RfOMI proved the best predictors of variations in BHBA-NHF. Thus, the response of NSR-BHBA ($\text{mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$) could be predicted from intake and diet composition and from EB. This model is presented in Table 4.

Evaluation of the Models by Checking Absence of Systematic Bias

The model predicting NSR-C2 from NPA-C2 and RfOMI was evaluated by comparing reported (Y) against predicted NSR-C2 (X). The GLM analysis ($\text{RMSE} = 0.21$ and $0.41 \text{ mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$; $R^2_{\text{adj}} = 0.95$ and 0.82 , respectively) that included a study effect showed that the slopes were not significantly different from 1 (1.0002 ± 0.07 ; $P = 0.69$ and 0.86 ± 0.17 ; $P = 0.28$) and that the intercept was not different from 0 (-0.0003 ± 0.18 ; $P = 1$ and 0.52 ± 0.38 ; $P = 0.18$), in the same respective order. Similarly, the model predicting NHF-C4 from NPA-C4 was evaluated by comparing ($\text{RMSE} = 0.016 \text{ mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$; $R^2_{\text{adj}} = 0.95$) reported vs. predicted NHR-C4. The intercept was not different from 0 (-0.0041 ± 0.014 ; $P = 0.77$) and the slope was not different from 1 (1.011 ± 0.13 ; $P = 0.78$).

The evaluation ($\text{RMSE} = 0.039 \text{ mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$; $R^2_{\text{adj}} = 0.96$) of the NHR-BHBA model from RfOMI and EB indicated an intercept that not different from 0 (-0.0007 ± 0.0027 ; $P = 0.98$) and a slope that was not different from 1 (1.0008 ± 0.01 ; $P = 0.67$). Based on these results (Figure 4), our nutrient NSR and NHR models were considered unbiased.

Moreover, the within-relationship study by GLM ($\text{RMSE} = 0.65 \text{ mmol C}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$, $R^2 \text{ adj} = 0.96$, $n = 32$, $P < 0.001$) between hepatic influx (NPA-C2 plus NPA-C4 plus NPA-BHBA plus estimated hepatic NEFA uptake, expressed in mmol C) and splanchnic release (NSR-C2 plus NSR-C4 plus NSR-BHBA, expressed in mmol C) of the ketogenic nutrients indicated a slope that was not different from 1 (1.12 ± 0.13 ; $P = 0.95$) and an intercept that was not different from 0 (-1.13 ± 0.96 ; $P = 0.25$).

DISCUSSION

Range of Validity of the Models

The development of prediction models from diet and animal characteristics requires a common reference system for all data and all models (Loncke et al., 2009). The empirical models presented here were based on the same diet descriptions (INRA, 2007) as nutrient NPA models (Loncke et al., 2009). They apply to a similar range of intakes up to $41 \text{ g DMI}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$ and with concentrate proportions varying from 0 to 100 g/100 g DM, reflecting a wide variability of rations. Nevertheless, the majority of the available data related to animals fed at intakes lower than $35 \text{ g DMI}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$ and 70 g concentrate/100 g DM. These intakes do not fully apply to high-producing dairy females or to feeding strategies based on dry high-concentrate feeds. The models clearly exclude the use of feed additives (buffers, essential oils, ionophores, etc.).

The balanced number of data between cattle and sheep means the models apply to both species (but not to goats). Physiological status had a major impact on the models. It is not clear whether this effect was partly due to differences in diets or to hormonal regulations, as discussed below. The lack of balanced data between physiological statuses is one of the limitations of the present nested models, due to the lower number of data in the gestating and lactating groups and to the predominance of early lactation stages within lactating groups.

Reported milk production figures ranged from 7 to 43 kg/d (mean = 23 kg/d). This is a large range of variation and is consistent with real-world practice. Indeed, rate of milk production averaged for example 5,900 kg/lactation period (20 kg/d) in France and 8,600 kg/lactation period (24 kg/d) in the USA. Moreover, the cattle average daily gain reported or estimated from diet averaged 736 g/d and ranged from 130 to 1,525 g/d.

This suggested that the cattle in the publications did not present high growth rates compared to real-world practice, where average daily gain frequently reaches more than 1,000 g/d.

Calculation of EB (INRA, 2007) as a continuous variable made it possible to account for nutrient requirements. Due to the low levels of intake and production of growing/finishing animals, care should be taken when applying the models to high-producing growing or finishing ruminants. For lactating cows, the assumed milk energy and fat contents ($3,096 \text{ kcal} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$ and 40 g/kg milk; INRA, 2007), were close to NRC (2001) values ($3,134 \text{ kcal} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$) or to the few reported values. This hypothesis may induce up to 15% error in the estimated EB for an error of 10 g/kg of fat milk content.

Prediction of the Net Hepatic Fluxes of Ketogenic Nutrients

Acetate. In the current meta-design, sheep present greater ketogenic nutrient concentrations, NPA-C2 and NSR-C2 than cattle. More than a strict species effect, this is probably more the result of the more fibrous diets fed to sheep than to cattle.

Results indicate that in productive animals there is a net release of C2 by the liver, representing 10% (growing animals) and 24% (dairy cattle) of NPA-C2. This is consistent with Pethick et al (1981) who found that endogenous acetate represented approximately 26% of total entry rate in sheep. The significance and regulation of hepatic C2 release in ruminants is unclear (Drackley and Anderson, 2006). In dairy cows, hepatic uptake of dietary and endogenous fatty acids could quantitatively contribute to net hepatic C2 release [by $32.1 \pm 5.04\%$ (from 12.3 to 61.2%) and 26.4% (from 18 to 61.4%), respectively, on a carbon basis] even if no significant relationship could be shown between precursor uptake and NHF-C2. The potential contribution of endogenous fatty acids is relatively consistent, with 22% of carbons taken up as NEFA by the liver in single or twin-pregnant sheep (Freetly and Ferrell, 1998, 2000). Despite a positive correlation between NHR-C2 and arterial concentrations of BHBA (indicative of body fat catabolism), our results do not confirm the mechanistic models of hepatic metabolism in lactating dairy cows that suggest C2 release increases with long-chain fatty acid supply to the liver (Hanigan et al., 2004). The picture is even less clear in growing cattle. This study shows a positive relationship between NHF-C2 and dietary fatty acids. Long-chain fatty acids are known to be β -oxidized into C2 (Knowles et al., 1974), but the slope of the relationship (2.62 ± 0.97) suggests that the number of carbons supplied by dietary fatty acids is not sufficient to account for the net C2 release ($29.6\% \pm 2.6\%$ on average; excluding three treatments with a NHF-C2 close to 0).

If endogenous splanchnic fatty acid uptake was also accounted for (with a potential contribution varying from 7.7% to 100% on a carbon basis), the sum of fatty acid carbons would generally be sufficient to account for a net hepatic C2 release, except in finishing cattle

($n_{\text{exp}} = 1$, $n_t = 6$). In any case, NHF-C2 was not correlated to the sum of dietary plus endogenous fatty acid uptakes.

Our results stress the quantitative importance of net hepatic C2 release in growing and lactating ruminants. They confirm that dietary and endogenous fatty acids can potentially account for (on a carbon basis) net hepatic C2 release, as suggested by Knowles et al. (1974), Drackley et al. (1991) and Reynolds et al. (2003), and that there is no direct proportional relationship (Pethick et al., 1981). In situations of negative EB, NEFA could be the major precursors. Conversely, in over-fed animals (e.g. finishing cattle), other metabolites may produce endogenous C2, such as butyrate (Annison et al., 1963) or other VFA and ethanol from silages (Buckley and Williamson, 1977), and possibly also amino acids (Pethick et al., 1981). In contrast, in non- or low-producing (gestating) animals, net hepatic C2 flux was not significantly different to 0, suggesting these animals do not endogenously produce C2.

For net uptake of C2 (values with NHF-C2 < 0), no within-study ($P = 0.18$) or inter-study ($P = 0.22$) relationships were obtained with the NPA-C3 model. This contrasts with previous work suggesting that hepatic utilization of C2 may be depressed by C3 in vitro (Gordon and Crabtree, 1992; Demigné and Rémésy, 1994) as well as in vivo (Rémésy et al., 1992). Nevertheless, the positive within-study slopes of the net hepatic uptake of C2 vs. the NPA-C2 model were negatively correlated to NPA-C3, suggesting that C3 influx decreases C2 uptake when the NPA-C2 increases. This is coherent with Demigné et al (1995) who showed in isolated rat hepatocytes that C3 was an effective inhibitor of C2 utilization when its concentration in the medium increased.

Thus, our study showed that NSR-C2 can be predicted from NPA-C2. Moreover, the relative importance of endogenous hepatic production of C2 could be quantified, but not predicted. Insufficient accuracy in measurement methods (Kristensen et al., 2009) for prediction from available data cannot be ruled out.

Butyrate. In the eligible dataset, net hepatic uptake of C4 was significantly (78%) lower in non-productive adults than other animals. Rather than a strict physiological status effect, this difference is likely due to the more fibrous diets fed to non-productive adults (greater dNDF and RdNDF contents), as the NPA-C4 was also 73% lower without any change in fractional extraction rate.

The prediction of NHF-C4 was relatively straightforward. Changes in NHR-C4 could be significantly predicted from changes in NPA-C4. The intercept (not significantly different from 0) is consistent with the lack of hepatic uptake of C4 in absence of NPA-C4 and with the inability of the liver to synthesize C4. The LSMeans tended to be negatively correlated to the

hepatic supply of C3, reflecting the significant interaction between net hepatic C3 and C4 uptakes (Reynolds et al., 1992; Berthelot et al., 2002). The general slope of the model suggested that 75% of the C4 appearing in the portal vein is taken up by the liver, which is consistent with a first-pass hepatic removal of over 80% (Bergman and Wolff, 1971). The slightly lower numerical value obtained probably reflected the influence of growing state. For these animals, the slope indicated that only 50% of NPA-C4 is taken up by the liver, in agreement with a lower hepatic fractional extraction ($43\% \pm 13\%$). It is unlikely that the influence of growing state on the model is the expression of a saturated hepatic uptake capacity, as shown by ruminal infusions of C4 at supra-physiological levels ($> 200 \text{ mmol/h}$; Krehbiel et al., 1992). Indeed, the ranges of arterial C4 concentrations and NPA recorded in the eligible dataset were definitely below this threshold. Other regulations might be at play. While butyrate potentially contributes from 10% to 90% of net hepatic BHBA release (Brockman, 1990) depending on intake level and physiological status, insulin is known to reduce hepatic ketogenesis (Annison et al., 1963; Brockman and Laarveld, 1985) and limit the β -oxidation of C4 in rats (Beauvieux et al., 2008). Arterial insulin and glucose concentrations were significantly greater in growing animals (Table 2), which is probably indicative of insulin resistance (Janes et al., 1985) since diet composition did not favor concentrates or starch. Whether the high insulinemia noted in growing animals could limit net hepatic C4 uptake remains to be tested.

β -hydroxybutyrate. Surprisingly, the NHR-BHBA was not statistically dependent on physiological status. Ketogenesis is known to be greatest in early lactation (Heitmann et al., 1987) or under reduced intake (Bergman et al., 1970; Heitmann et al., 1987). It is likely that the animal classes defined (as imposed by the data available) were not sufficient to discriminate between early- and late-lactating cows, or between fed and fasted non-productive animals, as reflected by the high SD. This was confirmed by the numerically greater NHR-BHBA in dairy cattle ($0.35 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$) compared to other physiological statuses (from 0.24 to $0.27 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$).

Net hepatic release of BHBA was not correlated to NPA-BHBA. This is consistent with the liver's inability to use BHBA (Nielsen and Fleischer, 1969).

Furthermore, the NPA-BHBA levels reported in the available dataset were lower than the levels that inhibit hepatic ketogenesis (Bergman and Kon, 1964; Sensenig et al., 1985; Heitmann et al., 1986).

Two NHR-BHBA prediction models were established. One, based on hepatic supply of precursors, helped clarify the quantitative importance of each precursor but had to rely

partly on estimated values. The second, based on gross but more pragmatic predictors reflecting dietary characteristics and endogenous precursor supply, appeared to produce a more precise model.

The model based on the supply of potential precursors required an estimation of fatty acid supply due to the lack of a complete dataset. On a C basis, the sum of potential precursors [NHF-C2 (when negative) + NHF-C4 + fatty acid uptake (dietary plus endogenous)] was related to NHF-BHBA, with a slope lower than 1, suggesting that not all the C supplied was metabolized into BHBA. This is consistent with hepatic production of aceto-acetate and acetone, but the dataset did not contain figures that could confirm this hypothesis. The maximum potential contribution of NHF-C2, NHF-C4 and fatty acids averaged $20.7\% \pm 6.92\%$, $47.8\% \pm 10.17\%$ and $44.30\% \pm 6.39\%$, respectively, in agreement with Heitmann et al. (1987). The slope of this model was significantly influenced by physiological status, as expected from known physiological differences in ketogenesis (Bell, 1980; Heitmann et al., 1987; Drackley et al., 1991; Bauchart, 1993; Reynolds et al., 2003), making it necessary to establish separate models for non-productive, growing and lactating animals. No model was established for fasted animals due to scarcity of data on C2 and C4. Each of the sub-models confirmed the clear relationship between amount of precursor C taken up by the liver and NHR-BHBA, with all slopes below 1. They also highlighted that the metabolic fate of fatty acids taken up by the liver differs according to physiological state. Assuming all C from NHF-C4 is metabolized into BHBA, the proportion of fatty acids being β -oxidized into BHA would amount to 21%, 33% and 27% for non-productive adults, growing/finishing cattle and dairy cattle, respectively, with no significant difference between growing and lactating animals. These results are in agreement with Drackley et al. (1991) who estimated that about 23.6% and 40.7% of NEFA are oxidized (into ketone bodies, acetate, other intermediates and carbon dioxide) in the liver of non-lactating fed and lactating fed cows, respectively. It would therefore be useful to take into account the factors regulating NEFA metabolism in the liver to obtain the most accurate model possible. This cannot be done using the present dataset, and probably requires several complementary in vivo studies.

The best NHR-BHBA prediction model was based on RfOMI and EB² as predictors. The RfOMI variable is responsible for roughly 14% of total model variance (error and publication effects excluded) whereas EB and the interaction between EB and physiological state explain about 50% and 36% of the variance, respectively. This suggested that NSR-BHBA is impacted more by variation in EB than RfOMI. This could be explained by the fact that RfOMI only reflects push factors whereas EB can reflect both pull and to a lesser extent

the push. Moreover, the high percentage of variance explained by the interaction between EB and physiological status shows the high impact of animal characteristics such as hormonal regulations or specific diet.

This quadratic model has two distinct areas. The first area applies to animals in positive EB, i.e. growing/finishing animals, non-productive adults, and mid- or late- lactation cows. It indicates that NHR-BHBA is tightly regulated by the dietary supply of precursors to the liver. In this case, BHBA is synthesized in the liver from C4 and to a lesser extent C2 (Leng et al., 1969). Both NPA-C4 and NPA-C2 are predicted from RfOMI, which expresses intake and diet composition (Loncke et al., 2009). Rumen-fermentable OM intake is thus fully relevant as a predictor of NHR-BHBA in animals presenting a positive EB. The second area applies to animals in negative EB, i.e. lactating cows in early lactation and fasting non-productive adults. It identifies body fat mobilization as the most important predictor of BHBA. In these conditions, NEFAs are the major precursors of hepatic BHBA (96% of variance explained by EB). The model obtained is thus fully consistent with physiological knowledge.

An original feature of this model is that it shows a significant effect of physiological state on the quadratic variable EB^2 . This suggested that in fat-mobilizing animals (either lactating cows or fasting animals), fatty acids are not used to the same extent for ketogenesis. For the same negative EB, dairy cattle produce more BHBA than fasting animals, and EB^2 cannot discriminate between the different situations. The impact of hormonal regulations may be speculated. Insulin regulation, which is known to reduce hepatic ketogenesis (McGarry and Foster, 1980) may not explain the difference between lactating and fasting non-productive adults shown in the model because in the present dataset, lactating cows presented similar insulinemia levels to fasting non-productive animals. In contrast, growth hormone, which is reported to increase lipolysis and thus fat mobilization (Bocquier et al., 1992), is also reduced in fasting animals. This may induce lower circulating NEFA levels in fasting animals than in dairy cattle at the same negative EB.

Moreover, negative feedback mechanisms mediated by NEFA and ketone body concentrations (Vernon, 1980) can be assumed to play a role, as they increase re-esterification of excess fatty acids, as shown during fasting (Casanova et al, 1990). This feedback mechanism does not occur in lactating animals due to the high rate of NEFA use by the mammary gland which prevents major increases in plasma NEFA concentrations (Pethick and Dunshea, 1993; Chilliard et al, 1994). It should be pointed out that gestation state could not be integrated into the model due to misleading values.

To conclude, the NSR-BHBA prediction model fits with the mechanistic model developed by Guo et al (2008) to study inter-relationships between glucose and lipid metabolism in dairy cattle. Indeed, ketone body concentrations are dependent on ketogenesis rate from NEFA and butyrate and on the rate of ketone body use. However, the NSR-BHBA prediction model presented here can be used in most common situations, and EB and RfOM intake, if not known, are easily determined compared to NEFA concentration which is not directly known.

Prediction of the net splanchnic fluxes of ketogenic nutrients

Acetate was the only ketogenic nutrient for which the net splanchnic release could be predicted either from NPA-C2 or directly from dietary characteristics. The slope of the NPA model suggests that $1.047 \text{ mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$ of C2 is released by splanchnic tissues, on a net basis, for $1 \text{ mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$ of C2 appearing in the portal vein. This is consistent with NHR models, except the lack of physiological status effect which was probably due to unbalanced data. NPA-C2 was the best predictor of NSR-C2, as no interfering factors were detected. Nevertheless, changes in NSR-C2 could be significantly predicted from changes in RfOMI with the same quality of adjustment. That fact that RdNDF/RfOM (Loncke et al., 2009) was not significant predictor was a more surprising result. This may have arisen from a confounding effect between physiological status, intake level and nature of the diet (both intake levels and RdNDF are consistently greater in productive animals). The intercept, which was not different from 0, was consistent with zero NSR-C2 in the absence of ruminal fermentation. For the other nutrients C4 and BHBA, NSR was predicted by combining the NPA model of Loncke et al. (2009) with the NHF model.

Any model requires validation. The cross-validation described by Garcia and Agabriel (2008) was not applicable here, due to the relatively low number of data. Instead, reported (Y) and predicted (X) values were compared by GLM including within-study effects to test the absence of important or systematic bias.

This validation approach was followed for the NHF models and when necessary, the NPA of the relevant nutrients was estimated (Loncke et al., 2009). This strategy allowed to use additional data, which increased the initial data by +27%, 52% and 20% compared to that used to establish the NSR models for C2, C4 and BHBA, respectively. The same approach was applied to the NSR models which cumulate the NPA and NHF errors. To achieve this, we used all publications previously used to the evaluation of hepatic models. The NPA and NHF of the relevant nutrients was systematically estimated from previous (Loncke et al., 2009) and

present models and integrated into the NSR prediction models. It should be pointed out that the NPA models (Loncke et al, 2009) excluded the VFA providing from fermentative products. Consequently, for silage-fed animals, the VFA content of fermentative products was here summed with the amount of total VFA appearing in the portal vein. Amount of fermentative products was estimated from silages, assuming 11 mmol VFA absorbed/g fermentative products, based on a compilation of 100 silage datasets, by Baumont et al. (INRA, unpublished data).

Comparisons of reported vs. predicted NSR-C2 using either NPA-C2 (Figure 4A) or RfOMI (Figure 4B) as predictor yielded intercepts close to 0, with the slopes respectively significantly above 1 or close to 1. This suggests a bias in the NPA-C2 model which did not pick up any physiological status effect, contrary to the conclusions of the NHF-C2 models. Thus, the model of NSR-C2 from RfOMI, despite a lower precision (greater RMSE), has the advantage of being unbiased compared to the model from NPA-C2. For C4 (Figure 4C) and BHBA (Figure 4D), NSR prediction models clearly proved to be unbiased.

Conclusion and Perspectives

The models developed through this research offer good-precision predictions of the net liver and splanchnic release of C2, C4 and BHBA in different physiological conditions, including lactation, growth and, to a lesser extent, finishing animals. To our knowledge, these are the first models proposed to quantitatively predict ketogenic nutrient fluxes in growing/finishing and non-productive adult animals.

This work highlighted the importance of physiological status and energy balance in predicting splanchnic metabolism. The notions recovered the differences in hormonal regulations as well as dietary differences between physiological statuses. Finally, this work confirmed the same difficulties as encountered in previous models in terms of estimating body fat mobilization and utilization (Freetly et al., 1993; Danfaer, 1994; Guo et al., 2008).

LITERATURE CITED

Annison, E.F., R.E. Brown, R.A. Leng, D.B. Lindsay, and C.E. West. 1967. Rates of entry and oxidation of acetate, glucose, D(-)beta-hydroxybutyrate, palmitate, oleate and stearate, and rates of production and oxidation of propionate and butyrate in fed and starved sheep. *Biochem. J.* 104:135-147.

- Annison, E.F., R.A. Leng, D.B. Lindsay, and R.R. White. 1963. The metabolism of acetic acid, propionic acid and butyric acid in sheep *Biochem. J.* 88:248-252.
- Ash, R., and G.D. Baird. 1973. Activation of volatile fatty acids in bovine liver and rumen epithelium. Evidence for control by autoregulation. *Biochem. J.* 136:311-319.
- Atkinson, R.L., C.D. Toone, T.J. Robinson, D.L. Harmon, and P.A. Ludden. 2007. Effects of supplemental ruminally degradable protein versus increasing amounts of supplemental ruminally undegradable protein on nitrogen retention, apparent digestibility, and nutrient flux across visceral tissues in lambs fed low-quality forage. *J. Anim. Sci.* 85: 3331-3339.
- Baldwin RL, Thornley JHM and Beever DE 1987b. Metabolism of the lactating cow. 2. Digestive elements of a mechanistic model. *J. Dairy Res.* 54, 107-131.
- Baird, G.D., M.A. Lomax, H.W. Symonds, and S.R. Shaw. 1980. Net hepatic and splanchnic metabolism of lactate, pyruvate and propionate in dairy cows in vivo in relation to lactation and nutrient supply. *Biochem. J.* 186:47-57.
- Bauchart, D. 1993. Lipid absorption and transport in ruminants. *J. Dairy Sci.* 76:3864-3881.
- Beauvieux, M.C., H. Roumes, N. Robert, H. Gin, V. Rigalleau and J.L. Gallis. 2008. Butyrate ingestion improves hepatic glycogen storage in the re-fed rat. *BMC Physiology* 8:19-30.
- Bell, A.W. 1980. Lipid metabolism in liver and selected tissues and in the whole body of ruminant animals. *Prog Lipid Res* 18:117-164.
- Bergman, E.N., M.L. Katz, and C.F. Kaufman. 1970. Quantitative aspects of hepatic and portal glucose metabolism and turn-over in sheep. *Am. J. Physiol.* 219:785-793.
- Bergman, E.N., and K. Kon. 1964. Aceto-acetate turnover and oxydation rates in ovine pregnancy ketosis. *Am. J. Physiol.* 206:449-452.
- Bergman, E.N., and J.E. Wolff. 1971. Metabolism of volatile fatty acids by liver and portal-drained viscera in sheep. *Am. J. Physiol.* 221:586-592.
- Berthelot V, Pierzynowski SG, Sauvant D and Kristensen NB 2002. Hepatic metabolism of propionate and methylmalonate in growing lambs. *Livest. Prod. Sci.* 74, 33-43.
- Bines, J.A., I.C. Hart, and S.V. Morant. 1983. Endocrine control of energy metabolism in the cow: Diurnal variations in the concentrations of hormones and metabolites in the blood plasma of beef and dairy cows. *Horm. Metab. Res.* 15:330-334.
- Bocquier, F., A.M. Sala, and Y. Chilliard. 1992. Effect of energy intake and bst treatment on plasma hormones and metabolites in the dry non-pregnant adult cow. *J. Dairy Sci.* 75 (suppl.1):235 (Abstr.).

- Bohnert, D.W., B.T. Larson, S. Lewis, C.J. Richards, K.C. Swanson, D.L. Harmon, and G.E. Mitchell Jr. 1999. Net nutrient flux in visceral tissues of lambs fed diets differing in supplemental nitrogen source. *J. Anim. Sci.* 77:2545-2553.
- Branco, A.F., G.F. Mouro, D.L. Harmon, L.P. Rigolon, L.M. Zeoula, F.J. Maia, and S.M. Coneglian. 2004. Fontes de Proteína, ingestão de alimentos e fluxo esplâncnico de nutrientes em ovinos Protein sources, nutrient intake and splanchnic flux of nutrients in sheep. *R. Bras. Zootec.* 33:444-452
- Brockman, R.P. 1987. Effect of exercise on net hepatic uptake of lactate, pyruvate, alanine, and glycerol in sheep. *Can. J. Physiol. pharmacol.* 65:2065-2070.
- Brockman, R.P. 1990. Effect of insulin on the utilisation of propionate in sheep. *Br. J. Nutr.* 64:95-101.
- Brockman, R.P., and B. Laarveld. 1985. Effect of insulin on the net hepatic metabolism of acetate β -hydroxybutyrate in sheep (*Ovis aries*). *Comp. Biochem. Physiol.* 81A:255-257
- Buckley, B.M. and D.H. Williamson. 1977. Origin of blood acetate in the rat. *Biochem. J.* 166:539-545.
- Casanova, L., G. Alonso, F.J. Moreno, Some aspects of metabolic adaptations in lipid metabolism during starvation are mimicked by epinephrine in rat adipocytes, *Int. J. Biochem.* 22:19-23.
- Burrin, D.G., C.L. Ferrell, J.H. Eiseemann, and R.A. Britton. 1991. Level of nutrition and splanchnic metabolite flux in young lambs. *J. Anim. Sci.* 69:1082-1091.
- Chilliard, Y. 1985. Métabolisme du tissu adipeux, lipogénèse mammaire et activités lipoprotéine-lipasiques chez la chèvre au cours du cycle gestation-lactation. PhD Diss. Univ. Pierre et Marie Curie - Paris 6, Paris.
- Chilliard, Y., C. Audigier, D. Durand, S. Auboiron, and D. Bauchart. 1994. Effects of portal infusions of methionine on plasma concentrations and estimated hepatic balances of metabolites in underfed preruminant calves. *Ann. Zootech. (Paris)* 43:299.
- Chilliard, Y., D. Sauvant, P. Morand-Fehr, and C. Delouis. 1987. Relations entre le bilan énergétique et l'activité métabolique du tissu adipeux de la chèvre au cours de la première moitié de la lactation. *Reprod. Nutr. Dev.* 27:307-308.
- Costa, N.D., G.H. McIntosh and A.M. Snoswell. 1976. Production of endogenous acetate by the liver in lactating ewes. *Aust. J. Biol. Sci.* 29:33-42.
- Danfaer, A. 1990. A dynamic model of nutrient digestion and metabolism in lactating dairy cows. PhD. Diss. National Institute of Animal Science, DK.

- Danfaer, A. 1994. Nutrient metabolism and utilization in the liver. *Livest. Prod. Sci.* 39:115-127.
- Drackley, J.K. 2000. Lipid metabolism. Pages 97-119 in: *Farm animal metabolism and nutrition*. J. P. F. D'Mello, ed. CABI Publishing, Oxon.
- Drackley, J.K., and J.B. Andersen. 2006. Splanchnic metabolism of long-chain fatty acids in ruminants. Pages 199-224 in *Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism and Impact of Nutrition on Gene Expression, Immunology and Stress*. K. Sejrsen, T. Hvelplund and M.O. Nielsen, ed. Wageningen Academic Publishers, Utrecht, Netherlands.
- Drackley, J.K., J.J. Veenhuizen, M.J. Richard and J.W. Young. 1991. Metabolic changes in blood and liver of dairy cows during either feed restriction or administration of 1,3-butanediol. *J. Dairy Sci.* 74: 4254–4264.
- Demigné, C., Y. Acoub, C. Morand and C. Rémésy. 1988. Factors involved in metabolic adjustments in ruminants. *Reprod. Nutr. Dev.* 28:1-17
- Demigné, C., C. Morand, M.A. Levrat and C. Besson. 1995. Effect of propionate on fatty acid and cholesterol synthesis and acetate metabolism in isolated rat hepatocytes. *Br. J. Nutr.* 74: 209–219.
- Demigé, C., and C. Rémésy, C. 1994. Short chain fatty acids and hepatic metabolism. Pages 272-282 in *Short Chain Fatty Acids*. H. J. Binder, J. Cummings and K. H. Soergel ed. Kluwer, Lancaster, UK.
- De Visser, H.A. Klop, J. Van der Meulen and Van A.M Vuuren. 1998. Influence of maturity of grass silage and flaked corn starch on the production and metabolism of volatile fatty acids in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81:1028-1035.
- DeVisser, H.A., H. Valk, A. Klop, J. VanderMeulen, J.G.M. Bakker, and G.B. Huntington. 1997. Nutrient fluxes in splanchnic tissue of dairy cows: Influence of grass quality. *J. Dairy Sci.* 80:1666-1673.
- Eisemann, J.H., G.B. Huntington, and D.R. Catherman. 1996. Patterns of nutrient interchange and oxygen use among portal-drained viscera, liver and hindquarters of beef steers from 235 to 525 kg body weight. *J. Anim. Sci.* 74:1812-1831.
- Eisemann, J.H., and J.A. Nienaber. 1990. Tissue and whole-body oxygen uptake in fed and fasted steers. *Br. J. Nutr.* 64:399-411.
- Ferrell, C.L., H.C. Freetly, A.L. Goetsch, and K.K. Kreikemeier. 2001. The effect of dietary nitrogen and protein on feed intake, nutrient digestibility, and nitrogen flux across the portal-drained viscera and liver of sheep consuming high-concentrate diets ad libitum. *J. Anim. Sci.* 79:1322-1328.

- Ferrell, C. L., K.K. Kreikemeier, and H.C. Freetly. 1999. The effect of supplemental energy, nitrogen, and protein on feed intake, digestibility, and nitrogen flux across the gut and liver in sheep fed low-quality forage. *J. Anim. Sci.* 77:3353-3364.
- Flux, D.S., D.D.S. MacKenzie, and G. F. Wilson. 1984. Plasma metabolite and hormone concentrations in fresian cows of differing genetic merit measured at two feeding levels. *Anim. Prod.* 37:377-384.
- Freetly, H.C., and L.V. Cundiff. 1998. Reproductive performance, calf growth, and milk production of first-calf heifers sired by seven breeds and raised on different levels of nutrition. *J. Anim. Sci.* 76:1513-1522.
- Freetly, H.C., and C.L. Ferrell. 1998. Net flux of glucose, lactate, volatile fatty acids, and nitrogen metabolites across the portal drained viscera and liver of pregnant ewes. *J. Anim. Sci.* 76:3133–3145.
- Freetly, H.C., and C.L. Ferrell. 2000. Net flux of non esterified fatty acids, cholesterol, triacylglycerol, and glycerol across the portal drained viscera and liver of pregnant ewes. *J. Anim. Sci.* 78:1380–1388.
- Freetly, H.C., and Klindt J. 1996. Changes in gut and liver glucose, lactate, insulin and oxygen flux in mature ewes during mesenteric or abdominal vena cava glucose infusion. *J. Nutr.* 126:924-932.
- Freetly, H.C., J.R. Knapp, C.C. Calvert, and R.L. Baldwin. 1993. Development of a mechanistic model of liver-metabolism in the lactating cow. *Agricultural Systems* 41:157-195.
- Fukuma, T., K. Tangiguchi, and T.Obitsu. 2005. Evaluation of fishmeal supplement with net nitrogen flux by the portal-drained viscera and the liver in mature sheep. *Asian-Aust J. Anim. Sci.* 18:1251-1291.
- Garcia, F., and Agabriel J. 2008. CompoCow: a predictive model to estimate variations in body composition and the energy requirements of cull cows during finishing. *J. Agric. Sci.* 03: 251-265.
- Glasser, F., A. Ferlay, M. Doreau, P. Schmidely, D. Sauvant, and Y. Chilliard. 2008. Long-chain fatty acid metabolism in dairy cows: A meta-analysis of milk fatty acid yield in relation to duodenal flows and de novo synthesis. *J. Dairy Sci.* 91:2771-2785.
- Goetsch, A.L., and C.L. Ferrell. 1995. Effect of dietary maize level on net flux across splanchnic tissues of oxygen and nutrients in wethers consuming *ad-libitum* different forages. *Anim. Sci.* 61:43-55.

- Goetsch, A.L., C.L. Ferrell, and H.C. Freetly. 1994. Effect of different supplements on splanchnic oxygen consumption and net fluxes of nutrients in sheep consuming bromegrass (*Bromus inermis*) hay ad libitum. Br. J. Nutr. 72:701-712.
- Goetsch, A. L., A. R. Patil, Z. S. Wang, K. K. Park, D. L. Galloway, J. E. Rossi, and B. Kouakou. 1997. Net flux of nutrients across splanchnic tissues in wethers consuming grass hay with or without corn and alfalfa. Anim. Feed Sci. Technol. 66:271-282.
- Goetsch, A.L., A.R. Patil, D.L. Galloway, B. Kouakou, Z.S. Wang, K.K. Park, and J.E. Rossi. 1997a Net flux of nutrients across splanchnic tissues in wethers consuming grasses of different sources and physical forms ad libitum
- Goetsch, A.L., A.R. Patil, Z.S. Wang, K.K. Park, D.L. Galloway, J.E. Rossi, and B. Kouakou. 1997b. Net flux of nutrients across splanchnic tissues in wethers consuming bermudgrass or ryegrass-wheat hay supplemented with rumen undegradable protein. Small Ruminant Res. 25:119:128.
- Goetsch, A.L., A.R. Patil, D.L. Galloway, Z.S. Wang, B. Kouakou, K.K. Park, and J.E. Rossi.1997c. Oxygen consumption by splanchnic tissues in wethers consuming ad libitum differents proportions of bermudagrass and ryegrass-wheat. Arch. Anim. Nutr. 50:1-11.
- Goetsch, A.L., A.R. Patil, Z.S. Wang, K.K. Park, D.L. Galloway, J.E. Rossi, and B. Kouakou. 1997d. Net flux of nutrients across splanchnic tissues in wethers consuming grass hay with or without corn and alfalfa. Anim. Feed Sci. Technol. 66:271-282.
- Gordon, M.J., and B. Crabtree. 1992. The effects of propionate and butyrate on acetate metabolism in rat hepatocytes. Int. J. Biochem. 24:1029-1031.
- Grummer, R.R. 1993. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows J. Dairy Sci. 76:3882-3896.
- Guo, J., R.R. Peters, and R. A. Kohn. 2008. Modeling nutrient fluxes and plasma ketone bodies in periparturient cows. J. Dairy Sci. 91:4282-4292.
- Hanigan., M.D., L.A. Crompton, C.K. Reynolds, D. Wray-Cahen, M.A. Lomax, and J. France. 2004. An integrative model of amino acid metabolism in the liver of the lactating dairy cow. J. Theor. Biol. 228:271–289
- Harmon, D.L., K.L. Gross, K.K. Kreikemeier, K.P. Coffey, T.B. Avery, and J. Klindt. 1991. Effects of feeding endophyte-infected fescue hay on portal and hepatic nutrient flux in steers. J. Anim. Sci. 69:1223-1231.

- Hart, I.C., J.A. Bines, and S.V. Morant. 1978. Endocrine control of energy metabolism in the cow: Correlation of hormones and metabolites in high and low yielding cows for stages of lactation *J. Dairy Sci.* 62:270-277.
- Hart, I.C., J.A. Bines, and S.V. Morant. 1980. The secretion and metabolic clearance rates of growth hormone, insulin, and prolactin in high- and low-yielding cattle at four stages of lactation *Life Science* 27:1839-1847.
- Heitmann, R.N., D.J. Dawes, and S.C. Sensenig. 1987. Hepatic ketogenesis and peripheral ketone body utilization in the ruminant. *J. Nutr.* 117:1174-1180.
- Heitmann, R.N., S.C. Sensenig, C.K. Reynolds, J.M. Fernandez, and D. J. Dawes. 1986. Changes in energy metabolite and regulatory hormone concentrations and net fluxes across splanchnic and peripheral tissues in fed and progressively fasted ewes. *J. Nutr.* 116:2516-2524.
- Huntington, G.B., E. Zetina, J.M. Whitt, and W. Potts. 1996. Effects of dietary concentrate level on nutrient absorption, liver metabolism, and urea kinetics of beef steers fed isonitrogenous and isoenergetic diets. *J. Anim. Sci.* 74:908-916.
- INRA, 1988. Alimentation des bovins, ovins et caprins. R. Jarrige, ed. INRA, Paris, France.
- INRA. 2007. Alimentation des bovins, ovins et caprins - besoins des animaux - valeurs des aliments - tables inra 2007, Versailles, France
- Janes, A.N., T.E.C. Weekes, and D.G. Armstrong. 1985. Carbohydrase activity in the pancreatic tissue and small intestine mucosa of sheep fed dried-grass or ground maize-based diets. *J. Agric. Sci. (Camb.)*. 104:435.
- Katz, M.L., and E.N. Bergman. 1969. Hepatic and portal metabolism of glucose, free fatty acids, and ketone bodies in the sheep. *Am. J. Physiol.* 216:953-960.
- Knowles, S.E., I.G. Jarrett, O.H. Filsell, and F.J. Ballard. 1974. Production and utilization of acetate in mammals. *Biochem. J.* 142:401-411.
- Krehbiel, C.R., C.L. Ferrell, and H.C. Freely. 1998. Effects of frequency of supplementation on dry matter intake and net portal and hepatic flux of nutrients in mature ewes that consume low-quality forage. *J. Anim. Sci.* 76:2464-2473.
- Krehbiel, C.R., D.L. Harmon, and J.E. Schnieder. 1992. Effect of increasing ruminal butyrate on portal and hepatic nutrient flux in steers. *J. Anim. Sci.* 70:904-914.
- Kristensen, N.B., B.A. Rojen, B.M.L. Raun, L. Puggaard and M. Larsen. 2009. Hepatic acetylation of the blood flow marker p-aminohippuric acid affects measurement of hepatic blood flow in cattle. Pages 558-559 in *Ruminant physiology: digestion, metabolism, and effects of nutrition on reproduction and welfare*, Y. Chilliard, F.

- Glasser, F. Faulconnier, F. Bocquier, I. Veissier and M. Doreau, ed. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, Netherlands.
- Kristensen, N.B., A. Storm, B.M.L. Raun, B.A. Rojen, and D.L. Harmon. 2007. Metabolism of silage alcohols in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90:1364-1377.
- Lapierre, H., C.K. Reynolds, T.H. Elsasser, P. Gaudreau, P. Brazeau, and H.F. Tyrrell. 1992. Effects of growth hormone-releasing factor and feed-intake on energy-metabolism in growing beef steers - net hormone metabolism by portal-drained viscera and liver. *J. Anim. Sci.* 70:742-751.
- Linington, M.J., J.H.F. Meyer, and J.G. van der Walt. 1998. Ruminant vfa production rates, whole body metabolite kinetics and blood hormone concentrations in sheep fed high- and low-fibre diets. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 28:82-98.
- Majdoub, L., M. Vermorel, and I. Ortigues-Marty. 2003. Ryegrass-based diet and barley supplementation: Partition of energy-yielding nutrients among splanchnic tissues and hind limbs in finishing lambs. *J. Anim. Sci.* 81:1068-1079.
- Maltby, S.A., M.A. Lomax, D.E. Beever, and C.J. Pippard. 1992. The effect of increased ammonia and amino acid supply on post prandial portal-drained viscera and hepatic metabolism in growing steers fed maize silage. Pages 20-22 in *Proc. 12th Symposium on Energy Metabolism of Farm Animals*, Zurich, Switzerland.
- Leng, R.A., and C.E. West. 1969. Contribution of acetate, butyrate, palmitate, stearate and oleate to ketone body synthesis in sheep. *Res. Vet. Sci.* 10:57-63.
- Lobley, G.E., and H. Lapierre. 2003. Post-absorptive metabolism of amino acids pages 737–753 in *Proc. Progress in research on energy and protein metabolism*, Rome, Italy.
- Loncke, C., I. Ortigues-Marty, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant, and P. Nozière. 2008. Capacity of the pdi system to predict the amount of absorbed alpha-amino nitrogen in the portal vein in ruminants. *Renc. Rech. Rum.* 15:285.
- Loncke, C., I. Ortigues-Marty, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant, and P. Nozière. 2009. Empirical prediction of net portal appearance of volatile fatty acids, glucose, and their secondary metabolites (β -hydroxybutyrate, lactate) from dietary characteristics in ruminants: A meta-analysis approach. *J. Anim. Sci.* 87:253-268.
- Lozano, O., C.B. Theurer, A. Alio, J.T. Huber, A. Delgado-Elorduy, P. Cuneo, D. DeYoung, M. Sadik, and R.S. Swingle. 2000. Net absorption and hepatic metabolism of glucose, L-lactate, and volatile fatty acids by steers fed diets containing sorghum grain processed as dry-rolled or steam-flaked at different densities. *J. Anim. Sci.* 78:1364-1371.

- McGarry, J.D., and D.W. Foster. 1980. Regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketone body production. *Annu. Rev. Biochem.* 49:395-420.
- Nielsen, N.C., and S. Fleischer. 1969. Beta-hydroxybutyrate deshydrogenase: Lack in ruminant liver mitochondria. *Science* 166:1017-1019.
- Nozière, P., D. Rémond, A. Ferlay, and M. Doreau. 1998. Differences between blood and plasma concentrations of acetate, beta-hydroxybutyrate, glucose, ammonia and urea: Implications for measurement of portal net fluxes in ewes. *Reprod. Nutr. Dev.* 38:509-518.
- NRC. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th rev. National Research Council ed. National Academy Press Washington, DC.
- Ortigue­s-Marty, I., D. Dardevet, and I. Savary-Auzeloux. 2003. Role of the liver in the regulation of energy and protein status pages 83-98. in *Proc. Progress in research on energy and protein metabolism*, Rostock-Warnemünde, Allemagne.
- Ortigue­s, I., A.L. Visseiche, and D. Durand. 1994. Adaptation to undernutrition in ewes: Net nutrient fluxes across the portal drained viscera, the liver and the hindquarters. Page 89 in *Proc. 13th Symposium on Energy Metabolism of Farm Animals*, Granada, Spain.
- Park, K.K., A.L. Goetsch, Z.B. Johnson, and J. E. Rossi. 1997. Temporal net flux pattern of nutrients across splanchnic tissues in wethers consuming different forages. *Small Ruminant Res.* 25:107-118.
- Patil, A.R., A.L. Goetsch, K.K. Park, B. Kouakou, D L. Galloway, and Z. B. Johnson. 1995a. Influence of grass source on net flux of nutrients across splanchnic tissues in sheep with restricted intake. *Arch. Anim. Nutr.* 48:257-269.
- Patil, A.R., A.L. Goetsch, K.K. Park, B. Kouakou, D.L. Galloway, and Z.B. Johnson. 1996. Influence of grass source and legume level on net flux of nutrients across splanchnic tissues in sheep *Small Ruminant Res.* 22:111-122.
- Patil, A.R., A.L. Goetsch, K.K. Park, B. Kouakou, D.L. Galloway, C.P. West, and Z.B. Johnson. 1995b. Net flux of nutrients across splanchnic tissues in sheep fed tropical vs temperate grass hay of moderate or low qualities. *Livest. Prod. Sci.* 43:49-61.
- Peel, C.D., D.E. Bauman, R.C. Gorewit, and C.J. Sniffen. 1981. Effect of exogenous growth hormone on lactational performance in high yielding dairy cows. *J. Nutr.* 111:1662-1671.

- Pethick, D.W., F.R. Dunshea. 1993 Fat metabolism and turnover. Pages 291-311 in J.M. Forbes, and J. France, ed. Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Pethick, D.W., D.B. Lindsay, P.J. Barker, and A. J. Northrop. 1981. Acetate supply and utilization by the tissues of sheep in vivo. Br. J. Nutr. 46:97-110.
- Rémésy, C., C. Demigné, and C. Morand. 1992. Metabolism and utilisation of short chain fatty acids produced by colonic fermentations. Pages 137-165 in Dietary Fibre - A Component of Food. T. F. Schweizer and C. A. Edwards ed. Springer, London, UK.
- Reynolds, C.K. 1995. Quantitative aspects of liver metabolism in ruminants pages 351-371. in Proc. 8th Int. Symp. Ruminant Physiol. , Stuttgart, Germany.
- Reynolds, C.K. 2000. Feed evaluation for animal production. pages 87-108 in: Feeding systems and feed evaluation models. M. K. Theodorou and J. France, ed. CABI Publishing, London.
- Reynolds, C.K. 2005. Glucose balance in cattle. Pages 143-154 in Proc. 17th Annual Meeting of the 5 Florida Ruminant Nutrition Conference, Gainesville, Florida.
- Reynolds, C.K., P.C. Aikman, B. Lupoli, D.J. Humphries, and D.E. Beever. 2003. Splanchnic metabolism of dairy cows during the transition from late gestation through early lactation. J. Dairy Sci. 86:1201-1217.
- Reynolds, P.J., and G.B. Huntington. 1988. Net portal absorption of volatile fatty acids and L(+)-lactate by lactating holstein cows. J. Dairy Sci. 71:124-133.
- Reynolds, C.K., G.B. Huntington, H.F. Tyrrell, and P.J. Reynolds. 1988a. Net portal-drained visceral and hepatic metabolism of glucose, L-lactate and nitrogenous compounds in lactating Holstein cows. J. Dairy Sci. 71:1803-1812.
- Reynolds, C.K., G.B. Huntington, H.F. Tyrrell, and P.J. Reynolds. 1988b. Net metabolism of volatile fatty acids, D-beta-hydroxybutyrate, nonesterified fatty acids, and blood gasses by portal-drained viscera and liver of lactating Holstein cows. J. Dairy Sci. 71:2395-2405.
- Reynolds, C.K., and H.F. Tyrrell. 1991. Effects of mesenteric vein L-alanine infusion on liver metabolism in beef heifers fed on diets differing in forage - concentrate ratio. Br. J. Nutr. 66: 437-450.
- Reynolds, C.K., H.F. Tyrrell, and L.E. Armentano. 1992. Effects of mesenteric vein n-butyrate infusion on liver metabolism by beef steers. J. Anim. Sci. 70:2250–2261.

- Reynolds, C.K., H.F. Tyrrell, and P.J. Reynolds. 1991. Effects of diet forage-to-concentrate ratio and intake on energy metabolism in growing beef heifers: Net nutrient metabolism by visceral tissues. *J. Nutr.* 121:1004-1015.
- Røjen, B.A., B.M.L. Raun, P. Lund, and N.B. Kristensen. 2004. Effect of supplement strategy on splanchnic net fluxes of ammonia and urea in dairy cows fed fresh grass. *J. Anim. Feed Sci.* 13:347-350.
- Sauvant, D., P. Schmidely, and J.J. Daudin. 2005. Meta-analysis of experimental data: Application in animal nutrition. *INRA Prod. Anim.* 18:63-73.
- Sauvant, D., P. Schmidely, J.J. Daudin, and N.R. St-Pierre. 2008. Meta-analyses of experimental data in animal nutrition *Animal* 2:1203-1214.
- Sensenig, S.C., D.J. Dawes, and R.N. Heitmann. 1985. Energy metabolite concentration on net fluxes across splanchnic and peripheral tissues in pregnant ewes. *J. Anim. Sci.* 61 (suppl. 1):454 (Abstr.).
- Theurer, C.B., G.B. Huntington, J.T. Huber, R.S. Swingle, and J.A. Moore. 2002. Net absorption and utilization of nitrogenous compounds across ruminal, intestinal, and hepatic tissues of growing beef steers fed dry-rolled or steam-flaked sorghum grain. *J. Anim. Sci.* 80:525-532.
- Vernet, J., H. Lapiere, P. Nozière, S. Léger, D. Sauvant, and I. Ortigues-Marty. 2005. Prediction of blood nutrient supply to issues of economical interest in ruminants: A first step with the prediction of portal blood flow. pages 163-173. in *Proc. 1st Open International Conference on Modelling and Simulation*, Clermont Ferrand, France.
- Vernet, J., and I. Ortigues-Marty. 2006. Conception and development of a bibliographic database of blood nutrient fluxes across organs and tissues in ruminants: Data gathering and management prior to meta-analysis. *Reprod. Nutr. Dev.* 46:527-546.
- Vernon, R.G., 1980. Comparative aspects of lipid metabolism in monogastric, pre-ruminant and ruminating animals. *Bioch. Soc. Trans.* 8:291-293.
- Waghorn, G.C. 1982. Modelling analyses of bovine mammary and liver metabolism. Ph.D. Diss. University of California, Davis.
- Wieghart, M., R. Slepetis, J.M. Elliot, and D.F. Smith. 1986. Glucose absorption and hepatic gluconeogenesis in dairy cows fed diets varying in forage content. *J. Nutr.* 116:839-850.

Table 1. Description of animals and diets used for the meta-analyses¹ of net hepatic and splanchnic fluxes of acetate, butyrate and β -hydroxybutyrate according to physiological status

	Non-productive adults ²					Growing animals					Gestating animals					Lactation ³					Physiological stage effect
	n	mean	SD	Min	Max	n	mean	SD	Min	Max	n	mean	SD	Min	Max	n	mean	SD	Min	Max	P-value
Dietary composition, ⁴ g/kg DM																					
Crude fiber	88	258 ^a	92	39	404	33	194 ^b	95	88	371	13	259 ^a	62	177	374	21	170 ^b	58	107	280	< 0.001
NDF	88	500 ^a	156	133	712	33	382 ^b	163	181	710	13	481 ^a	76	352	564	21	365 ^b	92	210	506	< 0.001
ADF	88	279 ^a	96	44	393	33	211 ^b	104	94	403	13	288 ^a	58	204	367	21	192 ^b	64	108	287	< 0.001
Starch	88	26 ^a	34	0	106	33	56 ^b	37	0	110	13	17 ^a	16	0	46	21	43 ^b	37	2	99	< 0.001
CP	88	124 ^a	35	45	247	33	139 ^b	31	65	178	13	150 ^{bc}	30	113	196	21	158 ^c	30	122	214	< 0.001
Lipids	88	19.6 ^a	8.70	7.84	39.9	33	25.3 ^b	8.7	7.5	34.9	13	20.1 ^a	2.9	12.0	23.3	21	38.3 ^c	23.4	19.9	85.0	< 0.001
Digestible OM	88	622 ^a	91	458	852	33	674 ^{ab}	109	461	789	13	629 ^a	77	512	736	21	714 ^b	37	604	776	< 0.001
Digestible NDF	88	292 ^a	102	95	474	33	215 ^b	83	97	400	13	268 ^{ac}	35	212	323	21	233 ^{bc}	88	121	403	< 0.001
Digestible CP	88	74 ^a	30	5	135	33	89 ^b	33	5	130	13	101 ^c	27	66	139	21	108 ^c	31	61	166	< 0.001
Rumen-fermentable OM	88	503 ^a	40	413	586	33	481 ^b	31	421	586	13	488 ^{ab}	38	450	544	21	542 ^c	46	436	631	< 0.001
Rumen-digestible NDF	88	263 ^a	92	85	427	33	193 ^b	74	88	360	13	241 ^{ac}	31	190	291	21	210 ^{bc}	79	109	363	< 0.001
Rumen-fermentable CP	88	73 ^a	24	28	128	33	75 ^a	23	29	119	13	105 ^b	31	59	149	21	103 ^b	27	66	167	< 0.001
PDIE	88	87 ^a	14	54	120	33	96 ^b	16	52	115	13	86 ^a	7	73	97	21	101 ^b	14	86	126	< 0.001
PDIN	88	83 ^a	24	28	155	33	95 ^b	24	27	121	13	98 ^b	19	74	125	21	107 ^b	23	80	140	< 0.001
ME, MJ/kg DM	88	9.5 ^a	1.5	6.7	13.1	33	10.4 ^{bc}	1.8	6.8	12.2	13	9.6 ^{ab}	1.2	7.7	11.4	21	11.4 ^c	0.85	9.2	12.5	< 0.001
Proportion of concentrate, g/100 g DM	88	29 ^a	36	0	100	33	47 ^{bc}	38	0	99	13	35 ^{ab}	23	0	75	21	52 ^c	28	27	100	0.013
Intake, g•d ⁻¹ •kg BW ⁻¹																					
DM	88	21.2 ^a	8.0	0	41.5	33	20.6 ^a	7.8	8.2	38.8	13	19.5 ^a	7.4	0	29.6	21	25.7 ^b	4.5	19.1	36.9	0.045
Digestible OM	88	13.2 ^a	5.1	0	23.0	33	13.5 ^a	4.1	4.4	20.2	13	12.5 ^a	5.1	0	19.1	21	18.4 ^b	3.6	13.1	28.6	< 0.001
Rumen-fermentable OM	88	10.7 ^a	4.2	0	20.8	33	9.9 ^a	3.7	3.4	18.5	13	9.6 ^a	3.8	0	13.8	21	13.8 ^b	1.8	11.2	17.4	0.002
Rumen-digestible NDF	88	5.7 ^a	3.2	0	14.3	33	4.3 ^b	3.0	1.2	11.2	13	4.6 ^{ab}	1.7	0	6.6	21	5.1 ^{ab}	1.3	2.7	7.5	0.094
Starch	88	3.1 ^a	4.2	0	15.2	33	5.3 ^b	3.8	0	12.4	13	1.7 ^a	1.6	0	5.0	21	5.6 ^b	3.8	0.4	16.1	0.002
Estimated energy balance, kJ•d ⁻¹ •kg BW ⁻¹	88	20.8 ^a	57.6	-158	109	33	43.9 ^b	49.5	-173	91.2	13	-46.4 ^c	51.4	-159	15.3	21	-2.4 ^d	39.0	-70.9	58.8	< 0.001

¹Publications used: Katz and Bergman, 1969; Bergman et al., 1970 ; Baird et al., 1980; Heitmann et al., 1986; Wieghart et al., 1986; Brockman, 1987 ; Reynolds and Huntington, 1988a,b; Reynolds et al., 1988a,b; Eisemann and Nienaber, 1990; Burrin et al., 1991; Harmon et al., 1991 ; Reynolds and Tyrrell, 1991; Reynolds et al., 1991; Lapierre et al., 1992; Maltby et al., 1992; Goetsch et al., 1994; Ortigues et al., 1994; Goetsch and Ferrell, 1995; Patil et al., 1995a,b; Eisemann et al., 1996; Freetly and Klindt, 1996 ; Huntington et al., 1996; Patil et al., 1996 ; DeVisser et al., 1997; Goetsch et al., 1997a,b,c,d; Park et al., 1997; De Visser et al., 1998 ; Freetly and Cundiff, 1998; Krehbiel et al., 1998; Linington et al., 1998; Bohnert et al., 1999; Ferrel et al., 1999; Lozano et al., 2000; Ferrell et al., 2001; Theurer et al., 2002; Majdoub et al., 2003; Branco et al., 2004; Rojen et al., 2004; Fukuma et al., 2005 ; Atkinson et al., 2007 ; Kristensen et al., 2007

² Fasting included; ³ Dairy cattle were between 11 and 240 days in milk.

⁴ Dietary composition and intake calculated by additivity according to INRA Feed Tables (INRA, 2007); PDIE (PDIN): protein digestible in the intestine when energy (degraded N) is a limiting factor

^{a-d} Different superscripts within columns and attributes indicate significant differences ($P < 0.05$).

Table 2. Description of nutrient arterial concentrations, net fluxes¹ and hepatic extraction² used for the meta-analyses³ according to physiological status

	Non-productive adults ⁴					Growing animals					Gestating animals					Lactation ⁵					Effect ⁶
	n	mean	SD	Min	Max	n	mean	SD	Min	Max	n	mean	SD	Min	Max	n	mean	SD	Min	Max	P-
Arterial concentration, mmol/L																					
acetate	16	1.13 ^a	0.65	0.48	2.28	18	1.70 ^b	0.25	1.12	2.2	4	1.08 ^a	0.13	0.95	1.22	8	1.73 ^b	0.28	1.31	2.04	0.001
butyrate	13	0.007 ^a	0.003	0.001	0.013	14	0.028 ^b	0.013	0.015	0.06	5	0.012 ^c	0.002	0.009	0.015	6	0.027 ^b	0.012	0.012	0.044	<0.001
β-hydroxybutyrate	15	0.49 ^a	0.24	0.33	1.30	22	0.54 ^a	0.078	0.42	0.69	2	0.49 ^a	0.017	0.47	0.50	6	0.73 ^b	0.13	0.55	0.92	0.027
non-esterified fatty acids																					
reported	8	0.56 ^a	0.33	0.26	1.04	4	0.11 ^b	0.011	0.098	0.12	2	0.14 ^{abc}	0.041	0.11	0.17	6	0.28 ^c	0.099	0.088	0.36	0.015
estimated	24	0.31 ^a	0.25	0.11	1.01	22	0.11 ^b	0.050	0.063	0.21	2	0.12 ^b	0.091	0.10	0.22	10	0.32 ^a	0.26	0.14	0.62	0.001
glucose	12	2.85 ^a	0.21	2.33	3.08	22	4.50 ^b	0.50	3.86	5.49	2	3.52 ^a	0.014	3.51	3.53	6	3.23 ^a	0.18	3.03	3.45	<0.001
insulin, μUI/L	7	39 ^a	23.0	18	71.9	6	32 ^a	11.8	21	51	2	14 ^b	2.20	13	16	4	9.4 ^b	3.31	6.30	14	0.045
Net portal appearance, mmol•h ⁻¹ •kg BW ⁻¹																					
acetate	16	1.55 ^a	0.55	0.79	2.73	27	2.29 ^b	0.77	0.99	3.90	10	2.14 ^{ab}	0.491	1.45	3.13	12	3.026 ^c	0.81	1.94	4.93	<0.001
butyrate	22	0.068 ^a	0.043	0.003	0.16	16	0.18 ^{bc}	0.079	0.035	0.29	11	0.16 ^c	0.086	0.059	0.26	10	0.22 ^b	0.054	0.14	0.33	<0.001
β-hydroxybutyrate	28	0.16 ^a	0.099	-0.12	0.36	22	0.29 ^b	0.073	0.13	0.39	8	0.19 ^a	0.05	0.13	0.28	10	0.41 ^c	0.080	0.28	0.52	<0.001
Net hepatic flux, mmol•h ⁻¹ •kg BW ⁻¹																					
acetate	16	-0.055 ^a	0.30	-0.53	0.42	27	0.56 ^b	0.49	-1.31	1.20	10	-0.064 ^a	0.16	-0.30	0.11	12	0.32 ^{ab}	0.43	-0.23	0.95	<0.001
butyrate	22	-0.047 ^a	0.030	-0.10	-0.001	16	-0.14 ^b	0.065	-0.23	-0.035	11	-0.13 ^b	0.078	-0.22	-0.018	10	-0.19 ^c	0.046	-0.27	-0.12	<0.001
β-hydroxybutyrate	24	0.27 ^a	0.25	0.043	1.3	22	0.24	0.074	0.099	0.40	2	0.24	0.021	0.22	0.25	10	0.35	0.25	0.043	0.66	0.48
Net splanchnic flux, mmol•h ⁻¹ •kg BW ⁻¹																					
acetate	16	1.6 ^a	0.64	0.74	3.10	17	2.41 ^b	0.88	1.30	4.21	10	2.04 ^{ab}	0.46	1.19	2.82	12	3.44 ^c	0.96	2.51	5.70	<0.001
butyrate	22	0.021 ^a	0.016	0.003	0.065	6	0.019 ^a	0.021	-0.002	0.054	11	0.026 ^{ab}	0.013	0.009	0.048	10	0.037 ^b	0.021	0.005	0.067	0.043
β-hydroxybutyrate	21	0.39 ^a	0.15	0.22	0.73	12	0.46 ^a	0.16	0.22	0.77	8	0.48 ^a	0.082	0.41	0.60	10	0.80 ^b	0.26	0.43	1.2	<0.001
Hepatic extraction, %																					
acetate	15	-2.2 ^a	4.7	-9.7	6.1	8	6.3 ^b	3.8	1.7	12	5	4.2 ^b	7.5	-4.6	14	6	7.3 ^b	3.1	4.4	12	<0.001
butyrate	13	-50	16	-68	-13	8	-43	13	-58	-23	5	-53	16	-63	-24	6	-60	9.4	-77	-48	0.13
β-hydroxybutyrate	11	19	13	8.1	51	16	15	5.1	6.6	22	2	24	2.3	22	25	6	20	2.8	14	22	0.41

¹ A positive value indicates a net release; a negative value indicates a net uptake; ² A positive value indicates a release; a negative value indicates an extraction

¹ n_{exp}: number of experimental groups in the model; n_{ai}: number of experimental groups with α_i significantly different from zero; n_t: number of treatments in the model; n_r: number of treatments rejected from the model (outliers)

² phy: physiological status

³ dietary contents of digestible OM (dOM), crude fibre (CF), concentrate (Conc), and metabolizable energy (ME). The minus sign indicates a negative effect on net hepatic or splanchnic flux; the plus sign indicates a positive effect on net hepatic or splanchnic flux.

⁴ physiological status effect on the intercept: $\Delta = -0.035$ for growing animals, not significant for other statuses.

⁵ physiological status effect on the slope: $\Delta = 0.267$ for growing animals, not significant for other statuses.

⁶ physiological status effect on the EB² slope: $\Delta = -0.00041$ for non-productive adults, -0.00065 for growing animals, and 0.00106 for lactation. Gestation was not determined.

⁷ physiological status effect on the intercept: $\Delta = -0.612$ for non-productive adults, 0.275 for growing animals, -0.418 for gestation and 0.755 for lactation.

ND: not determined; NS: not significant ($P > 0.10$); † $P < 0.10$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$

Table 3: Responses of net hepatic and net splanchnic fluxes ($\text{mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}\text{BW}$) of acetate (C2), butyrate (C4) and β -hydroxybutyrate (BHBA) to variations in net portal appearance (NPA; $\text{mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}\text{BW}$), rumen-fermentable OM intake (RfOMI $\text{g}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}\text{BW}$) or energy balance (EB; $\text{kcal}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}\text{BW}^{-1}$).

Y	Number ¹				Equation	adjustment		Effect ²		Interfering factors ³		
	n _{exp}	n _{ai}	n _t	n _r		RMSE	R ² _{adj}	phy	X*phy	Slope	Residuals	LSMeans
Net hepatic fluxes												
Acetate	21	ND	51	ND	No significant model	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Butyrate	25	9	31	0	-0.0034 ± 0.010 ^{NS} - 0.756 ^{***} ± 0.071 × NPA C4	0.010	0.982	0.05 ⁴	<0.001 ⁵	None	None	-dMO ^{**}
BHBA	23	12	54	2	-0.0212 ± 0.053 ^{NS} + 0.0203 ^{**} ± 0.0052 × RfOMI + 0.00083 × (EB ²)	0.035	0.938	NS	<0.001 ⁶	None	None	None
Net splanchnic fluxes												
Acetate	21	7	51	0	0.073 ± 0.176 ^{NS} + 1.047 ^{***} ± 0.0079 × NPA C2	0.210	0.953	NS	NS	none	none	none
	18	1	37	0	0.58 ± 0.37 ^{NS} + 0.0137 ^{***} ± 0.0027 × RfOMI ²	0.455	0.812	<0.001 ⁷	NS	none		+Conc [*] ; +ME [†] -CF [†] ; +DMI [†] ; -NDF [*]

¹ n_{exp}: number of experimental groups in the model; n_{ai}: number of experimental groups with ai significantly different from zero; n_t: number of treatments in the model; n_r: number of treatments rejected from the model (outliers)

² phy: physiological status

³ dietary contents of digestible OM (dOM), crude fibre (CF), concentrate (Conc), and metabolizable energy (ME). The minus sign indicates a negative effect on net hepatic or splanchnic flux; the plus sign indicates a positive effect on net hepatic or splanchnic flux.

⁴ physiological status effect on the intercept: $\Delta = -0.035$ for growing animals, not significant for other statuses.

⁵ physiological status effect on the slope: $\Delta = 0.267$ for growing animals, not significant for other statuses.

⁶ physiological status effect on the EB² slope: $\Delta = -0.00041$ for non-productive adults, -0.00065 for growing animals, and 0.00106 for lactation. Gestation was not determined.

⁷ physiological status effect on the intercept: $\Delta = -0.612$ for non-productive adults, 0.275 for growing animals, -0.418 for gestation and 0.755 for lactation.

ND: not determined.

NS: not significant ($P > 0.10$); $\dagger P < 0.10$; $* P < 0.05$; $** P < 0.01$; $P < 0.00$

Table 4: Predictive models of net splanchnic release ($\text{mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1} \text{BW}$) of acetate, butyrate and β -hydroxybutyrate in response to intake and dietary characteristics. These models combine those of Table 3 and of NPA (Loncke et al., 2009).

Y	Equations ¹
Acetate	$[(0.247 \times \text{RfOMI}) \times (0.587 + 0.251 \times \text{RdNDF/RfOM})] \times 1.047$ $0.58^2 + 0.0137 \times (\text{RfOMI} \times \text{RfOMI})$
Butyrate	$[(0.247 \times \text{RfOMI}) \times (0.079 - 0.073 \times \text{RdNDF/RfOM})] \times [-0.0034^3 + (1-0.75^4)]$
β -hydroxybutyrate	$[0.138 + 0.84 \times (0.247 \times \text{RfOMI}) \times (0.079 - 0.073 \times \text{RdNDF/RfOM})] - 0.0212 + 0.0203 \times \text{RfOMI} + 0.00083^5 \times (\text{EB} \times \text{EB})$

¹ dietary contents of rumen-digestible NDF (RdNDF, g/ kg DM), rumen-fermentable OM (RfOM, g/kg DM) and RfOM intake (RfOMI, $\text{g} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1} \text{BW}$)

² physiological status effect on the intercept: $\Delta = -0.612$ for non-productive adults, 0.275 for growing animals, -0.418 for gestation and 0.755 for lactation.

³ physiological status effect on the intercept: $\Delta = -0.035$ for growing animals; not significant for other statuses.

⁴ physiological status effect on the slope: $\Delta = 0.267$ for growing animals, not significant for other statuses.

⁵ physiological status effect on the slope: $\Delta = -0.00041$ for non-productive adults, -0.00065 for growing animals, and 0.00106 for lactation. Gestation was not determined.

Figure 1. Meta-design according to DMI and proportion of concentrate in the diet in the dataset used for acetate modeling (C2, A). Within-experiment relationships between net portal appearance (NPA) and net splanchnic release (NSR) of C2 (B). Values within a same experiment are linked. Open squares represent non-productive adults, shaded squares represent dairy cattle, open triangles represent growing cattle and shaded triangles represent gestating animals. Adjusted model of NSR-C2 (C). Solid lines represent the predicted values, and the points represent the values corresponding to the sum of predicted values and residuals

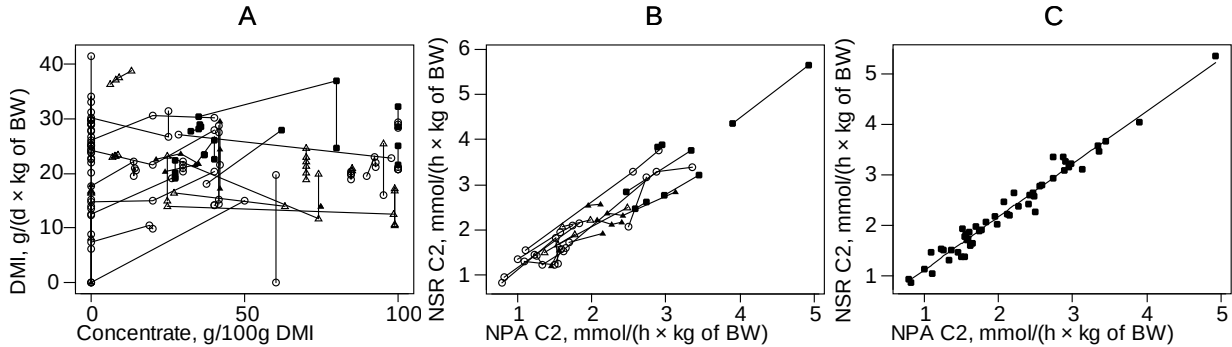


Figure 2. Meta-design according to DMI and proportion of concentrate in the diet in the dataset used for butyrate modeling (C4, A). Within-experiment relationships between net portal appearance (NPA) and net hepatic flux (NHF) of C4 (B). Values within a same experiment are linked. Open squares represent non-productive adults, dairy cattle and gestating animals. Shaded points represent growing cattle. Adjusted model of C4 NHF (C). Solid lines represent the predicted values for none productive adults, gestation, and lactation. Dotted line represents growing/finishing animals. The symbols represent the values corresponding to the sum of predicted values and residuals. Open squares represent non-productive adults, shaded squares represent dairy cattle, open triangles represent growing cattle and shaded triangles represent gestating animals

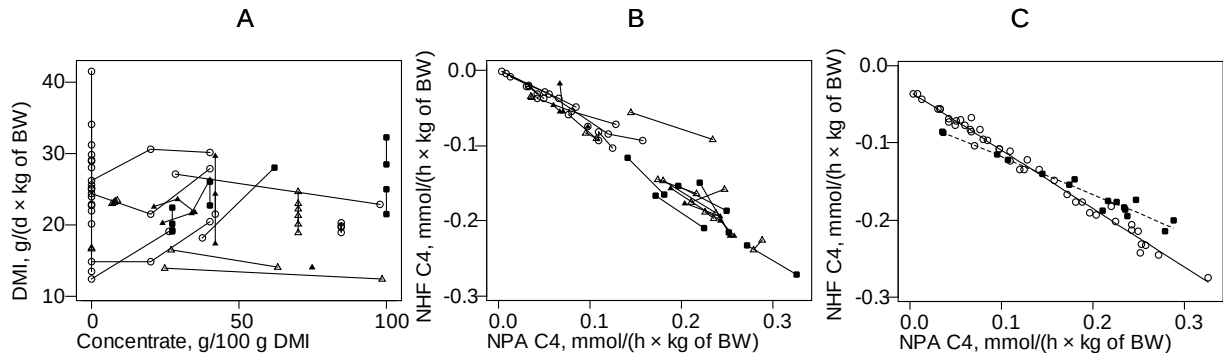


Figure 3. Meta-design according to DMI and proportion of concentrate in the diet in the dataset used for β -hydroxybutyrate modeling (BHBA, A). Within-experiment relationships between energy balance (EB) and net hepatic flux (NHF) of BHBA (B). Values within a same experiment are linked. Open squares represent non-productive adults, shaded squares represent dairy cattle, open triangles represent growing cattle and shaded triangles represent gestating animals. Adjusted model of the NHF-BHBA (C). The solid lines represent the predicted values for dairy cattle, the dotted lines represent growing animals and non productive adults. Symbols represent the values corresponding to the sum of predicted values and residuals. Open squares represent non-productive adults, shaded squares represent dairy cattle, open triangles represent growing cattle and shaded triangles represent gestating animals

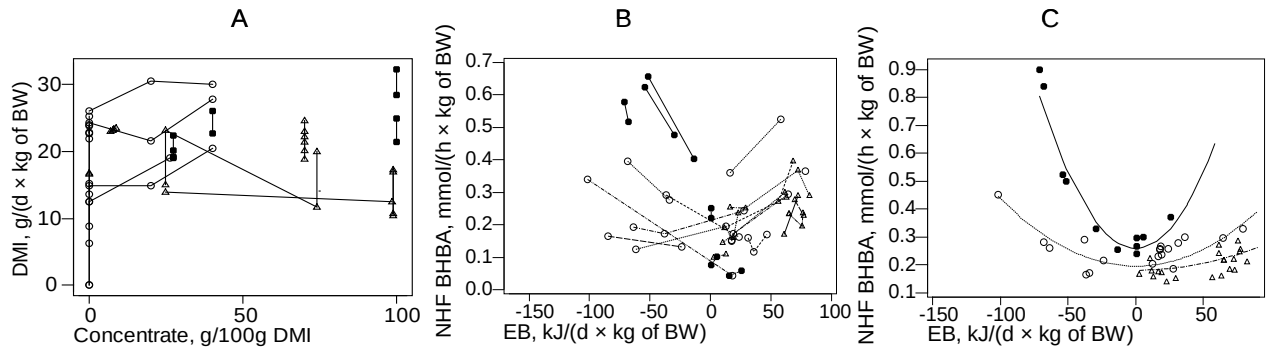
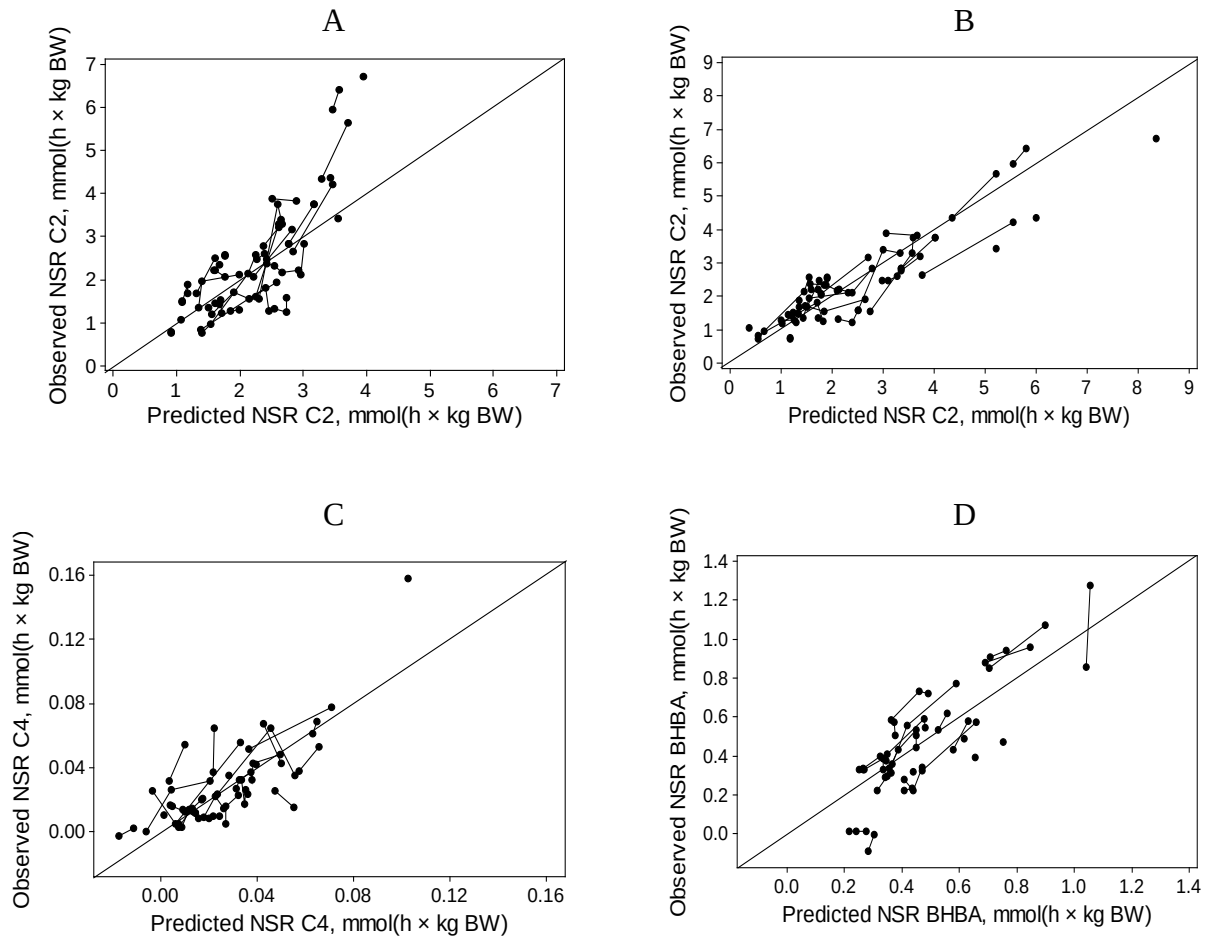


Figure 4. Within-experiment relationships between the reported NSR of acetate (NSR-C2; $n = 29$; $nt = 70$) and the NSR of C2 predicted from (A) the net portal appearance (NPA) of C2 and (B) the rumen-fermented OM intake, between the reported and predicted (C) NSR of butyrate (NSR-C4, $n = 27$; $nt = 63$), and (D) between the reported and predicted NSR of β -hydroxybutyrate (NSR-BHBA, $n = 26$; $nt = 61$)



Publication n°4

*Prédiction empirique de l'émission splanchnique du glucose
et de ses principaux précurseurs, propionate, azote alpha aminé et le lactate
chez les ruminants : une méta analyse*

C. Loncke, P. Nozière, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant et I. Ortigues-Marty

Cet article est actuellement en cours de préparation. La version présentée dans ce manuscrit de thèse devra être revue et complétée en grande partie en vue d'une publication qui sera soumise à Animal.

Running head: Modelling splanchnic release of glucogenic nutrients

Empirical prediction of net splanchnic release of glucose and its precursors, propionate, α -amino-nitrogen and L-lactate in ruminants: a meta-analysis ¹

C. Loncke, * P. Nozière, * J. Vernet, * H. Lapierre, † D. Sauvant, § I. Ortigues-Marty, *²

* INRA, UR 1213, Unité de Recherches sur les Herbivores, Theix, 63122 St Genès
Champanelle, France

†Dairy and Swine Research and Development Centre, Agriculture and Agri-Food Canada,
Sherbrooke, Quebec J1M1Z3, Canada

§UMR 791, Physiologie de la Nutrition et Alimentation, INRA-AgroParisTech, 75231 Paris,
France

¹The authors wish to thank INZO and LIMAGRAIN as well as the *Association Nationale de la Recherche Technique* for funding this project.

²Corresponding author: isabelle.ortigues@clermont.inra.fr

INTRODUCTION

In Ruminant nutrition, the evolution of feed evaluation systems towards more precise nutrient-based systems is an important challenge (Reynolds, 2000).

Glucose is essential for milk synthesis in ruminants. Without glucose, milk production ceases very quickly and no other sugar can replace it as shown with isolated and perfused mammary glands of goat. Glucose may be a limiting nutrient for milk production (Young et al., 1974). Glucose is also essential for muscle growth and meat quality (Hocquette et al., 1998) in ruminants. The liver is the most important glucose producing organ in ruminants and the availability of glucose precursors is important to support glucose production.

Conversion rate of precursors into glucose varies and is partly regulated by insulin (Reynolds et al., 2001; Hurtaud et al., 1998; Rigout et al., 2003).

For the development of nutrient based models, the prediction of hepatic glucose production is a key question. Glucose production was shown to be directly related to milk production (Rigoud et al 2003), to live weight gain (Kempton and Leng, 1983) and to ME intake (Pethick et al., 1981). Mechanistic prediction models have been developed for lactating ruminants (Waghorn, 1982; Baldwin et al, 1987; Danfaer, 1990, Freetly et al., 1993, Guo et al., 2008) sometimes as part of whole animal models.

However none of these models are generic enough to apply to the different ruminant

species (cattle, sheep, and goats) or to the different physiological stages (lactation, growth.). Additionally they are difficult to use in rationing practices.

Previous research showed that ME can be quantitatively defined in terms of nutrients using an empirical meta-analysis approach (Loncke et al., 2009c). Similarly, the net hepatic and splanchnic release of ketogenic nutrients could be predicted quantitatively from diet and animal characteristics (Loncke et al., 2009a). Consequently, the objectives of the present work were 1) to compare several descriptors for their ability to predict the net hepatic fluxes (**NHF**) of glucose and its major precursors, i.e. propionate (**C3**), alpha amino nitrogen (**α -N**) and L-lactate, 2) to identify the best predictors of the net splanchnic release (**NSR**) of these nutrients. Predictors had to be easy to determine and as generic as possible to be used ultimately in rationing purposes.

MATERIALS AND METHODS

Selection of Publications from the FLORA Database

The FLORA (FLuxes of nutrients across Organs and tissues in Ruminant Animals) database which gathers data extracted from approximately 250 international publications on splanchnic fluxes in multi-catheterized ruminants was used. FLORA structure has been described in detail by Vernet and Ortigues-Marty (2006). Briefly, animals were identified according to species (sheep, cattle) and physiological status (non-productive adult, growing, gestating, or lactating animals). Chemical composition and calculated nutritional values of feeds and diets, plus catheter location, blood sampling, metabolite analyses methods, and results for blood or plasma flows, metabolite concentrations, and fluxes were entered into the FLORA database.

Publications were first selected on the criteria that they reported results on NHF and/or NSF of C3, α -N, L-lactate and glucose leading to a total of 40, 46, 28 and 70 publications (corresponding to 151, 145, 84, 222 treatments respectively). From these, some publications or treatments were discarded for the following reasons: infusion or injection of N metabolites or VFA (e.g., mesenteric, jugular or femoral vein, rumen, abomasum, or small intestine), use of metabolism modifiers (e.g., insulin, ionophore, plhorizin, GHRH, monensin), abnormal feeding conditions or schedule (e.g., morning vs. night feeding, every 2 h vs. once or twice a day feeding, oscillating diet, non-steady state feeding, condensed tannin inactivator, feed contaminated with toxins) or use of dietary additives to modify ruminal fermentations.

Consequently, the eligible database consisted of 30 (71), 30 (75), 22 (59) and 47 (122) experimental groups (treatments) for C3, α -N, L-lactate and glucose, respectively.

To ultimately clarify the choice of the mathematical function to use in the prediction models, the data set was widened to publications which presented ruminal infusions of propionate (n = 15 treatments).

Description of the Nutritional Values of Diets

The selected publications did not systematically report the chemical composition and nutritional value of feeds and diets. Since data aggregation required consistent, homogenous and exhaustive ration descriptions, the feeds and diets from all relevant publications were described according to the INRA Feed Evaluation System (2007) as described by Loncke et al. (2009b). Briefly, after selection of the most representative feed ingredients, the estimated chemical composition and nutritional values of the diets were calculated assuming additivity. These estimated values were validated by comparison against the values reported by the authors (when existing), using a GLM including a publication effect. Comparisons focused on OM digestibility and ME and CP concentrations, and subsequently on crude fibre concentrations in DM. For all publications used, at least one of these parameters was reported.

Calculation of the Net Energy for Production and Energy Balance of Animals

Net hepatic glucose release varies with the level of production of the animal, expressed as average daily gain or milk yields (Reynolds, 2005), and more generally, with the energy status of the animals. The net energy for production (**NEP**) and the energy balance (**EB**) were assumed to quantitatively reflect these production traits. The expected NEP was calculated to express the level of production of the animal independently of the nature of the production, as detailed in Loncke et al. (2009b). Briefly, the NEP was calculated as $(ME_{\text{intake}} - ME_m) \times k$, using the appropriate k values, with ME_m representing to the maintenance requirements in ME. The k , representing the theoretical efficiencies of ME utilization were calculated as $k_m = 0.287 \times q + 0.554$, $k_l = 0.249 \times q + 0.463$ and $k_g = 0.13$, for maintenance, lactation or moderate growth/gestation, respectively, with q being diet metabolizability (ME/gross energy; INRA, 1988). For growing animals, since intake levels ($1.49 \pm 0.54 \times$ maintenance requirements) and production were moderate, k_l was used instead of k_g , according to INRA (1987). The ME_m were taken at $481 \text{ kJ ME} \cdot \text{d}^{-1} \cdot (\text{kg BW}^{0.75})^{-1}$ for dairy cattle and beef cattle and at $439 \text{ kJ ME} \cdot \text{d}^{-1} \cdot (\text{kg BW}^{0.75})^{-1}$ for dry and gestating cattle and for sheep. Energy balance was then calculated as in Loncke et al. (2009a).

When positive, expected NEP was first compared to observed NEP, calculated from reported animal performances. Calculation differed depending on the physiological stage of

animals. For growing animals, the observed NEP was considered as equal to the EB for lack of reported energy or liveweight gain data. For lactating cows, the observed NEP was calculated from reported milk production, assuming a milk energy content of $3,096 \text{ kJ} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$ of milk at 4% of fat content, unless the publication also reported milk fat content. For gestating animals, observed NEP (amount of energy required to support fetus plus adnexa growth) was determined according to species and breed as described in Loncke et al., 2009a. Energy balance was then calculated as the difference between expected and observed NEP. A positive difference indicated tissue energy deposit while a negative difference indicated tissue energy mobilization.

Calculation of Endogenous Gluconeogenic Precursor Availability

In case of tissue energy mobilisation, endogenous metabolites can be metabolised in the liver and used as gluconeogenic precursors. Endogenous precursors (gluconeogenic amino acids and glycerol, (Leng, 1970) were predicted from estimated EB and tissue composition of mobilised energy. Mobilised energy was assumed to be composed of 7% protein and 93% fat (Gross et al., 1990). Assuming that the energy density of proteins was 5.6 MJ/g (Gross et al., 1990), the amount ($\text{g} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$) of protein mobilised was estimated at $(\text{EB} \times 0.07) / 5.6$. It was also assumed that proteins were mobilised from muscles and that alanine was the major gluconeogenic AA from mobilised muscles (Reynolds, 2005) at concentrations of 4.65g alanine/g muscle N, i.e. 0.047 g alanine/g muscle protein (in lamb muscles, Monov and Ibrishimov, 1980). The amount of endogenous alanine (expressed as moles of carbon) supplied to the liver was thus estimated at $(\text{EB} \times 0.07 / 5.6) / 89.1 \times 4 \text{ mol C/d}$, with 89.1 being the molar mass of alanine (g/mol) and 4 the number of carbons in one mole of alanine. The energy density of fat being 9.2 (MJ/g; Gross et al., 1990) the amount of fat mobilised (in g) was estimated as $(\text{EB} \times 0.93) / 9.2$. Assuming that body fat was composed of 100% of triglycerides and that one mole of triglyceride was composed of 1 mole of glycerol (molar mass 92 g/mol) and 3 moles of fatty acids (average molar mass 887 g/mol), glycerol represented 10.5% (weight basis) of mobilised triglycerides. Thus, the amount of glycerol supplied to the liver from body fat mobilisation (expressed as moles of carbon) was estimated as $(\text{EB} \times 0.93 / 9.2) \times 0.105 / 92 \times 4 \text{ mol C/d}$.

All experiments being conducted while animals were in steady state, it was considered that glycogen stores remained constant and did not contribute to net hepatic glucose output.

Potential predictors of Variations in Net Hepatic Fluxes and Splanchnic Release of Glucose and its Precursors

Potential predictors of the NHF of nutrients were identified from current knowledge first on splanchnic metabolism, and second on dietary and animal characteristics. Where NHF was negative (net hepatic uptake), potential predictors were the NPA of the relevant nutrient or its dietary predictors (Loncke et al., 2009b) and the NPA of interacting nutrients. Where NHF was positive (net hepatic release), potential predictors were the NPA of the known precursors of the relevant nutrient in addition to interacting nutrients. Interacting nutrients were identified from significant correlations between NHF of nutrients or concentrations of nutrients. Doing so, models were limited by the availability of NPA or NHF of all relevant nutrients within the eligible dataset. Subsequently, to avoid the use of the estimated NPA or NHF of nutrients, predictors were sought among dietary and animal characteristics.

Hepatic gluconeogenesis takes place from known precursors. These include C3, glucogenic AA (alanine, glutamine and glycine), L-lactate and glycerol provided either from PDV absorption or tissue mobilisation (Bergman et al., 1970; Lindsay, 1978; Danfaer et al. 1994; Lozano et al, 2000). Potential contribution of precursors to gluconeogenesis varies with dietary availability, body tissue mobilisation and whole body glucose needs, especially in producing animals. Predictors of net hepatic or splanchnic release of glucose were identified two ways. First based on precursor availability. Second based on animal performances.

Availability of gluconeogenic precursors in the liver depends on their afferent fluxes to the liver and on their net hepatic uptake. For endogenous precursors (alanine, glycerol), afferent fluxes were calculated as detailed previously. For dietary precursors (C3, L-lactate, gluconeogenic amino acid), the NPA was considered as reflecting the afferent flux. Since NPA-gluconeogenic AA were not systematically measured nor reported in the publications, it was calculated from the NPA of alpha-amino-nitrogen. The NPA-total AA ($\text{mmol} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$) was calculated as $1.35 \times \text{NPA-}\alpha\text{-N}$ (Martinaud et al., 2008). Then, the proportion of gluconeogenic amino acids (alanine + glutamine + glycine) in the NPA-total AA was calculated from the publications ($n = 24$) which reported measurements of NPA-total AA, NPA-alanine, NPA-glycine and NPA-glutamine. The NPA-gluconeogenic AA was thus estimated at 45% of NPA-total AA, on a molar basis.

For each of these precursors, it was tested whether their net hepatic uptake varied linearly with their afferent flux to the liver, and the prediction response equation was established.

Subsequently, relationships between net hepatic glucose release and net hepatic precursor uptake were established first for each individual precursor, and second for the sum of all precursors. Unfortunately, only a limited number of publications reported results on all relevant precursors. Thus, when missing, NPA of the relevant nutrient was estimated according to Loncke et al. (2009b) and the net hepatic uptake was calculated from estimated NPA and prediction models of NHF established as described above.

Finally, to account for positive NPA of glucose, when relevant, the prediction response equation of the net splanchnic release of glucose was also investigated.

Net splanchnic release of glucose was also predicted from animal performances. This approach tested whether indicators of the production level of the animals were relevant predictors of NSR-glucose. Indicators considered were NEP, species and physiological status.

Because neoglucogenesis was regulated by insulin, and although the number of available data treating insulin was low, within study relationships between concentration NPA, NHF of insulin, diet and other nutrients were studied.

Meta-Analyses

Data Coding and Data Expression. In order to select relevant studies for subsequent meta-analyses, the full set of selected publications was coded in several steps (Sauvant et al., 2005). A first coding step dealt with the experiments, where studies within a given experiment were defined as the groups of treatments that changed due to dietary or animal characteristics (nature of the diet, intake level, percentage concentrate, and animal species) and the type of experimental factors within each publication (Sauvant et al., 2005; Vernet et al., 2005). Due to the potential influence of physiological status on nutrient NHF (Bergman, 1970; Heitmann et al., 1987; Reynolds, 2005), the physiological status was considered as a variable of interest and specifically coded.

Nutrient intake and NPA were expressed as a function of $BW^{1.0}$ which allowed normal distribution of the variables. Normality was not achieved when data were expressed as a function of $BW^{0.75}$.

A reliability criterion was defined for eligible data for the within-study meta-analysis.

When the reported blood or plasma concentrations of nutrients were inferior to the analytical limits of quantification (Ortigue et al., 2003) determined in our laboratory (limit of quantification = 1.13 mmol/L for glucose, 0.19 mmol/L for C3 and 0.32 mmol/L for AA-N, not defined for lactate), the data were considered relatively unreliable. These data would have been removed from the dataset if justified by post-optimization analyses, but there were no

such cases in the selected publications.

Meta-design, Variance-Covariance Models, Post-Optimization Analyses and Checking of absence of systematic bias. Descriptive statistics (μ , SD, range of values) were generated for each parameter in the selected datasets. The selected data were analyzed by one-way ANOVA to test species and physiological status effects. Starting out, the unbalanced data distribution prompted us to establish the matrix of correlation between dietary parameters, arterial, portal and hepatic venous concentrations, and nutrient NPA, NHF and NSR. When relevant, principal component analyses were carried out to establish potential relationships over the full dataset. Normal data distribution and homogeneity of variances were tested by Shapiro-Wilk and Levene tests, respectively.

Relationships between Y (nutrient NHF or NSR) and the explanatory variable X were studied using a variance-covariance model:

$$Y = \alpha + \beta X + \text{animal profile} + \alpha_i (\text{animal profile}) + \text{animal profile} \times X + e$$

where α is the overall intercept and α_i is the effect of study i on intercept α . It is nested within animal profile, i.e. animal species or physiological state. Parameter β is the slope of the relationship. Quadratic and sigmoid models were also tested.

The sigmoid model was defined as follows:

$Y = a + b / (1 + 10^{c-X}) + e$, with a equal to the minimum of Y , $a + b$ equal to the maximum of Y and $a + b/2$ equal to the inflexion point.

Studies were considered as fixed factors in the models because experimental conditions were specific to each study and the influence of these conditions on the parameters of the models were tested. Moreover, the statistical effect of the covariate is not dependent on whether the study effect is fixed or random (Sauvant et al., 2008).

All statistical analyses were carried out using GLM models (Minitab, Version 14 and SAS, Version 9.0), except for the sigmoid model which was developed using the nlmixed procedure of SAS. The normality of residuals was checked and outliers were identified on the basis of residues, HI leverage, Cooks distance, and DFITS according to Sauvant et al. (2005).

In order to evaluate the model, post optimization analyses were carried out as described previously (Loncke et al., 2009b). Briefly, once models were generated, sensitivity analyses were carried out to test whether the models could be improved by a heuristic process (Sauvant et al., 2008). The benefits of adding another X variable to the model were evaluated by studying the influence of potentially interfering factors on the individual within-study slopes and the least-squares means (**LSMeans**) of the model. Indeed, when an interfering

factor was observed, it was systematically introduced into the model to check if it improved the model. This was mentioned in the results only if the introduction improved the model. Regressions were established between these parameters and potential quantitative interfering factors. The later corresponded to variables describing the nutrients and hormones (arterial concentrations, arterio-venous differences, NPA, NHF, NSR), the level of intake and diet composition as well as animal characteristics as follows: nutrients and hormones (C2, C3, C4, BHBA, glucose, alpha-amino-N, L-lactate, NEFA, insulin, as available), level of intake and diet composition [DMI, dietary concentration and intake level of digestible OM, Ruminally fermentable OM, starch, Rumen digestible Starch, NDF, Ruminally digestible NDF, the percentage of concentrate, and the dietary concentrations of ADF, crude fibre, CP, digestible CP, ME, proteins digestible in the intestine and the ratio N/energy (expressed as g CP/MJ EM)] and animal characteristics (species, physiological status, EB, NEP). Potential interfering qualitative factors (blood or plasma matrix, physiological state and animal species) were also tested by ANOVA on the LSMeans sub-classes. If a significant interfering factor was detected, it was tested whether its inclusion in the model improved the fit. In the results, interfering factors are reported only if significant. Thorough graphical examinations were carried out at each stage of the meta-analyses process.

Parameters and correlations were considered significant at $P < 0.05$, whereas $P < 0.10$ indicated a trend. The models were considered as stable as possible when the post optimisations analyses showed a low residual mean square errors (**RMSE**), a high adjusted R^2 (**R^2_{adj}**), absence of interfering factors on slopes, residuals, and LSMeans, and lack of interactions between the slope or intercept and species or physiological state, or when no further significant improvement could be introduced.

In the present work, all available relevant data were used to establish the models. It was thus impossible to carry out an external validation.

Nevertheless, in order to check the absence of systematic bias or rotation of the slope, the prediction models obtained were evaluated by comparing the observed (Y) and the predicted NHF or NSR (X), using a GLM model including an experiment effect. The model was considered unbiased when the intercept was not different from 0 and when the slope was not significantly different from 1.

RESULTS

Critical Evaluation of the Estimated Dietary characteristics

The chemical composition of the diets estimated as indicated above was closely correlated to actual values, when reported. Slopes of GLM analyses were not significantly different from 1 (0.931 ± 0.088 , $P = 0.35$ for OM digestibility; 0.920 ± 0.067 , $P = 0.34$ for ME; 1.023 ± 0.084 , $P = 0.84$ for crude fiber; and 0.970 ± 0.075 , $P = 0.81$ for CP concentration). The coefficients of correlation were 0.906, 0.949, 0.972, and 0.918, and the RMSE were 2.2 g/100 g, 0.24 MJ/kg of DM, 16.6 g/kg of DM, and 1.4 g/kg of DM for OM digestibility, ME, crude fiber, and CP contents, respectively. Moreover, the intercept was not different from 0 for OM digestibility (9.63 ± 6.2 g/100 g, $P = 0.13$), crude fiber (-11.4 ± 22 g/kg of DM, $P = 0.61$), and CP content (4.96 ± 10 g/kg of DM, $P = 0.64$), and tended to be different from 0 for ME concentration (0.615 ± 0.62 MJ/kg of DM, $P = 0.06$).

Description of the Selected Data and Meta-Design

Normal distribution of data was shown in the different datasets as well as homogeneity of variances.

Diets and intake levels. Across species (Table 1), DMI was similar ($P = 0.47$) but diet composition differed. Diets fed to sheep had lower proportions of concentrate ($P < 0.001$), lower concentrations in dOM ($P < 0.001$), digestible CP ($P < 0.001$), rumen fermentable CP ($P < 0.001$), protein digestible in intestine ($P < 0.001$), starch ($P < 0.001$) and ME ($P < 0.001$) and greater cell wall concentrations ($P < 0.001$). Intakes of these constituents were therefore different between species. Only, dietary RfOM contents ($P = 0.38$) and intake were similar ($P = 0.60$) between both species.

Differences between physiological stages in intake and diet composition were greater (Table 2) than between species.

Lactating cows were fed at the highest level of DMI ($P = 0.049$), diets which contained the highest proportions of concentrate ($P = 0.013$), digestible OM ($P < 0.001$) and dietary ME ($P < 0.001$) content and the lowest proportions of crude fiber and NDF ($P < 0.001$). The RfOM content ($P < 0.001$) and intake ($P = 0.003$) were also higher for dairy cattle than for growing animals, non productive adults and gestating animals.

Nutrients. In the eligible dataset, concentrations were mainly determined on blood ($n = 49$ and 4 for C3 in blood and plasma respectively, $n = 76$ and 25 for α -N, $n = 60$ and 30 for L-lactate and $n = 58$ and 60 for glucose, in the same respective order). Concerning C3, no

correction was applied since only 4 observations reported plasma results and since graphical examination (data not shown) showed no bias between blood and plasma flux measurements. For α -N, it was shown that no difference was observed whether fluxes were measured in plasma or blood (Martinaud et al., 2009). For L-lactate, differences are known to exist between blood and plasma fluxes (Aufrère, 1979) depending on the nutritional status of the animals. However, no systematic relationship had been established between L-lactate blood and plasma fluxes, so that no correction was applied on the present data. For glucose, Nozière et al. (1998) showed that low NPA of glucose tended to be overestimated by plasma measurements, whereas high NPA tended to be underestimated by 25 %. In absence of systematic correction factor, no correction was applied. The lack of gross bias between plasma and blood results was only checked by graphical examination.

Moreover, analytical methods used to measure glucose (oxi-peroxydase), α -N (ninhydrine) and L-lactate (L-lactate dehydrogenase) were similar among publications. Similarly, all but one (solvent extraction) selected publications indicated that C3 was analysed after an extraction by ion exchange resins. Consequently, no correction was applied to account for differences in analytical methods. Finally, the validity of splanchnic blood flows was not questioned despite recent queries raised by Kristensen et al. (2009) when splanchnic blood flows were measured in cattle using the PAH down-stream dilution method.

Species and physiological stage differences were noted in arterial concentrations and net fluxes of nutrients (Table 3), these results are presented along with the models in the following sections.

Animals. For each nutrient, the number of treatments was similar between cattle and sheep and between females and males (data not shown). The majority of data was obtained on non-productive adults, followed by growing, lactating and gestating dry animals. They were sufficient to test the effect of physiological stage, despite the lower number of data on gestation. Concerning lactation, only dairy cattle were represented.

They were between 11 and 240 days in milk (12 treatments for the first 80 days in milk and 8 for 120 to 240 days in milk). All gestating animals were in late gestation (≤ 2 months before calving).

Due to the confounding effect between animal species and physiological status, only physiological stage, which significantly influenced the parameters under study, and which presented the highest differences in diet intake and composition, was considered.

Adjusted Models of Net Hepatic and Splanchnic Fluxes of Propionate

Cattle presented 46% higher arterial concentrations (Table 3), NPA and net hepatic uptake than sheep ($P < 0.001$), with no difference ($P = 0.98$) in net hepatic fractional extraction rate between cattle and sheep, nor in NSR-C3 (Table 3). Lactating cows (Table 4) presented respectively 35% and 47% higher NPA-C3 and NHR-C3 ($P < 0.001$) than the other physiological states (non productive adults, growing and gestating animals). Still NSR-C3 was similar among all physiological states ($P = 0.19$).

Considering the high affinity of the liver for C3, NHF-C3 was significantly and linearly related to the NPA-C3 (Figure 1) in an intra-study relationship ($P < 0.001$). Individual slopes were independent of concentration and fluxes of other nutrients ($P > 0.12$) as well as of intake and dietary concentrations ($P > 0.11$ for all parameters). The model of prediction of NHR-C3 from NPA-C3 (Table 5) presented a low RMSE ($0.027 \text{ mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$) and a high R^2_{adj} explaining 99% of the variability (inter-experiment included). The intercept was not significantly different from 0 ($P = 0.99$). The linear slope suggested that for $1 \text{ mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$ of C3 appearing in portal vein, $0.91 \text{ mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$ of C3 was taken up by the liver. The model was not significantly affected by animal species ($P = 0.20$). However, the intercept was significantly affected by the physiological state ($P = 0.008$) suggesting that the net hepatic uptake of C3 was significantly higher in dairy cattle and lower in growing/finishing animals. Post analyses showed that the residues of the model were independent of intake and dietary concentration ($P > 0.50$), and concentration and fluxes of other nutrients ($P = 0.57$). Meanwhile, the LSMeans of the model were negatively related to EB ($P = 0.012$) and to PDI/EM ($P = 0.002$).

Thus, NSR-C3 ($\text{mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$) could be predicted from intake and diet composition (Table 6) thanks to the combination of the prediction model of NPA-C3 (Loncke et al., 2009b) and the present model of NHF-C3.

Adjusted Models of Net Hepatic and Splanchnic Fluxes of L-lactate

Sheep presented 41% higher arterial concentrations (Table 3), and 136% lower NSR-L-lactate ($P = 0.001$) than cattle but similar NPA-L-lactate ($P = 0.41$) and NHF-L-lactate ($P = 0.21$). The arterial, portal and hepatic L-lactate concentrations were higher in non productive adults than in the other physiological statuses (Table 4). Gestating animals presented lower NPA-L-lactate and NHF-L-lactate than the other physiological statuses. Finally, physiological

statuses had no effect on NSR-L-lactate.

The NHF-L-lactate was negatively related to NPA-L-lactate (Figure 2a). The intercept and the slope of this relationship were significantly affected by physiological state (Table 5). No interfering factors were observed on the residuals and the individual slopes. However, the LSMeans of the model were positively related to NPA-C3 ($P = 0.05$) and to the net hepatic uptake of C3 as well as to the P – A concentration differences in glucose ($P = 0.012$). Moreover, the LSMeans tended to be negatively related ($P = 0.072$) to the net hepatic uptake of AA-N. Inclusion of NPA-C3 significantly improved the model, so that NHF-L-lactate could be predicted from both NPA-C3 and NPA-L-lactate (Table 5). The RMSE was relatively small and R^2 was high. Physiological state significantly affected the intercept suggesting that the net hepatic uptake of L-lactate was higher in lactating cows and growing animals than in the other physiological statuses. No interfering factors were obtained on the residuals whereas LSMeans was negatively related to the NHF-glucose ($P = 0.050$).

Moreover, NHF- L-lactate was related to the EB (Figure 2b) of the animals with a physiological state effect on the intercept but no interfering factor on the residuals, the individual slopes and the LSMeans (Table 5).

Finally, NSR-L-lactate ($\text{mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$) could be predicted from intake and diet composition (Table 6) thanks to the combination of the prediction model of NPA-C3 (Figure 3a) and NPA- L-lactate (Loncke et al., 2009b) and the present model on NHF- L-lactate. As a consequence of the relationship between NHF-L-Lactate and EB, NSR- L-lactate could also be predicted from the rumen digestible starch and EB (Figure 3b).

Adjusted Models of Net Hepatic and Splanchnic Fluxes of Alpha amino nitrogen

Sheep showed 18 and 31% greater arterial concentrations (Table 3), NPA- αN and NHF- αN respectively ($P < 0.01$) than cattle, but similar ($P = 0.33$) NSR- αN . Net hepatic uptake of αN averaged $0.40 \pm 0.26 \text{ mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$ (Table 4) and was not significantly different between physiological state ($P = 0.50$).

The NHF- αN was linearly related to its NPA (Figure 4, $P < 0.001$) and NHF- αN could thus be predicted from its NPA (Table 5). The model obtained had a relatively low RMSE ($0.085 \text{ mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$) and a high R^2_{adj} explaining 83% of the variability. The intercept was not significantly different from 0 ($P = 0.99$). The linear slope suggested that an increment of $1 \text{ mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$ of NPA- αN induced an increase of net hepatic uptake of αN of $0.745 \text{ mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$. The intercept was influenced by the physiological status ($P = 0.005$)

suggesting that the net hepatic uptake of α N was significantly lower in dairy cattle and higher in non productive and growing/finishing animals.

No interfering factors were detected on residues of the model. Nevertheless, the individual slopes tended to be positively related ($P = 0.087$) to the portal-arterial concentration difference in α N. Moreover, the LSMeans were positively correlated to dietary N concentration (protein digestible in the intestine, $P = 0.039$ and CP, $P = 0.072$) as well as NHF- and NSR-glucose ($P = 0.050$ and $P = 0.028$, respectively) and negatively correlated to the net hepatic uptake of C3 ($P = 0.067$).

Finally, NSR- α N ($\text{mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$) could be predicted from the intake and diet composition (Table 6) thanks to the combination of the prediction model of NPA- α N (Loncke et al., 2009b) and the present model on NHF- α N. The NHF-glucogenic AA could be estimated by $(0.684 \times \text{NPA-}\alpha\text{N}) \times 45/100$.

Net Splanchnic Insulin Fluxes

Expecting that insulin secretion and levels would interfere on the prediction models of net hepatic glucose release, an attempt was made to establish quantitative within-study relationships of arterial concentrations, NPA, NHF and NSR of insulin from the available ($n = 18$ treatments, arterial concentrations ranging from 6.3 to 71.9 $\mu\text{UI/L}$) dataset. Results showed that NPA-insulin ($\mu\text{UI}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$) increased with the DMI ($\text{g}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$; slope = 1.15 ± 0.36 ; $P = 0.007$), starch digested in the small intestine ($\text{g}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$; slope = 3.93; $P = 0.03$) and NDF digested in the rumen ($\text{g}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$; slope = 6.89 ± 1.61 ; $P = 0.04$). Similarly, arterial insulin concentrations ($\mu\text{UI/L}$) increased with the DMI ($\text{g}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$; slope = 2.88 ± 0.48 ; $P = 0.03$). Moreover, NPA-insulin ($\mu\text{UI}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$) tended to increase with the portal – arterial concentration (mM) difference of C3 (slope = 35.66 ± 5.91 ; $P = 0.10$) and C2 (slope = 5.21 ± 1.84 ; $P = 0.10$), but not glucose ($P = 0.27$). It was observed that an increase of NPA-insulin ($\mu\text{UI}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$) induced an increase in NSR-insulin ($\text{mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$; slope = 0.55 ± 0.069 ; $P = 0.008$), which itself induced an increase in arterial concentrations ($\mu\text{UI/L}$) of insulin (slope = 4.16 ± 0.60 ; $P = 0.012$).

However, the increase in NSR-insulin was lower than that of NPA because of a net hepatic uptake of insulin quantitatively linked to NPA-insulin ($P = 0.050$). This net hepatic uptake of insulin increased with the NPA-VFA ($P < 0.047$) and portal – arterial concentration differences of C3 and C4 ($P < 0.043$), but not with NPA-glucose ($P = 0.70$). Consequently, the response of insulin arterial concentration to the increase of NSR-insulin and to NPA-

insulin was higher when NPA-glucose increased as compared to NPA-VFA. The correlation between DMI and NSR-insulin was positive ($P = 0.031$).

Adjusted Models of Net Hepatic and Splanchnic Fluxes of Glucose

Based on raw data, the net hepatic flux of glucose averaged $0.665 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$, with significant species (Table 3) and physiological state (Table 4) differences. More specifically, cattle showed higher ($P = 0.018$) arterial and portal concentrations, NPA, NHF and NSR than sheep (Table 3). Similarly, lactating animals had higher NPA, NHF and NSR than the other physiological states ($P < 0.001$). Meanwhile, growing/finishing animals had higher arterial, portal and hepatic concentrations than the other physiological statuses (Table 4). The potential contribution of precursors to NHF-glucose averaged $53.1 \pm 19.7\%$, $19.3 \pm 11.3\%$, $41.7 \pm 26.8\%$ and $26.1 \pm 23.8\%$ for C3, glucogenic AA, αN and L-lactate, respectively, with differences between species ($P < 0.004$) (Table 3) and physiological status (Table 4).

The amount of mobilised glycerol (Table 7) was estimated at $1.36 \pm 1.25 \text{ mmol} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$ ($n = 32$), with the highest numerical values for non producing adults, followed by lactating cows and gestating animals, but differences were not significant ($P = 0.24$). No evaluation was possible by lack of published data. The average amount of alanine mobilised (Table 7) from muscles was estimated at $0.079 \pm 0.072 \text{ mmol} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$ ($n = 32$), with no significant differences.

Relationships between net hepatic and splanchnic fluxes of glucose and its individual precursors. The NHF-glucose was positively correlated to the NPA and net hepatic uptake of each of the major precursors (C3, αN and L-lactate) in intra-study relationships (Table 8).

The NHF-glucose was significantly and linearly related to NPA-C3 and NHF-C3 (Figure 5a), independently of species. Quadratic relationships were not significant. The intercepts of each model was significantly affected by physiological state.

Similarly, the LSMeans were positively related to beta-hydroxybutyrate [NHF ($P = 0.004$ and $P = 0.007$ respectively), NSR ($P = 0.054$ and $P = 0.10$ respectively) and hepatic venous – arterial concentration differences ($P = 0.051$ and $P = 0.006$ respectively)], and negatively related to glucose [arterial ($P = 0.008$ and $P = 0.001$ respectively) and portal ($P = 0.006$ and $P = 0.002$ respectively) concentrations], as well as to the intake of starch digested in the small intestine ($P = 0.011$). Moreover, results showed that an increase in arterial insulin concentrations induced a decrease in the individual slopes. Similarly, the NSR-glucose was

linearly related to NPA-C3 and NHF-C3 (Figure 5b) with the same interfering factors as for NHF-glucose.

The NHF-glucose was linearly related to the NPA-L-lactate (Figure 6a) with a significant effect of the physiological state on the intercept (Table 8). Individual slopes were significantly decreased when the intake of starch digested in the rumen increased ($P = 0.005$), when the diet concentration in digested NDF decreased ($P = 0.09$) or when portal – artery concentration difference in C3 increased (tendency at $P = 0.077$). Moreover, LSMeans were positively related to C3 [concentrations ($P < 0.054$), arterio-venous concentration differences ($P < 0.018$), NPA ($P = 0.080$) and net hepatic uptake ($P = 0.042$)], and were negatively related to insulin concentrations ($P = 0.018$). They were also related to diet concentrations in ME (positively, $P = 0.002$) and in digestible NDF (negatively, $P = 0.039$). Similarly, the NSR-glucose was linearly related to NPA-L-lactate (Figure 6b).

The NHF-glucose was positively related to the NPA-glucose (Figure 7a) in a curvilinear relation, dependent on the physiological state. The LSMeans were positively related to C3 [NPA ($P = 0.010$) and net hepatic uptake ($P = 0.008$)] and beta hydroxybutyrate [NHF ($P = 0.024$) and NSR ($P = 0.002$)].

Similarly, the NSR-glucose was also related to the NPA-glucose (Figure 7b) in a quadratic relation. The NPA ($P = 0.010$) and the net uptake of C3 ($P = 0.049$) were positively correlated to the LSMeans.

Finally, NHF-glucose was positively and linearly related to the NPA- α N (Fig 8a). The physiological state was interfering on the intercept. Individual slopes were decreased by increasing hepatic – artery concentration difference of C3 ($P = 0.007$). The LSMeans were negatively related to L-lactate concentrations [arterial ($P = 0.010$), portal ($P = 0.006$) and hepatic venous ($P = 0.017$)] and positively related to beta-hydroxybutyrate [arterial ($P = 0.005$), portal ($P = 0.009$) and hepatic ($P = 0.023$) concentrations as well as to NPA ($P = 0.007$), NHF ($P < 0.001$), and NSR ($P = 0.002$)]. Moreover, they were positively related to the NPA-C3 ($P = 0.013$) and negatively related to the NHF-C3. The NSR-glucose was similarly related to the NPA- α N (Figure 8b) but no relation was observed between NHF- α N and NHF-glucose.

Relationships between net hepatic and splanchnic fluxes of glucose and the sum of its precursors. The investigation of relationships between NHF and NSR-glucose and its precursors was limited by the scarcity of publications reporting results on all potential precursors (C3, glucogenic AA, lactate, as well as mobilised amino nitrogen and glycerol). Consequently, when lacking, the NPA and NHF of C3, L-lactate and glucogenic AA were

estimated as described previously. The principle of estimation was validated by preliminary comparisons between predicted and observed values when available. No biases were detected. Ultimately, estimations represented 41-43, 29-28 and 40-46% of the final data set respectively.

Because NHF data are calculated from small arterio-venous differences and are therefore associated with higher levels of uncertainty than NPA or NSR data, all relationships between NHF or NSR-glucose on the one hand and NPA or NHF- precursors on the other hand were investigated. All results obtained are reported Table 8. For sake of clarity, only the major results are presented.

Intra-study GLM analyses showed that NHF-glucose was strongly and linearly related to the NPA of the sum of glucogenic precursors ($\text{mmol C}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$; Table 8 and Figure 9). The slope was not different from 1 ($P = 0.49$). The intercept was different from 0 ($P < 0.001$) and significantly affected by physiological status. At equal NPA-precursors, the NHF-glucose was higher for dairy cattle and lower for growing animals, as confirmed by the effect of physiological state and intake (of ME, digestible and ruminal fermentative OM) on LSMeans. Moreover, LSMeans were positively correlated to NHF-BOH and net hepatic uptake of C3. Finally, the response of NHF-glucose to the NPA-precursors tended to be decreased by an increase of the arterial concentration of C3 ($P = 0.080$). It was thus possible to predict the response of NHR-glucose ($\text{mmol C}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$) from the NPA of the summed glucogenic precursors ($\text{mmol C}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$). The model was considered unbiased despite a slight numerical overestimation of predicted NHR-glucose. Indeed, the ratio of predicted /measured NHR-glucose $\times 100$ were not significantly different from 100% but averaged $111 \pm 29.4 \%$ ($105 \pm 34.8 \%$, $112 \pm 31.8\%$, $112 \pm 17.3\%$ and $128 \pm 14.9\%$ for lactation, non productive adults, growth and gestation respectively).

The use of NSR-glucose as the predictor or of NHF-precursors as the independent variable did not greatly nor systematically improve the relationships (Table 8). The ratio of predicted/measured NHR-glucose $\times 100$ was calculated for all models.

It averaged $130 \pm 42.3 \%$ for the NHF-glucose model from the NHF-precursors, $120 \pm 36.7 \%$ for the NSR-glucose model from the NPA-precursors and $117.2 \pm 50.4 \%$ for the NSR-glucose model from the NHF-precursors. Based on all available criteria, the best model was the prediction of NHF-glucose from NPA-precursors.

This model of NHR-glucose (similarly as the NSR-glucose model) from NPA-precursors was surprisingly linear. Graphically, some trend for curvilinearity was apparent but only 2 experimental groups were at the upper level of NPA-precursors. Thus, the initial data

set was widened to publications that included an intragastric propionate infusion ($n = 5$, $nt = 15$). A sigmoid relationship was established using an inter-study approach (Table 8 and Figure 8). To evaluate this model, a comparison of the reported versus predicted NHF or NSR-glucose including publication effect was carried out. The intercepts of the GLM analyses were significantly different from 0 (1.14 ± 0.44 , $P = 0.01$ and 0.84 ± 0.42 , $P = 0.05$, respectively), and the slopes indicated an under-estimation of predicted NHF or NSR-glucose (0.70 ± 0.11 and 0.74 ± 0.12 , respectively).

Based on the more precise linear relationship between NHR-glucose and NPA-precursors, although narrower range of NPA-precursors, we predicted the potential contributions of individual precursors to net hepatic glucose output (Table 8). The calculated potential contributions of C3, glucogenic AA, L-lactate, mobilised glycerol and alanine averaged $43.4 \pm 10.0\%$, $14.6 \pm 6.70\%$, $22.2 \pm 13.2\%$, $6.53 \pm 8.12\%$ and $0.50 \pm 0.63\%$, respectively. They were affected by physiological status. Dairy cows presented the highest potential contributions of C3 ($P = 0.08$), and the lowest of glucogenic AA ($P < 0.001$) and L-lactate ($P < 0.001$). Gestating animals showed the highest potential contributions of glucogenic AA and L-lactate ($P < 0.001$).

Relationships between net splanchnic fluxes of glucose and level of production by the animals. The NSR-glucose (rather than the NHF in order to account for positive NPA-glucose, when relevant) was related to the reported performances, either milk production (Figure 10a) or daily gains (Figure 10b) in within-study relationships (Table 9). Generalisation of such relationships across the different physiological stages was attempted using the estimated NEP (Figure 11a). A few treatments were associated to a $NEP < 0$. They had a significant influence on the model (HI leverage). Consequently, 2 models were established, with and without these treatments (Table 9).

In the general model, the NSR-glucose was strongly related ($P < 0.001$) to estimated NEP in a quadratic relation (Figure 11b). The physiological state was significant on the intercept ($P = 0.003$), suggesting that for the same NEP the NSR-glucose was highest in non productive adults (including fasting and undernutrition) and lowest in growing animals.

No interfering factors were observed on the residuals of the model whereas the NHF-beta hydroxybutyrate was positively related to the LSMeans ($P < 0.001$).

In the model excluding $NEP < 0$, the NSR-glucose was strongly and linearly related ($P < 0.001$) to estimated Nep (Figure 11c). The physiological state was also significant on the intercept ($P = 0.002$), for growing animals only. No interfering factors were observed on the residuals and the individual slopes. However, LSMeans was negatively related to the insulin

arterial concentration ($P = 0.05$), and positively to the NHF-beta hydroxybutyrate ($P = 0.002$) and NSR-beta hydroxybutyrate ($P = 0.05$).

Evaluation of the models by checking absence of systematic bias

The prediction model of NHF-C3 from NPA-C3 was evaluated by comparing the observed (Y) and the predicted NHF-C3 (X). The GLM analysis (RMSE = $0.027 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$; $R^2_{\text{adj}} = 0.99$) including publication effect showed that the slope was not significantly different from 1 (0.99 ± 0.03 ; $P = 0.79$) and the intercept not different from 0 (-0.013 ± 0.020 ; $P = 0.52$). In the same way, the evaluation of the NHF- α N model from NPA- α N by the comparison (RMSE = $0.094 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$; $R^2_{\text{adj}} = 0.80$) between observed and predicted NHF- α N indicates an intercept non different from 0 (0.0085 ± 0.045 ; $P = 0.85$) and a slope non different from 1 (1.14 ± 0.13 ; $P = 0.29$). The evaluation of NSR-glucose from potential precursors (RMSE = $0.50 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$; $R^2_{\text{adj}} = 0.90$) and NEP (RMSE = $0.070 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$; $R^2_{\text{adj}} = 0.96$) models by comparison of observed NSR-glucose indicated an intercept non different from 0 (0.12 ± 0.36 ; $P = 0.74$ and 0.0097 ± 0.11 ; $P = 0.93$, respectively) and slopes non different from 1 (0.96 ± 0.10 ; $P = 0.73$ and 1.00 ± 0.15 ; $P = 1$). Finally, the prediction model of NSR-lactate from EB was evaluated by comparing the observed (Y) and the predicted NSR-lactate (X). The GLM analysis (RMSE = $0.119 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$; $R^2_{\text{adj}} = 0.89$) including publication effect showed that the slope was not significantly different from 1 (1.15 ± 0.21 ; $P = 0.69$) and the intercept not different from 0 (0.025 ± 0.035 ; $P = 0.52$).

Considering these result, present models of NSR and NHF of nutrients were considered unbiased.

DISCUSSION

Range of validity of the models

The development of prediction models from diet characteristics requires a common reference system for all data and all models (Loncke et al., 2009b). The empirical models of net hepatic and splanchnic models of glucogenic nutrients that have been developed here were based on the same description of diets (according to INRA, 2007) as models of nutrient NPA (Loncke et al., 2009b) and NHF ketogenic nutrients (Loncke et al., 2009a). The NHF and NSR models apply to a similar range of intakes up to $41 \text{ g DMI} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$ and with concentrate proportions varying from 0 to 100 g/100 g DM. This reflects a large range of

rations. Nevertheless, the majority of the available data corresponded to animals fed at intakes lower than 35 g DMI•d⁻¹•kg BW⁻¹ and 70 g concentrate/100 g DM. These intakes do not necessarily relate to high-producing dairy females or feeding management strategies based on high-concentrate dry feeds. The sigmoid relationship obtained for NHR-glucose when NPA-C3 was above 40 mmol d⁻¹•kg BW⁻¹ also showed the limits of the linear models at the highest production or concentrate levels. It should be stressed that models developed in the current study do not account for any specific feed additive effects (buffers, essential oils, ionophores, etc.).

The available data published on NPA, NHF and NSR of nutrients in ruminants were balanced between cattle and sheep (it should be pointed out that there are no data from goats) but unfortunately not between the different physiological states.

Relationships between Net Splanchnic fluxes of glucose and the level of production

The NSR-glucose was related to the reported performances, either daily gains or milk production in within-study relationships, consistently with Leng (1970), Lomax and Baird (1983) and Reynolds (1995) who observed that in growing animals or dairy cows, glucose requirements are determined by growth rate or milk yield, which is itself set by ME intake. In pregnant animals, glucose requirement of the uterus and foetus can also be estimated on the basis of previous measurements of glucose uptake per unit mass and an estimate of utero-placental and foetal tissue mass (see Drackley et al., 2001). On these bases, we showed that it is possible to generalise such relationships across the different physiological stages and to predict the NSR-glucose from NEP with a good precision.

Two models were obtained according to the inclusion or not of animals with negative NEP, i.e. underfed animals. The general model presented a quadratic relation depending on physiological state, with a lower NSR-glucose from ME observed in periods of under nutrition probably consistent with a lower glucose requirement (Reynolds, 2006). In the model excluding NEP < 0 the NSR-glucose was linearly related to estimated NEP, consistently with the observed relation between glucose requirement and ME intake (Reynolds, 1995). The physiological status effect observed was probably due to the difference in glucose requirements between physiological statuses.

Insulin

As insulin regulates hepatic metabolism of glucose and its precursors, it will be discussed first. The limited numbers of data available apply to a range of validity of arterial concentrations from 6.3 to 72 $\mu\text{UI/L}$. Because of the scarcity of data, it was a deliberate choice not to establish quantitative prediction models. However, the within study relationships obtained were sufficiently reproducible to be used in the interpretation of the response equations on NHF-glucose and precursors. These within study relationships showed that insulin secretion, reflected by NPA-insulin, increased with the intake level and with the portal – arterial concentration difference of acetate, C3 and butyrate, suggesting a specific effect of nutrients. An abomasal infusion of C3 was indeed shown to increase insulin secretion by 49% in dairy cattle (Casse et al., 1994).

On average, $4.81 \pm 2.77 \mu\text{UI} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$ NPA-insulin was taken up by the liver. Thus, the higher the insulin secretion, the higher the net splanchnic release of insulin to peripheral tissues and the higher the arterial insulinemia, as already shown by Eisemann and Huntington (1994) in growing steers infused with insulin. The proportion of secreted insulin that was degraded by the liver increased with the NPA-VFA, the portal – arterial concentration difference and net hepatic uptake of total VFA, as demonstrated by Majdoub et al. (2003b) with intra-ruminal infusions of C3. This phenomenon is specific to the ruminants (Harmon et al., 1991). A positive NPA of glucose had no influence on the net hepatic uptake of insulin, explaining why peripheral insulinemia was more responsive to glucose than to VFA absorption.

These within study relationships confirm that physiological levels of VFA, especially C3, and glucose differentially regulate insulin secretion, hepatic clearance and peripheral insulinemia (Harmon, 1992) and that the available dataset includes situations where these regulations might be at stake.

Adjusted models of glucose precursors and Relationships between glucose and its individual precursors

Species or physiological status effects. Species or physiological status significantly affected most models of the present work. The origin of these effects needs to be clarified in order to evaluate the genericity of the derived models. Diet differences in the available dataset (less fibrous and starchier diets) probably impact the differences in C3 (higher concentration,

NPA and NHF) noted between cattle vs. sheep, and dairy cattle vs. other physiological statuses to a greater extent than a real species or physiological status effect. Differences in diets and more importantly in EB might also partly account for the differences in L-lactate (concentrations and NSF) between species and physiological statuses, as previously indicated by Benson et al. (2002). However the introduction of EB in models of NHF-L-lactate was unable to fully suppress the effect of physiological status, suggesting an effect of the latter per se. Physiological status had also been reported as modifying the potential contribution of L-lactate to neoglucogenesis (Reynolds, 1991). Finally, for α N, the physiological state effect on net hepatic uptake (dairy cattle < non productive and growing/finishing animals) might reflect the increasing tissue α N requirements with production level, as noted by Reynolds et al. (1991), Blouin et al. (2002) and Reynolds (2005). But a series of evidences indicate a strict species differences in α N utilisation between sheep and cattle (higher arterial concentrations, NPA and net hepatic uptake in sheep). No dietary bias is likely as sheep were fed lower protein (CP and PDI) diets. Alpha-N requirements might be better covered in sheep as indicated by the higher α N arterial concentrations and the negative correlation ($P = 0.023$) between α N arterial concentrations and EB. Nevertheless, a specific species effect can't be excluded. Indeed, higher AA concentrations (aspartate, asparagine, threonine, glycine, tyrosine, phenylalanine, valine, leucine, citrulline, arginine, lysine, and histidine) in sheep compared to beef steer fed the same diet, at the same level and at the same growing stage were interpreted by Prior et al. (1981) as due to a higher protein turnover rate in sheep. A higher recovery of ingested N in the portal vein had also been pointed out by Lapierre et al. (2007). Thus contrarily to prediction models of NPA-nutrient (Loncke et al., 2009c), species and physiological state, which alter level of production and rate of satisfaction of tissue requirements for nutrients, are important variables to predict NHF or NSR of glucose and precursors. This will be further developed for each specific model.

Propionate. The NHF-C3 is directly proportional to NPA-C3, suggesting a mass action law. The non different from 0 intercept is consistent with zero NHF-C3 in absence of ruminal fermentations. The slope suggests that about 91% of C3 appearing in the portal vein is released by the liver. Previous reviews of literature had clearly stated the high efficiency of the liver at extracting propionate in both cattle and sheep (Armentano, 1992) and that hepatocytes in vivo are not metabolically saturated at portal propionate concentrations below 1mM (Majdoub et al., 2003).

Surprisingly, this relationship was not affected by species (Berthelot et al., 2000). We tested whether the species differences in NPA-C3 might explain the absence of differences in NHF-C3. Indeed, when centred to the same NPA-C3, the net hepatic uptake of C3 was higher in cattle than sheep. This effect was however not sufficient to significantly alter the major driving force (NPA-C3). On the opposite, physiological state significantly affected the model, indicating that net hepatic C3 uptake was proportionally higher, at a given NPA-C3, in dairy cows. The difference is however rather small and the utilisation of C3 for glucose synthesis (Reynolds, 1995), L-lactate emission (Leng and Annison, 1973) or oxidation is not known. Conversely, it was lowest in growing animals, probably due to a negative interaction with C4 (Reynolds et al., 1992; Berthelot et al., 2002) as these animals had a high NHF-C4 (Loncke et al., 2009a). Also, the correlation between LSMeans and the supply of C4 to the liver was negative.

Both NHF and NPA-C3 were closely related to NHF-glucose. This expected major driving force was however quantitatively affected by several factors. In agreement with the above mentioned results, both models (intercepts) were significantly and similarly affected by physiological state, the highest conversion rate of C3 into glucose being noted for dairy cattle and the lowest for growing animals, as previously pointed out (Reynolds et al., 2003). Both models (LSMeans) were also affected by beta-hydroxybutyrate. This is consistent with the interaction between C3 and C4 (Reynolds et al., 1992; Berthelot et al., 2002), which is a precursor of beta hydroxybutyrate and suggests an influence of EB: that the conversion rate of C3 into glucose increases when EB decreases. The models also indicate higher conversion rates (LSMeans) at lower glucose arterial concentrations, probably reflecting a low satisfaction rate of glucose requirements (as indicated by the strong positive relationship ($P < 0.001$) between glucose arterial concentrations and EB). Finally, the average conversion rate was down regulated by increasing arterial insulin concentrations, as expected from the inhibitory effect of insulin on gluconeogenesis (Brockman, 1985; 1990).

L-Lactate. The proposed NHF models met the major challenge which was to predict both the net uptake and the net release of L-lactate. Two models were thus established, with predictors describing either diets or nutritional statuses. In the first case, predictors were NPA-L-lactate and NPA-C3, related to dietary intake and composition. In the second case, the predictor was EB, less precise but more robust, reflecting the nutritional status. A net hepatic release of L-lactate is predicted at high EB or NPA-C3.

These predictors are thus consistent with knowledge on L-lactate metabolism and with the substantial amounts of L-lactate which to a large extent represent dietary contributions (van der Walt et al., 1983). In this situation, propionate is also uptaken by the liver is converted into lactate, and released in this form. Contrary, when available energy decreases for tissues, lactate removal by the liver increases, in part as consequence of increased lactate flow from peripheral muscle and adipose to the liver (Benson et al., 2002, Majdoub et al 2003a). The use of lactate from body tissues (and thus production of glucose) represents Cori Cycling of glucose carbon between the liver and peripheral tissues, such as the muscle or adipose tissues (Reynolds, 2005).

The NHF-L-lactate was firstly predicted from its NPA. Nevertheless, analyses showed that for a same NPA-L-lactate, the net hepatic uptake of L-lactate decreases when the net hepatic uptake of C3 increases, consistently with the higher hepatic conversion rate of C3 into L-lactate when NPA-C3 increases (Demigné et al. 1991). This regulatory factor was marked enough to significantly improve the model when NPA-C3 was added as predictor. These models were dependent of physiological status, suggesting that the net hepatic uptake of L-lactate was higher in dairy cows than non productive adults, following by growing animals. As already discussed, the higher net hepatic uptake of L-lactate, noted for example in early lactation (Reynolds, 1995; Benson et al., 2002) likely reflects a higher glucose carbon cycling between the liver and non-PDV tissues at lowest EB. The use of EB as predictor (Reynolds, 2005) proved relevant, even if there was no gain in precision probably because of uncertainties of estimations. Association of both types of predictors in the same model led to no significant improvement, contrarily to what had been observed for the prediction of NHF- β -hydroxybutyrate from EB and MOFI (Loncke et al., 2009). Finally, the physiological status remained interferent on the intercept, suggesting that EB was not sufficient to account for differences between physiological statuses.

To conclude, models obtained are able to predict the net hepatic uptake or release of L-lactate. Adjusted models (Figure 3) suggest a net uptake of L-lactate by hepatic tissues for EB up to $5 \text{ kcal} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$ and for NPA-C3 up to $24 \text{ mmol} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$.

The NHF-glucose was then related to NPA-L-lactate. Secondary driving forces of the conversion rate of L-lactate into glucose were quantified. The higher the intake of rumen digested starch, the higher the availability (NPA, NHF) of C3 or the lower the dietary concentration in digested NDF, the lower the net hepatic conversion of NPA-L-lactate into NHF-glucose. High insulinemia also decreased this conversion rate (LSMeans). Brockman (1985; 1990) had shown that an increase of $30 \text{ } \mu\text{UI/ml}$ in insulin portal concentrations

induced a 33 % decrease in the net hepatic uptake of L-lactate, inducing then a 50% decrease in net glucose hepatic release. These concepts had previously been formulated (Reynolds et al., 1991-bibilo b). The present work offers an evaluation of their quantitative importance.

Alpha amino nitrogen. The NHF- α N could be predicted from its NPA, expressing the fact that the mass action law is the first driving force of the net hepatic uptake of AA (Lapierre et al., 2005; Reynolds, 2006). This allows reducing the AA excess and avoiding a hyper-aminoacidemia. Our results show however, that this mass action law can be modified by the dietary N concentration and by the portal – arterial concentration difference in α N (effect on LSMeans). The higher the dietary N concentration, the higher the net hepatic release of glucose or the lower the net hepatic uptake of C3 then the higher the net hepatic uptake of α N. Out these 3 factors, the dietary N concentration is quantitatively the most important. Kraft et al. (2009a) showed that a nitrogen deficient diet (0.87g digested CP/intake ME) significantly limited the net hepatic uptake of AA compared to a N balanced or an energy deficient diet (1.15 and 1.31 digested CP/intake ME respectively), as a sparing mechanism. The same experiment also showed the impacts of NHF or NDR-glucose and of NHF-C3 (Loncke et al., 2009b). Moreover, the increment in net hepatic uptake of α N increased with the portal – arterial concentration difference in α N, as previously pointed out by Kraft et al. (2009b).

The influence of physiological status on the proportion of NPA- α N taken up by the liver (intercept) has already been discussed (Blouin et al., 2002; Reynolds, 2006).

The NHF and NSR-glucose were then related to NPA- α N. The best relationship was obtained for NHF-glucose, suggesting that net glucose hepatic release is partly dependent on glucogenic AA metabolised in the liver, whereas NSR-glucose is affected by other nutrients, and in particular the NPA-glucose, as shown by the interfering factors (starch and glucose). This conversion rate of NPA- α N into NHF-glucose (LSMeans) was decreased by β -hydroxybutyrate (NPA, NHF and NSR), as previously noted for NPA-C3 and consistently with the antagonism between neoglucogenesis and ketogenesis.

Finally, C3 (NPA, NHF) was the most important factor, reducing the conversion rate of α N into C3 (LSMeans).

In conclusion, significant linear relationships were quantified between net hepatic glucose release and NPA or NHF of each individual major precursor. Even if, the mass action law stands for the first driving force, it is not the only one. A major outcome of this work is to

provide a quantitative evaluation of the secondary driving forces. The later include supply and use of other dietary end-products, the degree to which nutrient requirements are covered, as well as species and physiological state. The diet supporting the ruminal fermentations towards propionate seems to reduce the utilization of AA and lactate by the liver and increase their release towards peripheral tissues.

Net hepatic and splanchnic fluxes of Glucose

Influence of NPA-glucose. Another important outcome of this work was to show clearly that NHF-glucose is affected by NPA-glucose in a curvilinear relation. The minimum NHF glucose is predicted when NPA-glucose averages $-0.050 \text{ mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$. In situations of net glucose uptake by the PDV, the higher the uptake, the higher the net hepatic release of glucose, with little overall changes in the net splanchnic release of glucose. Conversely, in situations of positive NPA-glucose, NSR-glucose increases with NPA-glucose. In lactating dairy cows, glucose supply to the animal will indeed increase with glucose absorption (Reynolds, 2005).

This relationship varies with the physiological status and the NHF and NSR- β -hydroxybutyrate were negatively related to the LSMeans of this model, consistently with the antagonism between neoglucogenesis and ketogenesis.

Sum of gluconeogenic precursors. As expected from models on individual precursors, the NHF-glucose were closely related to the NPA and NHF of the sum of all precursors (C3, L-lactate, glucogenic AA as well as mobilised alanine and glycerol). It should be pointed out that some data used to establish those relationships (NHF or NPA-precursors) was estimated according to Loncke et al. (2009c) or the present work. This presents the big advantage to supply data on all glucose precursors (which is rarely the case), while at the same time increasing the risk of uncertainties in the predictions.

The significant 11 to 30% overestimation of the net hepatic glucose release by the prediction equations, when compared to the reported values, reflects this risk. Additional and complete dataset would definitely be required to validate the models and improve their robustness.

Recovery of carbon across the liver. A first criterion to evaluate the physiological significance of the precursor estimations and of the derived prediction models is to test the

recovery of carbons, from precursors into glucose, across the liver. Three situations were identified depending on the physiological status (Table 7).

First, the sum of the potential contributions of precursors was quite sufficient to support the glucose production (close to 90%) for the non productive adults and growing/finishing animals, even if the estimated contribution of C3 was underestimated in growing animals compare to observed contribution of C3. Potential contribution of glycerol can appear high for non productive adults. However, these values correspond to fasting animals, and it is known that contribution of glycerol can reach 40% during fasting (Bergman et al. (1968).

Second, the sum of potential contributions was in excess for gestating animals (111%). Likely, the potential contributions of lactate were overestimated, due to the scarcity of available data.

Finally, the sum of potential precursors (63%) was not sufficient to fully account for net hepatic glucose release in dairy cattle. Lomax and Baird (1983) had come to the same conclusion. Thirty seven percent of carbon precursor are lacking in the present calculations. Carbon provided by the involution of uterus is difficult to estimate. In the present dataset however, its contribution might not be negligible, as most cows were in early lactation and precursors vary probably between stages of lactation (Reynolds, 2005). Mobilisation of muscle protein during lactation may also provide additional glucose precursors. Consequently, any influence of physiological status on the different parameters of the model should be interpreted with caution.

Across all physiological statuses, predicted potential contributions averaged $43.4 \pm 10.0 \%$, $14.6 \pm 6.70\%$, $22.2 \pm 13.2\%$, $6.53 \pm 8.12\%$ and $0.50 \pm 0.63\%$, respectively for C3, α -N, L-lactate, estimated mobilised glycerol and alanine. These values are coherent with measured ones (Bergman, 1990; Krehbiel et al., 1992; Brockman, 1993; Reynolds et al., 1992a, b; Lozano et al., 2000).

Linear vs. sigmoid response equation of glucose net hepatic release. Our results showed that when NPA-precursor was lower than $5 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{BW}^{-1}$, NHF-glucose increased linearly with precursor availability. However, when NPA-precursor was higher, NHF-glucose no longer increased, a plateau being reached. In the present dataset, the highest levels of precursor supply were met by intra gastric infusion of individual nutrient (e.g. Majdoub et al., 2003). Whether it is the high level of precursor supply or the imbalanced nutrient supply (Kraft et al., public A-V) which is responsible for this plateau would remain to

be confirmed. For prediction purposes, the linear relationship is more precise and should be used. The rest of the discussion is focused on this linear model.

Influence of physiological status. This model was affected by the physiological status of the animal. The effect on the intercept suggests that, at equal NPA-precursors, the NHF-glucose was higher for dairy cattle and lower for growing animals. Whole body glucose turnover rates also appeared to be higher in dairy cattle (Wilson et al., 1983) than in other physiological statuses (Ortigue-Marty et al., 2003b) at similar MEI. Endogenous precursor supply, as estimated here, contributes little to this higher NHF-glucose. Additional endogenous precursors might also be involved during lactation as previously discussed. Also a higher hepatic conversion rate of precursor-C into glucose-C might exist. This may be due to the high level intake. This was confirmed here by the positive correlation with LSMeans and intake variables as well as to the slope NHF-BOH and hepatic uptake of C3 suggesting high glucose metabolism and mobilization of body reserves as described in previous study (Loncke et al., 2009 BOH).

Influence of C3 supply. Propionate supply and use also influenced the relationship (LSMeans, slope). The higher the NPA-C3 and net hepatic uptake of C3, the higher the absolute conversion rate of precursor-C into glucose. This was confirmed by an additional analysis (Fig 8), which showed that the slope of the relationship between NHF-glucose and NPA-precursors was significantly higher when NPA-C3 was greater than $1.07 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$ and lower when NPA-C3 was inferior to $0.46 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$. It is coherent with the weighted sum of conversion rates of individual precursors into glucose. In addition, high levels of C3 (reflected by high arterial concentrations of C3) tended to reduce the increment of NHF-glucose from NPA-precursors. This suggests that when sufficient C3 is available, the net hepatic uptake and thus the potential contribution of the other precursors decrease, inducing a reduction of the individual slopes. In other words, the conversion rate of precursor-C into glucose increases when the availability of C3 increases.

Prediction of net splanchnic glucose release. Considering, on the one hand, the prediction model of NHR-glucose from NPA-precursors when NPA-glucose was negative or null and, on the second hand, the influence of positive NPA-glucose on NHR-glucose, the best and most stable model was obtained to predict NSR-glucose from the NPA-(hepatic

precursors + glucose). No interfering factors were observed, apart from the physiological state.

Accuracy of prediction. Percentage of recovered glucose averaged 111 % and 130% with NHF-glucose from NPA-precursors and NHF-precursors, respectively, suggesting that the entire glucose is recovered in most cases. This result is encouraging because in most in vivo studies, in which all nutrient fluxes were measured, not all carbons were recovered between the supply and the release. For example, in dairy cattle the percentage of recovered glucose varied between 74.7 to 88.9 % (Reynolds et al., 2003).

CONCLUSION AND PERSPECTIVES

Models obtained in the present work allow to predict the net hepatic and splanchnic release of glucose and its precursors C3, glucogenic AA and L-lactate. To our knowledge it is the first time that models propose to quantitative prediction for different physiological conditions, including lactation, growth and to a lower extent finishing animals. Besides quantifying the major driving forces, secondary variation factors were also quantified. This work pointed out the importance of the physiological, hormonal and / or nutritional status as well as species to predict the splanchnic metabolism in response to dietary changes.

LITERATURE CITED

- Atkinson, R.L., C.D. Toone, T.J. Robinson, D.L. Harmon, and P.A. Ludden. 2007. Effects of supplemental ruminally degradable protein versus increasing amounts of supplemental ruminally undegradable protein on nitrogen retention, apparent digestibility, and nutrient flux across visceral tissues in lambs fed low-quality forage. *J. Anim. Sci.* 85: 3331-3339.
- Baird, G.D., M.A. Lomax, H.W. Symonds, and S.R. Shaw. 1980. Net hepatic and splanchnic metabolism of lactate, pyruvate and propionate in dairy cows in vivo in relation to lactation and nutrient supply. *Biochem. J.* 186:47-57.
- Baldwin RL, Thornley JHM and Beever DE 1987b. Metabolism of the lactating cow. 2. Digestive elements of a mechanistic model. *J. Dairy Res.* 54, 107-131.
- Benson, J. A., C. K. Reynolds, P. C. Aikman, B. Lupoli, and D. E. Beever. 2002. Effects of abomasal long chain fatty acid infusion on splanchnic nutrient metabolism in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85 :1804-1814

- Bergman, E. N., M. L. Katz, and C. F. Kaufman. 1970. Quantitative aspects of hepatic and portal glucose metabolism and turn-over in sheep. *Am. J. Physiol.* 219:785-793.
- Blouin, J. P., J. F. Bernier, C. K. Reynolds, G. E. Lobley, P. Dubreuil, and H. Lapierre H. 2002. Effect of supply of metabolizable protein on splanchnic fluxes of nutrients and hormones in lactating dairy cows. *J. Dairy. Sci.* 85:2618-2630.
- Bohnert, D.W., B.T. Larson, S. Lewis, C.J. Richards, K.C. Swanson, D.L. Harmon, and G.E. Mitchell Jr. 1999. Net nutrient flux in visceral tissues of lambs fed diets differing in supplemental nitrogen source. *J. Anim. Sci.* 77:2545-2553.
- Brockman, R.P. 1990. Effect of insulin on the utilisation of propionate in sheep. *Br. J. Nutr.* 64:95-101.
- Brockman, R.P., and B. Laarveld. 1985. Effect of insulin on the net hepatic metabolism of acetate β -hydroxybutyrate in sheep (*Ovis aries*). *Comp. Biochem. Physiol.* 81A:255-257.
- Burrin, D.G., C.L. Ferrell, J.H. Eisemann, and R.A. Britton. 1991. Level of nutrition and splanchnic metabolite flux in young lambs. *J. Anim. Sci.* 69:1082-1091.
- Casse, E. A., H. Rulquin, and G. B. Huntington. 1994. Effect of mesenteric vein infusion of propionate on splanchnic metabolism in primiparous holstein cows. *J. Dairy Sci.* 77:3296-3303.
- Danfaer, A. 1990. A dynamic model of nutrient digestion and metabolism in lactating dairy cows. PhD. Diss. National Institute of Animal Science, DK.
- Danfaer, A. 1994. Nutrient metabolism and utilization in the liver. *Livest. Prod. Sci.* 39:115-127.
- Demigné, C., C. Yacoub, C. Morand, and C. Rémésy. 1991. Interaction between propionate and amino acid metabolism in isolated sheep hepatocytes. *The British journal of nutrition* 65:301-317.
- De Visser, H.A. Klop, J. Van der Meulen and Van A.M Vuuren. 1998. Influence of maturity of grass silage and flaked corn starch on the production and metabolism of volatile fatty acids in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81:1028-1035.
- DeVisser, H.A., H. Valk, A. Klop, J. VanderMeulen, J.G.M. Bakker, and G.B. Huntington. 1997. Nutrient fluxes in splanchnic tissue of dairy cows: Influence of grass quality. *J. Dairy Sci.* 80:1666-1673.
- Drackley, J. K., T. R. Overton, and G. N. Douglas. 2001. Adaptations of glucose and long-chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. *J. Dairy Sci.* 84(E. Suppl.):E100-E112.

- Eisemann, J. H. and G.B. Huntington. 1994. Metabolite flux across portal-drained carbon source for gluconeogenesis) use by the liver. viscera, liver, and hindquarters of hyperinsulinemic, euglycemic beef steers. J. Anim. Sci. 72: 2919–2929.
- Eisemann, J.H., G.B. Huntington, and D.R. Catherman. 1996. Patterns of nutrient interchange and oxygen use among portal-drained viscera, liver and hindquarters of beef steers from 235 to 525 kg body weight. J. Anim. Sci. 74:1812-1831.
- Eisemann, J.H., and J.A. Nienaber. 1990. Tissue and whole-body oxygen uptake in fed and fasted steers. Br. J. Nutr. 64:399-411.
- Ferrell, C.L., H.C. Freetly, A.L. Goetsch, and K.K. Kreikemeier. 2001. The effect of dietary nitrogen and protein on feed intake, nutrient digestibility, and nitrogen flux across the portal-drained viscera and liver of sheep consuming high-concentrate diets ad libitum. J. Anim. Sci. 79:1322-1328.
- Ferrell, C. L., K.K. Kreikemeier, and H.C. Freetly. 1999. The effect of supplemental energy, nitrogen, and protein on feed intake, digestibility, and nitrogen flux across the gut and liver in sheep fed low-quality forage. J. Anim. Sci. 77:3353-3364.
- Freetly, H.C., and L.V. Cundiff. 1998. Reproductive performance, calf growth, and milk production of first-calf heifers sired by seven breeds and raised on different levels of nutrition. J. Anim. Sci. 76:1513-1522.
- Freetly, H.C., and C.L. Ferrell. 1998. Net flux of glucose, lactate, volatile fatty acids, and nitrogen metabolites across the portal drained viscera and liver of pregnant ewes. J. Anim. Sci. 76:3133–3145.
- Freetly, H.C., and Klindt J. 1996. Changes in gut and liver glucose, lactate, insulin and oxygen flux in mature ewes during mesenteric or abdominal vena cava glucose infusion. J. Nutr. 126:924-932.
- Freetly, H.C., J.R. Knapp, C.C. Calvert, and R.L. Baldwin. 1993. Development of a mechanistic model of liver-metabolism in the lactating cow. Agricultural Systems 41:157-195.
- Fukuma, T., K. Tangiguchi, and T.Obitsu. 2005. Evaluation of fishmeal supplement with net nitrogen flux by the portal-drained viscera and the liver in mature sheep. Asian-Aust J. Anim. Sci. 18:1251-1291.
- Goetsch, A.L., and C.L. Ferrell. 1995. Effect of dietary maize level on net flux across splanchnic tissues of oxygen and nutrients in wethers consuming *ad-libitum* different forages. Anim. Sci. 61:43-55.

- Goetsch, A.L., C.L. Ferrell, and H.C. Freetly. 1994. Effect of different supplements on splanchnic oxygen consumption and net fluxes of nutrients in sheep consuming brome grass (*Bromus inermis*) hay ad libitum. Br. J. Nutr. 72:701-712.
- Goetsch, A. L., A. R. Patil, Z. S. Wang, K. K. Park, D. L. Galloway, J. E. Rossi, and B. Kouakou. 1997. Net flux of nutrients across splanchnic tissues in wethers consuming grass hay with or without corn and alfalfa. Anim. Feed Sci. Technol. 66:271-282.
- Goetsch, A.L., A.R. Patil, D.L. Galloway, B. Kouakou, Z.S. Wang, K.K. Park, and J.E. Rossi. 1997a. Net flux of nutrients across splanchnic tissues in wethers consuming grasses of different sources and physical forms ad libitum. 77:769-78.
- Goetsch, A.L., A.R. Patil, Z.S. Wang, K.K. Park, D.L. Galloway, J.E. Rossi, and B. Kouakou. 1997b. Net flux of nutrients across splanchnic tissues in wethers consuming bermudagrass or ryegrass-wheat hay supplemented with rumen undegradable protein. Small Ruminant Res. 25:119:128.
- Goetsch, A.L., A.R. Patil, D.L. Galloway, Z.S. Wang, B. Kouakou, K.K. Park, and J.E. Rossi. 1997c. Oxygen consumption by splanchnic tissues in wethers consuming ad libitum different proportions of bermudagrass and ryegrass-wheat. Arch. Anim. Nutr. 50:1-11.
- Goetsch, A.L., A.R. Patil, Z.S. Wang, K.K. Park, D.L. Galloway, J.E. Rossi, and B. Kouakou. 1997d. Net flux of nutrients across splanchnic tissues in wethers consuming grass hay with or without corn and alfalfa. Anim. Feed Sci. Technol. 66:271-282
- Guo, J., R.R. Peters, and R. A. Kohn. 2008. Modeling nutrient fluxes and plasma ketone bodies in periparturient cows. J. Dairy Sci. 91:4282-4292.
- Harmon, D.L., K.L. Gross, K.K. Kreikemeier, K.P. Coffey, T.B. Avery, and J. Klindt. 1991. Effects of feeding endophyte-infected fescue hay on portal and hepatic nutrient flux in steers. J. Anim. Sci. 69:1223-1231.
- Harmon, D.L. (1992). Impact of nutrition on pancreatic exocrine and endocrine secretion in ruminants : A review. J. Anim. Sci. 70 : 1290-1301.
- Heitmann, R.N., D.J. Dawes, and S.C. Sensenig. 1987. Hepatic ketogenesis on peripheral ketone body utilization in the ruminant. J. Nutr. 117:1174-1180.
- Heitmann, R.N., S.C. Sensenig, C.K. Reynolds, J.M. Fernandez, and D. J. Dawes. 1986. Changes in energy metabolite and regulatory hormone concentrations and net fluxes across splanchnic and peripheral tissues in fed and progressively fasted ewes. J. Nutr. 116:2516-2524.

- Hocquette, J.F., I. Ortigues-Marty, D.W. Pethick, P. Herpin, and X. Fernandez. 1998. Nutritional and hormonal regulation of energy metabolism in skeletal muscles of meat producing animals. *Livest. Prod. Sci.* 56:115-143.
- Huntington, G.B., E.. Zetina, J.M. Whitt, and W. Potts. 1996. Effects of dietary concentrate level on nutrient absorption, liver metabolism, and urea kinetics of beef steers fed isonitrogenous and isoenergetic diets. *J. Anim. Sci.* 74:908-916.
- Hurtaud, C., H. Rulquin, and R. Verite. 1998. Effects of graded duodenal glucose infusions on yield and composition of milk from dairy cows. 1. Diets based on corn silage. *J. Dairy Sci.* 81:3239-3247.
- INRA, 1988. Alimentation des bovins, ovins et caprins. R. Jarrige, ed. INRA, Paris, France.
- INRA. 2007. Alimentation des bovins, ovins et caprins - besoins des animaux - valeurs des aliments - tables inra 2007, Versailles, France.
- Katz, M.L., and E.N. Bergman. 1969. Hepatic and portal metabolism of glucose, free fatty acids, and ketone bodies in the sheep. *Am. J. Physiol.* 216:953-960.
- Kempton, T.J. and R.A. Leng. 1983. Glucose metabolism in growing lambs. *Trop. Anim. Prod.* 8:244-253.
- Kraft, G., D. Gruffat, D. ardevet, D. Rémond, I. Ortigues-Marty, and I. Savary-Auzeloux. 2009a. Nitrogen and energy imbalanced diets differentially affected hepatic protein synthesis and gluconeogenesis in growing lambs. *J. Anim. Sci.* Accepted.
- Kraft, G., I. Ortigues-Marty, D. Durand, D. Rémond, T. Jarde, B. Bequette, and I. Savary-Auzeloux. 2009b. Role of the splanchnic tissues in the utilization of the nitrogenous nutrients in lambs fed a diet imbalanced in nitrogen or energy. *Animal*. Accepted.
- Krehbiel, C.R., C.L. Ferrell, and H.C. Freetly. 1998. Effects of frequency of supplementation on dry matter intake and net portal and hepatic flux of nutrients in mature ewes that consume low-quality forage. *J. Anim. Sci.* 76:2464-2473.
- Krehbiel, C.R., D.L. Harmon, and J.E. Schnieder. 1992. Effect of increasing ruminal butyrate on portal and hepatic nutrient flux in steers. *J. Anim. Sci.* 70:904-914.
- Kristensen, N.B., B.A. Rojen, B.M.L. Raun, L. Puggaard and M. Larsen. 2009. Hepatic acetylation of the blood flow marker p-aminohippuric acid affect measurement of hepatic blood flow in cattle. Pages 558-559 in *Ruminant physiologie: digestion, metabolism, and effects of nutrition on reproduction and welfare*, Y. Chilliard, F. Glasser, F. Faulconnier, F. Bocquier, I. Veissier and M. Doreau, ed. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, Netherlands.

- Kristensen, N.B., A. Storm, B.M.L. Raun, B.A. Rojen, and D.L. Harmon. 2007. Metabolism of silage alcohols in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90:1364-1377.
- Lapierre, H., R. Berthiaume, G. Raggio, M.C. Thivierge, L. Doepel, D. Pacheaco, P. Dubreuil and G.E. Lobley. 2005. The route of absorbed nitrogen into milk protein. *Anim. Sci.* 80:11-22.
- Lapierre, H., C.K. Reynolds, T.H. Elsasser, P. Gaudreau, P. Brazeau, and H.F. Tyrrell. 1992. Effects of growth hormone-releasing factor and feed-intake on energy-metabolism in growing beef steers - net hormone metabolism by portal-drained viscera and liver. *J. Anim. Sci.* 70:742-751.
- Lapierre, H., J. Vernet, R. Martinaud, D. Sauvant, P. Nozière and I. Ortigues-Marty. 2007. Portal absorption of N : partition between amino acids and ammonia in relation with nitrogen intake in ruminants. In: E. A. A. P. Publication (ed.) 2nd International Symposium on Energy and Protein Metabolism and Nutrition No. 124. p 579-580. Wageningen Academic Publishers, vichy, france.
- Leng, R. A. 1970. Glucose synthesis in ruminants. *Adv. Vet. Sci.* 14:209-260.
- Lindsay, D. B. 1978. Gluconeogenesis in ruminants. *Biochem. Soc. Trans.* 6:1152-1156.
- Linington, M.J., J.H.F. Meyer, and J.G. van der Walt. 1998. Ruminal vfa production rates, whole body metabolite kinetics and blood hormone concentrations in sheep fed high- and low-fibre diets. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 28:82-98.
- Lomax, M. A., and G. D. Baird. 1983. Blood flow and nutrient exchange across the liver and gut of the dairy cow. Effects of lactation and fasting. *The British journal of nutrition* 49:481-496.
- Loncke, C., P. Nozière, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant, and I. Ortigues-Marty. 2009a. Empirical prediction of splanchnic release of ketogenic nutrients, acetate, butyrate and β -hydroxybutyrate in ruminants: a meta analysis, *J. Anim. Sci.*, submitted.
- Loncke, C., P. Nozière, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant, and I. Ortigues-Marty. 2009b. Adaptation of hepatic glucose uptake and metabolism in growing lambs fed energy and nitrogen imbalanced diets. Pages 586-587 in *Ruminant physiology: digestion, metabolism, and effects of nutrition on reproduction and welfare*, Y. Chilliard, F. Glasser, F. Faulconnier, F. Bocquier, I. Veissier and M. Doreau, ed. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, Netherlands.
- Loncke, C., I. Ortigues-Marty, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant, and P. Nozière. 2009c. Empirical prediction of net portal appearance of volatile fatty acids, glucose, and their

- secondary metabolites (β -hydroxybutyrate, lactate) from dietary characteristics in ruminants: A meta-analysis approach. *J. Anim. Sci.* 87:253-268.
- Loncke, C., I. Ortigues-Marty, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant, and P. Nozière. 2009d. From metabolisable energy to energy of absorbed nutrients: quantitative comparison of models, Page 39 in *Proc. Modelling nutrients utilisation and metabolism in farm animals*, Paris, France.
- Lozano, O., C.B. Theurer, A. Alio, J.T. Huber, A. Delgado-Elorduy, P. Cuneo, D. DeYoung, M. Sadik, and R.S. Swingle. 2000. Net absorption and hepatic metabolism of glucose, L-lactate, and volatile fatty acids by steers fed diets containing sorghum grain processed as dry-rolled or steam-flaked at different densities. *J. Anim. Sci.* 78:1364-1371.
- Majdoub, L., M. Vermorel, and I. Ortigues-Marty. 2003a. Ryegrass-based diet and barley supplementation: Partition of energy-yielding nutrients among splanchnic tissues and hind limbs in finishing lambs. *J. Anim. Sci.* 81:1068-1079.
- Majdoub, L., M. Vermorel, and I. Ortigues-Marty. 2003b. Intraruminal propionate supplementation modifies hindlimb energy metabolism without changing the splanchnic release of glucose in growing lambs. *B. J. Nutr.* 89:39-50.
- Maltby, S.A., M.A. Lomax, D.E. Beever, and C.J. Pippard. 1992. The effect of increased ammonia and amino acid supply on post prandial portal-drained viscera and hepatic metabolism in growing steers fed maize silage. Pages 20-22 in *Proc. 12th Symposium on Energy Metabolism of Farm Animals*, Zurich, Switzerland.
- Martineau, R., I. Ortigues-Marty, J. Vernet, and H. Lapierre. 2008. Measurements of net portal flux of *nitrogen* (N) compounds in *ruminants*. in *Proc. Annual meeting ASAS, CSAS, ASDS, Indianapolis*
- Martineau, R., I. Ortigues-Marty, J. Vernet, and H. Lapierre. 2009. Technical note: Correction of net portal absorption of nitrogen compounds for differences in methods: First step of a meta-analysis. *J. Anim Sci.* 87:3300-3303.
- Monov, G., and N. Ibrishimov. 1980. Amino acid composition of lamb. *Vet Med Nauki.* 17:36-40.
- Nozière, P., D. Rémond, A. Ferlay, and M. Doreau. 1998. Differences between blood and plasma concentrations of acetate, beta-hydroxybutyrate, glucose, ammonia and urea: Implications for measurement of portal net fluxes in ewes. *Reprod. Nutr. Dev.* 38:509-518.

- Ortigue-Marty, I., D. Dardevet, and I. Savary-Auzeloux. 2003a. Role of the liver in the regulation of energy and protein status. Pages 83-98 in Proc. Progress in research on energy and protein metabolism, Rostock-Warnemünde, Allemagne.
- Ortigue-Marty, I., J. Vernet, and L. Majdoub. 2003b. Whole body glucose turnover in growing and non-productive adult ruminants: meta-analysis and review. *Reprod. Nutr. Dev.* 43:371-383.
- Ortigue, I., A.L. Visseiche, and D. Durand. 1994. Adaptation to undernutrition in ewes: Net nutrient fluxes across the portal drained viscera, the liver and the hindquarters. Page 89 in Proc. 13th Symposium on Energy Metabolism of Farm Animals, Granada, Spain.
- Park, K.K., A.L. Goetsch, Z.B. Johnson, and J. E. Rossi. 1997. Temporal net flux pattern of nutrients across splanchnic tissues in wethers consuming different forages. *Small Ruminant Res.* 25:107-118.
- Patil, A.R., A.L. Goetsch, K.K. Park, B. Kouakou, D L. Galloway, and Z. B. Johnson. 1995a. Influence of grass source on net flux of nutrients across splanchnic tissues in sheep with restricted intake. *Arch. Anim. Nutr.* 48:257-269.
- Patil, A.R., A.L. Goetsch, K.K. Park, B. Kouakou, D.L. Galloway, and Z.B. Johnson. 1996. Influence of grass source and legume level on net flux of nutrients across splanchnic tissues in sheep *Small Ruminant Res.* 22:111-122.
- Patil, A.R., A.L. Goetsch, K.K. Park, B. Kouakou, D.L. Galloway, C.P. West, and Z.B. Johnson. 1995b. Net flux of nutrients across splanchnic tissues in sheep fed tropical vs temperate grass hay of moderate or low qualities. *Livest. Prod. Sci.* 43:49-61.
- Pethick, D. W., D. B. Lindsay, P. J. Barker, and A. J. Northrop. 1981. Acetate supply and utilization by the tissues of sheep in vivo. *Br. J. Nutr.* 46:97-110.
- Prior, R. S., S. B. Smith and J. J. Jacobson. 1981. Metabolic pathways involved in lipogenesis from lactate and acetate in bovine adipose tissue: Effects of metabolic inhibitors. *Arch. Biochem. Biophys.* 211:202.
- Reynolds, C.K. 1995. Quantitative aspects of liver metabolism in ruminants pages 351-371. in Proc. 8th Int. Symp. Ruminant Physiol. , Stuttgart, Germany.
- Reynolds, C.K. 2005. Glucose balance in cattle. Pages 143-154 in Proc. 17th Annual Meeting of the 5 Florida Ruminant Nutrition Conference, Gainesville, Florida.
- Reynolds, C.K. 2006. Splanchnic amino acid metabolism in ruminants. Pages. 225-248 In: Ruminant physiology : Digestion, metabolism and impact on gene expression, immunology and stress. [Eds K Sejrsen, T Hvelplund & MO Nielsen] Wageningen Academic Publisher, The Netherlands.

- Reynolds, C.K., P.C. Aikman, B. Lupoli, D.J. Humphries, and D.E. Beever. 2003. Splanchnic metabolism of dairy cows during the transition from late gestation through early lactation. *J. Dairy Sci.* 86:1201-1217.
- Reynolds, P.J., and G.B. Huntington. 1988. Net portal absorption of volatile fatty acids and L(+)-lactate by lactating holstein cows. *J. Dairy Sci.* 71:124-133.
- Reynolds, C.K., G.B. Huntington, H.F. Tyrrell, and P.J. Reynolds. 1988a. Net portal-drained visceral and hepatic metabolism of glucose, L-lactate and nitrogenous compounds in lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 71:1803-1812.
- Reynolds, C.K., G.B. Huntington, H.F. Tyrrell, and P.J. Reynolds. 1988b. Net metabolism of volatile fatty acids, D-beta-hydroxybutyrate, nonesterified fatty acids, and blood gasses by portal-drained viscera and liver of lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 71:2395-2405.
- Reynolds, C. K., S. B. Cammell, D. J. Humphries, D. E. Beever, J. D. Sutton, and J. R. Newbold. 2001. Effects of post-rumen starch infusion on milk production and energy metabolism in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84:2250-2259.
- Reynolds, C.K., H.F. Tyrrell, and L.E. Armentano. 1992. Effects of mesenteric vein n-butyrate infusion on liver metabolism by beef steers. *J. Anim. Sci.* 70:2250–2261.
- Reynolds, C.K., H.F. Tyrrell, and P.J. Reynolds. 1991. Effects of diet forage-to-concentrate ratio and intake on energy metabolism in growing beef heifers: Net nutrient metabolism by visceral tissues. *J. Nutr.* 121:1004-1015.
- Rigout, S., C. Hurtaud, S. Lemosquet, A. Bach, and H. Rulquin. 2003. Lactational effect of propionic acid and duodenal glucose in cows. *J. Dairy Sci.* 86:243-253.
- Røjen, B.A., B.M.L. Raun, P. Lund, and N.B. Kristensen. 2004. Effect of supplement strategy on splanchnic net fluxes of ammonia and urea in dairy cows fed fresh grass. *J. Anim. Feed Sci.* 13:347-350.
- Sauvant, D., P. Schmidely, and J.J. Daudin. 2005. Meta-analysis of experimental data: Application in animal nutrition. *INRA Prod. Anim.* 18:63-73.
- Sauvant, D., P. Schmidely, J.J. Daudin, and N.R. St-Pierre. 2008. Meta-analyses of experimental data in animal nutrition *Animal* 2:1203-1214.
- Theurer, C.B., G.B. Huntington, J.T. Huber, R.S. Swingle, and J.A. Moore. 2002. Net absorption and utilization of nitrogenous compounds across ruminal, intestinal, and hepatic tissues of growing beef steers fed dry-rolled or steam-flaked sorghum grain. *J. Anim. Sci.* 80:525-532.

- van der Walt, J. G., G. D. Baird, and E. N. Bergman. 1983. Tissue glucose and lactate metabolism and interconversions in pregnant and lactating sheep. *The British journal of nutrition* 50:267-280.
- Vernet, J., H. Lapiere, P. Nozière, S. Léger, D. Sauvant, and I. Ortigues-Marty. 2005. Prediction of blood nutrient supply to issues of economical interest in ruminants: A first step with the prediction of portal blood flow. Pages 163-173. in *Proc. 1st Open International Conference on Modelling and Simulation*, Clermont Ferrand, France.
- Vernet, J., and I. Ortigues-Marty. 2006. Conception and development of a bibliographic database of blood nutrient fluxes across organs and tissues in ruminants: Data gathering and management prior to meta-analysis. *Reprod. Nutr. Dev.* 46:527-546.
- Waghorn, G.C. 1982. Modelling analyses of bovine mammary and liver metabolism. Ph.D. Diss. University of California, Davis.
- Wieghart, M., R. Slepatis, J.M. Elliot, and D.F. Smith. 1986. Glucose absorption and hepatic gluconeogenesis in dairy cows fed diets varying in forage content. *J. Nutr.* 116:839-850
- Young, J.W., D.R. Trott, P.J. Berger, S.P. Schmidt, and J.A. Smith. 1974. Gluconeogenesis in ruminants: glucose kinetics parameters in calves under standardised conditions. *J. Nutr.* 104:1049-1055.

Table 1. Description of animals and diets used for the meta-analyses¹ of net hepatic and splanchnic fluxes of volatile fatty acids, β -hydroxybutyrate, glucose and lactate according to species

	Cattle					Sheep					Species effect
	n	mean	SD	Min	Max	n	mean	SD	Min	Max	P-value
Dietary composition, ² g / kg DM											
Crude fiber	47	1168	71.7	74.6	371	70	275.7	74.0	88.1	404	< 0.001
NDF	47	353	127	170	710	70	528	121	196	711	< 0.001
ADF	47	185	77.4	89.0	403	70	299	75.1	93.8	393	< 0.001
Starch	47	57.4	36.3	0	109	70	19.9	26.9	0	95.9	< 0.001
CP	47	149	28.9	85.0	214	70	129	30.5	52.0	181	< 0.001
Digestible OM	47	708	70.4	478	793	70	605	69.34	458	768	< 0.001
Digestible NDF	47	215	85.3	100	403	70	304	90.6	124	474	< 0.001
Digestible CP	47	102	27			72	31				< 0.001
Rumen fermentable OM	47	504	41.5	435	631	70	503	43.0	413	586	0.38
Rumen digestible NDF	47	193	76.7	90.5	363	70	274	81.5	111	427	< 0.001
Rumen fermentable CP	47	88.5	25.9	45.9	167	70	77.7	21.9	33.0	128	< 0.001
PDIE	47	99.1	14.1	64.6	126	70	87.4	12.7	58.6	120	< 0.001
PDIN	47	102	21.2	54.3	140	70	85.3	20.9	32.0	120	< 0.001
ME, MJ/kg DM	47	11.1	1.23	7.03	12.5	70	9.24	1.18	6.75	11.9	< 0.001
Proportion of concentrate, g/100 g DM	47	54.7	31.6	0	100	70	26.4	34.2	0	100	< 0.001
Intake, g.d ⁻¹ .kg BW ⁻¹											
DM	47	21.4	5.69	10.6	36.9	70	21.1	8.28	0	41.5	0.47
Digestible OM	47	15.2	4.50	7.94	28.6	70	12.8	5.15	0	23.0	< 0.001
Rumen fermentable OM	47	10.8	3.12	5.20	17.4	70	10.7	4.29	0	20.8	0.60
Rumen digestible NDF	47	4.06	1.58	1.28	7.52	70	5.86	3.07	0	14.3	0.094
Starch	47	6.02	3.61	0	16.1	70	2.43	3.24	0	12.4	0.002
Energy balance, kJ.d ⁻¹ .kg BW ⁻¹	47	29.9	43.0	-70.9	88.9	70	11.2	61.0	-173	109.4	< 0.001

¹Publications used: Katz and Bergman, 1969; Bergman et al., 1970 ; Baird et al., 1980; Heitmann et al., 1986; Wieghart et al., 1986; Brockman, 1987 ; Reynolds and Huntington, 1988a,b; Reynolds et al., 1988a,b; Eisemann and Nienaber, 1990; Burrin et al., 1991; Harmon et al., 1991 ; Reynolds and Tyrrell, 1991; Reynolds et al., 1991; Lapierre et al., 1992; Maltby et al., 1992; Goetsch et al., 1994; Ortigues et al., 1994; Goetsch and Ferrell, 1995; Patil et al., 1995a,b; Eisemann et al., 1996; Freetly and Klindt, 1996 ; Huntington et al., 1996; Patil et al., 1996 ; DeVisser et al., 1997; Goetsch et al., 1997a,b,c,d; Park et al., 1997; De Visser et al., 1998 ; Freetly and Cundiff, 1998; Krehbiel et al., 1998; Linington et al., 1998; Bohnert et al., 1999; Ferrel et al., 1999; Lozano et al., 2000; Ferrell et al., 2001; Theurer et al., 2002; Majdoub et al., 2003; Branco et al., 2004; Rojen et al., 2004; Fukuma et al., 2005 ; Atkinson et al., 2007 ; Kristensen et al., 2007

²Dietary composition and intake calculated by additivity according to INRA Feed Tables (INRA, 2007); PDIE (PDIN): protein digestible in the intestine when energy (degraded N) is a limiting factor

Table 2. Description of animals and diets used for the meta-analyses¹ of net hepatic and splanchnic fluxes of volatile fatty acids, β -hydroxybutyrate, glucose and lactate according to physiological stage

	Non productive adults ²					Growing animals					Gestating animals					Lactation ³					Physiological stage effect
	n	mean	SD	Min	Max	n	mean	SD	Min	Max	n	mean	SD	Min	Max	n	mean	SD	Min	Max	P-value
Dietary composition, ⁴ g / kg DM																					
Crude fiber	88	258	92	39	404	33	194	95	88	371	13	259	62	177	374	21	170	58	107	280	< 0.001
NDF	88	500	156	133	712	33	382	163	181	710	13	481	76	352	564	21	365	92	210	506	< 0.001
ADF	88	279	96	44	393	33	211	104	94	403	13	288	58	204	367	21	192	64	108	287	< 0.001
Starch	88	26	34	0	106	33	56	37	0	110	13	17	16	0	46	21	43	37	2	99	< 0.001
CP	88	124	35	45	247	33	139	31	65	178	13	150	30	113	196	21	158	30	122	214	< 0.001
Digestible OM	88	622	91	458	852	33	674	109	461	789	13	629	77	512	736	21	714	37	604	776	< 0.001
Digestible NDF	88	292	102	95	474	33	215	83	97	400	13	268	35	212	323	21	233	88	121	403	< 0.001
Digestible CP	88	74	30	5	135	33	89	33	5	130	13	101	27	66	139	21	108	31	61	166	< 0.001
Rumen fermentable OM	88	503	40	413	586	33	481	31	421	586	13	488	38	450	544	21	542	46	436	631	< 0.001
Rumen digestible NDF	88	263	92	85	427	33	193	74	88	360	13	241	31	190	291	21	210	79	109	363	< 0.001
Rumen fermentable CP	88	73	24	28	128	33	75	23	29	119	13	105	31	59	149	21	103	27	66	167	< 0.001
PDIE	88	87	14	54	120	33	96	16	52	115	13	86	7	73	97	21	101	14	86	126	< 0.001
PDIN	88	83	24	28	155	33	95	24	27	121	13	98	19	74	125	21	107	23	80	140	< 0.001
ME, MJ/kg DM	88	9.5	1.5	6.7	13.1	33	10.4	1.8	6.8	12.2	13	9.6	1.2	7.7	11.4	21	11.4	0.85	9.2	12.5	< 0.001
Proportion of concentrate, g/100 g DM	88	29	36	0	100	33	47	38	0	99	13	35	23	0	75	21	52	28	27	100	0.013
Intake, g.d ⁻¹ .kg BW ⁻¹																					
DM	88	21.2	8.0	0	41.5	33	20.6	7.8	8.2	38.8	13	19.5	7.4	0	29.6	21	25.7	4.5	19.1	36.9	0.045
Digestible OM	88	13.2	5.1	0	23.0	33	13.5	4.1	4.4	20.2	13	12.5	5.1	0	19.1	21	18.4	3.6	13.1	28.6	< 0.001
Rumen fermentable OM	88	10.7	4.2	0	20.8	33	9.9	3.7	3.4	18.5	13	9.6	3.8	0	13.8	21	13.8	1.8	11.2	17.4	0.002
Rumen digestible NDF	88	5.7	3.2	0	14.3	33	4.3	3.0	1.2	11.2	13	4.6	1.7	0	6.6	21	5.1	1.3	2.7	7.5	0.094
Starch	88	3.1	4.2	0	15.2	33	5.3	3.8	0	12.4	13	1.7	1.6	0	5.0	21	5.6	3.8	0.4	16.1	0.002
Energy balance, kJ.d ⁻¹ .kg BW ⁻¹	88	20.8	57.6	-158	109	33	43.9	49.5	-173	91.2	13	-46.4	51.4	-159	15.3	21	-2.4	39.0	-70.9	58.8	< 0.001

¹Publications used: Katz and Bergman, 1969; Bergman et al., 1970 ; Baird et al., 1980; Heitmann et al., 1986; Wieghart et al., 1986; Brockman, 1987 ; Reynolds and Huntington, 1988a,b; Reynolds et al., 1988a,b; Eisemann and Nienaber, 1990; Burrin et al., 1991; Harmon et al., 1991 ; Reynolds and Tyrrell, 1991; Reynolds et al., 1991; Lapierre et al., 1992; Maltby et al., 1992; Goetsch et al., 1994; Ortigues et al., 1994; Goetsch and Ferrell, 1995; Patil et al., 1995a,b; Eisemann et al., 1996; Freetly and Klindt, 1996 ; Huntington et al., 1996; Patil et al., 1996 ; DeVisser et al., 1997; Goetsch et al., 1997a,b,c,d; Park et al., 1997; De Visser et al., 1998 ; Freetly and Cundiff, 1998; Krehbiel et al., 1998; Linington et al., 1998; Bohnert et al., 1999; Ferrel et al., 1999; Lozano et al., 2000; Ferrell et al., 2001; Theurer et al., 2002; Majdoub et al., 2003; Branco et al., 2004; Rojen et al., 2004; Fukuma et al., 2005 ; Atkinson et al., 2007 ; Kristensen et al., 2007

² Fasting included.; ³ dairy cattle were between 11 and 240 days in milk.

⁴ Dietary composition and intake calculated by additivity according to INRA Feed Tables (INRA, 2007); PDIE (PDIN): protein digestible in the intestine when energy (degraded N) is a limiting factor

Table 3. Description of arterial concentration, net fluxes¹ and hepatic extraction² of nutrients according to species used for the meta-analyses³

	Cattle					Sheep					Effect ⁴
	n	mean	SD	Min	Max	n	mean	SD	Min	Max	P-value
Arterial concentration, mmol/L											
Propionate	26	0.0608	0.0186	0.031	0.096	24	0.0334	0.0348	0.012	0.160	0.001
Alpha amino nitrogen	18	3.046	0.383	2.27	3.57	38	4.027	1.026	0	6.10	< 0.001
Lactate	38	0.489	0.148	0.200	0.756	29	0.842	0.344	0.340	1.420	< 0.001
Glucose	38	4.029	0.670	2.73	5.49	49	3.29	0.546	1.89	4.56	< 0.001
Insulin, μ UI/L	10	17.6	10.2	6.31	40.3	6	39	25.2	18.4	71.9	0.030
Net portal appearance, $\text{mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$											
Propionate	34	0.930	0.319	0.399	1.88	35	0.589	0.400	0.085	2.11	< 0.001
Alpha amino nitrogen	24	0.387	0.162	0.156	0.711	49	0.553	0.246	0	0.950	0.004
Lactate	42	0.229	0.0926	0.074	0.403	42	0.250	0.167	0.084	0.767	0.49
Glucose	47	-0.043	0.0965	-0.234	0.265	60	-0.088	0.0953	-0.312	0.168	0.018
Net hepatic flux, $\text{mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$											
Propionate	34	-0.847	0.304	-1.787	-0.368	33	-0.494	0.255	-1.10	-0.085	< 0.001
Alpha amino nitrogen	16	-0.246	0.099	-0.513	-0.098	49	-0.402	0.235	-1.20	0.436	0.013
Lactate	44	-0.275	0.287	-1.94	-0.017	42	-0.308	0.240	-0.870	0.029	0.56
Glucose	47	0.741	0.312	0.377	1.40	70	0.613	0.258	0.245	1.74	0.018
Net splanchnic flux, $\text{mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg BW}^{-1}$											
Propionate	22	0.0695	0.0395	0.005	0.171	33	0.0633	0.0642	0	0.322	0.68
Alpha amino nitrogen	14	0.137	0.105	0.029	0.376	45	0.149	0.178	-0.21	0.559	0.81
Lactate	32	0.0191	0.107	-0.1953	0.253	34	-0.0634	0.169	-0.308	0.298	0.022
Glucose	47	0.700	0.329	0.313	1.39	60	0.504	0.214	0.158	1.15	< 0.001
Contribution to neoglucogenesis, %											
Propionate	34	61.5	11.8	44.5	94.7	35	44.8	22.4	12.3	99.7	< 0.001
Alpha amino nitrogen	44	27.4	9.55	14.2	43.6	39	48.1	26.7	0.0	179	0.004
Glucogenic amino	16	12.3	4.30	6.41	19.6	48	21.7	12.0	14.2	43.6	0.004
Lactate	16	18.2	13.3	1.23	85.4	49	34.8	29.5	0.10	149	0.001

¹ A positive value indicates a net release; a negative value indicates a net uptake; ² A positive value indicates an emission; a negative value indicates an extraction

³ Publications used: Katz and Bergman, 1969; Bergman et al., 1970; Baird et al., 1980; Heitmann et al., 1986; Wieghart et al., 1986; Brockman, 1987; Reynolds and Huntington, 1988a,b; Reynolds et al., 1988a,b; Eisemann and Nienaber, 1990; Burrin et al., 1991; Harmon et al., 1991; Reynolds and Tyrrell, 1991; Reynolds et al., 1991; Lapierre et al., 1992; Maltby et al., 1992; Goetsch et al., 1994; Ortigues et al., 1994; Goetsch and Ferrell, 1995; Patil et al., 1995a,b; Eisemann et al., 1996; Freetly and Klindt, 1996; Huntington et al., 1996; Patil et al., 1996; DeVisser et al., 1997; Goetsch et al., 1997a,b,c,d; Park et al., 1997; De Visser et al., 1998; Freetly and Cundiff, 1998; Krehbiel et al., 1998; Linington et al., 1998; Bohnert et al., 1999; Ferrel et al., 1999; Lozano et al., 2000; Ferrell et al., 2001; Theurer et al., 2002; Majdoub et al., 2003; Branco et al., 2004; Rojen et al., 2004; Fukuma et al., 2005; Atkinson et al., 2007; Kristensen et al., 2007

⁴ Physiological status effect.

Table 4. Description of arterial concentration, net fluxes¹ and hepatic extraction² of nutrients according to physiological status

	Non productive adults ³					Growing animals					Gestating animals					Lactation ⁴					Effect ⁵
	n	mean	SD	Min	Max	n	mean	SD	Min	Max	n	mean	SD	Min	Max	n	mean	SD	Min	Max	P-
Arterial concentration, mmol/L																					
Propionate	26	0.0359	0.0341	0.012	0.160	14	0.0586	0.0147	0.031	0.08	4	0.045	0.014	0.032	0.061	6	0.075	0.027	0.039	0.096	0.012
Alpha amino	34	4.033	1.085	0	6.10	18	3.14	0.477	2.27	4.10	2	4.06	0.042	4.03	4.09	2	3.02	0.0071	3.02	3.03	0.009
Lactate	30	0.765	0.359	0.340	1.42	22	0.612	0.203	0.364	1.20	4	0.498	0.153	0.361	0.65	11	0.42	0.194	0.20	0.756	0.006
Glucose	50	3.31	0.552	1.89	4.56	22	4.38	0.609	3.30	5.49	4	3.56	0.121	3.47	3.74	11	3.45	0.445	2.73	4.04	<0.001
Insulin, μ UI/L	7	39	23.0	18	71.9	6	32	11.8	21	51	2	14	2.20	13	16	4	9.0	3.30	6.30	14	0.045
Net portal appearance, mmol•h ⁻¹ •kg BW ⁻¹																					
Propionate	38	0.65 ^a	0.420	0.085	2.11		0.80 ^a	0.21	0.470	1.16		0.64 ^a	0.18	0.382	0.447		1.15 ^b	0.29	0.827	1.89	<0.001
Alpha amino	45	0.552	0.247	0	0.93	24	0.397	0.188	0.156	0.95	2	0.376	0.099	0.306	0.447	2	0.636	0.1061	0.561	0.711	<0.001
Lactate	43	0.266	0.165	0.084	0.767	22	0.212	0.086	0.117	0.399	4	0.113	0.0159	0.091	0.126	15	0.239	0.0835	0.074	0.363	<0.001
Glucose	61	-0.090	0.093	-0.312	0.168	24	-0.055	0.098	-0.234	0.16	4	-0.0205	0.0181	-0.039	0	18	-0.022	0.1057	-0.166	0.265	0.034
Net hepatic flux, mmol•h ⁻¹ •kg BW ⁻¹																					
Propionate	36	0.56 ^a	0.290	-1.10	-0.085		0.70 ^a	0.180	-1.034	-0.409		0.59 ^a	0.19	-0.419	-0.254		1.08 ^b	0.28	-1.78	-0.757	<0.001
Alpha amino	45	-0.383	0.2104	-0.730	0.436	16	-0.323	0.266	-1.2	-0.098	2	-0.345	0.183	-0.474	-0.215	2	-0.274	0.086	-0.335	-0.213	<0.001
Lactate	43	-0.343	0.3428	-1.94	0.029	24	-0.199	0.134	-0.424	-0.017	4	-0.158	0.123	-0.297	0	15	-0.323	0.099	-0.449	-0.166	0.48
Glucose	71	0.634	0.2653	0.245	1.74	24	0.563	0.161	0.377	0.975	4	0.415	0.054	0.373	0.493	18	0.977	0.316	0.467	1.405	<0.001
Net splanchnic flux, mmol•h ⁻¹ •kg BW ⁻¹																					
Propionate	35	0.074	0.065	0	0.322		0.044	0.011	0.033	0.063		0.037	0.011	0.027	0.032		0.070	0.033	0.005	0.124	0.19
Alpha amino	43	0.156	0.179	-0.21	0.559	12	0.099	0.048	0.029	0.182	2	0	0	0	0	2	0.361	0.020	0.347	0.376	0.043
Lactate	36	-0.045	0.179	-0.308	0.298	12	0.074	0.072	-0.057	0.225	4	0.004	0.071	-0.067	0.102	14	-0.059	0.075	-0.195	0.113	<0.001
Glucose	61	0.530	0.229	0.158	1.148	24	0.511	0.161	0.313	0.908	4	0.345	0.0231	0.315	0.371	18	0.954	0.336	0.349	1.39	<0.001
Contribution to neoglucogenesis, %																					
Propionate	36	43.6 ^a	19.2	12.3	99.7	18	69.2 ^b	14.2	46.3	96.9	4	43.7 ^a	8.60	34.0	54.8	11	60.9 ^b	10.1	49.4	81.1	<0.001
Alpha amino	44	33.3	30.8	0	179	16	34.6	17.9	14.2	82.1	2	51.3	18.2	38.4	64.1	2	16.4	1.4	15.4	17.3	0.16
Glucogenic	44	21.1	12.2	0	80.9	16	15.6	8.06	6.41	36.9	2	23.1	8.17	17.3	28.8	2	7.37	0.61	6.94	7.81	0.16
Lactate	38	35.2 ^a	31.1	0.10	149	28	17.8 ^b	12.5	1.23	44.3	3	27.2 ^{ab}	11.0	19.1	39.8	15	16.1 ^b	4.20	8.30	22.9	0.010

¹ A positive value indicates a net release; a negative value indicates a net uptake² A positive value indicates an emission; a negative value indicates an extraction³ Fasting included⁴ The dairy cattle were between 11 and 240 days in milk⁵ Physiological status effect.⁶ Estimated as 45% of alpha amino nitrogen net hepatic uptake.

Table 5: Response of the net hepatic fluxes (mmol.h⁻¹.kg⁻¹BW) of propionate (C3), alpha amino N (αN), and lactate to variations in their net portal appearance (NPA; mmol.h⁻¹.kg⁻¹BW), and energy balance (EB; kJ.d⁻¹.kg BW⁻¹).

Y	Number ¹				Equation	adjustment		Effect ²		Interfering factors ³		
	n _{exp}	n _{ai}	n _t	n _r		RMSE	R ² _{adj}	PHY	X*PHY	Slope	Residuals	LSMeans
Net hepatic fluxes												
Propionate	31	5	71	0	-0.0025 ± 0.013 ^{NS} -0.910 ± 0.028*** × NPA-C3	0.027	0.992	0.008 ⁴	NS	none	none	-EB*; -PDI/EM***
Alpha amino N	30	8	70	1	-0.00031 ± 0.43 ^{NS} -0.745 ± *** × NPA-αN	0.085	0.830	0.005 ⁵	NS	none	none	+CPT†; +PDI*; -NHF-C3* +NHF-gluc*; +NSR-gluc* +NPA-C3*; +NHF-C3 +(P-A)-gluc*; -NHF-AAN -NHF-gluc*
Lactate	37	18	70	0	0.233 ± 0.12† -3.76 ± 1.12 ** × NPA-lactate	0.069	0.887	0.026 ⁶	0.018 ⁷	none	none	
	21	9	38	0	-0.328 ± 0.077** + 0.388 ± 0.080*** × NPA-C3 - 0.828 ± 0.23 × NPA-lactate	0.042	0.973	0.001 ⁸	NS	none	none	
	35	17	65		-0.292 ± 0.016*** + 0.00536 ± 0.0014*** × EB	0.057	0.857	0.004 ⁹	NS	none	none	none

¹ n_{exp}: number of experimental groups in the model; n_{ai}: number of experimental groups with ai significantly different from zero; n_t: number of treatments in the model; n_r: number of treatments rejected from the model (outliers)

² phy : physiological status

³ dietary contents of digestible OM (dOM), crude fibre (CF), concentrate (Conc), metabolisable energy (ME), crude protein (CP), protein digestible in the intestine (PDI). Energy balance (EB). Portal – arterial (P-A) concentration difference, net hepatic (NHF) and splanchnic (NSR) fluxes of glucose (gluc), propionate (C3), alpha amino N (AA-N). The minus sign indicates a negative effect on the net hepatic or splanchnic flux; the plus sign indicates a positive effect on the net hepatic or splanchnic flux.

⁴ physiological state effect on the intercept: Δ = 0.0064 for non productive adults (NS), 0.0170 for growing animals, -0.0099 for gestation (NS) and -0.0328 for lactation.

⁵ physiological state effect on the intercept: Δ = -0.0422 for non productive adults, -0.0347 for growing animals (NS), -0.104 for gestation and 0.181 for lactation.

⁶ physiological state effect on the intercept: Δ = -0.302 for non productive adults, -0.379 for growing animals, 1.083 for gestation and -0.401 for lactation

⁷ physiological state effect on the slope: Δ = 2.83 for non productive adults, 3.54 for growing animals, -9.74 for gestation and 3.37 for lactation.

⁸ physiological state effect on the intercept: Δ = 0.0218 for non productive adults, -0.0603 for growing animals, 0.185 for gestation and -0.146 for lactation.

⁹ physiological state effect on the intercept: Δ = -0.0669 for non productive adults, -0.0470 for growing animals, 0.173 for gestation and -0.0589 for lactation.

ND: not determined.

NS: not significant ($P > 0.10$); † $P < 0.10$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; $P < 0.001$

Table 6: Predictive models of net splanchnic release ($\text{mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1} \text{BW}$) of acetate, butyrate and β -hydroxybutyrate in response to intake and dietary characteristics (NPA; $\text{mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1} \text{BW}$), (RfOMi) (NEP; $\text{kJ} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg} \text{BW}^{-1}$).

Y	Equations ¹
Propionate	$[(0.247 \times \text{RfOMi}) \times (0.34 - 0.189 \times \text{RdNDF/RfOM})] \times [-0.0025^2 + (1-0.91)]$
Alpha amino N	$-0.00031^3 \pm 0.43^{\text{NS}} -0.694 \pm *** \times \text{NPA-AAN}$
Lactate	$[(0.156 + 0.0136 \times \text{RdSi})] \times [0.233^4 + (1-3.76^5)]$ $-0.328^6 + 0.388 \times [(0.247 \times \text{RfOMi}) \times (0.34 - 0.189 \times \text{RdNDF/RfOM})] - 0.828 \times [(0.156 + 0.0136 \times \text{RdSi})]$ $[(0.156 + 0.0136 \times \text{RdSi})] + (-0.292^7 + 0.00536 \times \text{EB})$

¹ dietary contents of rumen-digestible NDF (RdNDF, g/ kg DM), rumen-fermentable OM (RfOM, g/kg DM), RfOM intake (RfOMi, $\text{g} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kgBW}^{-1}$), rumen-digestible starch intake (RdSi, $\text{g} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg} \text{BW}^{-1}$)

² physiological status effect on the intercept: $\Delta = -0.0328$ for dairy cow, 0.0064 for non productive adults (NS), 0.0170 for growing animals and -0.0099 for lactation (NS).

³ physiological state effect on the intercept: $\Delta = -0.0422$ for non productive adults, -0.0347 for growing animals (NS), -0.104 for gestation and 0.181 for lactation

⁴ physiological state effect on the intercept: $\Delta = -0.302$ for non productive adults, -0.379 for growing animals, -0.401 for lactation and 1.083 for gestation

⁵ physiological state effect on the slope: $\Delta = 2.83$ for non productive adults, 3.54 for growing animals, -9.74 for gestation and 3.37 for lactation.

⁶ physiological state effect on the intercept: $\Delta = 0.0218$ for non productive adults, -0.0603 for growing animals, 0.185 for gestation and -0.146 for lactation.

⁷ physiological state effect on the intercept: $\Delta = -0.0669$ for non productive adults, -0.0470 for growing animals, 0.173 for gestation and -0.0589 for lactation.

Table 7. Description of estimated amount of glycerol and alanine mobilised according to physiological status. Values are reported only for animal in mobilization.

	Non productive adults ¹					Growing animals					Gestating animals					Lactation ²					Effect ³
	n	mean	SD	Min	Max	n	mean	SD	Min	Max	n	mean	SD	Min	Max	n	mean	SD	Min	Max	P-value
Estimated mobilised nutrients, mmol•d ⁻¹ •kg BW ⁻¹																					
Mobilised glycerol	22	1.65	1.40	0.058	4.72	0	ND	ND	ND	ND	1	0.043	ND	ND	ND	9	1.009	0.68	0.092	1.93	0.24
Mobilised alanine	22	0.095	0.081	0.0034	0.273	0	ND	ND	ND	ND	1	0.0025	ND	ND	ND	9	0.058	0.039	0.0053	0.11	0.28
Maximal potential contribution to neoglucogenesis estimated by models, %																					
Propionate	70	41.9 ^a	10.8	2.47	53.4	26	45.2 ^a	5.76	37.0	61.4	4	40.6 ^a	5.41	36.4	47.7	18	47.3 ^b	2.73	42.2	52.4	0.08
Glucogenic amino	70	17.1 ^a	4.27	2.60	22.15	26	14.7 ^a	2.05	10.7	18.6	4	24.8 ^b	0.89	24.1	25.9	18	3.1 ^c	3.0	0.10	10.3	< 0.001
Lactate	70	20.9 ^a	13.5	5.05	65.1	26	26.8 ^a	11.2	5.54	47.6	4	45.4 ^b	12.1	29.5	54.8	18	15.3 ^c	5.5	7.28	25.1	< 0.001
Mobilised glycerol	22	8.55	9.08	0.203	28.2	0	ND	ND	ND	ND	1	0.165	ND	ND	ND	9	2.28	1.64	0.195	4.81	0.11
Mobilised alanine	22	0.660	0.701	0.016	2.18	0	ND	ND	ND	ND	1	0.013	ND	ND	ND	9	0.17	0.126	0.015	0.371	0.13

¹Fasting included

²The dairy cattle were between 11 and 240 days in milk

³Physiological status effect.

ND: not determined.

NS: not significant ($P > 0.10$); † $P < 0.10$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; $P < 0.001$

Table 8. Response equations of the net hepatic (NHF, mmol C·h⁻¹·kg BW⁻¹) and splanchnic (NSR) release of glucose to the net portal appearance (NPA, mmol C·h⁻¹·kg BW⁻¹) and net hepatic flux (NHF, mmol C·h⁻¹·kg BW⁻¹) of its major precursors: propionate (C3), alpha amino N (αN) and L-lactate (mmol C·h⁻¹·kg BW⁻¹).

Y	X	Numbers ¹				Intercept		Linear term		Quadratic term				Effects ²		Interfering factor ³		
		n _{exp}	n _{ai}	n _t	n _r	α	SE	β ₁	SE	β ₂	SE	RMSE	R ² _{adj}	PHY	X*PHY	Slope	Residuals	LSMeans
NHF-glucose																		
	NPA-C3	28		64		2.074***	0.397	0.781***	0.164	NS	ND	0.480	0.882	< 0.001 ⁴	NS	none	none	BHBA
	NHF-C3	28		64		2.000***	0.400	-0.897***	0.187	NS	ND	0.474	0.885	< 0.001 ⁵	NS	none	none	BHBA
	NPA-aN	27		60		2.859***	0.273	0.667***	0.147	NS	ND	0.527	0.827	< 0.001 ⁶	NS	none	none	NHF-C3 ; NPA-C3
	NHF-aN	23		62		3.318***	0.217	-0.311 ^{NS}	0.141	NS	ND	0.722	0.686	ND	NS	ND	ND	ND
	NPA-L-lactate	32		76		2.297***	0.485	2.567**	0.696	NS	ND	0.781	0.765	< 0.001 ⁷	NS	none	none	none
	NHF-L-lactate	33		78		3.978***	0.313	0.240 ^{NS}	0.391	NS	ND	0.759	0.769	ND	NS	ND	ND	ND
	NPA-glucose	39		81		0.621***	0.0230	NS		2.902**	1.030	0.129	0.639	< 0.001 ⁸	NS	none	none	none
	NPA-precursors	47	12	103	3	1.218***	0.292	0.803***	0.0877	NS	ND	0.467	0.905	0.004 ⁹	NS	-art C3t	none	+RfOMi*, + dOMi* +MEi*, +NHF-C3* +NHF-BHBA*
	NHF-precursors	40	15	84	10	-0.298 ^{NS}	0.659	1.753***	0.299	-0.102***	0.045	0.559	0.873	0.004 ¹⁰	NS	none	none	none
NSR-glucose																		
	NPA-C3	28		64		1.176***	0.399	0.906***	0.165	NS	ND	0.482	0.886	< 0.001 ¹¹	NS	none	none	BHBA
	NHF-C3	28		64		1.129***	0.406	-1.023***	0.185	NS	ND	0.481	0.886	< 0.001 ¹²	NS	none	none	BHBA
	NPA-aN	28		61		2.64***	0.327	0.501***	0.146	NS	ND	0.542	0.812	< 0.001 ¹³	NS	none	none	NHF-C3 ; NPA-C3
	NHF-aN	23		62		2.611***	0.271	-0.471 ^{NS}	0.178	NS	ND	0.655	0.739	ND	NS	ND	ND	ND
	NPA-L-lactate	32		76		2.090***	0.479	2.177***	0.690	NS	ND	0.677	0.817	< 0.001 ¹⁴	NS	none	none	none
	NHF-L-lactate	33		78		3.706***	0.310	0.401 ^{NS}	0.388	NS	ND	0.737	0.795	ND	NS	ND	ND	ND
	NPA-glucose	39		81		0.621***	0.0244	0.897**	0.308	2.669*	1.248			< 0.001 ¹⁵	NS	none	none	none
	NPA-precursors	43	11	95	1	0.750*	0.346	0.828***	0.103	NS	ND	0.539	0.894	0.005 ¹⁶	NS	none	none	none
	NHF-precursors	39	15	82	4	-0.200 ^{NS}	0.717	1.498***	0.326	-0.081**	0.027	0.604	0.877	NS	NS	none	none	+NHF-BHBA***

¹ n_{exp}: number of experimental groups in the model; n_{ai}: number of experimental groups with ai significantly different from zero; n_t: number of treatments in the model; n_r: number of treatments rejected from the model (outliers); ² PHY = physiological state effect; ³ intake of digestible OM (dOMi), rumen fermentable OM (RfOMi), metabolisable energy (MEi); arterial concentration in propionate (art C3); net hepatic flux in propionate (NHF-C3) and beta-hydroxybutyrate (NHF-BHBA). The minus sign indicates a negative effect on the net hepatic or splanchnic flux; the plus sign indicates a positive effect on the net hepatic or splanchnic flux. ND: not determined.; NS: not significant

⁴ physiological state effect on the intercept: Δ = 0.336 for non productive adults, -0.716 for growing animals, -0.503 (NS) for gestation and 0.883 for lactation; ⁵ physiological state effect on the intercept: Δ = 0.322 for non productive adults, -0.662 for growing animals, -0.435 (NS) for gestation and 0.775 for lactation; ⁶ physiological state effect on the intercept: Δ = -0.500 for non productive adults, -0.298 for growing animals, -1.266 for gestation and 2.065 for lactation; ⁷ physiological state effect on the intercept: Δ = -1.087 for non productive adults, -0.296 (NS) for growing animals, -0.485 (NS) for gestation and 1.869 for lactation

⁸ physiological state effect on the intercept: Δ = -0.042 for non productive adults, -0.085 for growing animals and 0.127 for lactation, not defined for gestation

⁹ physiological state effect on the intercept: Δ = 0.043 (NS) for non productive adults, -0.287 for growing animals, -0.184 (NS) for gestation and 0.427 for lactation

¹⁰ physiological state effect on the intercept: Δ = 0.391 for non productive adults, -0.286 for growing animals, -0.100 (NS) for gestation and -0.205 (NS) for lactation

¹¹ physiological state effect on the intercept: Δ = 0.288 for non productive adults, -0.860 for growing animals, -0.345 (NS) for gestation and 0.917 for lactation

¹² physiological state effect on the intercept: Δ = 0.278 for non productive adults, -0.800 for growing animals, -0.247 (NS) for gestation and 0.768 for lactation

¹³ physiological state effect on the intercept: Δ = -0.548 for non productive adults, -0.162 (NS) for growing animals, -1.412 for gestation and 2.123 for lactation

¹⁴ physiological state effect on the intercept: Δ = -0.944 for non productive adults, -0.246 (NS) for growing animals, -0.775 (NS) for gestation and 1.965 for lactation

¹⁵ physiological state effect on the intercept: Δ = -0.0442 for non productive adults, -0.0843 for growing animals, and 0.561 for lactation, not defined for gestation

¹⁶ physiological state effect on the intercept: Δ = -0.0446 (NS) for non productive adults, -0.0334 for growing animals, and 0.128 for lactation and -0.182 (NS) for gestation

Table 9. Response equations of the net splanchnic release ($\text{mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$) of glucose to milk production (Milk, kg/d), average daily gain (ADG, g/d) and to the net energy for production (NEP, $\text{Mcal}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$), including or not treatments corresponding to negative net energy for production.

X	Numbers ¹				Intercept		Linear term		Quadratic term		RMSE	R^2_{adj}	Effects		Interfering factor		
	n_{exp}	n_{ai}	n_{t}	n_{r}	α	SE	β_1	SE	β_2	SE			species	X*species	Slope	Residuals	LSMeans
Milk	8	4	18	0	-1.067 NS	0.590	0.0756**	0.0224	NS		0.134	0.84	ND	ND	ND	ND	ND
ADG	8	3	16	0	0.284***	0.0297	0.000445***	0.00005	NS		0.0481	0.90	ND	ND	ND	ND	ND
NEP	37		79	0	0.367**	0.0303	3.099***	0.424	0.00862**	0.00262	0.087	0.88	0.002 ²	NS	NS	NS	NS
NEP ⁴	33		66	0	0.310***	0.0444	4.587***	0.597	NS		0.096	0.86	0.001 ⁴	NS	NS	NS	NS

¹ n_{exp} : number of experimental groups in the model; n_{ai} : number of experimental groups with α_i significantly different from zero; n_{t} : number of treatments in the model; n_{r} : number of treatments rejected from the model (outliers)

² physiological state effect on the intercept: $\Delta = -0.059$ for growing animals, $\Delta = 0.041$ for non productive adults, $\Delta = 0.018$ (NS) for lactation.

³ Only treatments without $\text{NEP} < 0$

⁴ physiological state effect on the intercept: $\Delta = -0.051$ for growing animals, $\Delta = 0.024$ (NS) for non productive adults, $\Delta = 0.027$ (NS) for lactation.

ND: not determined.

NS: not significant ($P > 0.10$); † $P < 0.10$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; $P < 0.001$

Table 10. Response equations of the net hepatic and splanchnic release ($\text{mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$) of glucose to net portal appearance (NPA, $\text{mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$) and net hepatic uptake (NHF, $\text{mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg BW}^{-1}$) of its major precursors, using a sigmoid model.

	Numbers		Coefficients		
	n_{exp}	n_{tr}	a	b	c
Net hepatic release of glucose					
NPA-precursors	49	122	2.972	3.297	4.569
NHF-precursors	49	122	3.150	3.210	4.554
Net hepatic uptake of glucose					
NPA-precursors	46	116	2.513	3.192	4.533
NHF-precursors	46	116	2.790	3.298	4.911

Figure 1: Within study relationships between the net hepatic fluxes of propionate (NHF-C3) and the net portal appearance of propionate (NPA-C3)

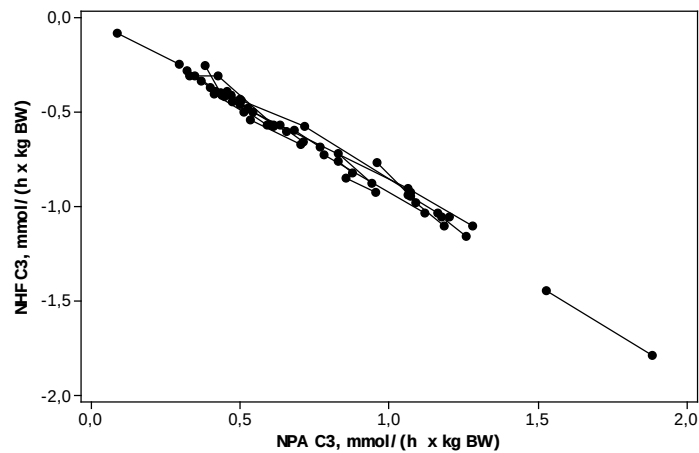


Figure 2: Within study relationships between the net hepatic fluxes (NHF) of lactate and the net portal appearance (NPA) of lactate (a) and the energy balance (EB, b).

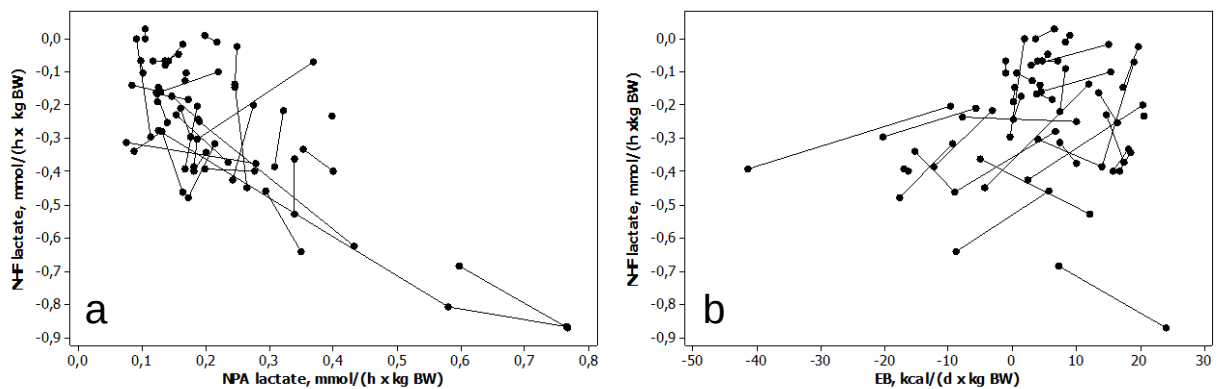


Figure 3: Within study relationships between the net splanchnic fluxes (NSR) of lactate and the net portal appearance of propionate (NPA-C3, a) and with the energy balance (EB) of the animals (b)

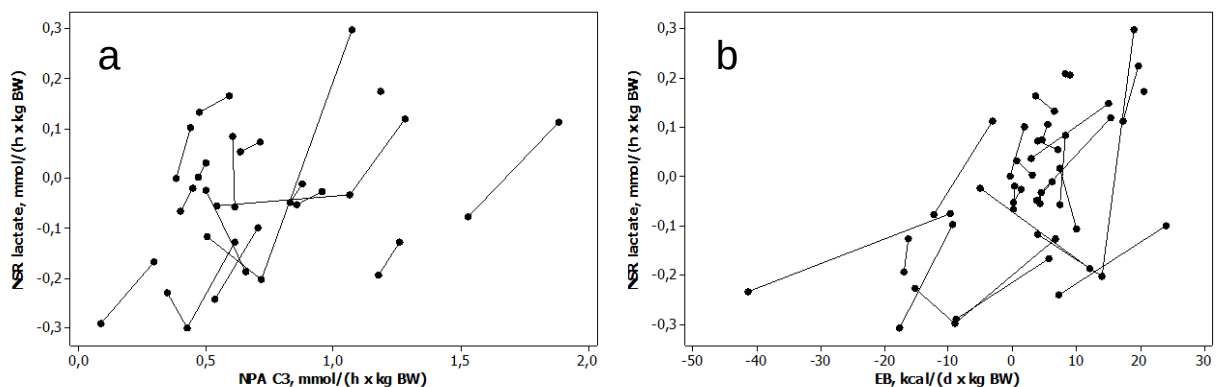


Figure 4: Within study relationships between the net hepatic fluxes (NHF) of alpha amino acids and the net portal appearance (NPA) of alpha amino acids

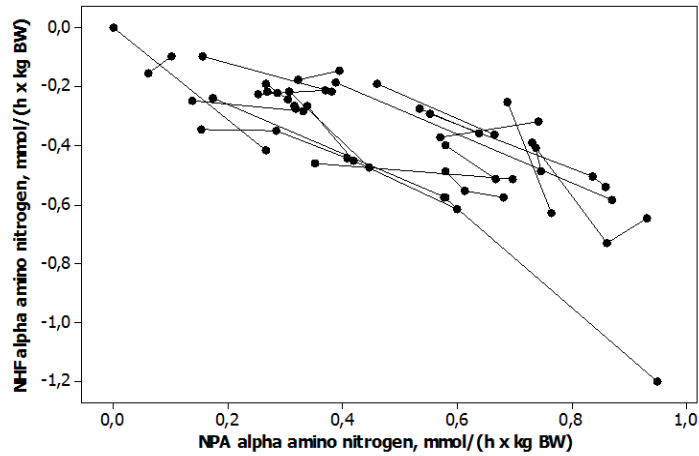


Figure 5: Within study relationships between the net hepatic (NHF, a) and splanchnic (NSR, b) of glucose and the net portal appearance (NPA) and net hepatic fluxes (NHF) of propionate (C3)

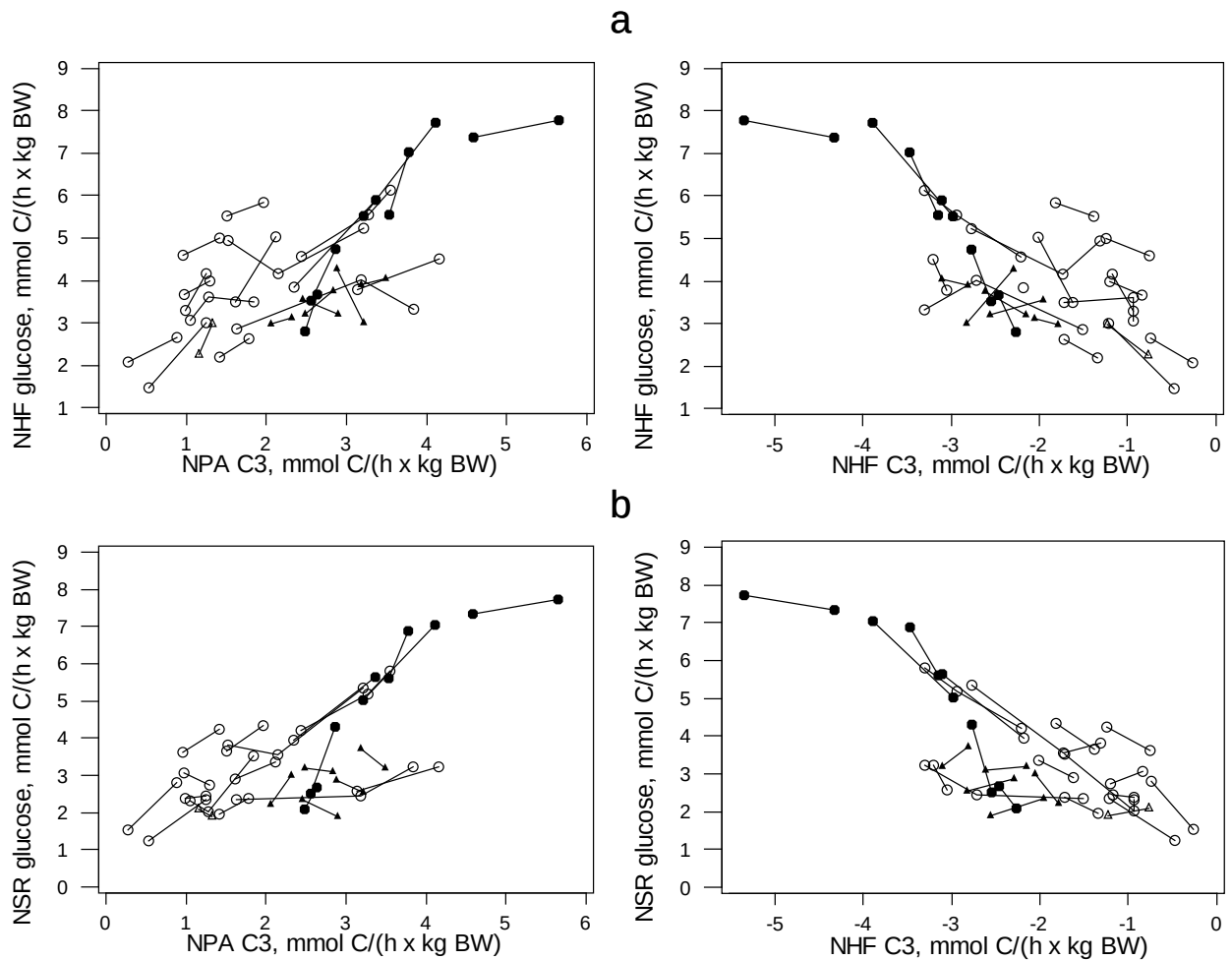


Figure 6: Within study relationships between the net hepatic (NHF, a) and splanchnic (NSR, b) of glucose and the net portal appearance (NPA) of lactate

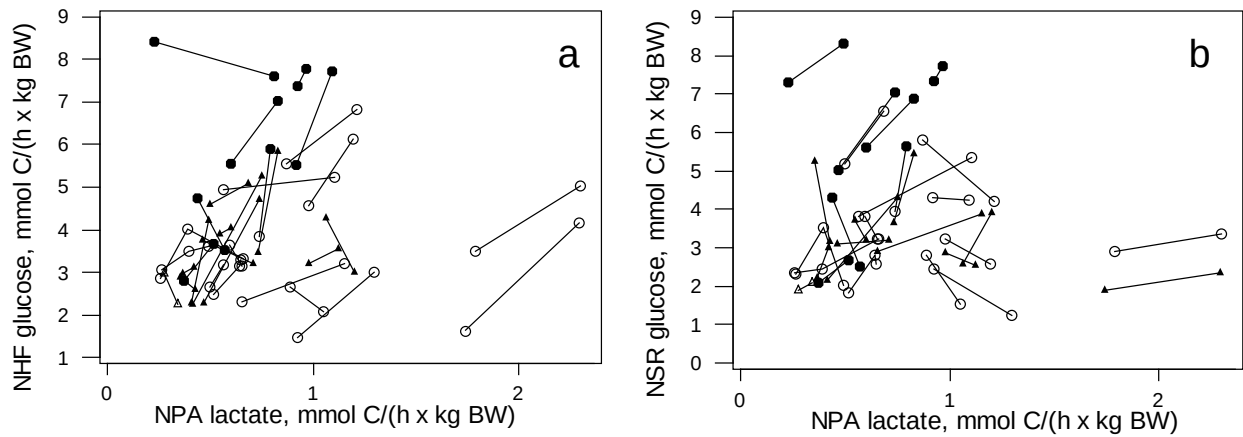


Figure 7: Within study relationships between the net hepatic (NHF, a) and splanchnic (NSR, b) of glucose and its net portal appearance (NPA)

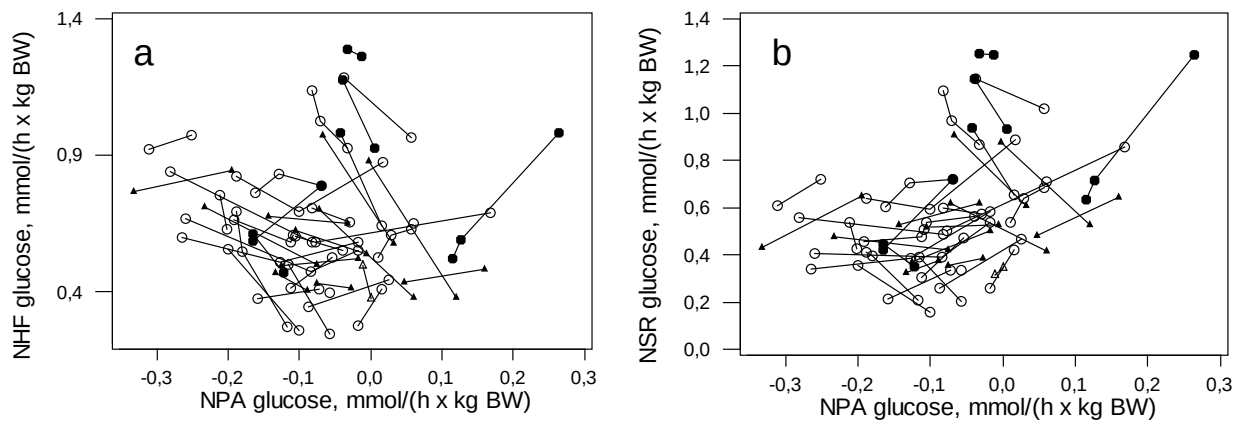


Figure 8: Within study relationships between the net hepatic (NHF, a) and splanchnic (NSR, b) of glucose and the net portal appearance (NPA) and net hepatic fluxes (NHF) of alpha amino nitrogen

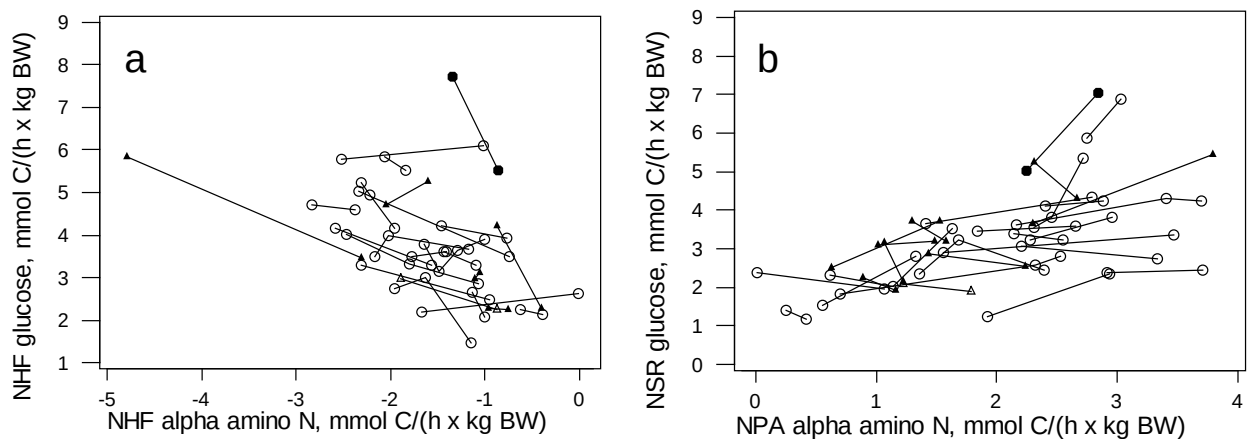


Figure 9: Within study relationships between the net hepatic fluxes of glucose (NHF) and the net portal appearance (NPA) of its main precursors.

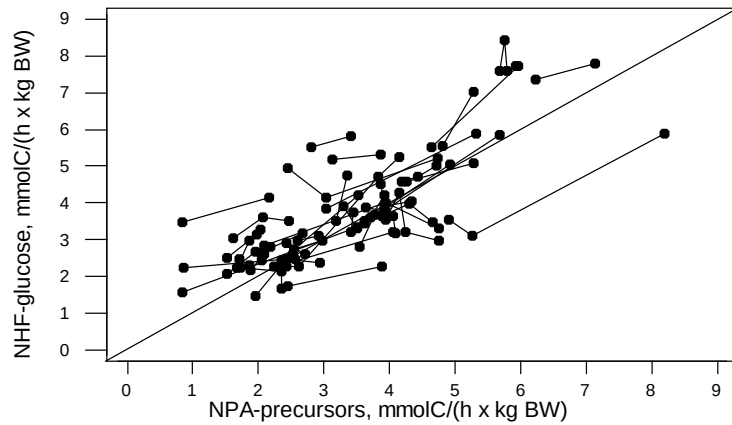


Figure 10: Within study relationships between the net splanchnic fluxes (NSR) of glucose and the milk production (a) or average daily gain (b).

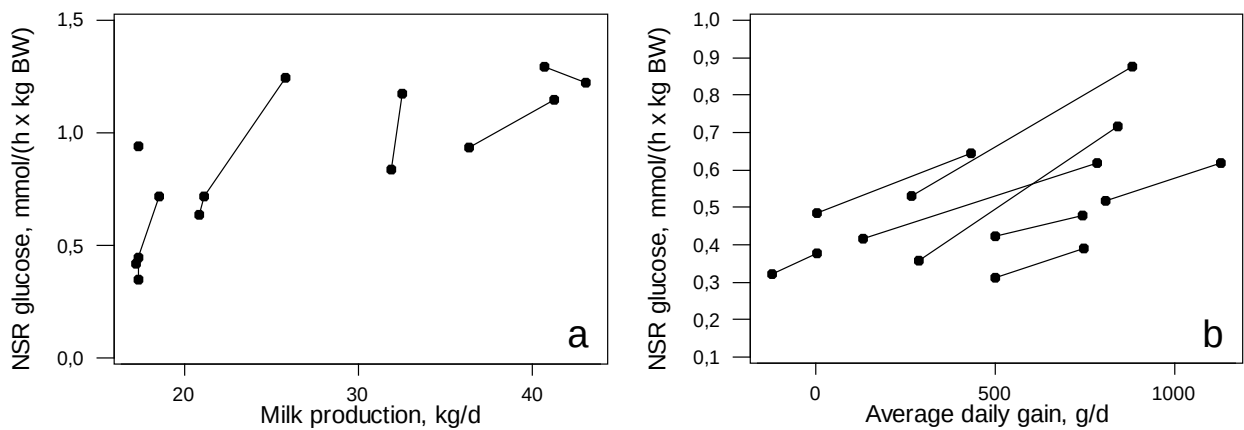
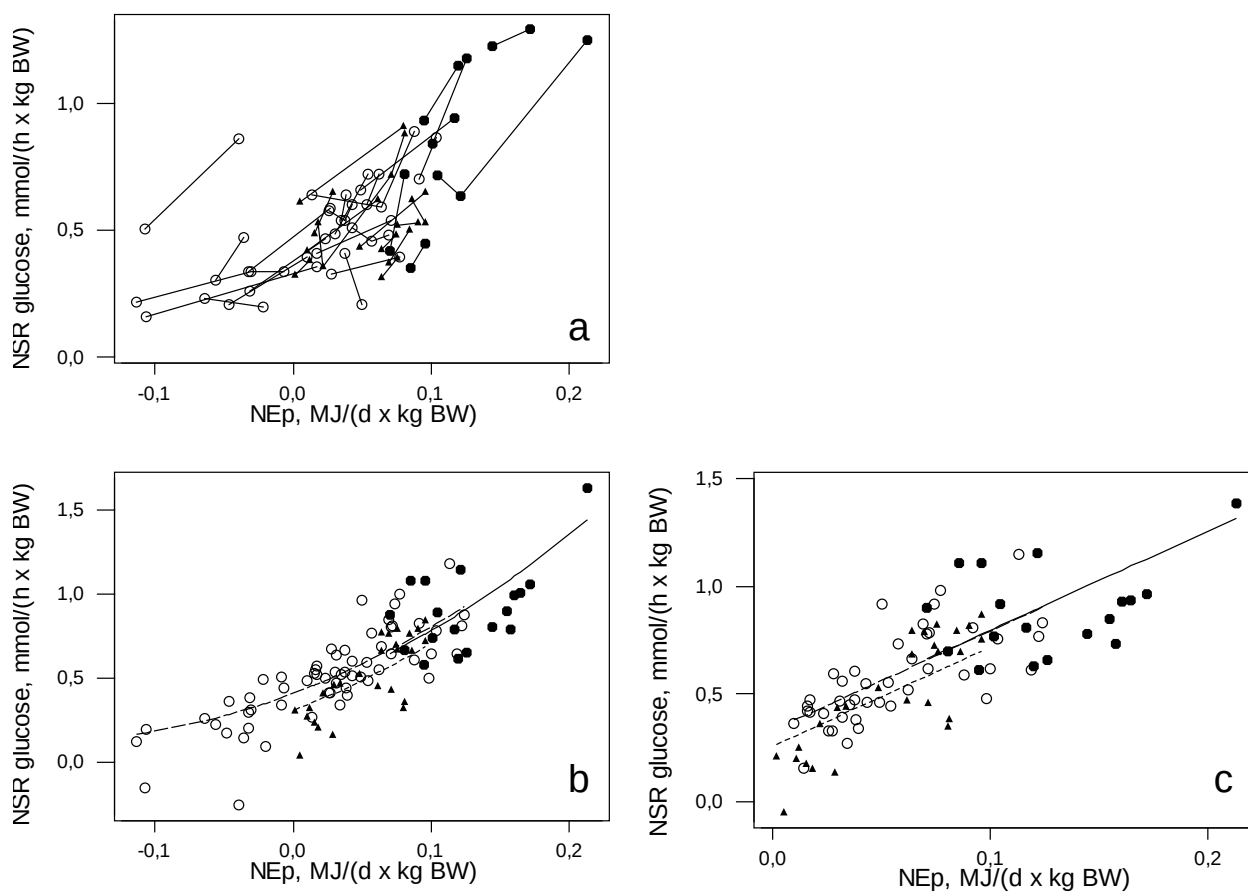


Figure 11: Within study relationships (a) and adjusted model including fasting (b), or not (c) of the response of the net splanchnic fluxes (NSR) of glucose to the net energy (NE).



Discussion Générale

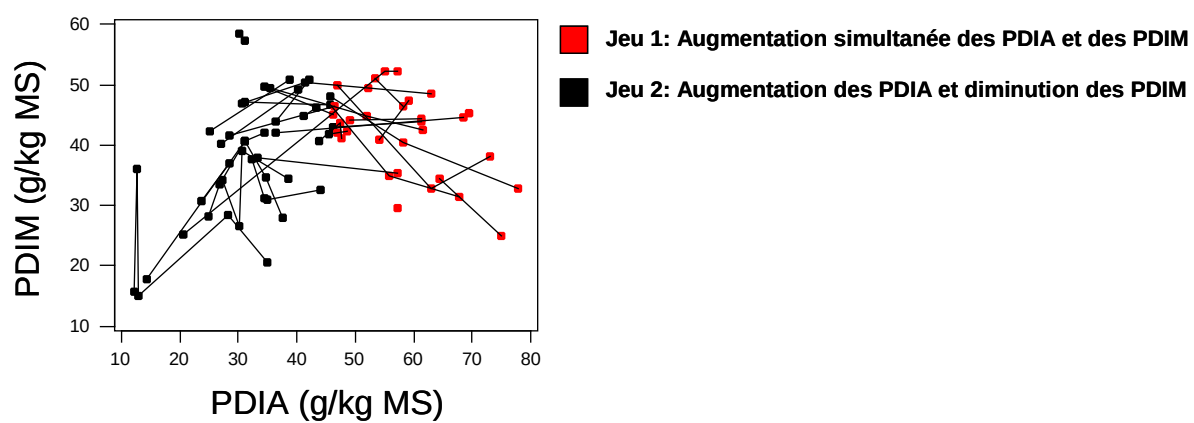


Figure 35 : Jeu de données du modèle ANP azote alpha aminé

A. Apports méthodologiques en méta-analyses

Les méta-analyses sont de plus en plus utilisées en sciences animales. Elles permettent la synthèse quantitative d'un grand nombre de données. Contrairement au domaine médical où les publications qui diffèrent sur les objectifs ne sont pas comparées, les données traitant de production animales peuvent être agrégées afin d'en tirer des lois de réponse, même si les objectifs de recherche étaient initialement différents. Cette synthèse des connaissances nécessite d'utiliser une méthodologie rigoureuse permettant d'éviter les biais d'interprétations que pourraient occasionner les méta-dispositifs déséquilibrés ou incomplets.

Peu de synthèses existent aujourd'hui sur la « bonne pratique des méta-analyses » en productions animales. A ma connaissance, seules trois publications (St Pierre, 2001 ; Sauvant et al., 2005 ; Sauvant et al., 2008) présentent les méthodes générales de mise en œuvre des méta-analyses. Cependant, ces publications ne présentent pas en détail l'analyse fine et raisonnée du méta-dispositif, ni la gestion des facteurs interférents. D'autre part, la notion de validation des modèles n'est que rapidement soulevée. Ces différents points ont donc nécessité un effort méthodologique particulier au cours de ma thèse, et sont discutés ici.

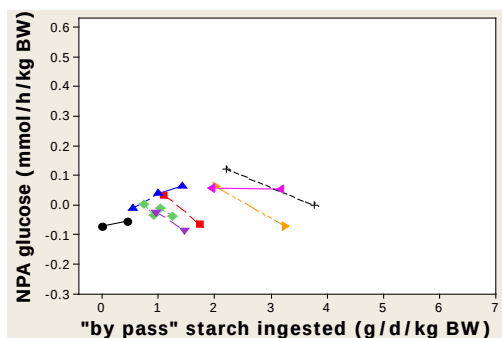
1. Méta-dispositif : comment exploiter la variabilité ?

Les démarches de méta-analyses dépendent des situations sur lesquelles ont porté les efforts de recherche. Ceci implique en préalable de bien définir, par le méta-dispositif, le domaine de validité des modèles obtenus, et, le cas échéant, de nuancer l'utilisation éventuelle de ces modèles lorsqu'ils sont extrapolés à des situations non couvertes par les données d'origine, et donc hors du domaine de validité des modèles.

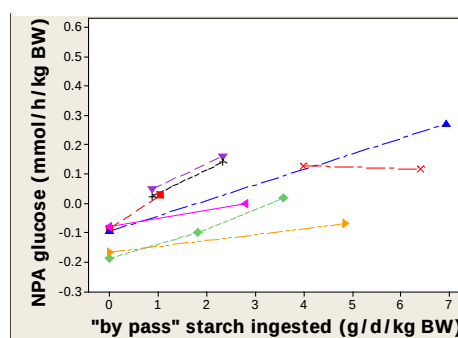
Au cours de notre travail nous avons été confrontés à des méta-dispositifs plus ou moins riches en diversité de conditions expérimentales.

Dans le cas de méta-dispositifs très riches, un codage très précis des données favorise l'exploration du domaine de validité des modèles. Par exemple, lors du travail sur les modèles d'apparition en veine porte d'azote alpha aminé à partir des PDI (*Communication n°1*), nous avons à notre disposition un jeu de données particulièrement intéressant vis-à-vis des variations respectives des teneurs en PDIA et PDIM des régimes (Figure 35). Nous avons pu par codage séparer ces 2 situations en 2 jeux de données (dénommés ici jeu 1 et jeu 2) pour vérifier si la relation entre X (PDI) et Y (ANP d'N-AA) était stable entre les deux jeux de données. Dans cet exemple, nous avons ainsi pu vérifier que la relation entre les PDIE (g/j/kg PV) et l'ANP de l'azote alpha aminé (g/j/kg PV) n'était pas significativement différente entre ces deux situations.

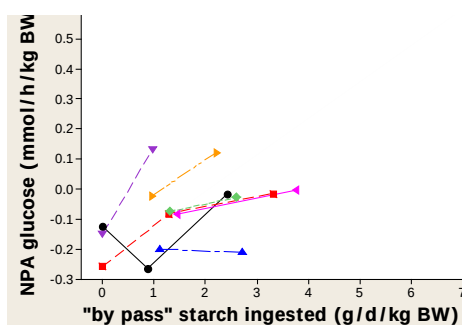
Variation MSI



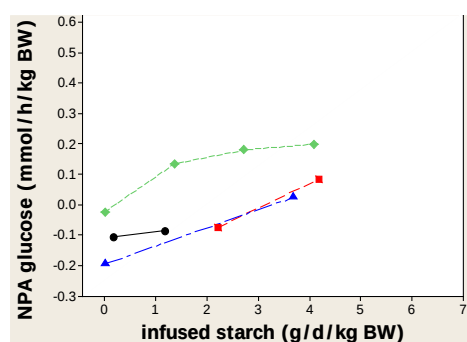
Variation % concentrés



Variation MSI et % concentrés



Infusion abomasale amidon



Infusion abomasale glucose

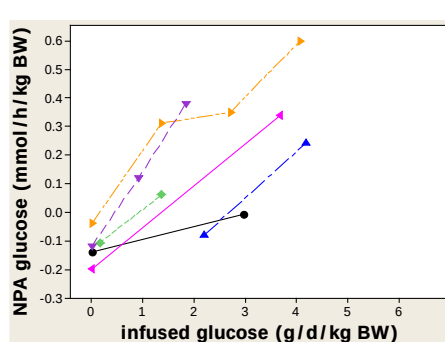


Figure 36 : Exemple de l'étude de l'ANP glucose: intérêt des sous jeux de données

Ceci a permis d'affirmer que la récupération nette en veine porte de l'N-AA dépendait prioritairement des PDIE et n'était pas affectée par l'origine des PDI (alimentaire vs microbien).

Un autre exemple concerne l'étude de la prédiction de l'ANP du glucose (Figure 36). La richesse du méta-dispositif a permis d'identifier 4 scénarii expérimentaux différents (*Communications n° 4*). Cela a permis de vérifier la stabilité des coefficients entre les différentes situations (variations strictes de l'ingéré, variations du pourcentage de concentré à MSI constante, variation de la nature du concentré, variations simultanées du pourcentage de concentré et de la MSI, infusions abomasales de glucose ou d'amidon). Ceci a également permis de mettre en évidence que lorsque l'augmentation de l'amidon by pass est due à la seule augmentation de l'ingestion, la récupération nette en veine porte du glucose est plus faible que lorsque qu'elle est due à une augmentation du % de concentré.

Cependant, en pratique, l'augmentation de l'ingestion étant quantitativement peu efficace pour augmenter la quantité d'amidon by pass, nous avons pu conclure que la récupération nette en veine porte du glucose est globalement indépendante des stratégies alimentaires permettant d'augmenter le by pass. Les effets du niveau alimentaire et de la teneur en amidon ne sont en effet pas additifs.

En revanche, pour une grande partie de nos modèles (*Publications n°1, 3, 4*), nous avons été confrontés au fait qu'il n'y avait que peu de données disponibles couvrant des niveaux d'ingestion supérieurs à 30g MS/j/kg PV. Il est donc difficile d'affirmer que nos modèles peuvent être appliqués sans problème à des vaches laitières hautes productrices. On trouve une illustration de cela dans le méta-dispositif utilisé pour prédire l'émission hépatique de glucose (*Publication n° 4*). Pour des niveaux d'alimentation allant jusqu'à 41,5 g MS/j/kg PV permettant une EMI maximale de 106 kcal/j/kg PV et une ANP maximale de C3 de 40 mmol/j/kg PV, une relation linéaire a été établie entre la disponibilité en précurseurs et l'émission de glucose. En élargissant ce jeu de données à des niveaux d'ANP de C3 pouvant atteindre 76 mmol/j/kg PV, la relation s'est avérée non linéaire démontrant un plateau. Une extrapolation de la relation linéaire initiale à des niveaux d'alimentation supérieurs à 40g MS/j/kg PV conduirait ainsi à une surestimation de l'émission hépatique de glucose.

2. Choix du modèle : GLM à effet fixe ou Mixed ?

Une des questions importantes sur le choix du modèle à utiliser a porté sur la modalité fixe ou aléatoire de l'effet publication. Sur la base de l'analyse des publications récentes, nous avons remarqué que la tendance actuelle des chercheurs, en particulier américains, était de favoriser les modèles Mixed à effet aléatoire.

Après réflexion, nous avons décidé de conserver les modèles GLM, avec les publications en effet fixe, comme l'ont préconisé Sauviant et al. (2005 ; 2008). Ceci permet de prendre en compte le fait qu'à chaque publication est associé un groupe d'animaux, une méthode de mesure, une équipe de recherche, etc. bien identifiée. Or les effets intrinsèques à ces différences peuvent influencer les mesures de flux portes ou hépatiques et il convient donc de relier ces facteurs aux résultats obtenus dans la publication. Les modèles GLM permettent d'intégrer ces facteurs dans l'effet publication, introduite dans le modèle en tant que co-variable.

De plus, l'analyse des facteurs interférents qui cherche à expliquer les variations de pentes individuelle, LSMeans, etc. n'a de sens que si on se place en effet fixe. De la même manière, l'analyse des données hors normes ou des leviers n'est possible que dans le cas de modèle fixe. L'analyse de facteurs de variations secondaires a donc été rendue possible par la prise en compte de la publication en effet fixe.

Enfin et surtout, l'analyse en effet fixe oblige à fixer une variation minimum sur les X. Cette étape permet de s'assurer que les effets quantifiés par nos modèles reflètent bien quantitativement les effets des variables identifiées. Au contraire, dans le cas des modèles Mixed, l'association aléatoire d'une publication à un résultat peut masquer certains facteurs de variation secondaires, voire l'effet de la variable principale.

Au delà de ces considérations théoriques, nous avons comparé les modèles Mixed et GLM sur nos données. Nous n'avons pas obtenu de différence significative entre modèles sur les coefficients associés aux paramètres, mais comme nous l'attendions, les écarts-types sur les paramètres et les RMSE avec les modèles Mixed étaient supérieurs à ceux obtenus avec le modèle GLM. Ce résultat n'est pas étonnant puisque dans les modèles GLM une partie de la variance est expliquée dans l'effet publication. Par contre l'analyse des facteurs interférents avec le modèle GLM a permis d'améliorer nos modèles, par l'introduction des facteurs de variations secondaires identifiés, ce qui n'aurait pas été possible avec les modèles Mixed.

Par exemple, l'analyse des facteurs interférents sur le modèle d'émission hépatique du lactate à partir de son ANP a mis en évidence l'influence de l'ANP du C3 (*Publication n°4*), qui a pu être introduite dans le modèle et ainsi améliorer sa précision.

De même, l'analyse des pentes individuelles sur le modèle de l'ANP des AGV en fonction des TDN1x, a montré des divergences de réponse entre tdNDF et tdNFC. Ceci a permis d'affiner la prédiction, en proposant un modèle de l'ANP des AGV totaux qui tenait compte des deux variables tdNDF et des tdNFC (*Publication n°2*).

Ces réflexions laissent penser qu'une association des modèles Mixed et GLM est

envisageable, en particulier pour la mise en place de modèles finaux de prédiction. En effet, il semblerait intéressant de commencer l'analyse (analyse du jeu de données) et la recherche de prédicteurs sur la base des modèles GLM. Une fois le modèle établi, et lorsqu'il devient impossible de trouver d'autres facteurs expliquant l'effet publication, il est envisageable de tester le modèle, sur le jeu de données identifié avec le modèles GLM, à l'aide du modèle Mixed. Ceci conduirait nécessairement à augmenter l'incertitude sur les paramètres et présenterait l'avantage de se dédouaner de l'effet publication, permettant ainsi une utilisation moins critiquable des modèles en prédictif.

3. Caractérisation systématique des régimes

La portée d'une modèle reliant Y à X et la puissance de l'analyse des facteurs interférents, qu'elle concerne les résidus, les pentes individuelles ou les LSMeans, dépend fortement d'une part du nombre et de la nature des données disponibles présentant le couple [X, Y], et d'autre part du nombre et de la nature des facteurs secondaires considérés.

Mon travail de thèse a donc commencé par une caractérisation complète et homogène des aliments et des régimes (composition chimique, valeur nutritive...), et des animaux (BE....) à partir d'un référentiel commun (dans notre cas, les tables INRA de valeur des aliments). Cette caractérisation a cependant nécessité la mise en place de règles strictes. Premièrement, en ce qui concerne le choix de l'aliment. En particulier lorsque l'aliment de la publication n'était pas référencé dans les tables INRA, comme le foin de blé, nous avons remplacé l'aliment par un autre aliment équivalent (famille botanique conservée, présence ou non de conservateurs...). Deuxièmement, en ce qui concerne la validation de la composition chimique estimée des rations, nous avons choisi un compromis entre les teneurs en parois et en matières azotées et la dMO, avec une attention particulière pour l'ajustement de la dMO des rations. Ce choix n'est pas neutre dans l'interprétation des résultats et dans la manière dont on peut croiser les données de FLORA avec celles d'autres bases.

Ceci m'a permis d'une part d'utiliser comme prédicteurs certains critères qui n'étaient pas disponibles a priori avec les seules informations rapportées dans les publications, telles que la MOF ou encore la teneur en amidon des régimes, et d'autre part de lancer la recherche des facteurs interférents sur l'ensemble des caractéristiques des rations et des animaux ; par ailleurs cette stratégie permet d'avoir une approche cohérente avec le système INRA dans son ensemble, et facilite l'analyse comparative des résultats obtenus avec d'autres bases caractérisées selon les mêmes règles (cf. Paragraphe B. 1).

4. Analyses et exploitation des facteurs interférents

Au début de ce travail, la méthodologie utilisée dans l'équipe considérait l'analyse des **pent**es individuelles comme une étape des post-analyses, permettant de vérifier la stabilité des modèles générés. Au cours de mon travail de thèse, j'ai proposé que l'analyse des pentes individuelles s'effectue à un stade plus en amont de la démarche, c'est-à-dire au stade de l'exploration du métadispositif. Ceci nous a permis d'approfondir la connaissance du méta dispositif, et de choisir les prédicteurs avec plus d'assurance. Le choix d'un prédicteur X se trouvait ainsi mieux justifié si les effets de X sur Y n'étaient pas affectés par des facteurs de variation secondaires. De même, au début de ce travail, l'analyse des facteurs interférents sur les **résidus** était appliquée exclusivement en inter-étude. J'ai complété cette approche par une analyse systématique en intra-étude, qui a permis de mettre en évidence des facteurs de variations secondaires, non décelables en inter-étude ou par l'étude des pentes. L'ensemble de ces mesures a également guidé la constitution de « sous-jeux » de données, qui permettent de vérifier si le modèle est valable pour différents scénarii expérimentaux, ou de nuancer certaines conditions d'application de nos modèles. C'est le cas pour les modèles de l'ANP de glucose qui ont déjà été présentés, dont l'étude des résidus a confirmé que l'effet strict de la MSI diminue la récupération nette en veine porte du glucose absorbé.

Par ailleurs, l'analyse systématique des facteurs interférents sur les **LSMeans** a permis de mettre en évidence des facteurs de variation inter-expérience, parfois « cachés » derrière des facteurs qualitatifs. Par l'analyse des LSMeans, nous avons notamment mis en évidence que les différences entre espèces étaient à priori imputables à des différences d'alimentation, et notamment à la proportion de parois digérées dans la MOF (ratio NDFdR/MOF), visibles sur les LSMeans. Au cours de ce travail, il est apparu clairement que les facteurs interférents mis en évidence sur les LSMeans sont le plus souvent non intégrables statistiquement dans les modèles en tant que covariable additionnelle (même en remplacement du facteur étude). Dans le cadre du stage de Master 2 de Sylvie Amblard, nous avons développé un jeu de données fictif permettant de mieux cerner les conditions permettant d'intégrer ces facteurs interférents dans les modèles; ce travail suggère que le nombre limité de données constitue la principale limite pour pouvoir introduire des covariables additionnelles dans nos modèles.

En revanche, lorsqu'un facteur apparaît significativement interférent sur les **pent**es individuelles, il est le plus souvent possible de l'inclure en covariable additionnelle dans le modèle. Sur le plan statistique, cette inclusion pose cependant la question de la stabilité des autres termes du modèle, de la sensibilité du modèle à cette nouvelle covariable, et du gain de précision dans la prédiction.

Au plan pratique, cette inclusion peut également permettre une utilisation du modèle dans des conditions plus larges, mais la covariable additionnelle doit être facilement utilisable, ce qui peut conduire à rechercher un critère intégratif permettant de la prendre en compte par le biais de critères simples à mesurer ou à estimer. Par exemple, pour l'émission hépatique du BHBA, l'introduction de la concentration artérielle des AGNE permettait d'améliorer considérablement le modèle. Ce critère n'est cependant pas facilement mesurable et nous l'avons donc remplacé par le BE des animaux qui est facilement évaluable et qui est corrélé aux concentrations artérielles des AGNE.

L'analyse et l'exploitation des facteurs interférents permettent de soulever la question du choix d'un modèle générique. Dans mon travail de thèse nous avons fait le choix de rechercher des modèles aussi génériques que possible, c'est-à-dire applicables aux plus grands nombres d'animaux, quelque soit leur espèce (bovins / ovins), leur état physiologique (entretien, lactation, croissance ou engraissement, gestation) et leur alimentation (NA et nature de la ration). Ce type de modèle a l'avantage de pouvoir être appliqué dans la majorité des cas. Il constitue aussi un outil scientifique pour dissocier en partie les effets imputables aux caractéristiques des animaux (espèce, état physiologique) de ceux directement dus à l'alimentation (nature du régime, NA, utilisation d'additifs, etc.). Ainsi, certaines différences de réponses entre bovins et ovins, discutées dans les publications, pourraient être dues aux différences d'alimentation entre les deux populations de données (ovins vs bovins), plutôt qu'à un effet strict de l'espèce. Cependant, un modèle générique n'est pas forcément le mieux adapté, ni le plus précis. Il doit probablement être complété par la définition de réponses marginales.

5. Evaluation statistique des modèles

Les modèles empiriques sont souvent considérés comme étant « auto validés » dans les champs des données et des facteurs considérés, même si le résultat de l'analyse, et notamment la structure de l'analyse, peut aboutir à une conclusion de « non validation » (Sauvant, communication personnelle). Cependant, dans une perspective d'utilisation de ces modèles à des fins prédictives, il m'est apparu indispensable de procéder à une évaluation statistique des modèles. Une validation externe à proprement parler était impossible puisque l'ensemble des données disponibles avait déjà été utilisé pour générer nos modèles. Les méthodes de cross-validation (Stone, 1974 ; Geisser, 1975) n'ont pas non plus pu être mises en œuvre (travail avec au moins 5 échantillons, Garcia et Agabriel, 2008), car le nombre de publications n'était pas suffisant.

Au cours de ce travail, j'ai donc mis en place une première évaluation statistique des

modèles en vérifiant l'absence de biais systématique.

Comme nous l'avons vu, l'analyse des facteurs interférents permet de réaliser un premier tri des sources de biais systématique. Cependant, cette évaluation n'est pas suffisante. En effet, elle ne fait appel a priori qu'aux données ayant servi à construire le modèle.

Une autre étape a consisté à utiliser les modèles comme des modèles prédictifs appliqués à l'ensemble des données de la base, c'est à dire sur un jeu plus large que le jeu de données ayant réellement servi à générer les modèles. Ainsi, l'évaluation des modèles AGV a été réalisée avec 50 % de données de plus que le jeu ayant servi à créer les modèles (*Publication n°1*).

La comparaison de la relation entre les valeurs observées (Y) et prédites par les modèles (X) à la 1^{ère} bissectrice a permis de valider l'ensemble de nos modèles. Dans un 2^{ème} temps, la recherche de facteurs interférents sur les résidus (valeur prédite – valeur observée) a permis de mettre en évidence des biais éventuels. Par exemple, dans le cas de la prédiction de l'ANP des AGV totaux à partir de la MOF ingérée, nous avons montré que les produits de fermentation des ensilages étaient des facteurs interférant sur les résidus, et qu'ils devaient donc être intégrés dans le modèle pour pourvoir l'utiliser à des fins prédictives.

Cette 1^{ère} étape d'évaluation des modèles pourrait être complétée par des méthodes statistiques permettant d'évaluer les biais, la précision, et la justesse des modèles. Durant mon travail de thèse, nous avons initié ce travail d'évaluation des modèles avec des stagiaires en statistiques (Amblard, 2008 ; Vincent, 2009).

Ainsi, il a été proposé de calculer le biais moyen qui permet d'estimer le type d'erreur d'estimation du modèle. Celui-ci est calculé par la moyenne des différences entre valeurs prédites et valeurs observées, autrement dit par la part non expliquée par le modèle. Le signe de cette moyenne donne un indice sur une éventuelle sous-estimation ou surestimation de la prédiction. De plus, il est possible de calculer le carré moyen de prédiction qui est une estimation de l'erreur générale sans tenir compte du signe de la différence entre les valeurs prédites et observées. Cet estimateur de la validité d'un modèle permet également de comparer 2 modèles : plus il est faible, plus le modèle est bon.

Un autre aspect de ce stage de Master a consisté en une réflexion sur la prise en compte des erreurs associées à chaque critère, et qui n'est pas encore prise en compte dans nos modèles. En effet, les mesures sont sujettes à certaines incertitudes, qui peuvent entraîner un biais sur les estimations des paramètres lorsqu'elles sont utilisées comme variables explicatives ou d'intérêt dans les modèles de régression linéaire (Dagenais et Dagenais, 1997).

De même, certains critères proviennent d'estimations, ce qui peut entraîner le même type de biais. Afin de tenter de pallier ces erreurs de mesure ou d'estimation, il est possible, si celles-ci sont connues, d'appliquer une pondération des données.

Le travail de stage de Master 2 de Michael Lemesle (2005) réalisé dans l'équipe NEM, avait déjà montré que la pondération était difficilement applicable lorsque le nombre d'études disponibles était limité. Par ailleurs, Michael Lemesle a montré que la pondération présente le désavantage de modifier les unités, ce qui complique l'interprétation physiologique des résultats

La méthode des variables instrumentales (Griffith et al., 1993) peut également être proposée, afin de prendre en compte les erreurs de mesure. Cette méthode est développée depuis plusieurs années pour l'étude des données économiques, qui souffre a priori des mêmes types d'erreurs que celles rencontrées dans les problématiques scientifiques. Cette méthode suppose que dans l'étude des relations de Y à partir de X, il existe une variable U non directement observable, non indépendante de X qui serait la cause de Y. Elle consiste ainsi à établir une variable Z déterminant X et indépendante de U appelée variable instrumentale.

Enfin, dans le cas de critères estimés (erreur = écart-type associé aux erreurs du modèle), il est possible d'introduire un bruit sous forme d'ajout d'une variable aléatoire « simulée ». Cette méthode est mise en œuvre dans le cas où le bruit résulte essentiellement d'une erreur de mesure additive (Robin, 2002). Ceci permet d'introduire une variation sur les données de même envergure que l'erreur aléatoire non expliquée sur la variable.

Ces stratégies n'ont pas pu être appliquées dans le cadre de ma thèse.

6. Automatisation des statistiques

Une autre contribution méthodologique de mon travail de thèse a consisté à accompagner le développement d'une automatisation des statistiques indispensables à l'élaboration des modèles de méta-analyse. Dans le cadre d'un projet Lifegrid financé par la région Auvergne, une statisticienne (Audrey Picard) a été engagée par l'équipe NEM pour un CDD de 18 mois pour réaliser ce travail à l'aide du logiciel SAS. Je me suis fortement impliquée dans ce projet en participant d'une part à la réflexion sur les différentes étapes à introduire dans le programme, et d'autre part en testant le programme aux différentes étapes de son développement à l'aide des données dont j'avais acquis l'expertise par la méthode non automatisée. Ce travail a abouti à un programme relativement simple d'utilisation, avec une interface utilisateur. Si l'automatisation apporte un gain de temps important (en particulier pour les nombreuses analyses descriptives), elle réduit inévitablement, par sa simplicité,

l'imprégnation des données par l'utilisateur et donc sa maîtrise du méta-dispositif (et donc l'interprétation des données) par comparaison à la méthode non automatisée (mais plus lente) utilisant Minitab.

Je pense que la combinaison des deux méthodes est une bonne proposition, et devra être explorée plus avant.

La première phase d'exploration, indispensable, doit rester à mon sens non automatisée (à l'aide de Minitab par exemple), pour permettre de s'imprégner totalement du méta-dispositif (en particulier grâce aux analyses graphiques...). Je pense qu'il est important également d'être bien imprégné des résultats, et cela est plus facile avec la méthode non automatisée. Ainsi, au cours de mon travail de thèse, je savais par cette méthode dans la plupart des cas à quoi correspondait chaque donnée et je connaissais parfaitement les publications « à risque » qu'il fallait repérer afin de vérifier leur comportement et leur impact sur le modèle. Je n'aurais certainement pas abouti à la même connaissance des données avec un programme d'automatisation des statistiques. Le programme d'automatisation peut cependant tout à fait être utilisé en deuxième partie, lorsque les variables explicatives ont a priori été identifiées. Il permet d'obtenir rapidement l'ensemble des analyses statistiques en vérifiant au préalable les conditions d'application des tests (normalité, homogénéité des variances...). Il prend toute sa valeur dans les cas où il faut obtenir rapidement des tableaux de valeurs, les corrélations-inter-intra, etc. par exemple lors de la rédaction des publications.

Ce programme a également l'avantage de permettre la comparaison des modèles GLM et Mixed puisque son interface permet de changer de type de modèle rapidement.

7. Evolution de la base de données (De FLORA vers Nutriflux)

L'enrichissement permanent de la base FLORA et son utilisation par différentes équipes nous a conduits à réfléchir à une évolution potentielle de la base FLORA vers un système partageable. En effet, FLORA est une base hébergée par Access, dont la version la plus complète est assurée par un seul gestionnaire (Jean Vernet, URH-NEM) qui doit donc intégrer chacune des publications renseignées.

Or, plusieurs personnes réalisent une veille bibliographique des publications à implémenter dans FLORA (équipes NEM et DIMA à l'URH et équipe AAC au Canada dans le cadre d'une collaboration sur le projet Flux de Nutriments entre l'INRA et Agri-Food Canada), de sorte que l'implémentation ne peut plus être assurée par un seul gestionnaire. De plus, lorsqu'une erreur de saisie est repérée par les utilisateurs, cela impose une correction dans la version actualisée de la base. Ainsi, l'évolution de FLORA (sous Access) vers Nutriflux (sous My SQL), permettra, à terme, l'hébergement par Internet de la base et donc sa

diffusion, par accès restreint. J'ai travaillé sur ce projet en participant à la réflexion sur la structure et la conception de la base.

Tableau 2 : Description des régimes issus des publications de FLORA utilisées

	adulte non productif					croissance post sevrage					gestation					lactation				
	n	moyenne	écart type	minimum	maximum	n	moyenne	écart type	minimum	maximum	n	moyenne	écart type	minimum	maximum	n	moyenne	écart type	minimum	maximum
Composition de la ration (g/kg MS)																				
MOD	149	607,70	82,72	442,00	852,24	91	680,03	100,61	461,21	844,05	11	638,37	49,16	576,36	673,80	29	699,53	42,55	604,58	775,64
NDF	149	516,38	134,97	133,43	735,60	91	389,90	162,64	149,05	710,20	11	511,76	20,01	497,34	537,01	29	379,56	91,31	209,64	533,89
MAT	149	133,32	34,12	44,68	230,06	91	141,15	38,18	65,46	247,35	11	113,02	0,22	112,86	113,30	29	153,43	29,56	115,23	214,20
CB	149	272,27	80,81	39,50	417,00	91	198,99	101,20	46,53	404,00	11	264,83	6,56	260,10	273,11	29	182,46	57,69	106,96	280,38
amidon	149	248,12	186,74	0,00	709,35	91	347,26	197,94	0,00	673,51	11	114,93	7,59	105,36	120,40	29	202,65	112,88	21,00	435,70
MOF	149	501,38	46,84	401,33	609,69	91	507,25	54,60	416,81	633,34	11	473,14	14,78	454,50	483,79	29	523,77	53,23	435,62	630,94
NDFdR	149	269,28	89,88	85,41	427,00	91	208,24	88,09	85,65	403,00	11	271,00	38,85	222,00	299,00	29	213,65	71,00	108,59	363,01
PDI	149	81,87	19,49	27,73	142,45	91	95,45	14,05	52,26	124,43	11	70,36	3,21	68,04	74,41	29	103,52	22,52	75,73	140,30
UF	149	0,78	0,14	0,50	1,19	91	0,85	0,20	0,44	1,17	11	0,83	0,09	0,72	0,90	29	0,96	0,09	0,78	1,10
concentré (%)	149	19,14	30,70	0,00	100,00	91	44,92	39,47	0,00	100,00	11	27,96	11,05	20,00	41,90	29	53,73	24,75	27,30	100,00
EM (MJ/kg MS)	149	9,37	1,41	6,44	13,12	91	10,47	1,65	6,76	13,04	11	9,95	0,98	8,71	10,66	29	11,17	0,89	9,17	12,55
Ingestion (g/j/kg PV)																				
MS	149	17,83	8,69	0,00	41,52	91	19,71	8,23	0,00	38,81	11	16,16	6,28	12,12	29,65	29	26,86	7,67	14,04	41,65
MOD	149	10,96	5,51	0,00	23,00	91	13,23	5,34	0,00	26,18	11	10,07	3,10	8,17	17,09	29	18,87	5,58	8,62	28,72
NDF	149	9,26	5,49	0,00	26,72	91	4,71	3,11	0,00	12,44	11	8,37	3,59	6,03	15,92	29	9,82	2,56	5,17	15,38
amidon	149	1,90	3,55	0,00	15,17	91	6,45	4,22	0,00	17,32	11	1,82	0,58	1,46	3,12	29	5,82	3,76	0,40	16,10
MOF	149	9,10	4,56	0,00	20,77	91	10,01	4,34	0,00	19,36	11	7,57	2,70	5,86	13,47	29	13,87	3,16	6,47	18,80
NDFdR	149	4,95	3,07	0,00	14,35	91	4,24	2,80	0,00	11,20	11	4,18	0,99	3,63	6,58	29	5,44	1,50	2,68	8,23
AMdR	149	3,97	2,81	0,00	10,10	91	4,53	3,30	0,00	12,58	11	1,454	0,172	1,287	1,880	29	3,62	2,37	0,34	8,72

B. Validation et application des modèles prédictifs de flux splanchniques de nutriments.

1. Domaine de validité

L'examen des données disponibles a montré que toutes les situations nutritionnelles et physiologiques n'étaient pas représentées. Nos modèles s'appliquent principalement à des ingestions allant jusqu'à 30 g MS/j/kg PV et des rations comprenant en moyenne moins de 70 % de concentrés. L'ensemble des caractéristiques nutritionnelles, tous jeux de données confondus, est repris dans le tableau 2. Les aliments les plus fréquemment rencontrés dans les rations des animaux issues de FLORA sont les foin de dactyle et de luzerne, le maïs grain, le blé, la luzerne déshydratée, le corn gluten meal, le tourteau de soja et l'ensilage de maïs. On peut regretter que le métadispositif ne présente pas un nombre suffisant d'études comportant des rations enrichies en lipides ou contenant des additifs (cf. Paragraphe C.2)

Les animaux ne présentaient pas de hauts niveaux de production. Les productions laitières étaient le plus souvent inférieures à 30 kg/j. De la même manière, peu de publications traitaient de bovins en phase intensive de finition. Les moutons étaient principalement en phase d'entretien, et un certain nombre de données étaient basées sur l'effet du jeûne. Aucune donnée utilisable ne concernait les brebis laitières. De la même manière, il faut souligner l'absence de résultats sur chèvres dans la base de données. Pour pallier ce manque d'informations, l'augmentation substantielle des efforts de recherche sur animaux multi-cathétérisés est difficilement envisageable. En effet les méthodes de mesure de flux artério-veineux sont lourdes et contraignante, et ne permettent pas d'explorer l'ensemble des situations manquantes. D'une manière générale, la lourdeur de ce type d'expérimentation *in vivo* reste un frein majeur à l'élargissement des connaissances sur le métabolisme splanchnique. Par ailleurs, les pressions sociétales croissantes sur l'éthique expérimentale sont plus grandes que par le passé.

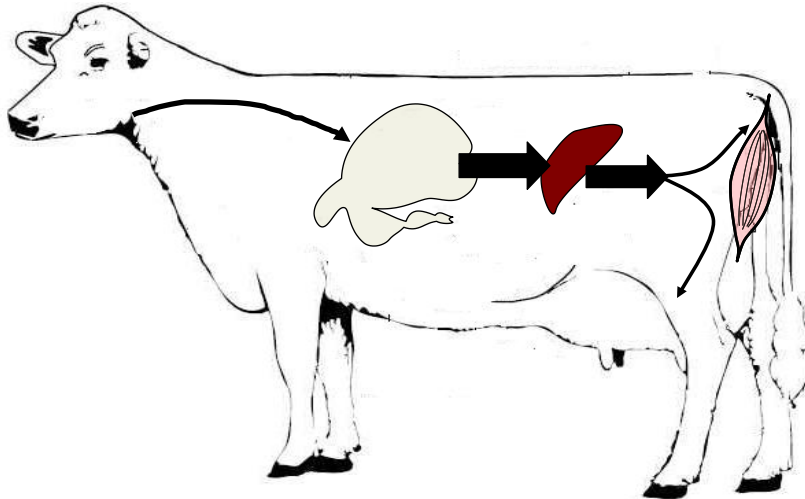
Pour faire progresser les recherches à la fois vers plus de généricité et de sensibilité aux réponses marginales, l'étude comparée de nos modèles empiriques avec d'autres modèles empiriques ou mécanistes de flux de nutriments au niveau du tube digestif (rumen et/ou intestin), du foie ou de l'animal entier, nous paraît constituer une piste intéressante et fiable pour l'élargissement des connaissances (cf. Paragraphe B.3).

Objectifs

Faire la synthèse des connaissances disponibles pour prédire

1. l'apparition nette en veine porte des nutriments énergétiques hydrosolubles

2. l'émission splanchnique vers les tissus d'intérêt économique



À partir de prédicteurs faciles à déterminer et suffisamment génériques pour être utilisés, à terme, dans les pratiques de rationnement

Figure 37 : Objectifs du travail

2. Modèles prédictifs : Résultats

L'objectif de ce travail était d'établir des équations de réponse de l'ANP et de l'émission hépatique et plus largement splanchnique (Figure 37) de l'ensemble des nutriments énergétiques, aux variations du niveau d'alimentation, de la nature des rations (caractérisées selon le système INRA d'évaluation des aliments) et de la caractérisation des animaux (espèce, états nutritionnel et physiologique). Nous avons obtenu des modèles statistiquement « valides » dans le domaine de validité défini. Les équations obtenues peuvent être appliquées indépendamment de l'espèce. Pour ce qui concerne le statut des animaux, seuls les coefficients appliqués aux prédicteurs changent, montrant des intensités de réponse différentes selon l'état nutritionnel et physiologique.

Il est intéressant de constater que les prédicteurs alimentaires qui sont apparus les plus valides statistiquement, étaient également les plus pertinents d'un point de vue physiologique : MOF pour les AGV totaux et le BHBA, nature de la MOF (NDFdR/MOF) pour les profils d'AGV, l'AMdIG (calculé selon Offner et Sauvant 2004 à partir de valeurs table de dégradation *in sacco* de l'amidon et du niveau d'ingestion) pour le glucose, PDIE pour l'azote alpha aminé.

Au niveau du foie, lorsque le prélèvement hépatique suivait la loi d'action de masse, l'ANP des métabolites est apparu être un prédicteur valide et pertinent. L'ANP étant elle-même prédite à partir de critères alimentaires, la majorité des lois de réponse portant sur le prélèvement hépatique des nutriments considérés pouvait être établie à partir de critères alimentaires. Une telle simplicité n'était plus applicable pour la prédiction de l'émission hépatique de nutriments synthétisés dans le foie.

Ainsi, par exemple, la prédiction de l'émission hépatique du BHBA (et dans une moindre mesure celle du C2) a nécessité la prise en considération l'état nutritionnel et les besoins énergétiques des animaux, synthétisés dans la notion de BE. Ce critère a pallié l'absence de mesure de certains flux afférents de nutriments, tels que les AG longs d'origine endogène. La prédiction des flux nets hépatiques de glucose a nécessité la prise en compte de l'EN de production, du BE et/ou des précurseurs d'origine endogène (mobilisation des protéines musculaires et des acides gras des tissus adipeux). Cette observation a mis en exergue le fait qu'au niveau splanchnique l'approche « push » (alimentation) n'est plus suffisante pour prédire la fourniture de nutriments aux tissus, et qu'elle doit être complétée par une approche « pull » (besoins des animaux).

Assimiler le BE à un critère représentatif des régulations de type « pull » est simpliste et peut-être erroné car il exprime plutôt l'équilibre nutritionnel atteint par l'animal en proie à des contraintes de disponibilités en nutriments et de potentiel génétique de production.

Toutefois, si ces aspects étaient déjà pressentis (Ortigue et al., 2003), aucun travail n'avait jusqu'à présent, à ma connaissance, permis de quantifier l'influence individualisée du « pull » et du « push ». Par exemple dans le cas de l'émission hépatique de BHBA (*Publication n°3*), nous avons pu quantifier le fait que la disponibilité en substrats d'origine alimentaire (MOFI) expliquait 14% de la variance du modèle alors que la fourniture de substrats d'origine endogène (appréciée par le BE) en expliquait une part majoritaire (50%), et que les 36% restant provenaient de l'interaction BE $\times$ état physiologique.

Enfin, un autre résultat intéressant de ce travail est illustré par le modèle de prédiction de l'émission hépatique de glucose. Très peu d'études expérimentales avaient mesuré la quantité totale de précurseurs arrivant au foie. En combinant les données expérimentales disponibles et les modèles de prédiction pré-établis, nous avons montré qu'un critère intégratif de la disponibilité totale en précurseurs était un prédicteur pertinent.

En conclusion les lois de réponse de l'émission splanchnique de nutriments ont pu être établies grâce à la combinaison de prédicteurs alimentaires et d'indicateurs du niveau de production ou de l'état nutritionnel de l'animal.

Enfin, il faut souligner que dans l'ensemble, un nombre limité de facteurs interférents reste identifiable sur les modèles d'ANP, ce qui traduit une certaine généricité des relations et est prometteur pour une utilisation ultérieure des modèles prédictifs. Le nombre de facteurs de variation secondaires est cependant supérieur dans le cas des modèles d'émission hépatique et splanchnique, de manière consistante avec la pluralité des facteurs de variations associés aux régulations de type « push » ou « pull ». Le travail effectué a commencé à hiérarchiser l'influence quantitative de ces facteurs de variation secondaires sur les modèles.

Ce point sera développé dans les perspectives (cf. Paragraphe C).

3. Validation des modèles prédictifs.

Outre l'évaluation statistique basée sur la comparaison des valeurs prédites ou observées, nous avons conduit d'autres étapes pour tenter de mieux évaluer la capacité prédictive de nos modèles. En particulier nous les avons confrontés à des modèles ou des données obtenus par d'autres auteurs. Ainsi les modèles d'ANP d'AGV ont été comparés (Figures 38, 39, 40) aux modèles de production d'AGV au niveau du rumen proposés par Nozière et al. (2007).

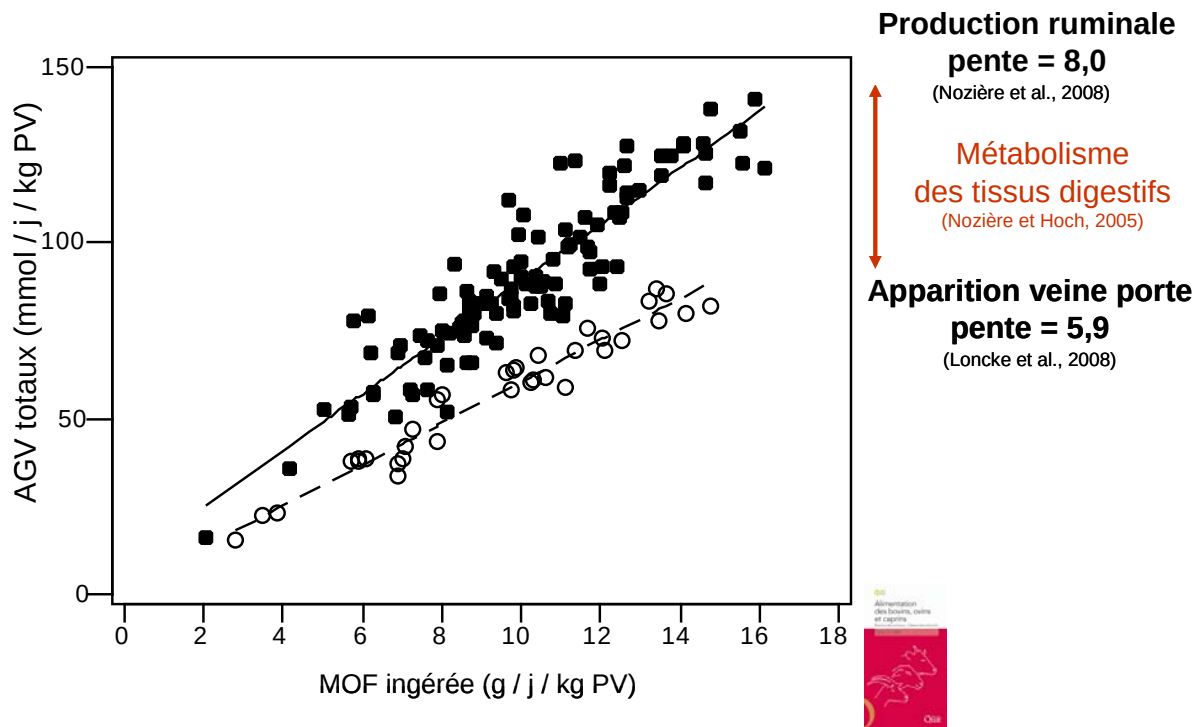


Figure 38 : Cohérence avec les modèles rumen d'AGV totaux

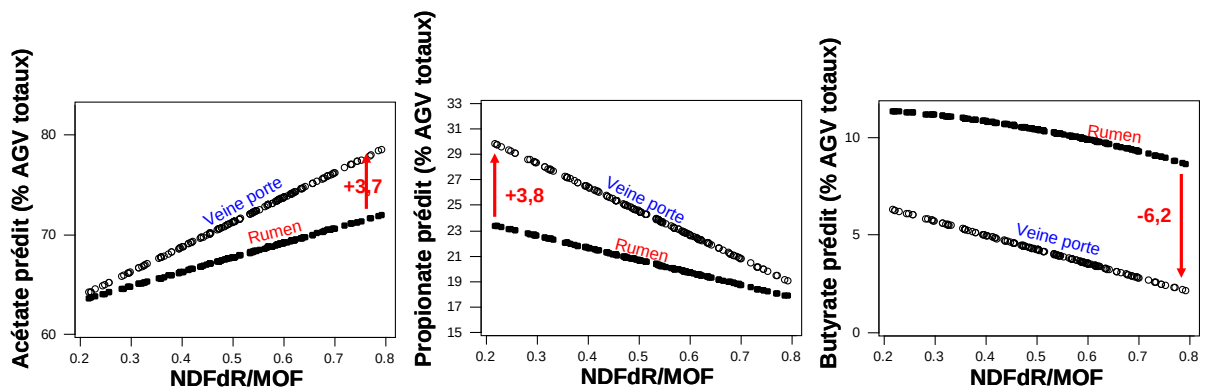


Figure 39 : Cohérence avec modèles rumen de profils d'AGV

Les différences indiquées par les flèches correspondent à des différences moyennes entre les deux modèles.

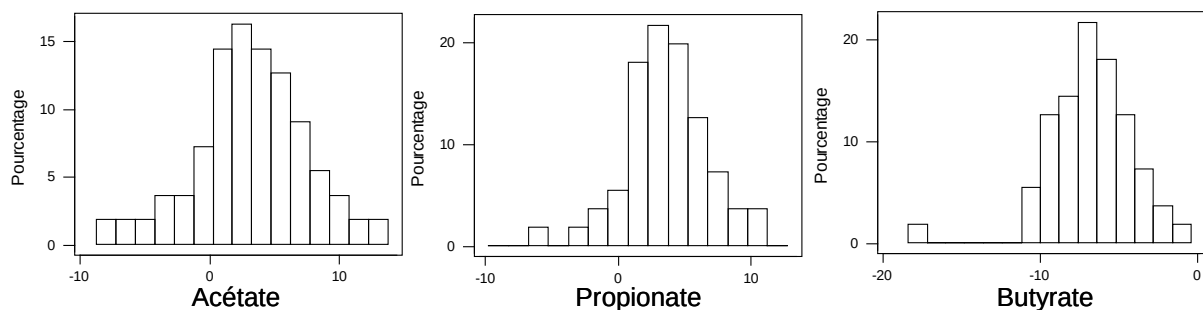


Figure 40 : Histogramme des fréquences des différences observées entre le profil mesuré d'AGV en veine porte et dans le rumen

De plus l'ANP de nutriments prédits par nos modèles a été comparée à des valeurs mesurées expérimentalement au cours d'un essai réalisé récemment dans l'équipe NEM.

3.1. Comparaison avec des modèles de production ruminale d'AGV

La pente de notre modèle de prévision de l'ANP des AGVT à partir de la MOF ingérée suggère une variation de 5,9 mol AGV totaux / kg MOF. Par la même approche conduite sur la base Prod-AGV qui recense les mesures de production ruminale d'AGV (avec des régimes également caractérisés selon les critères des tables INRA) ont mis en évidence une pente de 8,0 mol AGVT / kg MOF (Nozière et al., 2007, Figure 38).

La différence des pentes obtenues avec les deux modèles suggère une récupération moyenne en VP de 75% des AGV totaux produits dans le rumen, ce qui est cohérent avec les mesures de récupération en veine porte d'AGV infusés dans le rumen (Nozière et Hoch, 2005).

De même, nos modèles de profils d'AGV dans l'ANP peuvent être comparés à des modèles de profils d'AGV dans le rumen obtenus sur la base ProdAGV à partir du même prédicteur (NDFDR/MOF). Cette comparaison suggère un écart moyen entre les modèles de $+3,7 \pm 1,4$; $+3,8 \pm 1,2$ et $-6,2 \pm 0,4$ mol/100 mol pour C2, C3 et C4 (Figure 39). Dans le cadre du stage de Nicolas Vincent que j'ai co-encadré au cours de ma dernière année de thèse, nous avons pu quantifier que sur l'ensemble des publications pour lesquelles le profil ruminal et l'ANP des AGV avaient été mesurés simultanément, l'écart moyen était de $3,0 \pm 4,2$, $3,5 \pm 3,0$ et $-6,4 \pm 2,2$ mol/100 mol AGV totaux pour C2, C3 et C4 (Figure 40). La bonne cohérence quantitative entre ces 2 approches constitue un nouvel élément de validation de nos modèles. Ce résultat reflète parfaitement les connaissances sur le métabolisme des AGV par les TDVP, à savoir un enrichissement relatif du C2 et du C3 par rapport au C4, qui est le substrat privilégié de l'épithélium ruminal.

3.2. Comparaison avec résultats expérimentaux

La seconde étape de validation des modèles a consisté à comparer les valeurs prédites d'ANP, de prélèvement hépatique et d'émission splanchniques de nutriments à des données indépendantes mesurées sur agneaux recevant des rations équilibrées ou déséquilibrées en azote ou en énergie (thèse de Guillaume Kraft, 2009, figure 41). Nous avons ainsi montré que nos modèles ont été capables de prédire, avec une bonne précision les valeurs d'ANP, de bilans foie et tissus splanchniques du C2, C3, C4 et BOHB (Figures 42 et 43). Ce travail reste à compléter pour les autres nutriments et a été soumis à l'ISEP 2010 (*Communication n° 8*).

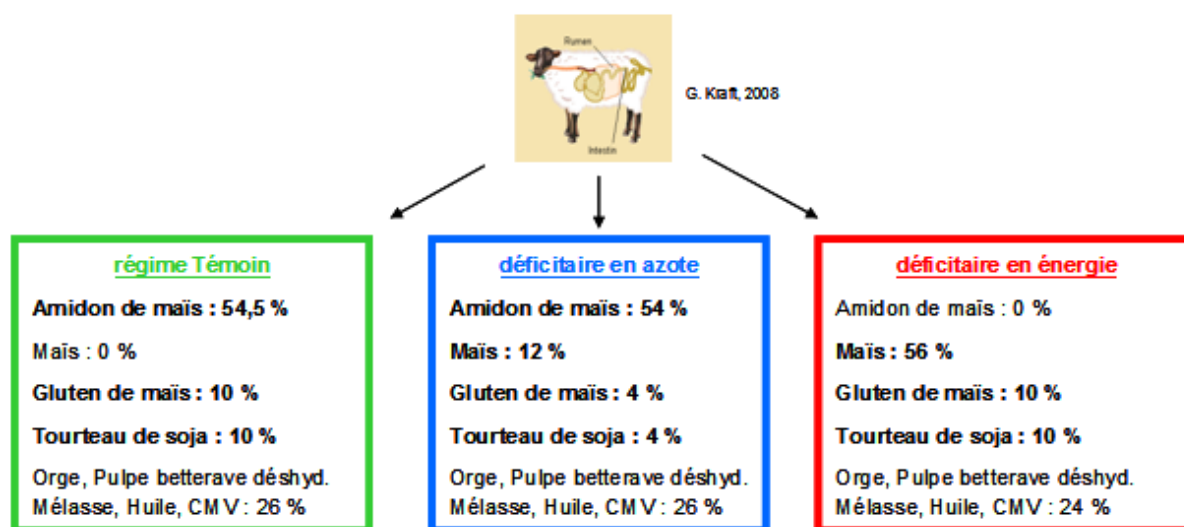


Figure 41 : Plan expérimental d'une étude sur agneaux, utilisée pour valider les modèles d'ANP de nutriments

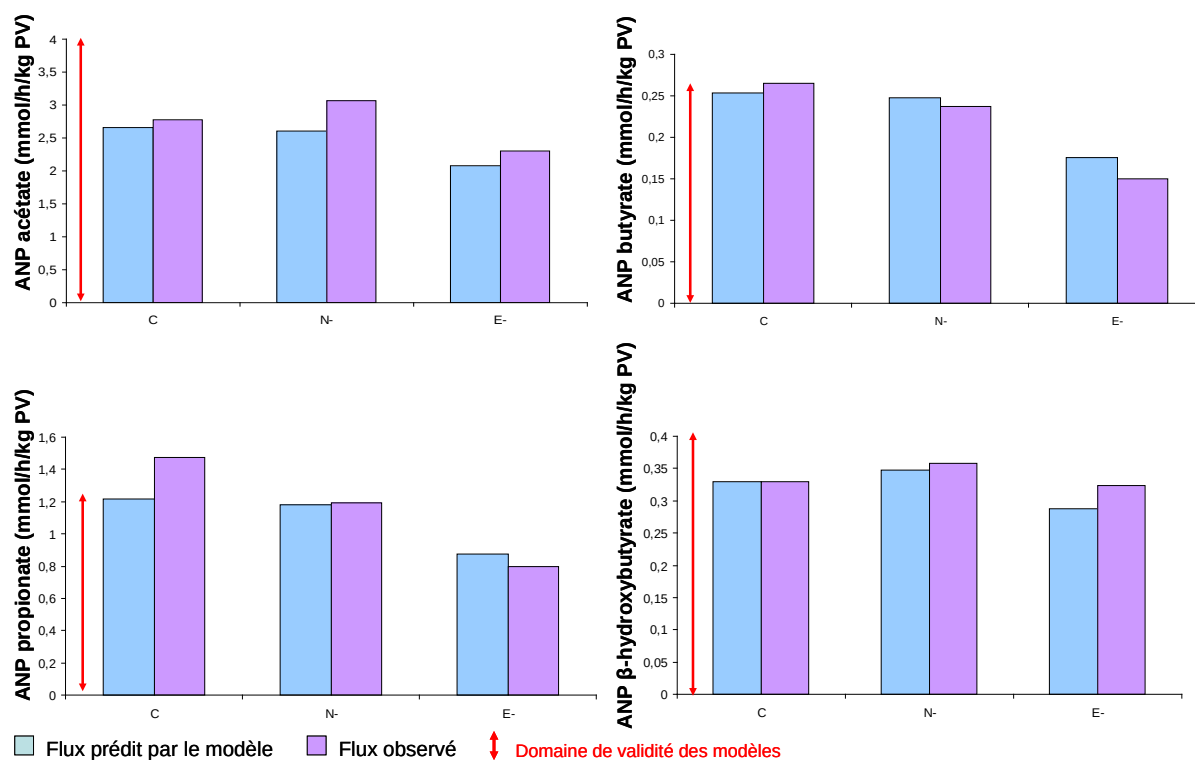


Figure42 : Validation des modèles d'ANP de nutriments (AGV, BHBA) :
Comparaison des valeurs prédites et observées

T : régime témoin ; N- : régime déficitaire en azote ; E- : régime déficitaire en énergie

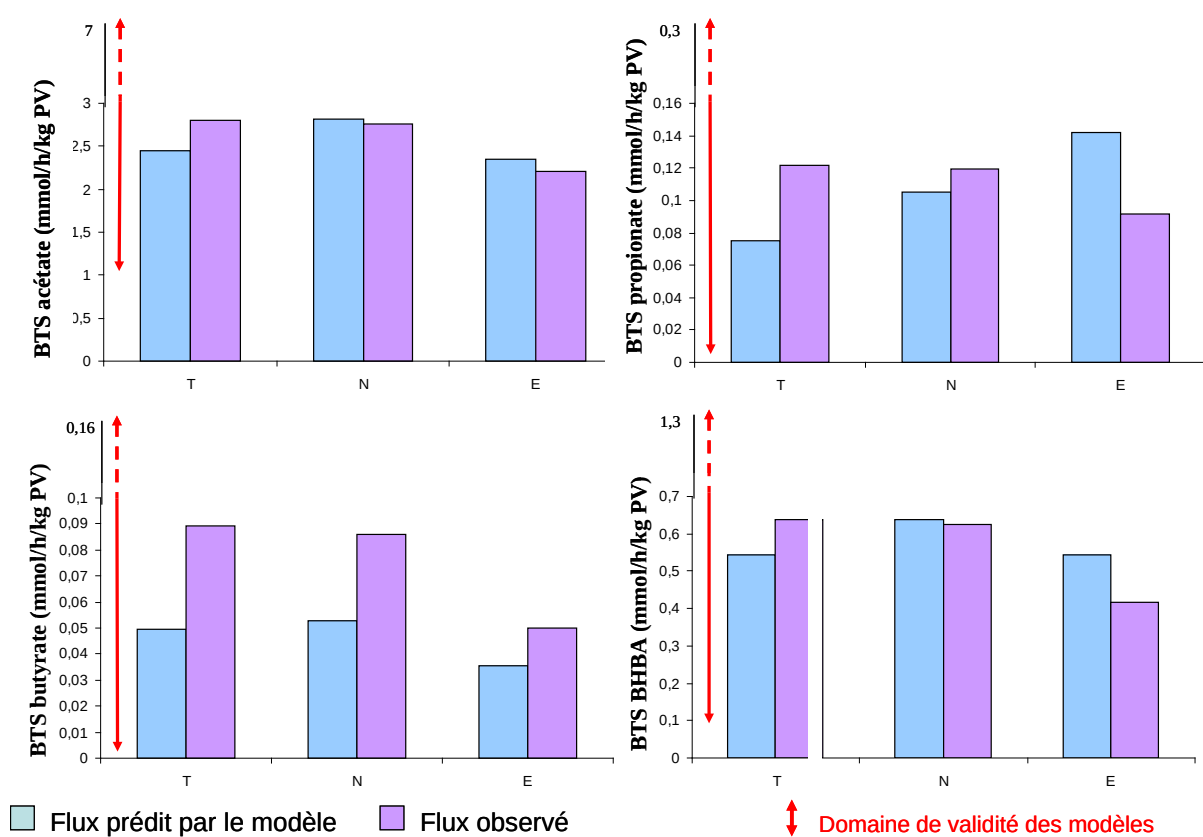


Figure 43 : Validation des modèles de l'émission nette splachnique de nutriments (AGV, BHBA) : Comparaison des valeurs prédites et observées

T : régime témoin ; N- : régime déficitaire en azote ; E- : régime déficitaire en énergie

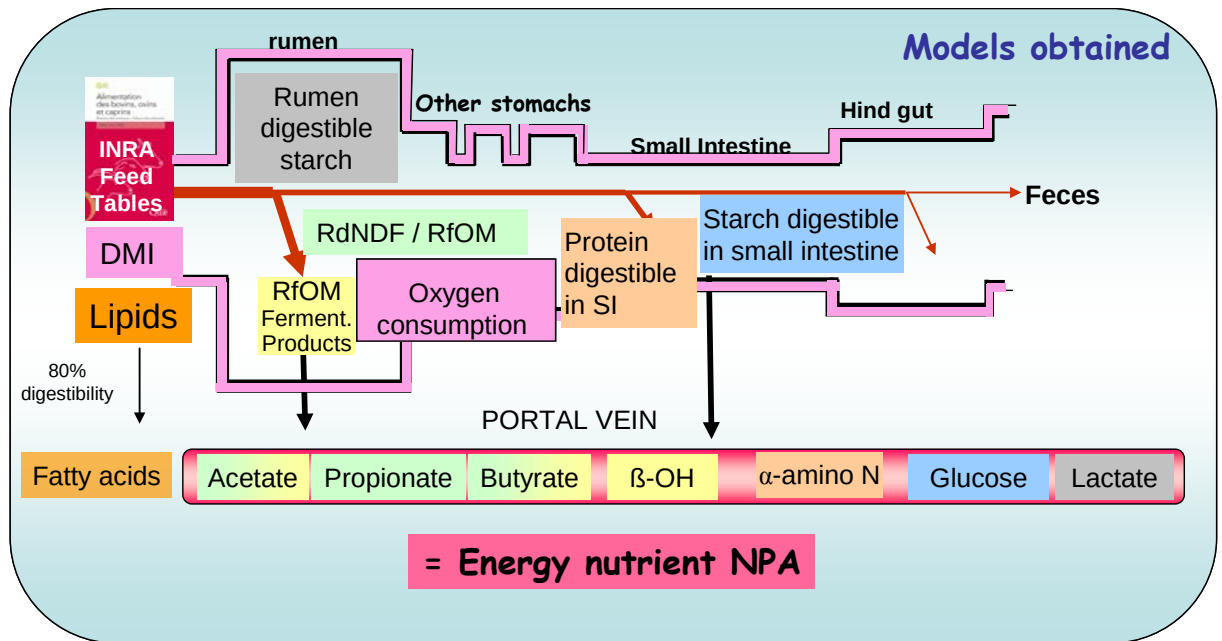


Figure 44 : Définition de la somme de l'énergie absorbée

4. Cohérence des modèles ANP avec la valeur énergétique des rations définie selon l'INRA

L'ensemble de ce travail de thèse se place dans le contexte de l'évolution des systèmes INRA d'évaluation des aliments. Or, dans le système actuel l'énergie utilisable par les animaux est considérée comme une unité agrégée (EM) qui est insuffisante pour prédire avec précision les réponses multiples des animaux aux régimes.

L'objectif de mon travail de thèse était de définir l'unité agrégée EM par ses différents constituants. Cet objectif a-t-il été atteint ?

En élaborant les modèles d'ANP, nous avons cherché à prédire la contribution respective des différents nutriments hydrosolubles vecteurs d'énergie, ainsi que les dépenses énergétiques des TDVP (quantifiées à partir de leur consommation d'oxygène). Il était alors essentiel de comparer le concept d'énergie absorbée à l'EM telle qu'elle est définie par le système INRA (*Communication n°3*). L'énergie absorbée (Figure 44) a été définie par la somme de l'énergie des nutriments hydrosolubles, dépense énergétique des TDVP et de l'énergie provenant des AGV des ensilages et l'énergie des MG absorbées (définies par les MG ingérées, en supposant une digestibilité constante de 80%). A l'EM, a été ajoutée l'énergie urinaire (EU) et soustraite l'énergie des chaleurs de fermentations (FH) (Figure 45). Les résultats ont montré une forte liaison quantitative entre les deux variables (Figure 46), ce qui constitue un élément fort de validation de nos modèles d'ANP.

Les analyses ont montré que les écarts (Δ , 9% de EM en moyenne) obtenus entre les deux variables pouvaient en partie être expliqués par le pourcentage de concentré et la MSI (Figure 47), ce qui laisse supposer qu'ils seraient liés aux interactions digestives, qui ne sont pas prises en compte dans le calcul de l'EM dans le système INRA. En outre, il est important de souligner que la cohérence des modèles reste valable lorsqu'on se dédouane de la corrélation positive forte qui existe entre l'EM et le débit sanguin en veine porte. En effet, lorsqu'on exprime l'énergie absorbée par unité de MSI et qu'on la compare à la teneur en EM des rations (Figure 46), bien que la dispersion des relations entre les deux variables soit plus grande, la pente obtenue est non différente de 1 et l'ordonnée à l'origine non différente de 0.

Cependant, une des questions importantes de cette comparaison a porté sur la prédiction de la différence entre EU et FH. Nous avons pris le parti d'utiliser les équations de Sauvante et Giger-Reverdin (2007), basées sur le pourcentage de concentrés et de la MSI. La base de données ayant servi à établir ces modèles présentait une large diversité de rations, proche de celle de FLORA.

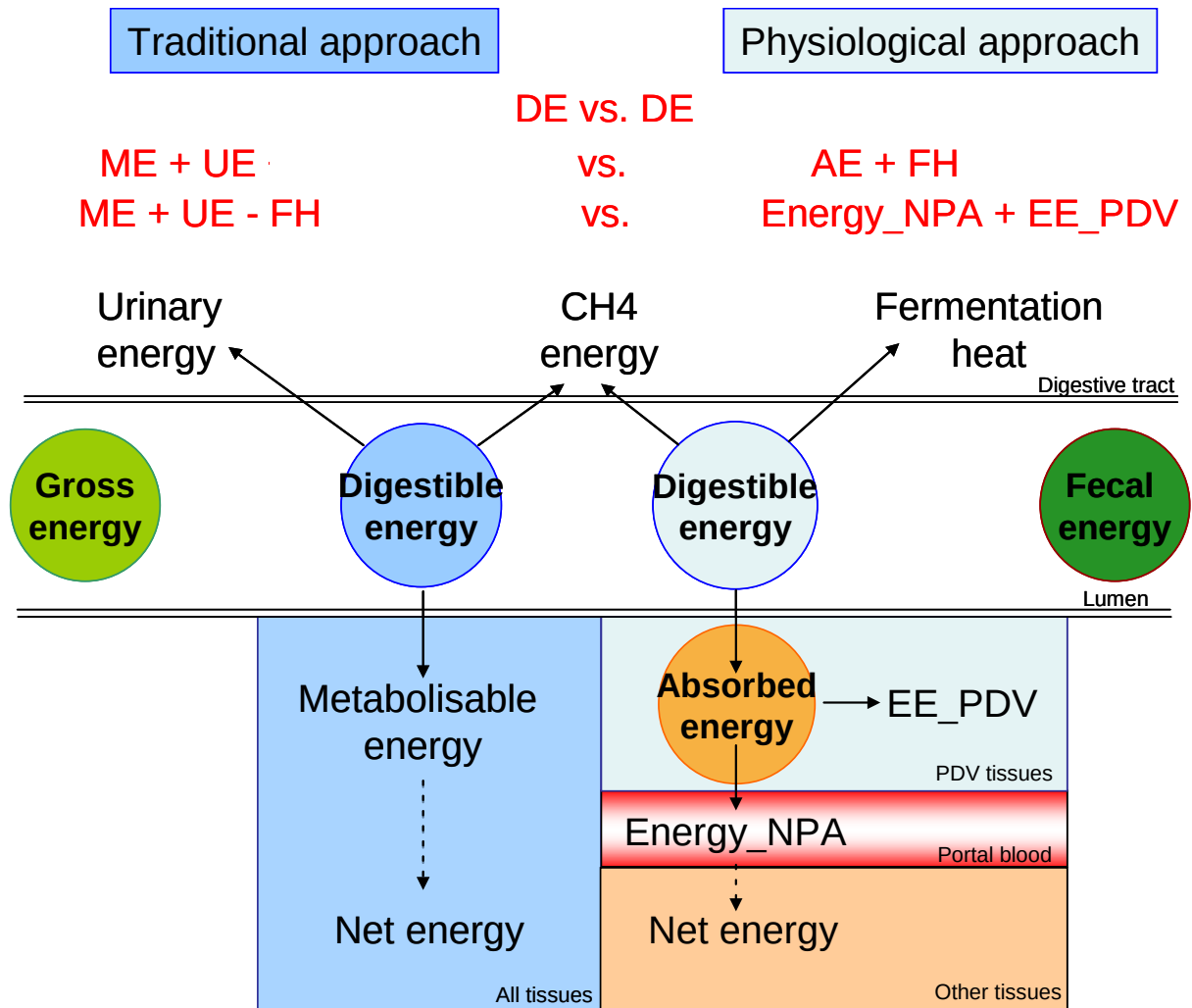


Figure 45 : Comparaison de l'approche traditionnelle de définition de l'énergie (EM) aux flux de nutriments absorbés en veine porte

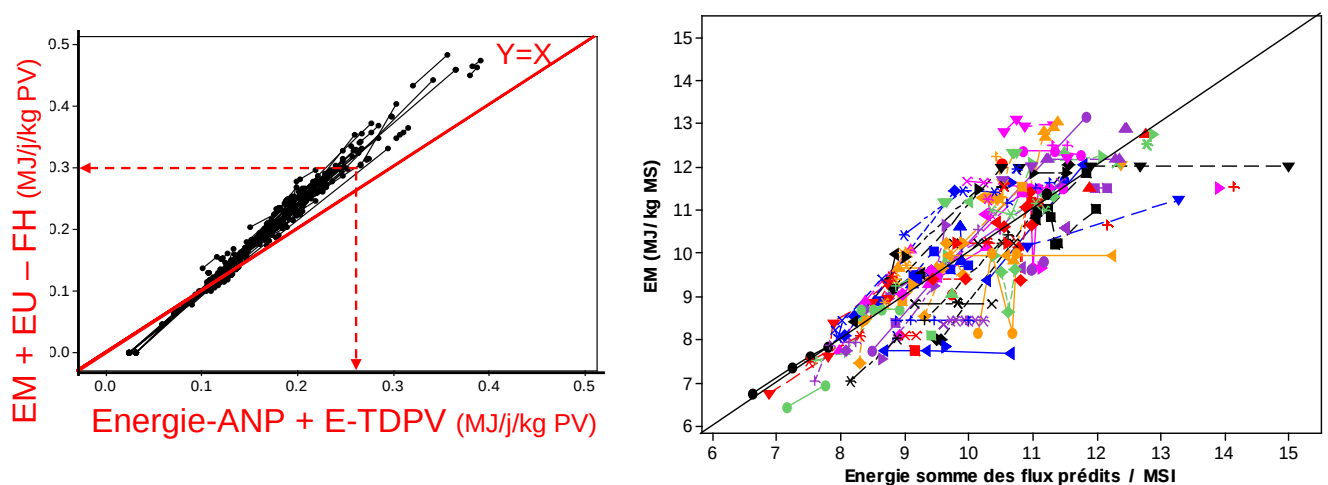


Figure 46 : Comparaison entre EM (INRA) et la somme des ANP prédits, exprimés en MJ /j/kg PV ou par unité de MSI

D'autres équations existent (par ex. celles de Vermorel et al., non publiées), donnant des résultats parfois différents (en particulier pour FH), probablement parce que les données ne couvrent pas les mêmes types de rations et sont spécifiques aux ovins ou bovins. Cependant, la différence FH-EU est faible n'a finalement que peu d'impact sur le modèle (Figure 48) et reste sensiblement la même quels que soient les modèles.

Ces premiers résultats montrent qu'il sera nécessaire d'associer la prédiction des interactions digestives à nos modèles d'ANP et qu'il conviendra d'affiner la prédiction de l'EU et de FH pour des régimes correspondant exactement aux rations utilisées dans FLORA.

Ce travail a démontré qu'il existait une cohérence quantitative entre les modèles d'EM et d'absorption des nutriments, et que les systèmes d'alimentation énergétique pouvaient évoluer, à terme, vers des systèmes basés sur les concepts physiologiques, ce qui représente une étape majeure pour le développement de nouveaux outils de formulation pour ruminants.

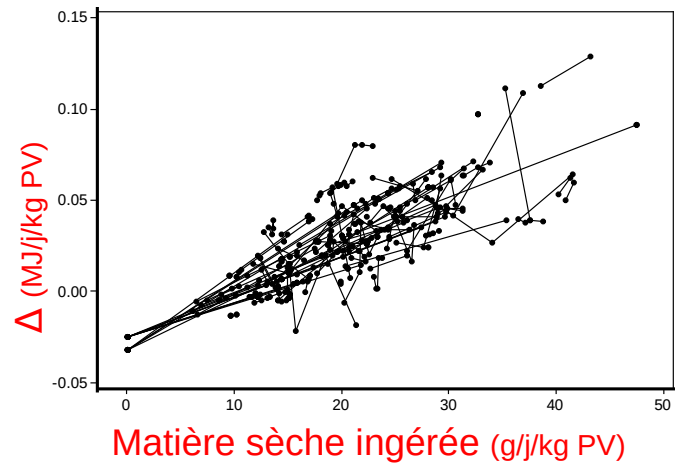


Figure 47 : Lien entre delta et la MSI

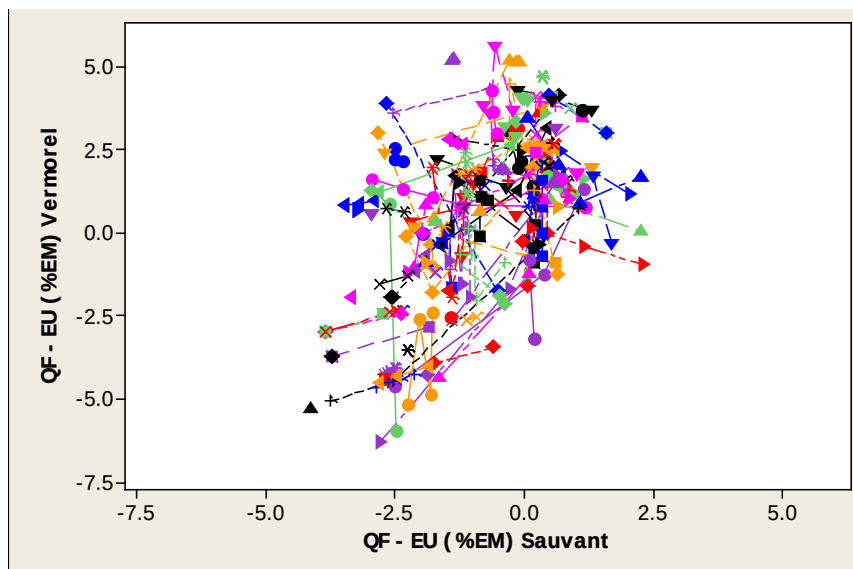


Figure 48 : Différence entre les modèles de prédiction d'énergie urinaire et des chaleurs de fermentation

5. Comparaison des modèles ANP obtenus à partir de l'INRA ou du NRC

Dans un souci de positionnement du système INRA par rapport au système NRC, nous avons comparé la capacité des critères INRA et NRC d'évaluation des aliments à prédire l'ANP des AGV (Publication n°2). Avec les critères NRC, il a été possible de prédire les AGV totaux à partir de l'ingestion des tdNDF et tdNFC discounted, c'est à dire tenant compte du NA des animaux. Le profil des AGV a quant à lui été prédit à partir des teneurs en tdNDF discounted et tdNDF/TDN1x.

Les modèles obtenus sont cependant moins précis et moins stables que ceux obtenus à partir de l'INRA. Les principales différences sont dues au fait que les critères NRC sont basés sur la digestibilité totale des constitutants alimentaires, alors que le système INRA différencie les sites de digestion. Par exemple, le système INRA différencie la digestibilité totale de la MO (MOD) et la MO fermentescible dans le rumen (MOF). Or, c'est ce critère qui est apparu le plus pertinent pour prédire les flux d'AGV apparaissant en veine porte.

Dans le système du NRC il n'existe pas de critère qui se rapproche conceptuellement de la MOF du système INRA, les critères les plus proches (TDN1x et ses composantes tdNDF, tdNFC, et tdCP en particulier) étant calés sur des estimations de la digestibilité dans l'ensemble du tube digestif.

Il faut également préciser que la prise en compte des interactions digestives liées au NA dans le système NRC, par le biais de la variable « discount », ne permet pas d'améliorer la prédiction de l'ANP des AGV obtenue à partir des critères INRA, obtenus par additivité. Indépendamment de l'intérêt de la variable discount du système NRC pour la prise en compte des interactions digestives qu'il n'est pas possible de juger sur la base de notre travail, la faible intensité des interactions digestives dans notre jeu de données pourrait en partie expliquer ce résultat.

Pour conclure, il est important de garder à l'esprit que ce travail ne représente qu'un début de comparaison entre les systèmes NRC et INRA, basée sur les critères issus des deux systèmes. Il n'a pas l'ambition de comparer l'ensemble des systèmes.

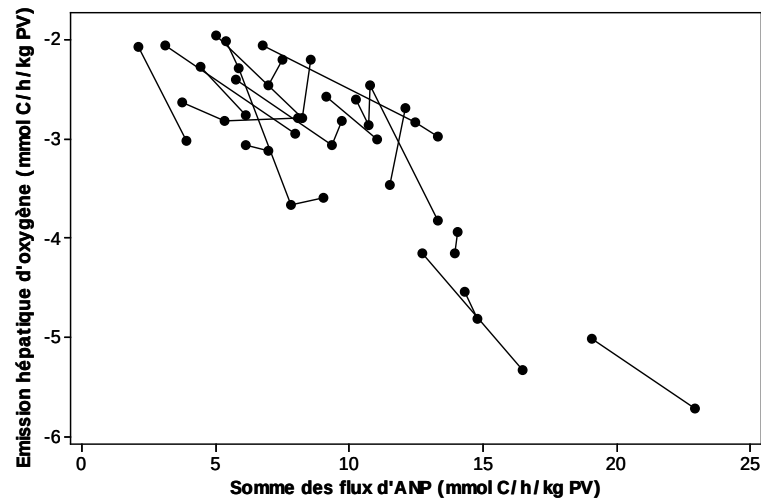


Figure 49 : Relation intra publication entre le flux net hépatique d'O₂ et la somme des flux de C entrant au foie

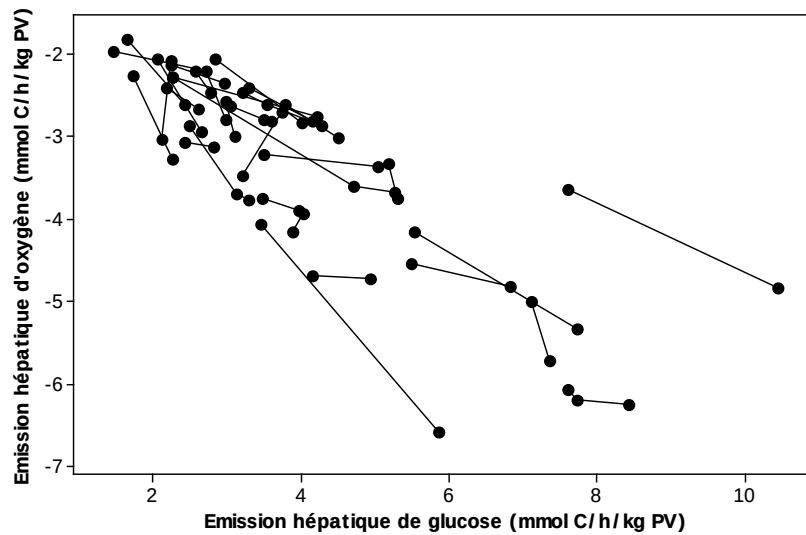


Figure 50 : Relations intra publication entre le flux net hépatique d'O₂ et de glucose

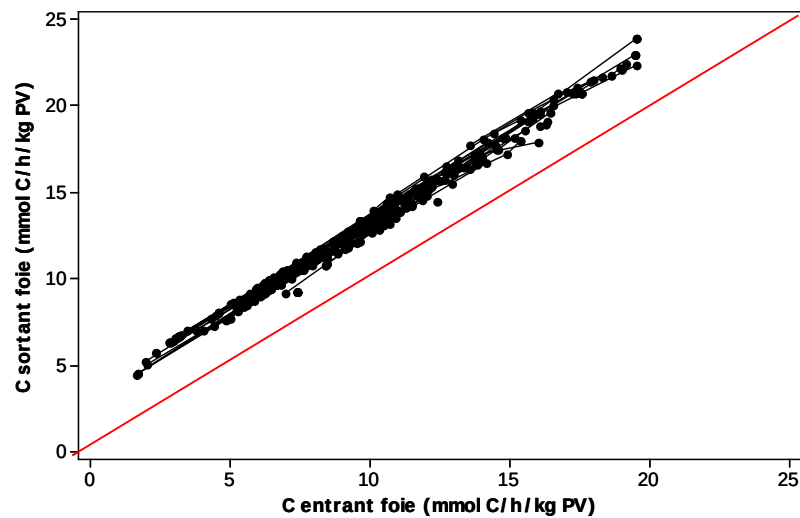


Figure 51 : Relation entre la somme des carbones entrant et sortant du foie

6. Cohérence des modèles hépatiques

Mon travail de thèse a abouti à des modèles de prédiction de l'émission splanchnique des différents nutriments énergétiques. Le même type de validation quantitative globale des modèles devrait être réalisé comme pour les modèles d'ANP. Cela n'a pas pu être réalisé compte tenu du temps imparti pour ma thèse.

J'ai toutefois commencé à vérifier que la somme des carbones entrant dans le foie était reliée à la somme des carbones sortant du foie, en utilisant tous les modèles de prédiction.

Les carbones entrant au foie ont été estimés par la somme des carbones :

C entrant (mmol C/h/kg PV) = AGV + BHBA + glucose + lactate + AA + AG (métabolisés en C2 ou BHBA)

En ce qui concerne les AG, nous n'avons estimé que les AG potentiellement métabolisés en C2 ou BHBA dans le foie, par manque d'information sur les flux nets hépatiques d'AG.

Les carbones sortant du foie ont été calculés par la somme des carbones :

C sortant (mmol C/h/kg PV) = AGV + BHBA + glucose + lactate + AA + CO₂

L'émission de CO₂ par le foie a été estimée d'après 1) une estimation de la consommation d'oxygène par le foie et 2) une estimation du quotient respiratoire hépatique.

Dans le temps imparti pour la thèse, nous n'avons pas établi de modèles de prédiction des dépenses énergétiques du foie (BF O₂). Le modèle présenté ici est une première estimation basée sur la quantité de nutriments apparaissant en veine porte (exprimée en carbones, Figure 49) et l'émission hépatique de glucose (BF glucose, Figure 50) pour tenir compte du fait que la néoglucogenèse contribue pour environ 20% aux dépenses énergétiques du foie (Lobley, 1991).

Le modèle obtenu est le suivant :

BF O₂ (mmol/h/kg PV) = -1,232 ± 0,307 – 0,0898 ± 0,034 × ANP (mmol C/h/kg PV) - 0,302 ± 0,0851 × BF glucose (mmol C/h/kg PV)

Avec n = 18 ; nt = 40 ; RMSE = 0,265 mmol/h/kg PV ; R²adj = 0,930

L'émission hépatique de carbones sous forme de CO₂ a donc été estimé à :

BF CO₂ (mmol C/h/kg PV) = -BF O₂ (mmol/h/kg PV) / 1,8

Avec 1,8 : Quotient respiratoire moyen rapporté au niveau hépatique dans FLORA (± 0,27)

Nos calculs font aussi l'hypothèse qu'il n'y a pas de séquestration de CO₂ dans le foie.

Nos résultats, obtenus sur 122 publications (405 traitements), montrent une très bonne relation entre les flux de carbone entrant et sortant du foie (Figure 51) :

Carbones sortant du foie = $3,068 \pm 0,047 + 1,015 \pm 0,0048 \times$ Carbones entrant au foie

Avec RMSE = 0,189 mmolC/h/kg PV $R^2_{adj} = 0,998$

Un biais systématique est observé sur l'ordonnée à l'origine, indiquant un manque de carbones en entrée du foie, lié au métabolisme glucidique. Le biais est plus pour les vaches laitières, comme cela a déjà été indiqué (*Publication n° 4*). Compte tenu de toutes les incertitudes supplémentaires associés à ces calculs : manque d'information sur les flux hépatiques de MG, pas de prise en compte de l'utilisation des acides aminés pour la synthèse protéique dans le foie, ni des sécrétions biliaires, etc., l'ajustement semble toutefois raisonnable. Ces calculs seront à reprendre et affiner pour rechercher l'origine de ces biais.

7. **Application des modèles : quel impact sur le profil de nutriments ?**

Nous avons étudié l'impact sur le profil en nutriments de différentes rations, utilisées dans la pratique, afin de mettre en évidence l'apport des modèles flux de nutriments par rapport au système classique des UF et PDI. Pour cela, nous avons travaillé sur 4 rations couramment utilisées sur le terrain en vaches laitières avec l'aide de l'un de nos partenaires financiers, INZO° (Tableau 3), sur 4 rations expérimentales étudiées à l'INRA dans le cadre du programme Européen Rednex sur l'efficacité d'utilisation de l'azote chez la vache laitière (Tableau 4) et sur 3 rations distribuées à des jeunes bovins en finition de race Blonds d'Aquitaines (Micol et al., 2007, Tableau 5).

Comme nous l'avons fait dans Flora, Les rations ont ensuite été caractérisées à partir des critères des tables d'aliments INRA (2007), afin de pouvoir appliquer nos modèles de prévision des flux à chacune de ces rations.

Les profils en flux de nutriments sont présentés dans la figure 52, en % de l'énergie totale prédite (somme de l'énergie des flux nets de nutriments apparaissant en veine porte + consommation d'O₂ par les TDVP) de la ration. Les résultats montrent que la répartition de l'énergie dans les différents types de nutriments varie et que les flux d'AGV et de glucose sont les plus sensibles aux variations de ration.

Dans un contexte de production ciblée (vaches laitières ou bovins en engraissement) la prise en compte de réponses marginales permettrait probablement d'être plus discriminant.

Tableau 3: Descriptions des rations vaches laitières issues des collectes INZO

aliments (% MS)	RATION			
	USA	SECHE	HERBE	ENSILAGE MAIS
Ensilage de maïs	24,9	0	36,2	59,2
Foin de luzerne	24,9	0	0	0
Foin de prairie permanente	2,4	0	3,1	2,1
Pâturage de prairie permanente	0	0	38,9	0
Maïs grain	21,7	2,7	0,2	0,7
Blé	0	12,5	11,1	5,8
Tourteaux de soja 48	12,2	0	0	0,7
Tourteaux de colza	0	3,2	1,7	4,7
Tourteaux de soja tanné	0	4,2	4,5	6,5
Tourteaux de colza tanné	0	0	2	3,9
Luzerne déshydratée	0	6,5	0	0,9
Tourteaux de palmiste expeller	0	1,7	0,5	0,5
Tourteaux de tournesol	0	2,7	0	0,3
Paille de blé	0	36,4	0	0,4
Pulpe de betterave déshydratée	3	7,5	0	0
Son de blé	4,1	12,6	0,8	4,4
Drèches de distilleries de blé	2	2,5	0,6	0,3
Coque de cacao	0	2,8	0	0,4
Graine de coton	1,8	0	0	0
Mélasse	0	2,3	0,3	7,4
Urée	0	0,2	0	0
Minéraux	0,3	2,2	0,1	0,8

Tableau 4 : Descriptions des rations vaches laitières issues du programme Rednex

Composition centésimale des régimes (en % de la MS) :

Azote	haut	haut	bas	Bas
énergie	amidon	parois	amidon	parois
	HA	HP	BA	BP
ensilage de maïs	45	45	45	45
Luzerne déshydratée	10	10	10	10
Paille blé broyée	5,8	0	7	0
Concentré « amidon » ¹	27	0	34	0
Coques de soja	0	24,9	0	34,5
Pulpe de betterave déshydratée	0	10	0	10
Tourteau de soja 48	12	9,5	4	0
Urée	0,2	0,6	0	0,5
MSI %PV	3,3	3,3	3,3	3,0
MOF g/kg MS	591	607	594	613
NDFD g/kg MS	187	298	186	333
NDFDR/MOF	0.285	0.442	0.282	0.489
Amidon g/kg MS	309	131	355	131
DT amidon	83,5	80	83,9	80
PDIE	101	103	88	89

¹ Mélange orge : blé tendre : maïs = 39 : 46 : 15**Tableau 5 : Description de la ration des bovins Blancs d'Aquitaine**

Type de ration	F	EM	C
Composition (% MS)			
- Foin	44	-	-
- Ensilage de maïs	-	58	-
- Paille	-	-	8
- Maïs grain broyé	43	24	67
- Tourteau de soja 48	13	18	25

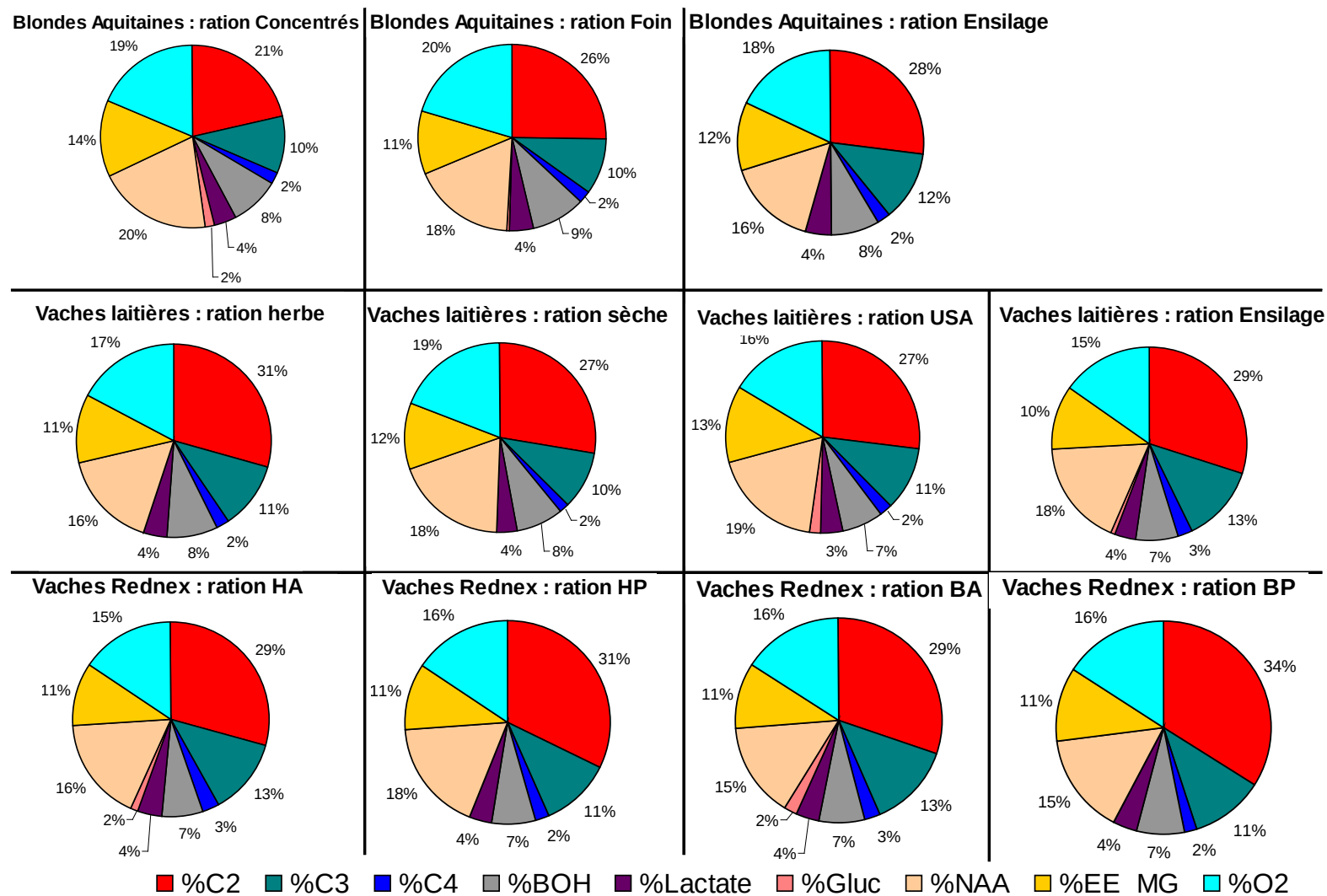


Figure 52 : Profil en nutriments (en % de l'énergie totale) apparaissant en veine porte pour différentes rations

HA : haute teneur en azote / amidon ; HP : haute teneur en azote / parois ; BA : basse teneur en azote / amidon ; BP : basse teneur en azote / parois

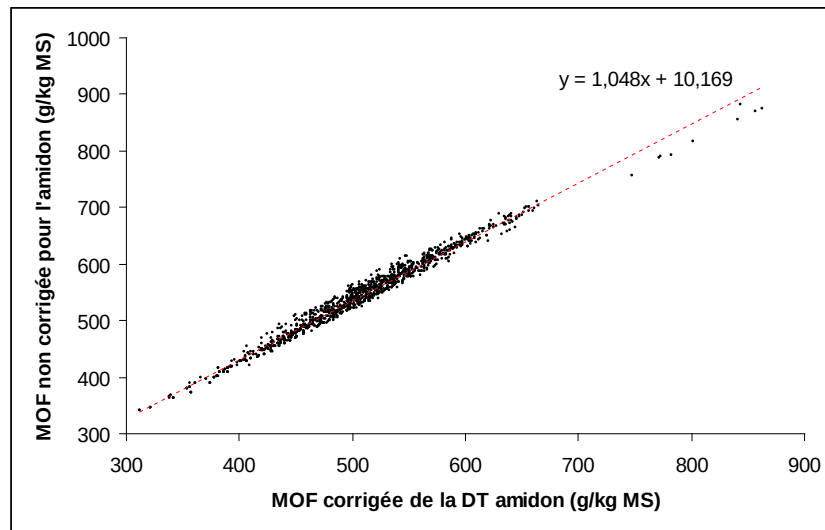


Figure 53 : Lien entre la MOF corrigée ou non de la DT amidon

C. Perspectives

1. Affiner les prédicteurs

1.1. Critères décrivant l'alimentation :

Les critères de prédiction des flux de nutriments que nous avons retenus sont issus des tables INRA de caractérisation des aliments (2007). Nous les avons considérés comme étant additifs. Outre les problèmes d'interactions digestives qui ont déjà été soulevés, il est important de noter que ces critères ne sont pour la plupart que des indicateurs intégrés dans un système visant à relier les apports et les besoins des animaux. Ainsi par exemple, dans le système actuel les différences de digestibilité entre espèces qui existent au niveau de la digestibilité de l'énergie sont partiellement compensées par les différences inverses du rapport EM/ED. De même l'influence des interactions digestives sur les teneurs en EM ou en EN est prise en compte dans l'évaluation des besoins énergétiques des animaux chez les ruminants à l'engrais plutôt que dans la valeur des aliments. L'utilisation des critères alimentaires pour prédire les flux de nutriments soulève donc de façon aigüe la question des différences quantitatives entre les valeurs table et les valeurs réelles.

1.1.1. MOF calculée des rations

La question se pose en particulier pour la MOF qui est apparue comme un facteur important dans la prédiction des flux de nutriments. Dans ce travail la MOF a été calculée telle que définie dans le système PDI de l'INRA, à la différence près qu'au lieu d'appliquer un facteur de correction fixe pour prendre en compte l'amidon by pass, nous avons pris en compte la valeur réelle de la DT de l'amidon, adaptée pour chaque aliment, afin d'affiner l'estimation de la MOF (Figure 53). D'autres corrections plus mineures pourraient être apportées. En effet, dans le calcul de la MOF, on considère implicitement que toutes les parois digestibles sont digestibles dans le rumen, or, il est bien établi qu'en moyenne la contribution du rumen n'est que de 90% (vs 10% dans le gros intestin).

Cependant cette nuance a probablement peu d'impact sur l'estimation du flux d'AGV absorbés puisque la fermentation des parois dans le gros intestin conduit également à une production d'AGV. A l'inverse, bien qu'une partie des MG soit fermentée dans le rumen (glycérol issus de l'hydrolyse des triglycérides..), cette fraction n'est pas prise en compte dans le calcul de la MOF mais elle est quantitativement faible.

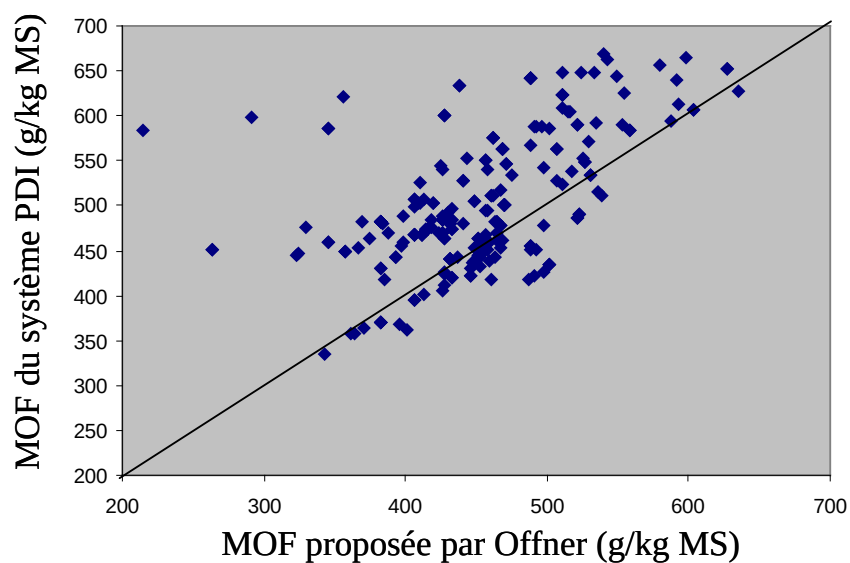


Figure 54 : Relation entre la MOF du système PDI et la MOF proposée par Offner (2004)

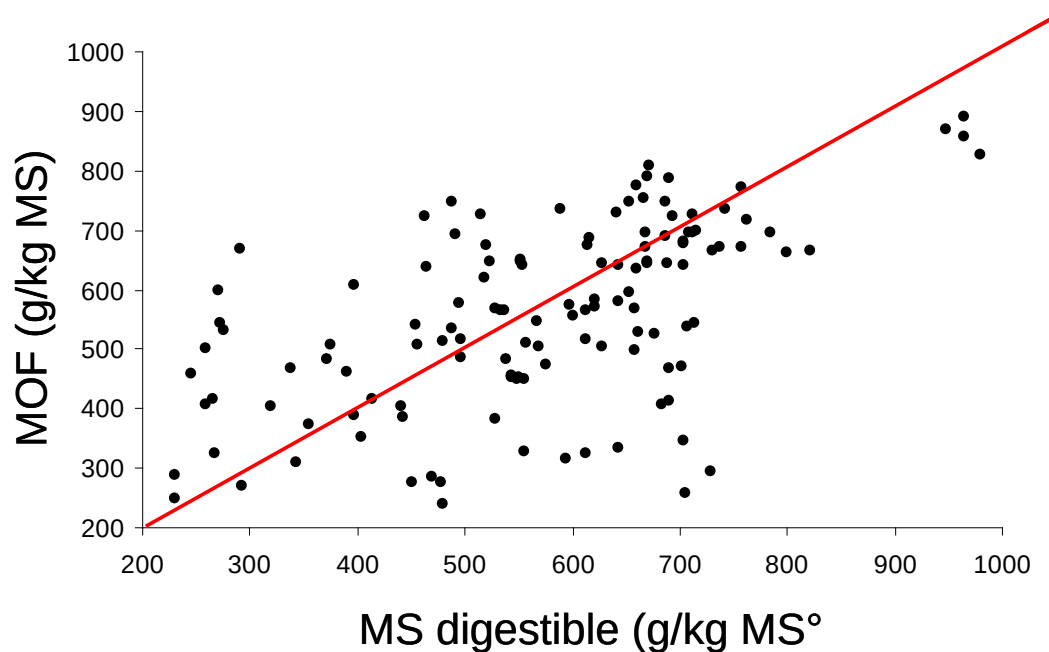


Figure 55 : Comparaison entre MOF et DT MS pour les concentrés

Le principal défi pour une meilleure estimation de la MOF dans une optique de prévision des flux de nutriments concerne une meilleure prise en compte des interactions digestives. En effet dans ce travail, comme dans le système PDI, le critère MOF est considéré comme additif alors qu'il ne l'est probablement pas, en fonction des rations et des NA.

Pour progresser vers cet objectif, une possibilité serait d'évoluer vers une définition plus mécaniste de la MO fermentée.

Ainsi, Offner (2004) a proposé une méthode de calcul de la MOF telle que :

$MOF (\% MSI) = 20 + 0,65 \times (AM \times DT \text{ amidon} / 100) + MAD + 0,5 \times NDFd$, chaque terme en % MSI. Cette équation est empirique et est basée sur des mesures de MO réellement fermentées dans le rumen et prend donc a priori mieux en compte les interactions digestives. La comparaison des 2 modes de calcul est présentée dans la figure 54. On peut toutefois s'interroger sur la signification du coefficient associé à NDFd (NDF digestible) de 0,5, puisque la proportion du NDF digestible qui est digérée dans le rumen est en moyenne de l'ordre de 90%.

Enfin, il est important de préciser que le critère MOF n'est pas un critère facilement mesurable dans la pratique, puisqu'il nécessite de connaître l'ensemble des critères nécessaire à son calcul (MOD, MAT, DT azote, MG, PF, Amidon, DT amidon). De plus, il nécessiterait la prise en compte de la croissance microbienne qui est une source très importante d'incertitude de la mesure de MOF.

Afin de proposer une méthode de détermination plus rapide, nous avons recherché si d'autres critères étaient assimilables à la MOF calculée. La comparaison des valeurs table entre la MOF et la dégradabilité in sacco de la MS (DT MS, Figure 55) pour les aliments concentrés suggère que la DT MS (calculée avec un taux de passage des particules de 6%/h) pourrait être utilisée pour certains aliments en première approximation (graine de soja extrudée, gluten feed de blé, tourteaux de lin, tournesol ou colza, avec $(MOF - DT MS) < 15$ g/kg MS), mais qu'elle n'était pas utilisable dans la plupart des cas. La DT MS est cependant d'un intérêt non négligeable dans le sens où elle est disponible pour tous les aliments, et il semble intéressant de poursuivre les explorations dans ce sens.

1.1.2. Teneur en NDFdR

Le second critère important pour la prédiction de l'ANP des nutriments est le NDFdR (NDF dégradé dans le rumen). En faisant l'hypothèse d'une partition de la digestion entre rumen et gros intestin de 90:10 (Sauvant et al., 1995), il a été facile de le déterminer pour les fourrages, dans la mesure où la teneur en NDF et la digestibilité totale du NDF des fourrages

sont rapportées dans les tables.

En revanche, la digestibilité du NDF des concentrés n'était pas rapportée dans les tables INRA, il a donc été nécessaire de l'estimer. Le NDFd des concentrés a donc été estimé en faisant l'hypothèse que le NDF non digestible correspond à la MO non digestible (MOND) dont on exclut les matières azotées (MAND), matières grasses (MGND), et amidon (AMND) non digestibles : $\text{NDFd} = [\text{NDF} - (\text{MOND} - \text{MAND} - \text{MGND} - \text{AMND})]$. Cette estimation de NDFd peut être entachée d'erreur, mais par rapport à notre objectif, cette erreur est minimisée par le fait que les concentrés représentent moins de 20% du NDFd des rations. En outre, le critère NFDdR n'a pas été utilisé tel quel mais considéré dans le ratio NDFdR/MOF (en particulier dans la prédiction du profil en AGV apparaissant en veine porte). Or, dans la mesure où les effets des interactions digestives sur ces 2 critères sont positivement corrélés (Archimède et al., 1997), ce ratio est beaucoup moins sensible aux problèmes d'additivité que ne le sont les critères NDFdR et MOF pris séparément.

Enfin, le troisième critère est l'amidon digéré dans le rumen et dans l'intestin grêle. L'utilisation du modèle de digestion de l'amidon de Offner et Sauvant (2004) nous a permis de prendre en compte les interactions digestives puisqu'il intègre les effets du niveau d'ingestion.

1.2. Critères relatifs aux modèles d'émission splanchnique

Deux pistes ont été explorées pour prédire l'émission splanchnique des nutriments. La première a consisté à les prédire à partir de critères physiologiques, notamment leur ANP ou la somme de leurs précurseurs biologiques (cas du C2 endogène et du BHBA, *Publication n° 3* et du glucose, *Publication n° 4*). La seconde a consisté à rechercher des critères intégratifs de prédiction.

Ainsi, nous avons par exemple estimé l'émission splanchnique du glucose à partir de la somme des précurseurs entrant au foie. Cependant, ceci a amené à estimer la fourniture hépatique de certains précurseurs. Nous avons notamment dû estimer la part des AA glucoformateurs dans l'ANP de l'azote alpha aminé. Les flux individuels d'AA glucogéniques devraient être disponibles prochainement suite au travail réalisé par nos collaborateurs canadiens (Lapierre et al ; Agri and Agro Food Canada). De la même manière l'alanine et le glycérol mobilisé ont été estimés à partir notamment du BE.

1.3. Impact des méthodes de mesures des flux

Les modèles sont basés sur des données qui peuvent présenter un certain nombre d'incertitudes de mesures. De plus, ces données ne sont pas toujours réalisées dans les mêmes conditions d'obtention. Il est donc important de garder à l'esprit l'impact éventuel des méthodes de mesures (débits, méthodes d'analyse) sur les résultats de flux de nutriments.

Dans cette optique, Martinaud et al. (2009) ont comparé les flux d'N au niveau porte, en fonction des méthodes de dosage utilisées par les auteurs.

Nous avons essayé de prendre en compte l'impact des méthodes sur les flux de nutriments dans nos publications. Cependant le méta dispositif n'est en général pas équilibré entre les différentes méthodes, ce qui rend difficile l'interprétation des résultats. Il apparaît cependant nécessaire d'acquérir des données expérimentales supplémentaires pour tester l'impact des méthodes sur les flux nets de nutriments énergétiques.

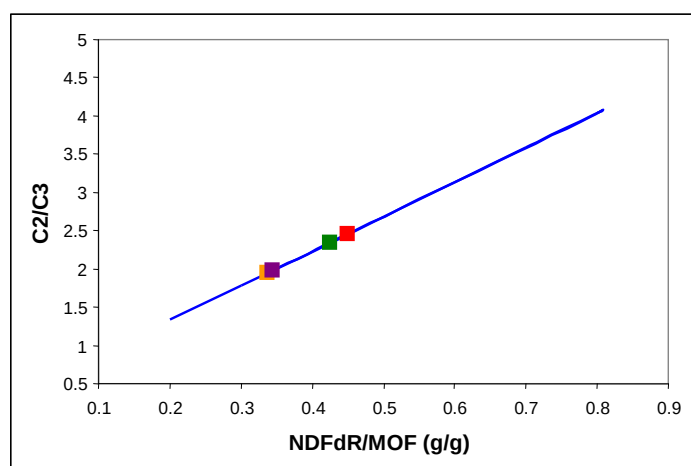
1.4. Critères décrivant les animaux

La caractérisation du statut nutritionnel et physiologique des animaux a également été introduite dans les modèles. En particulier, le BE des animaux a été calculé selon le système INRA, prenant en compte les besoins d'entretien des animaux, l'efficacité d'utilisation de l'EM pour la production et l'énergie nette de production.

Pour le calcul de l'EN de production des vaches laitières, nous avons émis des hypothèses sur les teneurs en énergie et en MG du lait ($3,096 \text{ kcal} \cdot \text{j}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$ et 40 g/kg lait; INRA, 2007). Cette hypothèse peut induire jusqu'à 15 % d'erreur dans l'estimation du BE pour une erreur de 10 g MG/kg lait. De la même façon, en ce qui concerne les animaux en engraissement et en croissance, le faible niveau de production des animaux utilisés dans les modèles, nous a conduit à ne pas considérer le kmf, mais à appliquer le kl comme efficacité de conversion de l'EM en EN. Ceci peut induire un biais si les modèles sont par la suite utilisés chez des animaux à fort taux de croissance ou d'engraissement. Ainsi, le BE a été calculé pour des animaux ne présentant pas de hauts niveaux de productions, en accord avec les publications de FLORA utilisées. Il convient donc de procéder avec prudence pour appliquer les modèles faisant appel au BE (*Publications n°3 et 4*) à des animaux à hauts NA et de production tels que les vaches laitières hautes productrices ou les animaux en période de finition intense.

En fin de compte, en dehors des modèles de prédiction de l'émission splanchnique de glucose basés strictement sur un index des performances (*Publications n° 4*), le BE a été utilisé pour estimer la quantité de substrats endogènes issus de la mobilisation des réserves lipidiques ou azotées arrivant au foie.

Une alternative peut-elle être trouvée ? A notre connaissance, il n'existe pas de prédicteur simple de la mobilisation corporelle. Au niveau expérimental, des mesures complémentaires de l'apport d'acides aminés et de lipides au foie se justifient par l'importance de ce critère dans certains modèles.



Ex: rations vaches laitières (INZO)

Ration sèche
Ration herbe
Ration conc50 / four50
Ration ensilage maïs

Figure 56 : Variation de NDFdR/MOF en fonction du type de ration

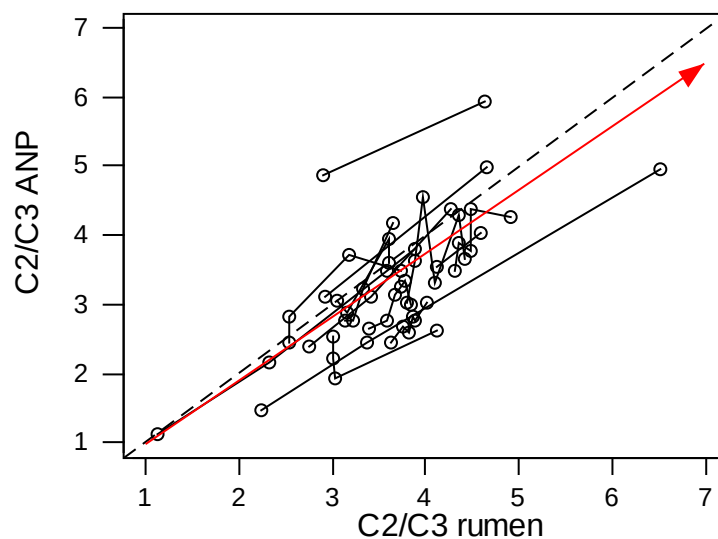


Figure 57 : relation intra publication entre le profil C2/C3 dans le rumen et apparaissant en veine porte

2. Elargir le domaine de validité des modèles

Nos modèles ont permis de capter les principales forces motrices des flux sanguins et splanchniques de nutriments, c'est-à-dire l'étendue et le site de digestion des principaux constituants énergétiques hydrosolubles, ainsi que la mobilisation de substrats endogènes. Nous avons pu ainsi proposer des modèles génériques valables sur une très large étendue de conditions d'alimentation. Cependant dans la pratique, à l'intérieur d'un même type de production et avec les mêmes types de régimes que ceux de FLORA, les possibilités de faire varier fortement ces « forces motrices » sont relativement restreintes.

Par exemple, avec l'aide de notre partenaire financier INZO° (Figure 56), nous avons pu observer sur des données de terrain pour des troupeaux de vaches laitières que le ratio NDFdR/MOF ne variait qu'entre 0,35 à 0,45, alors que nos modèles couvrent une plage de variation beaucoup plus importante (de 0,10 à 0,80).

Se pose alors la question des réponses marginales lorsque les conditions de production sont exclues du domaine de validité (ex hauts niveaux d'apports de nutriments), ou incluent d'autres facteurs de variation non pris en compte dans les modèles qui peuvent avoir un poids non négligeable dans les réponses de l'animal.

Ainsi, si on prend comme exemple le modèle d'émission hépatique du glucose (*Publication n° 4*), 2 stratégies seraient envisageables pour que le modèle prenne en compte les hauts niveaux d'apports de précurseurs : accepter la relation sigmoïde au détriment de la précision ou bien appliquer la relation linéaire et prédire des réponses marginales pour les hauts NA.

De plus, certains facteurs fréquemment rencontrés dans les pratiques courantes du terrain ne sont pas captés par les modèles, du fait soit du manque de données disponibles (apport de MG, d'additifs tels que les tampons, huiles essentielles, probiotiques...), soit de l'absence de caractérisation dans les tables de valeur des aliments (effets de la granulométrie...).

Il est donc important de chercher à quantifier leur effet. Pour certains de ces facteurs de variation, ceci est possible au niveau du rumen pour lequel on dispose de plus de données, sachant que parallèlement, la relation entre les profils fermentaires dans le rumen et dans la veine porte est relativement étroite, en particulier en ce qui concerne le ratio C2/C3 (Figure 57).

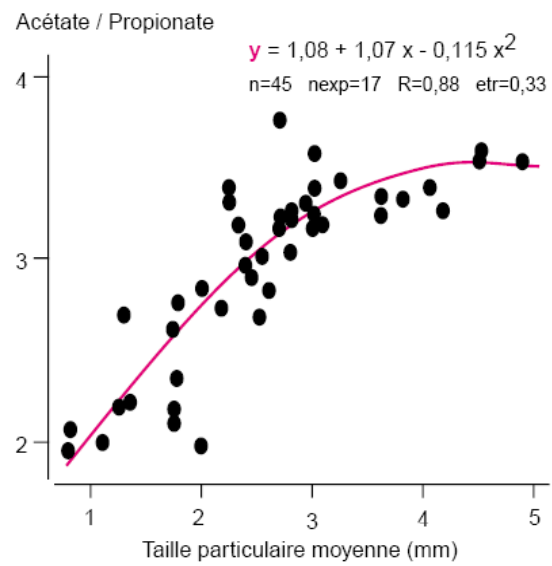


Figure 58 : Influence de la granulométrie du régime sur le rapport acétate/ propionate dans le rumen (Sauvant, 2000)

2.1. Substances tampons

Meschy et al. (2004) ont quantifié, à partir de 40 publications (86 comparaisons, 178 traitements), la réponse des AGV à l'incorporation de substances tampon dans le régime. Les analyses ont montré que la quantité totale d'AGV n'est pas modifiée. En revanche, la proportion molaire de C3 diminue d'autant plus fortement que la proportion initiale de C3 (sans substance tampon) est élevée (Réponse %C3 = $-0.31 \times \%C3 \text{ initial} + 6,40$). Cette réponse est nulle pour une proportion initiale de C3 < 20%. La diminution de la proportion de C3 est compensée par une augmentation significative de celles de C2 et de C4 :

- ⇒ %C2 : 0,99 % + 0,43 par % de substance tampon.
- ⇒ %C3 : -1,62 % + 0,42 par % de substance tampon.
- ⇒ %C4 : 0,60 % + 0,19 par % de substance tampon.

2.2. Granulométrie des rations

Sauvant (2000) a montré que le rapport C2/C3 est diminué de 0,5 (si le pH initial est inférieur à 6,2) lorsque le diamètre médian des particules (d50) diminue de 1 mm en dessous d'un seuil de 3-4 mm chez les bovins (Figure 58). La dégradabilité ruminale des fractions amylacées et protéiques est en effet significativement influencée par le d50, à raison d'environ 12 points de dégradabilité par mm de d50. Le taux butyreux du lait est significativement affecté, d'environ 2 g/kg lait par mm de d50 en dessous d'une valeur de 4-5 mm. Il est donc important d'essayer de confronter ces données à nos modèles.

Nos modèles sont centrés sur un ratio C2/C3 de l'ordre de 3 ; Ce ratio étant relativement comparable entre le rumen et la veine porte ceci suggère d'après cette équation une granulométrie centrée sur un d50 de 2,5mm.

Si la granulométrie d'une ration considérée s'écarte fortement de cette valeur, il pourrait être judicieux de corriger nos prédictions sur la base de cette équation. Cet ajustement ne représente cependant qu'une proposition incertaine de correction, et il sera important par la suite de quantifier précisément l'impact de la granulométrie des rations.

2.3. Autres critères

En dehors des deux facteurs présentés, d'autres situations seront également à approfondir. Notamment, il sera indispensable de proposer des modèles permettant d'appréhender les régimes supplémentés en matières grasses. Une des pistes envisageables serait l'utilisation des

AG digérés dans l'intestin (en préparation) et des connaissances sur la répartition des AG absorbés entre les différents tissus de l'organisme, notamment pour aboutir à la réalisation d'un modèle mécaniste.

2.4. Cohérence quantitative des modèles foie et régulation de l'émission splanchnique de nutriments

Nos modèles ont permis de prédire l'émission hépatique et splanchnique des nutriments énergétiques à partir de leur ANP et du statut nutritionnel et physiologique des animaux. Nous avons ainsi proposé des modèles génériques valables sur une large étendue de conditions d'alimentation et communes aux différentes espèces et statut physiologique. Leur originalité réside aussi dans leur caractère empirique mais raisonné sur les connaissances de métabolisme intermédiaire. Les modèles mécanistes qui existent sur le métabolisme hépatique sont pour la plupart des outils de recherche scientifique, qui n'ont pas été conçus pour devenir utilisables en rationnement et ils sont focalisés sur les vaches laitières.

2.4.1. Validation des modèles et comparaison à d'autres jeux de données

L'évaluation poussée des modèles prédictifs « foie » n'a pas pu être réalisée faute de temps. Comme pour les modèles TDVP, l'utilisation de toutes nouvelles données expérimentales permettra de comparer les valeurs prédites et aux mesurées, dans la plage de validité des modèles. Les prédictions de flux hépatiques et/ou splanchniques devraient aussi être comparées à d'autres types de données que celles de FLORA.

2.4.2. Flux corporels de glucose

Par exemple, les flux corporels et tissulaires de nutriments mesurés à l'aide de traceurs constituent des données intéressantes, bien que peu nombreuses, pour évaluer la justesse des prédictions. Un tel jeu de données avait été assemblé par Ortigues-Marty et al. (2003) sur les flux corporels de glucose chez les animaux adultes ou en croissance. Il pourrait être utilisé, après mise à jour et caractérisation des rations selon les Tables INRA, pour des comparaisons avec les valeurs prédites d'émission hépatique et splanchnique de glucose.

2.4.3. Carbones émis au niveau splanchnique et prélèvement mammaire

J'ai aussi essayé de comparer le nombre de carbones émis par le foie à la quantité de carbones utilisés par les tissus périphériques. Je n'ai effectué le calcul que pour une vache laitière, le cas d'un animal producteur de viande m'a semblé comporter trop d'incertitudes.

Ceci permet de vérifier que la somme des carbones émis au niveau périphérique et telle que prédite par les modèles est suffisante pour supporter la production laitière observée. J'ai pour cela utilisé les publications vaches laitières présentes dans FLORA

La somme des carbones émis au niveau splanchnique est la même que dans le calcul précédent. Elle s'élève en moyenne à $12,67 \pm 4,0$ mmol C/h/kg PV. Pour les carbones prélevés par la mamelle j'ai utilisé une étude menée par Lemosquet et al. (2009). Sur cette base, le prélèvement de carbones par la mamelle a été estimé à environ 6184 mmol C/kg lait, soit 5,86 mmol C/h/kg PV.

Les résultats montrent qu'après prélèvement des carbones par la mamelle, il reste encore 42 ± 16 % des carbones sortant du foie.

2.4.4. Facteurs de régulation et complémentarité des modèles empiriques et mécanistes

Les modèles foie qui ont été élaborés ne sont pas exempts de facteurs interférents. Nous avons commencé à quantifier leur importance quantitative relative. Nous nous sommes parfois heurtés à la difficulté de prendre en considération l'ensemble des facteurs de régulations (notamment hormonales via l'insuline) et d'interactions entre les nutriments (notamment entre le glucose et le BHBA). Les modèles mécanistes de recherche (Waghorn, 1982; Baldwin et al, 1987 ; Danfaer, 1990 ; France et al., 1999; Hanigan et al., 2004) ont souvent pris en compte un plus grand nombre de facteurs de régulations des voies métaboliques par les métabolites intermédiaires ou les hormones. Une comparaison de nos modèles foie avec des modèles mécanistes de recherche pourrait être utilisée pour confirmer ou améliorer l'évaluation des facteurs interférents sur les modèles.

D'autre part, la complémentarité et donc une approche combinée entre nos modèles empiriques (qui identifient les grande forces motrices) et les modèles de recherche (qui explorent les facteurs de régulations identifiés in vivo et in vitro) peut s'avérer intéressante pour palier aux limites respectives des modèles empiriques (faible sensibilité aux facteurs de variations et domaine de validité restreint) et mécanistes de recherche (peu précis lorsqu'ils sont appliqués à des contextes larges car ils ont été construits avec des valeurs des paramètres correspondant à des situations expérimentales particulières).

La synthèse quantitative des données de la littérature que nous avons réalisée a permis de dégager des modèles empiriques de réponse ou de fonctionnement relativement précis pour la plupart des scenarii alimentaires pratiqués. Il apparaîtrait donc intéressant de concevoir une articulation entre une approche de modélisation mécaniste et les modèles empiriques que nous

avons mis au point. Cette démarche devrait mettre en jeu une phase d'optimisation pour déterminer les valeurs des paramètres clefs, les premiers résultats. Des méthodes similaires ont été utilisées pour le rumen et sont encourageantes (Sauvant et Mertens, 2008).

2.5. Le foie et la coordination entre tissus

Nous avons mis en évidence l'importance conjuguée des apports alimentaires (régulations de type push), de la mobilisation corporelle et de l'utilisation des nutriments par les tissus périphériques (régulations de type push et pull) pour prédire l'émission splanchnique des nutriments vers les tissus périphériques. Ceci démontre que la modélisation des flux hépatiques et donc splanchniques de nutriments doit être intégrée dans un modèle plus large de coordination entre tissus pour l'utilisation des nutriments (Martin et Sauvant, 2002)

Les concepts les plus récents sur la coordination entre tissus (Lobley et al., 2007) suggèrent que le foie prélève des nutriments à leur premier passage après leur apparition en veine porte, les métabolise notamment pour ses besoins spécifiques en nutriments et relargue le reste vers les tissus périphériques. Les nutriments non utilisés par les tissus périphériques sont redirigés vers le foie (via l'apport artériel) où ils peuvent être dégradés. L'émission splanchnique est donc la résultante du prélèvement de nutriments par le foie à leur premier passage et de l'élimination par le foie de nutriments non utilisés par les tissus périphériques. La compatibilité de nos modèles empiriques d'émission splanchnique avec ces concepts devrait être testée.

2.6. Les réponses animales

Les différentes réponses de l'animal d'intérêt zootechnique : régulation de l'ingestion, efficacité métabolique, risques d'acidose ruminale, teneur et composition des produits en acides gras, rejets azotés, etc. sont conditionnées par la fourniture de nutriments aux tissus producteurs et le potentiel génétique de ces tissus à les utiliser.

La quantification de la disponibilité en nutriments constitue la première étape de prédiction des réponses animales. Cet aspect a été largement traité au cours de ma thèse.

Ces travaux au niveau splanchnique ont parallèlement contribué à valider des modèles empiriques de flux d'AGV au niveau du rumen (Nozière et al., 2009) et de digestion de l'amidon au niveau de l'intestin grêle (Offner et Sauvant, 2004). L'ensemble de ces travaux, conduits autour d'une caractérisation homogène des aliments et des régimes par les tables INRA, permet maintenant de disposer de modèles empiriques génériques robustes, même si certains prédictors ou certaines réponses marginales mériteraient d'être précisés.

La prédiction des réponses animales commence à être traitée dans différentes équipes de l'INRA. Des lignes directrices se dessinent pour certains objectifs de production.

En ce qui concerne les réponses aux variations de flux de nutriments, différents travaux sont engagés dans différentes équipes de l'INRA. La plus directement reliée à la démarche que j'ai développée durant ma thèse concerne la réponse de la composition du lait au flux de nutriments. Une première exploration a montré des relations étroites entre des infusions de nutriments dans le tube digestif et les variations du TB (Rulquin et al., 2007). Dans la continuité de cette démarche, la thèse de Gaëlle Maxin, aujourd'hui en cours à l'INRA de Rennes sous la direction de H. Rulquin (UMR-PL) et F. Glasser (URH), a pour ambition de prédire les variations du TB en réponse aux flux de nutriments observés ou prédits, occasionnés par des variations de régimes avec des régimes conventionnels. Ces travaux s'attachent en particulier à préciser les hypothèses d'additivité des effets entre nutriments. Les premiers résultats montrent que l'approche de l'animal en tant que boîte noire n'est pas toujours suffisante.

Cela peut justifier d'étudier plus précisément les liens, chez la vache laitière, entre disponibilité en nutriments et le prélèvement puis l'utilisation des nutriments par la mamelle. Dans ce contexte, un modèle splanchnique associé à un modèle mamelle en tant que sous modèle d'un modèle corps entier plus large semble constituer une piste intéressante.

Pour les animaux producteurs de viande, les évolutions récentes du système INRA d'évaluation des besoins nutritionnels utilisent un modèle à compartiments qui distingue la carcasse du 5^{ème} quartier et qui permet de prédire la composition de la carcasse pour un animal de potentiel génétique donné. Des efforts de recherche sont aussi développés par les équipes « Systèmes de Production » et « Croissance et Métabolisme du Muscle » pour prédire au sein du compartiment carcasse, la teneur en lipides de la viande. A l'heure actuelle, ce modèle ne tient pas compte de l'influence de la nature de l'énergie ni du niveau d'apports azotés. Il pourrait être combiné avec nos modèles d'émission splanchnique pour mieux prédire les variations de rendement et de composition de carcasse et à terme de la composition en AG de la viande.

Mon travail de thèse permet maintenant d'aborder ces perspectives, parmi lesquelles des actions de recherche sont à prioriser en sélectionnant les objectifs de production visés et les données disponibles (bases de données complémentaires disponibles comme METALIT de l'UMR-PL) ou à construire.

Les principales questions qui se posent concernent les problèmes d'additivité vs interactions entre nutriments et l'existence de réponses animales non linéaires.

D. Evolution du système INRA

Pour s'adapter à l'évolution des contraintes économiques, environnementales et sociétales qui agissent sur la durabilité des élevages de ruminants, il est nécessaire que l'éleveur puisse évaluer l'impact de ses pratiques de rationnement sur différents critères : niveau d'expression du potentiel des animaux, efficacité alimentaire, qualité des produits, risques d'occurrence de pathologie digestive, niveau et nature des rejets polluants. Les systèmes actuels d'évaluation de la valeur nutritive des aliments et des rations (UF, PDI) ne permettent pas de répondre à ces objectifs. Il est donc indispensable de les faire évoluer vers des systèmes d'évaluation « multi-objectifs ». La rénovation des tables de valeur des aliments pour ruminants (INRA-AFZ 2004, puis INRA 2007), qui contiennent des nouveaux critères caractérisant la vitesse de digestion des différents constituants biochimiques des aliments, a permis des progrès considérables dans la prédiction des flux de nutriments énergétiques produits (Offner et Sauvant, 2004 ; Nozière et al., 2008), absorbés (Loncke et al., 2009), et métabolisés par le foie (Loncke et al., 2009 a,b,c).

Ces modèles empiriques ont été conçus sur des bases communes (Tables INRA), mais sont encore indépendants et doivent être articulés entre eux. D'autre part, ils devront être complétés par un travail de prédiction de l'utilisation des nutriments par les tissus.

A plus court terme, le programme SYSTALI a pour ambition d'aboutir d'ici 2013, à une révision des systèmes d'alimentation pour Ruminants. Ce projet vise non seulement à conforter les systèmes actuels en les rendant plus précis et plus complets (ajustement des systèmes sur des niveaux d'ingestion plus élevés, meilleure prise en compte de la diversité des régimes alimentaires, remplacement de la notion de besoins par celle de réponse marginale, modélisation de l'évolution des réserves corporelles) mais également à proposer de nouveaux « modules » adossés à ces systèmes, permettant de répondre aux évolutions de la demande sociale et des filières, en matière d'efficacité, de qualité des produits (réponse à l'alimentation de la composition des produits : TP du lait, teneur en MG et qualité de la MG du lait et de la viande), de santé animale (évaluation des risques d'acidose), et de maîtrise des rejets (méthane et azote). Une large partie de ce chantier repose sur notre capacité à prédire les flux de nutriments, et les différentes réponses animales associées.

Conclusion générale

Les objectifs de ce travail de thèse étaient d'établir par méta-analyse des modèles génériques et facilement applicables de 1) l'apparition nette en veine porte et 2) l'émission splanchnique des nutriments énergétiques, avec des méthodes de méta-analyses appliquées à la base FLORA.

Ces deux objectifs ont été atteints puisque nous avons obtenu, pour chaque nutriment considéré, un modèle stable statistiquement, c'est-à-dire sans facteur interférent majeur, et avec un bon ajustement statistique. Les prédicteurs identifiés font appel à la composition chimique et nutritionnelle de la ration distribuée aux animaux et/ou au statut physiologique et nutritionnel des animaux, déterminés selon le système INRA. Ces prédicteurs sont facilement déterminables, même dans des situations de pratique sur le terrain.

On peut cependant regretter que le domaine de validité de nos modèles, dépendant des données disponibles à ce jour sur les flux splanchniques de nutriments, ne soit pas plus large. En particulier, il serait important de valider nos modèles sur des NA supérieurs à 30g/j/kg PV. D'autre part, l'élargissement des modèles à des rations supplémentées en lipides ou présentant des additifs apporterait une amélioration notable pour leur application sur le terrain.

Pour répondre à ces nouveaux objectifs, le développement de modèles ciblés sur les différents types de production devrait permettre de mettre en place des lois de réponses marginales. Tout au long de ce travail, nous nous sommes efforcés de valider ou tout du moins d'évaluer les modèles que nous avons mis en place, soit en les confrontant à des valeurs mesurées, soit en vérifiant leur cohérence avec d'autres modèles.

Ce travail a ainsi mis en exergue l'intérêt d'utiliser des bases de données différentes, permettant de croiser les résultats de ces différentes bases. La construction de différentes bases de données complémentaires sur des principes communs est un avantage considérable. Cela a été le cas pour FLORA et ProdAGV, dans lesquels la caractérisation des régimes a été réalisée à partir des tables INRA.

La suite de notre démarche, dont la finalité est d'apporter de nouveaux outils de rationnement, passe nécessairement par des modèles d'utilisation périphérique des nutriments émis par l'aire splanchnique. L'utilisation conjointe de nos modèles avec des données présentant des résultats de réponses animales semble une piste intéressante. Dans ce sens, la combinaison des modèles mécanistes et empiriques, trop souvent opposés, devrait permettre une avancée notable des connaissances.

*Références
bibliographiques*

- Aiello, R. J., and L. E. Armentano. 1987. Gluconeogenesis in goat hepatocytes is affected by calcium, ammonia and other key metabolites but not primarily through cytosolic redox state. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 88B:193-201.
- Aiello, R. J., L. E. Armentano, S. J. Bertics, and A. T. Murphy. 1989. Volatile fatty acid uptake and propionate metabolism in ruminant hepatocytes. *J. Dairy Sci.* 72:942-949.
- Alexander, R. A., J. F. Hentges, Jr., J. T. McCall, and W. O. Ash. 1962. Comparative digestibility of nutrients in roughages by cattle and sheep. *J. Anim. Sci.* 21:373.
- Alper, S.L., R.B. Darman, M.N. Chernova, and N.K. Dahl. 2002. The AE gene family of Cl/HCO₃⁻ exchangers. *J. Nephrology*. 15:41-53
- Amblard, S. 2008. Prédiction de la consommation d'oxygène par les tissus drainés par la veine porte. Rapport de stage de Master 2 professionnel, 104 pages. Université Blaise Pascal, Clermont Ferrand.
- Annison, E.F. 1954. Studies on the volatile fatty acids of sheep blood with special reference to formic acid. *Biochem J* 58:670-680.
- Annison, E.F., R.E. Brown, R.A. Leng, D.B. Lindsay, and C.E. West. 1967. Rates of entry and oxidation of acetate, glucose, D(-)beta-hydroxybutyrate, palmitate, oleate and stearate, and rates of production and oxidation of propionate and butyrate in fed and starved sheep. *Biochem. J.* 104:135-147.
- Annison, E.F., D.B. Lindsay and J.V. Nolan. 2002. Digestion and metabolism. pages 95-118. in: *Sheep Nutrition*, M. Freer and H. Dove, ed. CAB International, Wallingford, UK.
- Annison, E. F., R. A. Leng, D. B. Lindsay, and R. R. White. 1963. The metabolism of acetic acid, propionic acid and butyric acid in sheep *Biochem. J.* 88:248-252.
- Annison, E. F., and D. Lewis. 1959. *Metabolism in the rumen*. Methuen Monograph, London
- Archibald, J. G. 1953. Sugar and acids in grass silage. *J. Dairy Sci.* 36:385-390.
- Archimède, H., D. Sauvant, and P. Schmidely. 1997. Quantitative review of ruminal and total tract digestion of mixed diet organic matter and carbohydrates. *Reprod. Nutr. Dev.*, 37:173-189.
- Armentano, E. 1992. Ruminant hepatic metabolism of volatile fatty acids, lactate and pyruvate. *J. Nutr.* 122:838-842.
- Asanuma, N., and T. Hino. 2002. Regulation of fermentation in a ruminal bacterium, *Streptococcus bovis*, with special reference to rumen acidosis. *J. Anim. Sci.* 73:313-325.
- Ash, R., and G. D. Baird. 1973. Activation of volatile fatty acids in bovine liver and rumen epithelium. Evidence for control by autoregulation. *Biochem. J.* 136:311-319.
- Ash, R. W., and A. Dobson. 1963. The effect of absorption on the acidity of ruminal contents. *J. Physiol. (Lond.)* 169:39-61.
- Baird, G. D. 1977. Aspects of ruminant intermediary metabolism in relation to ketosis. *Biochem. Soc. Trans.* 5:819-827.
- Baird, G. D., M. A. Lomax, H. W. Symonds, and S. R. Shaw. 1980. Net hepatic and splanchnic metabolism of lactate, pyruvate and propionate in dairy cows in vivo in relation to lactation and nutrient supply. *Biochem. J.* 186:47-57.
- Baird, G. D., J. G. van der Walt, and E. N. Bergman. 1983. Whole-body metabolism of glucose and lactate in productive sheep and cows. *The British journal of nutrition* 50:249-265.
- Baird, G. D., and J. L. Young. 1975. The response of key gluconeogenic enzymes in bovine liver to various dietary and hormonal regimes. *J. Agric. Sci. (Camb.)* 84:227-230.
- Baldwin, R.L. and B.W. Jesse. 1996. Propionate modulation of ruminal ketogenesis. *J. Anim. Sci.* 74:1694-1700.
- Baldwin, R.L., J.H.M. Thornley and D.E. Beever. 1987. Metabolism of the lactating cow. 2. Digestive elements of a mechanistic model. *Journal of Dairy Research* 54, 107-131.

- Balcells, J., C. J. Seal, and D. S. Parker. 1995. Effect of intravenous glucose infusion on metabolism of portal-drained viscera in sheep fed a cereal/straw-based diet. *J. Anim. Sci.* 73:2146-2155
- Balch, C. C., and R. C. Campling. 1962. Regulation of voluntary food intake in ruminants. *Nutrition abstracts and reviews* 32:669-686.
- Baldwin RL, Thornley JHM and Beever DE 1987. Metabolism of the lactating cow. 2. Digestive elements of a mechanistic model. *J. Dairy Res.* 54, 107-131.
- Bannink, A., H. De Visser and A.M. Van Vuuren. 1997. Comparison and evaluation of mechanistic rumen models. *B. J. Nutr.* 78:563-581.
- Bannink, A., J. France, S. Lopez, G.J.J. Gerrits, E. Kebreab, A. Tamminga and J. Dijkstra. 2008. Modelling the implications of feeding strategy on rumen fermentation and functioning of the rumen wall. *Anim. Feed Sci. and Technol.* 143:3-26.
- Bannink, A., J. Kogut, J. Dijkstra, E. Kebreab, J. France, A. Tamminga and A.M. Van Vuuren. 2006. Estimation of the stoichiometry of volatile fatty acid production in the rumen of lactating cows. *J. Theoretical Biol.* 238:36–51.
- Bannink, A., J.L. Ellis, J. France and J. Dijkstra. 2009. Prediction of starch digestion in the small intestine of lactating cows. Pages 68-69 in *Ruminant Physiology. Digestion, metabolism and effects of nutrition on reproduction and welfare*. Y. Chilliard, F. Glasser, Y. Faulconnier, F. Bocquier, I. Veissier and M. Doreau, ed. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands.
- Bannink, A. and S. Tamminga. 2005. Rumen function. pages 263-288. in: *Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism*. J. M. Forbes and J. France, ed. CAB international, Cambridge.
- Barcroft, J., R. A. McAnally and A. T. Phillipson. 1943. Absorption of volatile fatty acids from the alimentary tract of sheep and other animals. *J. Exp. Biol.* 20:120-129.
- Bateman, H. G., J. H. Clark, and M. R. Murphy. 2005. Development of a system to predict feed protein flow to the small intestine of cattle. *J. Dairy Sci.* 88:282–295
- Barnett, A. J. G. 1954. *Silage fermentation*. Butterworths Scientific Publications, London
- Beck, U., B. Emmanuel, and D. Giesecke. 1984. The ketogenic effect of glucose in rumen epithelium of ovine (*ovis aries*) and bovine (*bos taurus*) origin. *Comparative biochemistry and Physiology part B* 77:517-521.
- Bell, A. W. 1980. Lipid metabolism in liver and selected tissues and in the whole body of ruminant animals. *Prog Lipid Res* 18:117-164.
- Bergman, E. N. 1973. Glucose metabolism in ruminants as related hypoglycemia and ketosis. *Cornell Veterinary* 63:341-382.
- Bergman, E. N. 1975. Production and utilization of metabolites by the alimentary tract as measured in portal and hepatic blood. pages 1992-1305. in *Proc. 4th International Symposium on Ruminant Physiology*, Armidale, NSW.
- Bergman, E. N. 1990. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiol Rev.* 70:567-590.
- Bergman, E. N., R. P. Brockman, and C. F. Kaufman. 1974. Glucose metabolism in ruminants: Comparison of whole-body turnover with production by gut, liver, and kidneys. *Fed Proc* 33:1849-1854.
- Bergman, E. N., M. L. Katz, and C. F. Kaufman. 1970. Quantitative aspects of hepatic and portal glucose metabolism and turn-over in sheep. *Am. J. Physiol.* 219:785-793.
- Bergman, E. N., R. S. Reid, M. G. Murray, J. M. Brockway, and F. G. Whitelaw. 1965. Interconversions and production of volatile fatty acids in the sheep rumen. *Biochem. J.* 97:53-58.
- Bergman E N, D.J. Starr and S.S. Ruelins. 1968. Glycerol metabolism and gluconeogenesis in the normal and hypoglycaemic ketotic sheep. *Am. J. Physiol.* 215:874-880.

- Bergman, E. N., and J. E. Wolff. 1971. Metabolism of volatile fatty acids by liver and portal-drained viscera in sheep. *Am. J. Physiol.* 221:586-592.
- Berthelot, V. 2000. Contribution du propionate à la synthèse des acides gras impairs et ramifiés du tissu adipeux chez l'agneau : Facteurs de variation alimentaires et métaboliques. PhD Diss. Institut National Agronomique Paris-Grignon, Paris.
- Berthelot, V., P. Bas, P. Schmidely, and C. Duvaux-Ponter. 2001. Effect of dietary propionate on intake patterns and fatty acid composition of adipose tissues in lambs. *Small Ruminant Res* 40:29-39.
- Berthelot, V., S. G. Pierzynowski, D. Sauvant, and N. B. Kristensen. 2002. Hepatic metabolism of propionate and methylmalonate in growing lambs. *Livest. Prod. Sci.* 74:33-43.
- Berthiaume, R., P. Dubreuil, M. Stevenson, B.W. McBride and H. Lapierre H. 2001. Intestinal disappearance and mesenteric and portal appearance of amino acids in dairy cows fed ruminally protected methionine. *J. Dairy Sci.* 84:194-203.
- Bhattacharya, A. N., and R. G. Warner. 1967. Rumen pH as a factor for controlling feed intake in ruminants. *J. Dairy Sci.* 50:1116-1119.
- Blaxter, K.L., N. Me C. Graham, and F.W. Wainman. 1956. Some observations on the digestibility of food by sheep, and on related problems. *Br. J. Nutr.* 10:69-91.
- Blouin, J. P., J. F. Bernier, C. K. Reynolds, G. E. Lobley, P. Dubreuil, and H. Lapierre H. 2002. Effect of supply of metabolizable protein on splanchnic fluxes of nutrients and hormones in lactating dairy cows. *J. Dairy. Sci.* 85:2618-2630.
- Brindle, P. J., V.A. Zammit, and C.L. Pogson. 1985. Inhibition of sheep liver carnitine palmitoyltransferase by methylmalonyl CoA. *Biochem. Soc. Trans.*, 13:880-881.
- Britton, R., and C. Krehbiel. 1993. Nutrient metabolism by gut tissues. *J. Dairy Sci.* 76:2125-2131.
- Brockman, R. P. 1976. Effects of glucagon and insulin on lipolysis and ketogenesis in sheep. . *Canadian journal of comparative medicine* 40:166-170.
- Brockman, R. P. 1990. Effect of insulin on the utilization of propionate in gluconeogenesis in sheep. *The British journal of nutrition* 64:95-101.
- Brockman, R. P. 1993. Glucose and short chain fatty acid metabolism. pages 249-265 in: *Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism.* J. M. Forbes and J. France, ed. CAB international, Cambridge.
- Brockman, R.P. 2005. Glucose and short chain fatty acid metabolism. In *Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism*, 2nd edition (Ed. J Dijkstra, JM Forbes and J France), pp. 291-310. CAB International, Wallingford, UK.
- Brockman, R. P., and E. N. Bergman. 1975. Quantitative aspects of insulin secretion and hepatic and renal removal in sheep. *Am J Physiol* 229:1338-1343.
- Broderick, G. A., M.J. Stevenson, R.A Patton, N.E. Lobos, and J.J. Olmos Colmenero. 2008. Effect of supplementing rumen-protected methionine on production and nitrogen excretion in lactating dairy cows. *J. Dairy. Sci.* 91:1092-1102.
- Brown, L. D., D. HHillman, C. A. Lassiter, and C. F. Huffman. 1963. Grass vs. Hay for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 46:407-410.
- Bruss, M.L. 1999. Lipids and ketones. Pages 83-115. In Kaneko J.J., J.W. Harvey, and M.L. Bruss (Ed). *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5ème edition. Academic Press, INC, San Diego, California, USA.
- Buckley, B.M. and D.H. Williamson. 1977. Origin of blood acetate in the rat. *Biochem. J.* 166:539-545.
- Bush, L. P., C. Streeter, and R. C. Buckner. 1970. Perloline Inhibition of in vitro Ruminant Cellulose Digestion. *Crop. Sci.* 10:108-109.

- Bush, R. S. 1982. Extraction of enzymes and assessments of metabolism in bovine rumen epithelium. *Can. J. Anim. Sci.* 62:429-438.
- Bush, R. S., and L. P. Milligan. 1971. Enzymes of ketogenesis in bovine rumen epithelium. *Can. J. Anim. Sci.* 51:129-133.
- Campero, C. and C. Omer. 2008. Comparaison de différents systèmes d'évaluation de la valeur énergétique des aliments et des rations pour ruminants. Rapport de centre d'intérêt. p 98. LaSalle Beauvais. Beauvais, France
- Casse, E. A., H. Rulquin, and G. B. Huntington. 1994. Effect of mesenteric vein infusion of propionate on splanchnic metabolism in primiparous holstein cows. *J. Dairy Sci.* 77:3296-3303.
- Cheng, K. J., C. W. Forsberg, H. Minato, and J. W. Costerton. 1991. Microbial ecology and physiology of feed dégradation within the rumen. pages 595-624 in: *Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants*. Y. T. Tsuda and S. a. R. Kawashima, ed. Academic Press, Tokyo.
- Cook, R. M., R. E. Brown, and C. L. Davis. 1965. Protein metabolism in the rumen. I. Absorption of glycine and other amino acids. *J. Dairy Sci.* 48:475-483.
- Cook, R. M., S. C. C. Liu, and S. Quraishi. 1969. Utilization of volatile fatty acids in ruminants. Iii. Comparison of mitochondrial acyl coenzyme a synthetase activity and substrate specificity in different tissues. *Biochemistry* 8:2966-2969.
- Connell, A., A.G. Calder, S.E. Anderson and G.E. Lobley. 1997. Hepatic protein synthesis in the sheep: effect of intake as monitored by use of stable-isotope-labelled glycine, leucine and phenylalanine. *Br. J. Nutr.* 77:255-271.
- Costa, N.D., G.H. McIntosh and A.M. Snoswell. 1976. Production of endogenous acetate by the liver in lactating ewes. *Aust. J. Biol. Sci.* 29:33-42.
- Counotte, G. H. M., and R. A. Prins. 1981. Regulation of lactate metabolism in the rumen. *Vet. Res. Commun.* 5:101-115.
- Counotte, G. H. M., R. A. Prins, R. H. A. Janssen, and M. J. A. DeBie. 1981. Role of *Megasphaera elsdenii* in the fermentation of dl-[2-13c] lactate in the rumen of dairy cattle. *Appl. Environ. Microbiol.* 42:649-655.
- Dagenais, M. G., and D.L. Dagenais. 1997. L'estimation de modèles de régression linéaire autorégressifs avec erreurs résiduelles autocorrélées et erreurs sur les variables. *L'Actualité économique*, 73:507-523.
- Danfaer, A. 1990. A dynamic model of nutrient digestion and metabolism in lactating dairy cows. PhD. Diss. National Institute of Animal Science, DK.
- Danfaer, A. 1994. Nutrient metabolism and utilization in the liver. *Livest. Prod. Sci.* 39:115-127.
- Danfaer, A., V. Tetens, and N. Agergaard. 1995. Review and an experimental study on the physiological and quantitative aspects of gluconeogenesis in lactating ruminants. *Comparative Biochemistry and Physiology part B* 111:201-210.
- Dawes, D. J., S. C. Sensenig, and R. N. Heitmann. 1985. Autoregulation of ketogenesis in fasted sheep. *Fed Proc* 44:548 (Abstr.).
- DeGregorio, R. M., R. E. Tucker, G. E. Mitchell Jr, and W. W. Gill. 1982. Carbohydrate fermentation in the large intestine of lambs. *J. Anim. Sci.* 54:855-862.
- Demarquilly, C., M. Chenost, and S. Giger. 1995. Pertes fécales et digestibilités des aliments et des rations. pages 601-648. in: *Nutrition des ruminants domestiques*. Jarrige, R., Y. Ruckebush, C. Demarquilly, M.H. Farce, and M. Journet. ed. INRA Editions. Paris, France.
- Demaux, G., H. Le Bars, J. Molle, A. Rerat, and E. Simonnet. 1961. Absorption des acides aminés au niveau du rumen, de l'intestin grêle et du caecum chez le mouton. *Bull. Acad. Vét.* 34:85-88.

- Demeyer D., 1981. Rumen microbes and the digestion of plant cell walls, *Agric. Environ.* 6: 295–337.
- Demigné, C., C. Yacoub, C. Morand, and C. Rémésy. 1991. Interaction between propionate and amino acid metabolism in isolated sheep hepatocytes. *The British journal of nutrition* 65:301-317.
- Dijkstra, J. 1994. Production and absorption of volatile fatty acids in the rumen. *Livest. Prod. Sci.* 39:61-69.
- Dijkstra, J., H. Boer, J. van bruchem, M. Bruining, and S. Tamminga. 1993. Absorption of volatile fatty-acids from the rumen of lactating dairy-cows as influenced by volatile fatty-acids concentration, ph and rumen liquid volume *The British journal of nutrition* 69:385-396.
- Dijkstra, J., HDStC. Neal, D.E. Beever and J. France. 1992. Simulation of nutrient digestion, absorption and outflow in the Rumen: Model Description. *J. Nutr.* 122:2239-2256
- Dijkstra J, HDStC Neal, D.E. Beever, and J. France. 1992. Simulation of nutrient digestion, absorption and outflow in the Rumen: Model Description. *J. Nutr.* 122:2239-2256.
- Dijkstra, J., J. A. N. Mills, and J. France. 2002. The role of dynamic modelling in understanding the microbial contribution to rumen function. *Nutrition Research Reviews* 15:67-90.
- Ding, Z., and Y. Xu. 2002. Lactic acid is absorbed from the small intestine of sheep. *J Exp Zool Part A Comp Exp Biol* 295:29 - 36.
- Dobson, A., and A. T. Phillipson. 1956. The influence of the contents of the rumen and of adrenaline upon its blood supply. *J. Physiol. (Lond.)* 133:76-77.
- Dobson, A., and A. T. Phillipson. 1968. Absorption from the ruminant forestomach. pages 2761-2774 in: *Handbook of physiology. Alimentary canal, bile, digestion; ruminant physiology.* No. 5. C. F. Code, ed. Am. Physiol. Soc., Washington DC.
- Donkin, S. S., L. E. Armentano, and S. J. Bertics. 1991. Gluconeogenesis from propionate, lactate and glycerol in bovine hepatocytes: Insulin and glucagon effects. . *FASEB J.* 5:757 (Abstr.).
- Drackley, J.K., and J.B. Andersen. 2006. Splanchnic metabolism of long-chain fatty acids in ruminants. Pages 199-224 in *Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism and Impact of Nutrition on Gene Expression, Immunology and Stress.* K. Sejrsen, T. Hvelplund and M.O. Nielsen, ed. Wageningen Academic Publishers, Utrecht, Netherlands.
- Drackley, J.K., J.J. Veenhuizen, M.J. Richard and J.W. Young. 1991. Metabolic changes in blood and liver of dairy cows during either feed restriction or administration of 1,3-butanediol. *J. Dairy Sci.* 74: 4254–4264.
- Dunlop, R. H. 1967. Pathogenesis of ruminant lactic acidosis. pages 259-301. in *Proc. 18 th World Veterinary Medecine Congress, Paris.*
- Dunlop, R. H., and P. B. Hammond. 1965. D-lactic acidosis of ruminants. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 119:1109-1132.
- Durantón, A., and L. Buéno. 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.
- Elliot, J. M. 1980. Propionate metabolism and vitamin b-12. pages 485-503. in *Proc. Digestive physiology and metabolism in ruminant Inter symposium on Ruminant Physiology.* , Clermont Ferrand, france.
- Elsden, S. R. 1945. The fermentation of carbohydrate in the rumen of sheep. *J. Exp. Biol.* 22:51-62.
- Emery, R. S., L. D. Brown, C. P. Huffman, T. R. Lewis, J. P. Everett, and C. A. Lassiter. 1961. Comparative feeding value of lactic acid and grain for dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 30:159-162.

- Emery, R. S., J.S. Liesman, and T.H. Herdt. 1992. Metabolism of long chain fatty acids by ruminant liver. *J. Nutr.* 122:832-837.
- Emmanuel, B. 1974. On the origin of rumen protozoan fatty acids. *Biochem. Biophys. Acta.* 337:404-413.
- Emmanuel, B., and L. P. Milligan. 1983. Butyrate: Acetoacetyl-coa transferase activity in bovine rumen epithelium. *Can. J. Anim. Sci.* 63:355-360.
- Emmanuel, B., L. P. Milligan, and B. V. Turner. 1974. The metabolism of acetate by rumen microorganisms. *Can. J. Microbiol.* 20:183-185.
- Emmanuel, B., M. Stangassinger, and D. Giesecke. 1982. Production of d(-)-3-hydroxybutyrate by an alternate mechanism in rumen epithelium of ovine (*ovis aries*) and bovine (*bos taurus*). *comparative biochemistry and Physiology part B* 72:415-419.
- Ewaschuk, J. B., J. M. Naylor, R. Palmer, S. J. Whiting, and G. A. Zello. 2004. D-lactate production and excretion in diarrheic calves. *Journal of veterinary internal medicine* 18:744-747.
- Faulkner, A., and H. T. Pollock. 1986. Propionate metabolism and its regulation by fatty acids in ovine hepatocytes. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 84:559-563.
- Faichney, J. 1969. Production of volatile fatty acids in the sheep caecum. *Australian J. Agr. Res.* 20:491.
- Flux, D. S., D. D. S. MacKenzie, and G. F. Wilson. 1984. Plasma metabolite and hormone concentrations in fresian cows of differing genetic merit measured at two feeding levels. *Anim. Prod.* 37:377-384.
- Forbes, E.B., W.W. Braman, M. Kriss, and R.W. Swift. 1933. The associative effects of feeds in relation to the utilization of feed energy. *J. Agric. Res.*, 46:753-770.
- France, J., M.D. Hanigan, C.K. Reynolds, J. Dijkstra, L.A. Crompton, J.A. Maas, B.J. Bequette, J.A. Metcalf, G.E. Lobley, J.C. MacRae, and D.E. Beever. 1999. An isotope dilution model for partitioning leucine uptake by the liver of the lactating dairy cow. *J. theor. Biol.* 198:121-133.
- Freetly, H.C., J.R. Knapp, C.C. Calvert, and R.L. Baldwin. 1993. Development of a mechanistic model of liver-metabolism in the lactating cow. *Agricultural Systems* 41:157-195.
- Friggens, N.C., J.D. Oldham, R.J. Dewhurst, and G. Horgan. 1998. Proportions of volatile fatty acids in relation to the chemical composition of feeds based on grass silage. *Journal of Dairy Science* 81, 1331-1344.
- Gäbel, G., and J.R. Aschenbach. 2006. Ruminant SCFA absorption: channelling acids without harm. In: *Ruminant Physiology. In Digestion, metabolism and impact of nutrition on gene expression, immunology and stress* K Sejrsen, T. Hvelplund and M.O. Nielsen (Ed), Pages 173-195. Wageningen Academic Publishers, The Netherlands.
- Gabel, G., and H. Martens. 1989. Transport of na and cl across the forestomach epithelium: Mechanisms and interactions with short chain fatty acids. pages 129-147. in *Proc. Vllth international symposium on ruminant physiology.*, Sendai.
- Garcia, F., and Agabriel J. 2008. CompoCow: a predictive model to estimate variations in body composition and the energy requirements of cull cows during finishing. *J. Agric. Sci.* 03: 251-265.
- Garton, G. A., F. D. Hovell, and W. R. Duncan. 1972. Effect of dietary propionate on the fatty acid composition of lamb triglycerides. *Proc. Nutr. Soc.* 31:20A-22A.
- Geisser, S. 1975. The Predictive Sample Reuse Method with Applications. *Journal of the American Statistical Association*, 70:320-328
- Gerloff, B.J. Herdt, T.H. 1999. Fatty liver in dairy cattle. Pages 230-233. In: Howard and Smith (Ed). *Current Veterinary Therapy. Food Animal Practice.* W.B. Saunders company, Philadelphia.

- Giesecke, D., U. Beck, and B. Emmanuel. 1985. Ketogenic regulation by certain metabolites in rumen epithelium. *comparative biochemistry and Physiology part B* 81:863-867.
- Giesecke, D., and M. Stangassinger. 1980. Lactic acid metabolism. pages 523-539 in: *Digestive physiology and metabolism in ruminant* Y. Ruckebush and P. Thivend, ed. M.T.P. Press, Lancaster, UK.
- Glasser F, Sauvant D and Nozière P 2009. Predicting production profile of volatile fatty acid from their concentration profile in the rumen fluid. In 7th International Workshop : *Modelling Nutrient Digestion and Utilization in Farm Animals*, p.30. INRA AgroParisTech, Paris, France.
- Goad, D. W., C. L. Goad, and T. G. Nagaraja. 1998. Ruminal microbial and fermentative changes associated with experimentally induced subacute acidosis in steers. *J. Anim. Sci.* 76:234-241.
- Grenet, E., and P. Barry. 1988. Colonization of thickwalled plant tissues by anaerobic fungi. *Anim. Feed Sci. Technol.* 19:25-31.
- Grenet, E., G. Fonty, J. Jamot, and F. Bonnemoy. 1989. Influence of diet and monensin on development of anaerobic fungi in the rumen, duodenum, caecum and feces in cows. *Appl. Environ. Microbiol.* 55:2360-2364.
- Griffiths, W.E., R.C. Hill, and G.G Judge. 1993. *Learning and Practicing Econometrics*. 1st Edition. John Wiley & Sons. New York.
- Groot, P. H. E., H. R. Sholte, and W. C. Hülsmann. 1976. Fatty acid activation: Specificity, localization and function. *Adv. Lipid Res.* 14:1812-1831.
- Guo, J., R.R. Peters, and R. A. Kohn. 2008. Modeling nutrient fluxes and plasma ketone bodies in periparturient cows. *J. Dairy Sci.* 91:4282-4292.
- Guzman, M., and M.J.H. Geelen. 1993. Regulation of fatty acid oxidation in mammalian liver. *Biochim. Biophys. Acta.* 1167:227-241.
- Hamada, T., T. Ishü, and S. Taguchi. 1982. Blood changes of spontaneously ketotic cows before and four hours after administration of glucose, xylitol, 1,2-propanediol, or magnesium propionate. *J. Dairy Sci.* 65:1509-15133.
- Hanigan, M. D., 2005. Quantitative aspects of ruminant splanchnic metabolism as related to predicting animal performance. *Animal Science* 80, 23–32.
- Hanigan., M.D., L.A. Crompton, C.K. Reynolds, D. Wray-Cahen, M.A. Lomax, and J. France. 2004. An integrative model of amino acid metabolism in the liver of the lactating dairy cow. *J. Theor. Biol.* 228:271–289.
- Harmon, D. L. 1986. Influence of dietary energy intake and substrate addition on the in vitro metabolism of glucose and glutamine in rumen epithelial tissue. *Comparative biochemistry and Physiology* 3:643-647.
- Harmon, D.L. 1992. Impact of nutrition on pancreatic exocrine and endocrine secretion in ruminants : A review. *J. Anim. Sci.* 70:1290-1301.
- Harmon, D. L. 1993. Nutritional regulation of postruminal digestive enzymes in ruminants. *J. Dairy Sci.* 76:2102-2111.
- Harmon, D. L., R. A. Britton, R. L. Prior, and R. A. Stock. 1985. Net portal absorption of lactate and volatile fatty acids in steers experiencing glucose-induced acidosis or fed a 70% concentrate diet ad libitum. *J. Anim. Sci.* 60:560-569.
- Harmon, D. L., K. L. Gross, C. R. Krehbiel, K. K. Kreikemeier, M. L. Bauer, and R. A. Britton. 1991. Influence of dietary forage and energy intake on metabolism and acyl-coa synthetase activity in bovine ruminal epithelial tissue. *J. Anim. Sci.* 69:4117-4127.
- Hart, I. C., I. A. Bines, and S. V. Morant. 1980. The secretion and metabolic clearance rates of growth hormone, insulin, and prolactin in high- and low-yielding cattle at four stages of lactation. . *Life Science Journal* 27:1839-1847.

- Heitmann, R. N., D. J. Dawes, and S. C. Sensenig. 1987. Hepatic ketogenesis and peripheral ketone body utilization in the ruminant. *J. Nutr.* 117:1174-1180.
- Heitmann, R. N., and J. M. Fernandez. 1986. Autoregulation of alimentary and hepatic ketogenesis in sheep. *J. Dairy Sci.* 69:1270-1281.
- Heitmann, R. N., S. C. Sensenig, C. K. Reynolds, J. M. Fernandez, and D. J. Dawes. 1986. Changes in energy metabolite and regulatory hormone concentrations and net fluxes across splanchnic and peripheral tissues in fed and progressively fasted ewes. *J. Nutr.* 116:2516-2524.
- Henderson, H. E., C. A. Reddy, and R. Crickenberger. 1974. Fermented ammoniated condensed whey (facw) as protein source. *J. Anim. Sci.* 39:240.
- Herd, T.H. 1988. Fuel homeostasis in the ruminant. *Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract.* 4:213-231.
- Herd, T.H. 2000. Ruminant adaptation to negative energy balance. *Vet. Clin. N. Am. Food Anim. Pract.* 16:215-230.
- Herd, T.H., and Emery, R.S. 1992. Therapy of diseases of ruminants intermediary metabolism. *Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract.* 8:91-106.
- Heuter, P. G., J. C. Shaw, and R. N. Doetsch. 1956. Absorption and dissimilation of lactates added to the bovine rumen and the resulting effects on blood glucose. *J. Dairy Sci.* 39:1430-1437.
- Hillaire, M. C., J. P. Jouany, and G. Fonty. 1990. Wheat straw degradation, in rusitec, in the presence or absence of rumen anaerobic fungi. *Proc. Nutr. Soc.* 49:127A.
- Hino, T., and S. Kuroda. 1993. Presence of lactate dehydrogenase and lactate racemase in *Megasphaera elsdenii* grown on glucose or lactate. *Appl. Environ. Microbiol.* 59:255-259.
- Hino, T., K. Shimada, and T. Maruyama. 1994. Substrate preference in a strain of *Megasphaera elsdenii*, a ruminal bacterium, and its implications in propionate production and growth competition. *Appl. Environ. Microbiol.* 60:1827-1831.
- Hippen, A.R. 2000. Glucagon as a potential therapy for ketosis and fatty liver. *Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract.* 16:267-282.
- Hird, F. J., and M. J. Weidemann. 1964. Ketone-body synthesis in relation to age of lambs. *Biochem. J.* 93:423-430.
- Hocquette, J.F., and D. Bauchart. 1999. Intestinal absorption, blood transport and hepatic and muscle metabolism of fatty acids in preruminant and ruminant animals. *Reprod. Nutr. Dev.*, 1999, 39, 27-48.
- Hoover, W. 1978. Digestion and absorption in the hindgut of ruminants. *J. Anim. Sc.* 46:1789-1798.
- Huber, J. T., R. L. Boman, and H. E. Henderson. 1976a. Fermented ammoniated condensed whey as a nitrogen supplement for lactating cows. *J. Dairy Sci.* 59:1936-1943.
- Huber, T. L., J. H. Cooley, D. D. Goetsch, and N. K. Das. 1976b. Lactic acid-utilizing bacteria in ruminal fluid of a steer adapted from hay feeding to a high-grain ration. *Am. J. Vet. Res.* 37:611-613.
- Huntington, G. B. 1986. Uptake and transport of non protein nitrogen by the ruminant gut. *Fed Proc* 45:2272-2276.
- Huntington, G.B., J.H. Eisemann and J.M. Whitt. 1990. Portal blood flow in beef steers: comparison of techniques and relation to hepatic blood flow, cardiac output and oxygen uptake. *J. Anim. Sci.* 68:1666-1673.
- Huntington, G.B., 1997. Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. *J. Anim. Sci.* 75:852-867.
- Huntington, G. B., and C. K. Reynolds. 1986. Blood flow and nutrient flux across stomach and post-stomach tissues of beef steers. *Fed Proc* 45:606 (Abstr).

- Huntington, G. B., P. J. Reynolds, and H. F. Tyrrell. 1983. Net absorption and ruminal concentrations of metabolites in nonpregnant dry holstein cows before and after intraruminal acetic acid infusion. *J. Dairy Sci.* 66:1901-1908.
- Ingle, D. L., D. E. Bauman, and U. S. Garrigus. 1972. Lipogenesis in the ruminant : In vivo site of fatty acid synthesis in sheep. *J. Nutr.* 102:617-624.
- INRA, 1988. Alimentation des bovins, ovins et caprins. R. Jarrige, ed. INRA, Paris, France.
- INRA. 2007. Alimentation des bovins, ovins et caprins - besoins des animaux - valeurs des aliments - tables inra 2007, Versailles, France.
- INRA-AFZ. 2004. Tables de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage Porcs, volailles, bovins, ovins, caprins, lapins, chevaux, poissons, 2e édition revue et corrigée, 304 p. Sauvant D., J.-M. Perez, and G. Tran. ed. INRA editions. Versailles, France.
- Isserty, A., and I. Ortigues. 1994. Methods of analysis relating to blood flow measurement of the viscera and aorta in sheep. *Reprod. Nutr. Dev.* 34:399-413.
- Jacob, P., H. Rosseman, G. Lamprecht, A. Kretz, C. Neff, E. Lin Wu, M. Gregor, D.A. Groneberg, J. Kere and U. Seidler. 2002. Down regulated in adenoma mediates apical Cl/HCO₃- exchange in rabbit, rat and human duodenum. *Gastroenterology.* 122: 709-724.
- Janes, A. N., T. E. Weekes, and D. G. Armstrong. 1985. Absorption and metabolism of glucose by the mesenteric-drained viscera of sheep fed on dried-grass or ground, maize-based diets. *The British journal of nutrition* 54:449-458.
- Jarrett, I. G., O. H. Filsell, and F. J. Ballard. 1976. Utilization of oxidizable substrates by the sheep hind limb: Effects of starvation and exercise. *Metabolism* 25:523-531.
- Jouany, J. P. 1978. Contribution à l'étude des protozoaires ciliés du rumen : Leur dynamique, leur rôle dans la digestion et leur intérêt pour le ruminant. PhD Diss. Université de Clermont II, Clermont Ferrand, France.
- Jouany, J.P., D.L. Demeyer, and J. Grain. 1988. Effect of defaunating the rumen. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 21:229-265.
- Jouany, J.P., M. Ivan, Y. Papon, B. Lassalas. 1992. Effects of *Isotricha*, *Eudiplodinium*, *Epidinium* + *Entodinium* and a mixed population of protozoa on the in vitro dégradation of fish meal, soybean meal and casein. *Can. J. Anim. Sci.*, 72, 871-880.
- Jouany, J.P., J. Sénaud, S. Toillon, M. Ben Salah, B. Lassalas, J. Bohatier, and G. Prensier. 1995. Effect of ruminal inoculation of *Isotricha* alone or a mixed B-type fauna in a defaunated rumen on the digestion of a hay-maize diet (70:30) in sheep. *Reprod. Nutr. Dev.* 35, 11-25.
- Johnson, R. R., E. W. Klosterman, and O. G. Bentley. 1962. Energy value of lactic acid and corn steepwater and their effects on digestibility of ruminant rations. *J. Anim. Sci.* 21: 887-891.
- Katz, M. L., and E. N. Bergman. 1969a. Hepatic and portal metabolism of glucose, free fatty acids, and ketone bodies in the sheep. *Am J Physiol* 216:953-960.
- Katz, M. L., and E. N. Bergman. 1969b. Hepatic and portal metabolism of glucose, free fatty acids, and ketone bodies in the sheep. *Am J Physiol* 216:953-960.
- Kaufman, C. F., and E. N. Bergman. 1971. Renal glucose, free fatty acid, and ketone body metabolism in the unanesthetized sheep. *Am J Physiol* 221:967-972.
- Kempton, T.J., and R.A. Leng. 1983. Glucose metabolism in growing lambs. *Trop. Anim. Prod.* 8:244-253.
- Kirata, D., Y. Matsudab, N. Yamashikib, H. Hayashia and S. Kato. 2007. Expression, cellular localization, and functional role of monocarboxylate transporter 4 (MCT4) in the gastrointestinal tract of ruminants. *Gene.* 391:140-149.

- Knowles, S. E., I. G. Jarrett, O. H. Filsell, and F. J. Ballard. 1974. Production and utilization of acetate in mammals. *Biochem. J.* 142:401-411.
- Koho, N., V. Maijala, H. Norberg, M. Nieminen and A.R. Poso. 2005. Expression of MCT1, MCT2 and MCT4 in the rumen, small intestine and liver of of reindeer (*Rangifer tarandus tarandus* L.) *Comp. biochem. physiol. Part A.* 141:29-34.
- Konggaard, S. P., and M. Simesen. 1968. Undersogelser vedrorende roeforgiftning. *Landok. Forsogslab. Arbog.*:474-483.
- Koundakjian, P. P., and A. M. Snoswell. 1970. Ketone body and fatty acid metabolism in sheep tissues. 3-hydroxybutyrate dehydrogenase, a cytoplasmic enzyme in sheep liver and kidney. *Biochem. J.* 119:49-57.
- Kraft, G., 2009. Régulation nutritionnelle du métabolisme hépatique des acides aminés chez le ruminant en croissance: Conséquence sur l'apport des nutriments azotés aux muscles. PhD. Diss. Pages 355. AgrosPariTech. Paris, France
- Kraft, G., I. Ortigues-Marty, D. Durand, D. Rémond, T. Jarde, B. Bequette and I. Savary-Auzeloux. 2009a. Adaptations of hepatic amino acid metabolism contribute to the nitrogen economy in lambs fed nitrogen- or energy- imbalanced diets. *Animal*. Accepted.
- Kraft, G., T. Wester, D. Dardevet, D. Rémond, I. Ortigues-Marty and I. Savary-Auzeloux. 2009b. Nutritional regulation of the anabolic fate of amino acids within the liver (protein synthesis and gluconeogenesis): a cross-species study. *Nutrition Research Reviews*, submitted.
- Krebs, H. A. 1961. The biochemical lesion in ketosis. *Archives of internal medicine* 107:51-62.
- Krehbiel, C. R., R. A. Britton, D. L. Harmon, J. P. Peters, R. A. Stock, and H. E. Grotjan. 1996. Effects of varying levels of duodenal or midjejunal glucose and 2-deoxyglucose infusion on small intestinal disappearance and net portal glucose flux in steers. *J. Anim. Sci.* 74:693-700.
- Krehbiel, C. R., D. L. Harmon, and J. E. Schneider. 1992. Effect of increasing ruminal butyrate on portal and hepatic nutrient flux in steers. *J. Anim. Sci.* 70:904-914.
- Kreikemeier, K. K., and D. L. Harmon. 1995. Abomasal glucose, maize starch and maize dextrin infusions in cattle - small-intestinal disappearance, net portal glucose flux and ileal oligosaccharide flow. *The British journal of nutrition* 73:763-772.
- Kreikemeier, K. K., D. L. Harmon, R. T. J. Brandt, T. B. Avery, and D. E. Johnson. 1991. Small intestinal starch digestion in steers: Effect of various levels of abomasal glucose, corn starch and corn dextrin infusion on small intestinal disappearance and net glucose absorption. *J. Anim. Sci.* 69:328-338.
- Kreikemeier, K. K., D. L. Harmon, R. T. Brandt, Jr., T. G. Nagaraja, and R. C. Cochran. 1990. Steam-rolled wheat diets for finishing cattle: Effects of dietary roughage and feed intake on finishing steer performance and ruminal metabolism. *J. Anim. Sci.* 68:2130-2141.
- Kristensen, N. B. 2001. Rumen microbial sequestration of [2-c-13]acetate in cattle. *J. Anim. Sci.* 79:2491-2498.
- Kristensen, N. B., and A. Danfaer. 2001. The relationship between gastrointestinal production and portal absorption of short-chain fatty acids in ruminants. pages 277-280. in *Proc. 15th Symp. Energy Metab. Anim.*, Wageningen, Netherlands.
- Kristensen, N. B., A. Danfaer, and N. Agergaard. 1996a. Diurnal patterns of ruminal concentrations and portal appearance rates of short-chain fatty acids in sheep fed a hay or a concentrate/straw diet in two meals daily. *Acta Agric. Scand. Sect. A Anim. Sci.* 46:227-238.

- Kristensen, N. B., A. Danfaer, V. Tetens, and N. Agergaard. 1996b. Portal recovery of intraruminally infused short-chain fatty acids in sheep. *Acta Agric. Scand. Sect. A Anim. Sci.* 46:26-38.
- Kristensen, N. B., G. Gabel, S. G. Pierzynowski, and A. Danfaer. 2000a. Portal recovery of short-chain fatty acids infused into the temporarily-isolated and washed reticulo-rumen of sheep. *The British journal of nutrition* 84:477-482.
- Kristensen, N. B., and D. L. Harmon. 2004a. Effect of increasing ruminal butyrate absorption on splanchnic metabolism of volatile fatty acids absorbed from the washed reticulorumen of steers. *J. Anim. Sci.* 82:3549-3559.
- Kristensen, N. B., and D. L. Harmon. 2004b. Effect of increasing ruminal valerate, caproate and heptanoate on splanchnic metabolism of vfa absorbed from the washed reticulorumen of steers. *J. Anim. Sci.* 82 (suppl. 1):272.
- Kristensen, N. B., and D. L. Harmon. 2004c. Splanchnic metabolism of volatile fatty acids absorbed from the washed reticulorumen of steers. *J. Anim. Sci.* 82:2033-2042.
- Kristensen, N.B., and D.L. Harmon. 2006. Splanchnic metabolism of short chain fatty acids in ruminant. In *Digestion, metabolism and impact of nutrition on gene expression, immunology and stress*. K Sejrsen, T. Hvelplund and MO Nielsen (Ed), Pages. 249-268. Wageningen Academic Publishers, The Netherlands.
- Kristensen, N. B., S. G. Pierzynowski, and A. Danfaer. 2000b. Net portal appearance of volatile fatty acids in sheep intraruminally infused with mixtures of acetate, propionate, isobutyrate, butyrate, and valerate. *J. Anim. Sci.* 78:1372-1379.
- Kristensen, N. B., S. G. Pierzynowski, and A. Danfaer. 2000c. Portal-drained visceral metabolism of 3-hydroxybutyrate in sheep. *J. Anim. Sci.* 78:2223-2228.
- Krogh, N. 1959. Studies on alterations in the rumen fluid of sheep, especially concerning the microbial composition, when readily available carbohydrates are added to the food i. Sucrose. . *Acta Vet Scand* 1: 74.
- Langston, C. W., H. G. Wiseman, C. H. Gordon, W. C. Jacobson, C. G. Melin, L. A. Moore, and J. R. McCalmont. 1962. Chemical and bacteriological changes in grass silage during the early stages of fermentation i. Chemical changes. . *J. Dairy Sci.* 45:396-402.
- Lanigan, G. W., and V. R. Catchpoole. 1962. Studies on ensilage. II plant maturity effects in the ensilage of rye grass and clover under laboratory conditions. *Aust. J. Agric. Res.* 13:853-863.
- Lapierre H., J.F. Bernier, P. Dubreuil, C.K. Reynolds, C. Farmer, D.R. Ouellet and G.E. Lobley. 2000. The effect of feed intake level on splanchnic metabolism in growing beef steers. *J. Anim. Sci.* 78:1084-1099.
- Lapierre, H., R. Berthiaume, G. Raggio, M.C. Thivierge, L. Doepel, D. Pacheaco, P. Dubreuil and G.E. Lobley. 2005. The route of absorbed nitrogen into milk protein. *Anim. Sci.* 80:11-22.
- Lapierre, H., J.P. Blouin, J.F. Bernier, C.K. Reynolds, P. Dubreuil and G.E. Lobley. 2002. Effect of supply of metabolizable protein on whole body and splanchnic leucine metabolism in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85:2631-2641.
- Lapierre H. and G.E. Lobley. 2001. Nitrogen recycling in the ruminant : A review. *J. Dairy Sci.* 84: E223-E236.
- Leaver, J.D., R.C. Campling, and W. Holmes. 1969. The effect of level of feeding on the digestibility of diets for sheep and cattle. *Anim. Prod.* 11:11-18.
- Le Floc'h, N., and B. Seve. 2000. Le devenir des protéines et des acides aminés dans l'intestin du porc : de la digestion à l'apparition en veine porte. *INRA Prod. Anim.* 13:303-314.

- Leibholz, J. 1971a. The absorption of amino acids from the rumen of the sheep: I. The loss of amino acids from solutions placed in the washed rumen in vivo. *Aust. J. Agric. Res.* 22:639–645.
- Leibholz, J. 1971b. The absorption of amino acids from the rumen of the sheep: II. The transfer of histidine and glycine and ammonia across the rumen epithelium in vitro. *Aust. J. Agric. Res.* 22:647–653.
- Leighton, B., A. R. Nicholas, and C. I. Pogson. 1983. The pathway of ketogenesis in rumen epithelium of the sheep. *Biochem. J.* 216:769-772.
- Lemosquet, S., G. Raggio, G. E. Lobley, H. Rulquin, J. Guinard-Flament, and H. Lapiere. 2009. Whole-body glucose metabolism and mammary energetic nutrient metabolism in lactating dairy cows receiving digestive infusions of casein and propionic acid. *J. Dairy Sci.* doi:10.3168/jds.2009-2018
- Leng, R. A., and E.F. Annison. 1963. The metabolism of D-beta-hydroxybutyrate in sheep. *Biochem. J.* 86:319.
- Leng, R. A., and D. J. Brett. 1966. Simultaneous measurements of the rates of production of acetic, propionic and butyric acids in the rumen of sheep on different diets and the correlation between production rates and concentrations of these acids in the rumen. *Br. J. Nutr.* 20:541-552.
- Leng, R. A., and G. J. Leonard. 1965. Measurement of the rates of production of acetic, propionic and butyric acids in the rumen of sheep. *Br. J. Nutr.* 19:469-484.
- Leng R.A., Nolan J.V., 1984. Nitrogen metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.*, 67, 1072-1089.
- Leng, R. A., J. W. Steel, and J. R. Luick. 1967. Contribution of propionate to glucose synthesis in sheep. *Biochem. J.* 103:785-790.
- Leng, R. A., and C. E. West. 1969. Contribution of acetate, butyrate, palmitate, stearate and oleate to ketone body synthesis in sheep. *Res. Vet. Sci.* 10:57-63.
- Levitsky, L. L., J. B. Paton, and D. E. Fischer. 1998. Precursors to glycogen in ovine fetuses. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 18:743-747.
- Lindsay, D. B. 1978. Gluconeogenesis in ruminants. *Biochem. Soc. Trans.* 6:1152-1156.
- Lindsay, D. B. 1993. Making the sums add up - the importance of quantification in nutrition. *Aust. J. Agric. Res.* 44:479-493.
- Lindsay, D.B. and C.K. Reynolds. 2005. Metabolism of the portal drained viscera and liver. In *Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism*, 2nd edition. J Dijkstra, JM Forbes and J France (Eds), Pages. 311-344. CAB International, Wallingford, UK.
- Lobley, G.E. 1991. Organ and tissue metabolism: present status and future trends. In : Wenk C. and Boessinger M. (Eds) Pages 80-87. *Energy Metabolism of Farm Animals*, 80-87. Institut für Nutztierwissenschaften, Zürich.
- Lobley, G.E. 2003. Protein turnover – what does it mean for animal production? *Can. J. Anim. Sci.* 83:327–340.
- Lomax, M. A., and G. D. Baird. 1983. Blood flow and nutrient exchange across the liver and gut of the dairy cow. Effects of lactation and fasting. *The British journal of nutrition* 49:481-496.
- Loncke, C., P. Nozière, J. Vernet, H. Lapiere, D. Sauvant, and I. Ortigues-Marty. 2009a. Empirical prediction of splanchnic release of ketogenic nutrients, acetate, butyrate and β -hydroxybutyrate in ruminants: a meta analysis, *J. Anim. Sci.*, submitted.
- Loncke, C., P. Nozière, J. Vernet, H. Lapiere, D. Sauvant, and I. Ortigues-Marty. 2009b. Adaptation of hepatic glucose uptake and metabolism in growing lambs fed energy and nitrogen imbalanced diets. Pages 586-587 in *Ruminant physiology: digestion, metabolism, and effects of nutrition on reproduction and welfare*, Y. Chilliard, F. Glasser, F. Faulconnier, F. Bocquier, I. Veissier and M. Doreau, ed. Wageningen

- Academic Publishers, Wageningen, Netherlands.
- Loncke, C., I. Ortigues-Marty, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant, and P. Nozière. 2009c. Empirical prediction of net portal appearance of volatile fatty acids, glucose, and their secondary metabolites (β -hydroxybutyrate, lactate) from dietary characteristics in ruminants: A meta-analysis approach. *J. Anim. Sci.* 87:253-268.
- Loncke, C., I. Ortigues-Marty, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant, and P. Nozière. 2009d. From metabolisable energy to energy of absorbed nutrients: quantitative comparison of models, Page 39 in *Proc. Modelling nutrients utilisation and metabolism in farm animals*, Paris, France.
- Lopez, S., F. D. D. Hovell, J. Dijkstra, and J. France. 2003. Effects of volatile fatty acid supply on their absorption and on water kinetics in the rumen of sheep sustained by intragastric infusions. *J. Anim. Sci.* 81:2609-2616.
- Lopez, S., F. D. D. Hovell, and N. A. MacLeod. 1994. Osmotic pressure, water kinetics and volatile fatty acid absorption in the rumen of sheep sustained by intragastric infusions. *Br. J. Nutr.* 71:153-168.
- Lozano, O., C. B. Theurer, A. Alio, J. T. Huber, A. Delgado-Elorduy, P. Cuneo, D. DeYoung, M. Sadik, and R. S. Swingle. 2000. Net absorption and hepatic metabolism of glucose, l-lactate, and volatile fatty acids by steers fed diets containing sorghum grain processed as dry-rolled or steam-flaked at different densities. *J. Anim. Sci.* 78:1364-1371.
- Mackie, R. I., and F. M. C. Gilchrist. 1979. Changes in lactate-producing and lactate-utilizing bacteria in relation to pH in the rumen of sheep during stepwise adaptation to a high-concentrate diet. *Appl. Environ. Microbiol.* 38:422-433.
- MacRae, J.C., L.A. Bruce, and D.S. Brown. 1997. Amino acid use by the gastrointestinal tract of sheep given lucerne forage. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 273:1200-1207.
- MacRae, J. C., L.A. Bruce, D.S. Brown, D.A.H. Farningham, and M. Franklin. 1997. Absorption of amino acids from the intestine and their net flux across mesenteric- and portal drained viscera of lambs. *J. Anim. Sci.* 75:3307-3314.
- Mason, V. C. 1984. Metabolism of nitrogenous compounds in the large gut. *Roc. Nutr. Soc.* 43:45-53.
- McCarthy, R.D. Jr, T.H. Klusmeyer, J.L. Vicini, J.H. Clark, and D.R. Nelson DR. 1989. Effects of source of protein and carbohydrate on ruminal fermentation and passage of nutrients to the small intestine of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 72:2002-2016.
- McGarry, J.D. and N.F. Brown. 1997. The mitochondrial carnitine palitoyltransferase system. From concept to molecular analysis. *Eur. J. Biochem.* 244:1-14.
- McGarry, J.D., and D.W. Foster. 1980. Regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketone body production. *Annu. Rev. Biochem.* 49:395-420.
- Madsen, A. 1983. Metabolism in liver cells. pages 53-73 in: *Dynamic biochemistry of animal production*. P. M. Riis, ed. Elsevier, Amsterdam, Netherland.
- Majdoub, L. 2002. Orientation propionique du profil fermentaire ruminal : Conséquence sur le métabolisme splanchnique des nutriments énergétiques et sur la fourniture et l'utilisation du glucose par le muscle chez l'agneau recevant du fourrage vert. PhD Diss. ENSAR, Rennes.
- Majdoub, L., M. Vermorel, and I. Ortigues-Marty. 2003a. Ryegrass-based diet and barley supplementation: Partition of energy-yielding nutrients among splanchnic tissues and hind limbs in finishing lambs. *J. Anim. Sci.* 81:1068-1079.
- Majdoub, L., M. Vermorel, and I. Ortigues-Marty. 2003b. Intraruminal propionate supplementation modifies hindlimb energy metabolism without changing the splanchnic release of glucose in growing lambs. *B. J. Nutr.* 89:39-50.

- Malki M. C., A. Kante, C. Demigné, and N. Latruffe. 1992. Expression of R-3-hydroxybutyrate dehydrogenase, a ketone body converting enzyme in heart and liver mitochondria of ruminant and non-ruminant mammals. *Comp. Biochem. Physiol.* 101B:413-420
- Marounnek, M., K. Fliegrova, and S. Bartos. 1989. Metabolism and some characteristics of ruminal strains of *Megasphaera elsdenii*. *Appl. Environ. Microbiol.* 55:1570-1573.
- Martin, O., and D. Sauvant. 2002. Meta-analysis of input/output kinetics in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85, 3363-3381.
- Martin, O. and D. Sauvant. 2007. Dynamic model of the lactating dairy cow metabolism. *Animal* 1:1143-1166.
- Martineau, R., I. Ortigues-Marty, J. Vernet, and H. Lapierre. 2009. Technical note: Correction of net portal absorption of nitrogen compounds for differences in methods: First step of a meta-analysis. *J. Anim. Sci.* 87:3300-3303
- Marty, J., and M. Vernay. 1984. Absorption and metabolism of the volatile fatty acids in the hind-gut of the rabbit. *The British Journal of Nutrition* 51:265-277.
- McGarry, J. D., and D. W. Foster. 1980. Regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketone body production. *Annu. Rev. Biochem.* 49:395-420.
- Meschy, F., D. Bravo, and D. Sauvant. 2004. Analyse quantitative des réponses des vaches laitières à l'apport de substances tampon. *INRA Prod. Anim.* 17: 11-18
- Micol, D., H. Dubroeuq, C. Martin, F. Garcia, M.M. Mialon and J. Agabriel. 2007. Utilisation de rations de valeur contrastée pour la finition de jeunes bovins de race Blond d'Aquitaine. *Renc. Rech. Rum.* 14:233-236
- Milano G. D. 1997. Liver nitrogen transactions in sheep (*Ovis aries*). PhD Diss. Aberdeen University, Scotland.
- Mineo, H., A. Kitade, S. Kawakami, S. Kato, and J. Ushijima. 1990. Effect of intravenous injection of acetate on the pancreas of sheep. *Res. Vet. Sci.* 48:310.
- Moller, P. D., L. Diernaes, J. Sehested, J. Hyldgaard-Jensen, and E. Skadhauge. 1997. Lactate transport across bovine rumen epithelium in vitro. *Journal of Veterinary Medicine* 44:31-38.
- Morand, C., C. Redon, C. Rémésy, and C. Demigné. 1990. Non-hormonal and hormonal control of glycogen metabolism in isolated sheep liver cells. *Int. J. Biochem.* 22:873-881.
- Murphy, M.R. 1984. Modeling production of volatile fatty acids in ruminants. In *Modeling Ruminant Digestion and metabolism in Ruminants*. RL Baldwin and AC Bywater(Ed), Pages.59-62. University of California, Davis, USA.
- Murphy, M.R., R.L. Baldwin, and L.J. Koong. 1982. Estimation of stoichiometric parameters for rumen fermentation of roughage and concentrate diets. *Journal of Animal Science* 55, 411-421.
- Nagaraja, T. G., and M. M. Chengappa. 1998. Liver abscesses in feedlot cattle: A review. *J. Anim. Sci.* 76:287-298.
- Nagaraja, T. G., C. J. Newbold, C. J. Van Nevel, and D. I. Demeyer. 1997. Manipulation of rumen fermentation. pages 387-443 in: *The rumen microbial ecosystem*. P. N. Hobson and C. S. Stewart, ed. Blackie Academic and Professional., London.
- Ndi Bualonji, B. B., and J. M. Godeau. 1993. La néoglucogénèse et les acides aminés chez les ruminants : *Revue. Ann. Med. Vet.* 137:537-554.
- Neal, HDStC., J. Dijkstra M. and Gill. 1992. Simulation of nutrient digestion, absorption and outflow in the rumen: model evaluation. *J. Nutr.* 122:2257-2272.
- Nguyen, V. T., A. I. Orr, D. G. St. Louis, and B. J. Rude. 2007. Supplementing corn or soybean hulls to cattle fed bermudagrass hay II: In situ disappearance and rumen characteristics. *J. Anim. Vet. Adv.* 6:1125.

- Nocek, J. E. 1997. Bovine acidosis: Implications on laminitis. *J. Dairy Sci.* 80:1005-1028.
- Nozière, P., S. Gachon, and M. Doreau. 2003. Propionate uptake by rumen microorganisms: The effect of ruminal infusion. *Anim. Res.* 52:413-426.
- Nozière, P., F. Glasser, C. Martin and D. Sauvant. 2007. Predicting in vivo production of volatile fatty acids in the rumen from dietary characteristics by meta-analysis: Description of available data. In *Energy and Protein Metabolism and Nutrition*, EAAP Publication No 124 (Ed. I Ortigues-Marty, N Miraux and W Brand-Williams), pp. 585-586. Wageningen Academic Publishers, The Netherlands.
- Nozière, P., F. Glasser and D. Sauvant. 2009. Empirical prediction of volatile fatty acids production and molar proportions in the rumen. In *7th International Workshop : Modelling Nutrient Digestion and Utilization in Farm Animals*, p.24. INRA AgroParisTech, Paris, France.
- Nozière, P., and T. Hoch. 2005. Modelling fluxes of volatile fatty acids from rumen to portal blood. pages 40-47 in: *Nutrient digestion and utilization in farm animals: Modelling approaches*. E. Kebreab, J. Dijkstra, A. Bannink, W. J. J. Gerrits and J. France, ed. CABI, Cambridge.
- Nozière, P., C. Martin, D. Remond, N. B. Kristensen, R. Bernard, and M. Doreau. 2000. Effect of composition of ruminally-infused short-chain fatty acids on net fluxes of nutrients across portal-drained viscera in underfed ewes. *The British journal of nutrition* 83:521-531.
- NRC. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th rev. National Research Council ed. National Academy Press Washington, DC.
- Offner, A. 2003. Modélisation systémique de la digestion dans le rumen: comparaison des modèles existants, modélisation des flux d'amidon, approche thermodynamique des fermentations. PhD. Diss. Pages 198. AgrosPariTech. Paris, France.
- Offner, A. and D. Sauvant. 2004. Prediction of in vivo starch digestion in cattle from in situ data. *Animal Feed Science and Technology* 111, 41-56.
- Orskov, E. R. 1981. Recent advances in the understanding of cereal processing for ruminants. pages 258-267 in: *Recent developments in ruminant nutrition*. . W. Haresign and D. J. A. Cole, ed. Butterworths, London.
- Ortigues-Marty, I., D. Dardevet, and I. Savary-Auzeloux. 2003. Role of the liver in the regulation of energy and protein status. Pages 83-98 in *Proc. Progress in research on energy and protein metabolism*, Rostock-Warnemünde, Allemagne.
- Ortigues-Marty, I., D. Micol, S. Prache, D. Dozias, D. and C.L. Girard. 2005. Nutritional value of meat: influence of nutrition and physical activity on vitamin B12 concentrations in ruminant tissues. *Reprod. Nutr. Dev.* 45:453-467.
- Ortigues, I., A.L. Visseiche, and D. Durand. 1994. Adaptation to undernutrition in ewes: Net nutrient fluxes across the portal drained viscera, the liver and the hindquarters. Page 89 in *Proc. 13th Symposium on Energy Metabolism of Farm Animals*, Granada, Spain.
- Oshio, S., and I. Tahata. 1984. Absorption of dissociated volatile fatty acids through the rumen wall of sheep. *Can. J. Anim. Sci.* 64 (suppl):167-168.
- Overton, T. R., J. K. Drackley, C. J. Ottemann-Abbamonte, A. D. Beaulieu, L. S. Emmert, and J. H. Clark. 1999. Substrate utilization for hepatic gluconeogenesis is altered by increased glucose demand in ruminants. *J. Anim. Sci.* 77:1940-1951
- Paster, B. J., F. E. Dewhirst, and J. Olsen. 1995. Gram-negative anaerobes: 16s rRNA sequences, phylogeny, and DNA probes. pages 373-386 in: *Medical and dental aspects of anaerobes*. B. I. Duerden, W. G. Wade and J. S. Brazier, ed. Science Reviews, North-wood, UK.
- Pearson, E.G. and J. Maas. 2002. Hepatic lipodosis. Pages 810-817. In *Bradford P. and Smith (Ed). Large animal internal medicine*. 3ème edition. Mosby, St Louis.

- Pennington, R. J. 1952. The metabolism of short chain fatty acids in the sheep 1. Fatty acid utilization and ketone body production by rumen epithelium and other tissues. *Biochem. J.* 51:251-258.
- Pennington, R. J., and W. H. Pfander. 1957. The metabolism of short-chain fatty acids in the sheep. V. Some interrelationships in the metabolism of fatty acids and glucose by sheep-rumen epithelial tissue. *Biochem. J.* 65:109-111.
- Perrier, R., E. Ferchal, C. Durier, and M. Doreau, 1994. Effect of undernutrition on the ability of the sheep rumen to absorb volatile fatty acids. *Reprod. Nutr. Dev.* 34:341–347.
- Peters, J. P., E. N. Bergman, and J. M. Elliot. 1983. Influence of vitamin b-12 status on hepatic propionic acid uptake in sheep. *J. Nutr.* 113:1221-1228.
- Peters, J. P., R. Y. W. Shen, and J. A. Robinson. 1992. Disappearance of acetic acid from the bovine reticulorumen at basal and elevated concentrations of acetic acid. *J. Anim. Sci.* 70:1509-1515 1507.
- Peters, J. P., R. Y. W. Shen, J. A. Robinson, and S. T. Chester. 1990. Disappearance and passage of propionic acid from the rumen of beef steer. *J. Anim. Sci.* 68:3337-3349.
- Pethick, D. W., D. B. Lindsay, P. J. Barker, and A. J. Northrop. 1981. Acetate supply and utilization by the tissues of sheep in vivo. *Br. J. Nutr.* 46:97-110.
- Pfaunder, W. H., W. C. Ellis, G. B. Garner, and M. E. Muhrer. 1956. The absorption of glucose, lactic acid, potassium nitrate, and potassium nitrite from the rumen of mature wethers. *J. Anim. Sci.* 15:1292 (Abstr.).
- Phillipson, A. T., and R. A. McAnally. 1942. Studies on the fate of carbohydrate in the rumen of the sheep. *J. Exp. Biol.* 19:199-214.
- Piccioli-Cappelli, F. P., C. J. Seal, and D. S. Parker. 1997. Glucose and [13C]leucine metabolism by the portal-drained viscera of sheep fed on dried grass with acute intravenous and intraduodenal infusions of glucose. *The British journal of nutrition* 78:931-946.
- Pitt, R., J. van Kessel, D. Fox, A. Pell, M. Barry and P. van Soest. 1996. Prediction of the ruminal volatile fatty acids and pH within the net carbohydrate and protein system. *J. Anim. Sci.* 74:226-244.
- Poncet C, Michalet-Doreau B, McAllister T, et al. (1995) Dietary compounds escaping rumen digestion. In *Recent Developments in the Nutrition of Herbivores. Proceedings of the IVth International Symposium on the Nutrition of Herbivores Clermont-Ferrand, France, Pages. 167–204. M Journet, E Grenet, MH Farce, M Theriez and C Demarquilly, (Ed). Versaille, INRA editions, France.*
- Preston, A. M., and C. H. Noller. 1973. Metabolism of d-lactate by tissues of the ruminant digestive tract. *J. Anim. Sci.* 37:1403-1407.
- Prins, R.A., and A. Lankhorst. 1977. Synthesis of acetate from CO₂ in the caecum of some rodents. *FEMS Microbiology Letters*, 1: 255–258.
- Radloff, H. D., and L. H. Schultz. 1963. Some effects of feeding lactates to dairy cows. *J. Dairy Sci.* 46:517-521.
- Raggio, G., D. Pacheco, R. Berthiaume, G.E. Lobley, D. Pellerin, G. Allard , P. Dubreuil P. and H. Lapierre. 2004. Effect of level of metabolizable protein on splanchnic flux of amino acids in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87:3461-3472.
- Ramos, B.M.O., M. Champion, C. Poncet, I.Y. Mizubuti and P. Nozière. 2009. Effects of vitreousness and particle size of maize grain on ruminal and intestinal in sacco degradation of dry matter, starch and nitrogen. *Anim. Feed Sci. and Techn.* 148:253-266.
- Rémésy, C., Y. Chilliard, Y. Rayssiguier, A. Mazur, and C. Demigné. 1986. Liver metabolism of carbohydrates and lipids in ruminants: Principal interaction during gestation and lactation. *Reprod. Nutr. Dev.* 26:205-226.

- Rémésy, C., C. Demigné, and C. Morand. 1995. Metabolism of short chain fatty acids in the liver. pages 171 in: Physiological and clinical aspects of short chain fatty acids. J. H. Cummings, J. L. Rombeau and T. Sakata, ed. Univ. Press, Cambridge, U.K.
- Rémond, D., I. Ortigues, and J. P. Jounay. 1995. Energy substrates for the rumen epithelium. *Proc Nutr Soc* 54:95-105.
- Rémond, D., L. Bernard, B. Chauveau, P. Nozière and C. Poncet. 2003. Digestion and nutrient net fluxes across the rumen and the mesenteric- and portal- drained viscera in sheep fed with fresh forage twice daily : net balance and dynamic aspects. *Br. J. Nutr.* 89: 649-666.
- Rémond, D., L. Bernard, I. Savary-Auzeloux and P. Nozière. 2009. Partitioning of nutrient fluxes across the portal-drained viscera in sheep feed twice daily: effect of dietary protein degradability. *Brit. J. Nutr.* 102:370-381
- Reynolds, C. K. 1995. Quantitative aspects of liver metabolism in ruminants. pages 351-371 in: Ruminant physiology: Digestion, metabolism, growth and reproduction. W. Engelhardt, S. Leonhard-Marek, G. Breves and D. Giesecke, ed. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, Germany.
- Reynolds, C. K. 2002. Economics of visceral energy metabolism in ruminants - toll keeping or internal revenue service ? *J. Anim. Sci.* 80:74-84.
- Reynolds, C.K. 2005. Glucose balance in cattle. Pages 143-154 in *Proc. 17th Annual Meeting of the 5 Florida Ruminant Nutrition Conference*, Gainesville, Florida.
- Reynolds, C.K. 2006. Splanchnic amino acid metabolism in ruminants. Pages. 225-248 In: *Ruminant physiology : Digestion, metabolism and impact on gene expression, immunology and stress*. K. Sejrsen, T. H. Velplund and M.O. Nielsen. eds. Wageningen Academic Publisher, The Netherlands.
- Reynolds, C.K., P.C. Aikman, B. Lupoli, D.J. Humphries, and D.E. Beever. 2003. Splanchnic metabolism of dairy cows during the transition from late gestation through early lactation. *J. Dairy Sci.* 86:1201-1217.
- Reynolds, C. K., P. C. Aikman, B. Lupoli, D. J. Humphries, and D. E. Beever. 2003. Splanchnic metabolism of dairy cows during the transition from late gestation through early lactation. *J. Dairy Sci.* 86:1201-1217.
- Reynolds, C. K., D. L. Harmon, and M. J. Cecava. 1994. Absorption and delivery of nutrients for milk protein synthesis by portaldrained viscera. *J. Dairy Sci.* 77:2787-2808.
- Reynolds, C. K., and G. B. Huntington. 1988. Partition of portal-drained visceral net flux in beef steers. 2. Net flux of volatile fatty acids, d-beta-hydroxybutyrate and l-lactate across stomach and post-stomach tissues. *The British journal of nutrition* 60:553-562.
- Reynolds, C. K., G. B. Huntington, H. F. Tyrrell, and P. J. Reynolds. 1986. Splanchnic tissue and whole animal oxygen consumption by lactating holstein cows. *J. Dairy Sci.* 69 (Suppl. 1):193 (Abstr.)
- Reynolds, C. K., G. B. Huntington, H. F. Tyrrell, and P. J. Reynolds. 1988a. Net metabolism of volatile fatty acids, d-beta-hydroxybutyrate, nonesterified fatty acids, and blood gasses by portal-drained viscera and liver of lactating holstein cows. *J. Dairy Sci.* 71:2395-2405.
- Reynolds, C. K., G. B. Huntington, H. F. Tyrrell, and P. J. Reynolds. 1988b. Net portal-drained visceral and hepatic metabolism of glucose, l-lactate and nitrogenous compounds in lactating holstein cows. *J. Dairy Sci.* 71:1803-1812.
- Reynolds, C. K., H. Lapierre, H. F. Tyrrell, T. H. Elsasser, R. C. Staples, P. Gaudreau, and P. Brazeau. 1992a. Effects of growth hormone-releasing factor and feed intake on energy metabolism in growing beef steers: Net nutrient metabolism by portal-drained viscera and liver. *J. Anim. Sci.* 70:752-763.

- Reynolds, C. K., H. F. Tyrrell, and L. E. Armentano. 1992b. Effects of mesenteric vein n-butyrate infusion on liver metabolism by beef steers. *J. Anim. Sci.* 70:2250-2261.
- Reynolds, C.K., H.F. Tyrrell, and P.J. Reynolds. 1991a. Effects of diet forage-to-concentrate ratio and intake on energy metabolism in growing beef heifers: Whole body energy and nitrogen balance and visceral heat production. *J. Nutr.* 121:1004-1015.
- Reynolds, C.K., H.F. Tyrrell, and P.J. Reynolds. 1991b. Effects of diet forage-to-concentrate ratio and intake on energy metabolism in growing beef heifers: Net nutrient metabolism by visceral tissues. *J. Nutr.* 121:994-1003.
- Ricke, S. C., S. A. Martin, and D. J. Nisbet. 1996. Ecology, metabolism and genetics of ruminal selenomonads. *Crit. Rev. Microbiol.* 22:27-65.
- Ricks, C. A., and R. M. Cook. 1981. Regulation of volatile fatty acid uptake by mitochondrial acyl coa synthetases of bovine heart. *J. Dairy Sci.* 64:2336-2343.
- Robin, J.-M. 2002. Endogénéité et variables instrumentales dans les sciences sociales. *Insee Méthodes.* 101 :217-276.
- Roushdi, M., A. A. Fahmy, and M. Mosatafa. 1981. Role of lactic acid in corn steeping and its relation with starch isolation. *Starch* 33:426-428.
- Ruan, R., J. B. Litchfield, and S. R. Eckhoff. 1992. Simultaneous and nondestructive measurement of transient moisture profiles and structural changes in corn kernels during steeping using microscopic nuclear magnetic resonance imaging. *Cereal Chem.* 69:600-606.
- Ruot, B., 2001. Synthèse des protéines de la réaction inflammatoire en réponse à l'infection. Déterminisme de l'hypoalbuminémie. PhD. Diss. Ecole doctorale des sciences de la vie et de la santé. Université d'Auvergne. Clermont-Ferrand, France.
- Rule, D. C., D. C. Beitz, G. Deboer, R. R. Lyle, A. H. Trenkle, and I. W. Young. 1985. Changes in hormone and metabolite concentrations in plasma of steers during a prolonged fast. *J. Anim. Sci.* 61:868-875.
- Rulquin, H., G. Raggio, H. Lapiere, and S. Lemosquet. 2007. Relationship between intestinal supply of essential amino acids and their mammary metabolism in the lactating dairy cows. Pages. 587-588. In *Energy and protein metabolism and nutrition*. EAAP publication No.124 I. Ortigues- Marty (Ed).
- Rulquin, H., R. Vérité, and J. Guinard-Flament. 2001. Acides aminés digestibles dans l'intestin. Le système AADI et les recommandations d'apport pour la vache laitière. *INRA Prod. Anim.* 14 :265-274.
- Russel, R. W., and S. Gahr. 2000. Glucose availability and associated metabolism. pages 121-147. in *Proc. Farm animal metabolism and nutrition*, Oxon.
- Russell, J. B., and R. L. Baldwin. 1978. Substrate preferences in rumen bacteria: Evidence of catabolite regulatory mechanisms. . *Appl. Environ. Microbiol.* 36:319-329.
- Sano, H., N. Hattori, Y. Todome, J. Tsuruoka, H. Takahashi, Y. and Terashima. 1993. Plasma insulin and glucagon response to intravenous infusion of propionate and their autonomic control in sheep. *J. Anim. Sci.* 71:3414-3422.
- Sauvant, D., 1992. La modélisation systémique en nutrition. *Reprod. Nutr. Dev.* 32:217-230.
- Sauvant, D., 2000. Granulométrie des rations et nutrition du ruminant. *INRA Prod. Anim.* 13: 99-108.
- Sauvant, D., J. Aufrère, B. Michalet-Doreau, S. Giger, and P. Chapoutot. 1987. *Bull. Tech. CRZV Theix, INRA*, 70, 75-89.
- Sauvant, D., P. Chapoutot, and H. Archimède. 1994. La digestion des amidons par les ruminants et ses conséquences. *INRA Prod. Anim.* 7:115-124.
- Sauvant, D., S. Giger-Reverdin, 2007, *EAAP Publ.* 124: 575-576

- Sauvant, D., and D. Mertens, 2008. Use of meta-analysis to build a mechanistic model of responses of rumen digestion to dietary fibre in cattle. In *Modeller's Meeting of the ADSA*. Can. J. Anim. Sci.
- Sauvant D., and J. Van Milgen. 1995. Dynamic aspects of carbohydrate and protein breakdown and the associated microbial matter synthesis. pages 71-91, In: Engelhardt W.V., Leonhard-Marek S., Breves G., Giesecke D. ed. *Ruminant physiology: digestion, metabolism, growth and reproduction*. Proceedings 8th International Symposium on Ruminant Physiology, Delmar Publishers, Albany Germany.
- Sauvant, D., P. Schmidely, and J.J. Daudin. 2005. Meta-analysis of experimental data: Application in animal nutrition. *INRA Prod. Anim.* 18:63-73.
- Savary-Auzeloux, I., L. Majdoub, N. Le Floch, and I. Ortigues-Marty . 2003a. Ryegrass-based diet and barley supplementation : partition of nitrogenous nutrients among splanchnic tissues and hind limb in finishing lambs. *J. Anim. Sci.* 81:3160-3173.
- Savary-Auzeloux, I., L. Majdoub, N. Le Floch, and I. Ortigues-Marty 2003b. Effects of intraruminal propionate supplementation on nitrogen utilisation by the portal-drained viscera, the liver and the hindlimb in lambs fed frozen rye grass. *Br. J. Nutr.* 90:939-952.
- Seal, C. J., and D. S. Parker. 1994. Effect of intraruminal propionic acid infusion on metabolism of mesenteric- and portal-drained viscera in growing steers fed a forage diet: I. Volatile fatty acids, glucose, and lactate. *J. Anim. Sci.* 72:1325-1334.
- Seal, C. J., and C. K. Reynolds. 1993. Nutritional implications of gastrointestinal and liver metabolism in ruminants. *Nutrition Research Reviews.* 6:185-208.
- Senel, S. H., and F. G. Owen. 1966. Relation of dietary acetate and lactate to dry matter intake and volatile fatty acid metabolism. *J. Dairy Sci.* 49:1075-1079.
- Sensenig, S. C., D. J. Dawes, and R. N. Heitmann. 1985. Energy metabolite concentrations and net fluxes across splanchnic and peripheral tissues in pregnant ewes. *J. Anim. Sci.* 61 (Suppl. 1):454 (Abstr.).
- Shaw, L., and P.C. Engel. 1985. The suicide inactivation of ox liver short-chain acyl-CoA dehydrogenase by propionyl-CoA. *Biochem. J.*, 230:723-731.
- Shearer, D. A., and W. E. Cordukes. 1962. Organic acids of forages ensiled with and without sodium metabisulphite at varying levels of compaction and dry matter. *Can J Plant Sci* 42:686.
- Siciliano-Jones, J., and M. R. Murphy. 1989. Production of volatile fatty acids in the rumen and cecum-colon of steers as affected by forage:Concentrate and forage physical form. *J. Dairy Sci.* 72:485-492.
- Slyter, L. L., D. L. Kern, and J. M. Weaver. 1976. Effect of pH on ruminal lactic acid utilization and accumulation in vitro. . *J. Anim. Sci.* 43:433-434 (Abstr.).
- Stangassinger, M., and D. Giesecke. 1986. Splanchnic metabolism of glucose and related energy substrates. pages 347-366 in: *Control of digestion and metabolism in ruminants*. L. P. Milligan, W. L. Grovum and A. Dobson, ed. Prentice Hall, Englewood Cliffs, USA.
- Stanier, G. and A. Davies. 1981. Effects of the antibiotic monensin and an inhibitor of methanogenesis on in vitro continuous rumen fermentations. *Br. J. Nutr.* 45: 567-578
- Steinhorst, W. D., and D. E. Bauman. 1988. Propionate metabolism: A new interpretation. pages 238-256 in: *Aspects of digestive physiology in ruminants*. A. Dobson and M. J. Dobson, ed. Cornell University Press, Ithaca, NY.
- Stevens, C. E., R. A. Argenzio, and M. C. Roberts. 1986. Comparative physiology of the mammalian colon and suggestions for animal models of human disorders. *Clin. Gastroenterol.* 15:763-786.

- Stevens, C. E., and B. K. Stettler. 1966. Factors affecting the transport of volatile fatty acids across rumen epithelium. *Am. J. Physiol.* 210:365-372.
- Stock, R. A., D. R. Brink, R. A. Britton, F. K. Goedeken, M. H. Sindt, K. K. Kreikemeier, M. L. Bauer, and K. K. Smith. 1987. Feeding combinations of high moisture corn and dry-rolled grain sorghum to finishing steers. *J. Anim. Sci.* 65:290-302.
- Stone, M. 1974. Cross-Validation Choice and Assessment of Statistical Predictions. *Journal of the Royal Statistical Society, B*, 36:111-147
- Storm, E., and E.R. Orskov. 1983. The nutritive value of rumen micro organisms in ruminant. I. Large-scale isolation and chemical composition of rumen microorganisms. *Br. J. Nutr.* 50: 463-470.
- St-Pierre, N.R. 2001. Invited review: integrating quantitative findings from multiple studies using mixed model methodology. *Journal of Dairy Science* 84, 741-755.
- Sundermann, M. 1986. Untersuchungen über den einfluss energiereicher fütterung auf transport-vorgänge der pansewand. Ph.D. Dissertation. Physiologischen Institut der Tierärztlichen Hochschule, Hannover, Germany.
- Sutton, J. D. 1972. In vivo measurement of energy supply and protein synthesis in the rumen. pages 35-42 in: Tracer studies on non-protein nitrogen for ruminants. International Atomic Energy Agency, ed. Vienna, Austria.
- Sutton, A. L., and J. M. Elliot. 1972. Effect of ratio of roughage to concentrate and level of feed intake on ovine ruminal vitamin b 12 production. *J. Nutr.* 102:1341-1346.
- Sutton, J. D. 1979. Carbohydrate fermentation in the rumen; variations on a theme. *Proc Nutr Soc* 38:275-281.
- Sutton, J. D. 1985. Digestion and absorption of energy substrates in the lactating cow. *J. Dairy Sci.* 68:3376-3393.
- Tamminga, S., A.M. Van Vuuren, C.J. Van der Koelen, R.S. Ketelaar and P.L. Van der Togt. 1990. Ruminal behaviour of structural carbohydrates, non-structural carbohydrates and crude protein from concentrate ingredients in dairy cows. *Neth. Agric. Sc.* 38:513-526.
- Taniguchi K, G.B. Huntington, and B.P. Glenn. 1995. Net nutrient flux by visceral tissues of beef steers given abomasal and ruminal infusions of casein and starch. *J. Anim. Sci.* 73: 236-249.
- Taniguchi, K., Y. Sunada, and T. Obitsu. 1993. Starch digestion in the small intestine of sheep sustained by intragastric infusion without protein supply. *Anim. Feed Sci. Technol.* 64:892-895.
- Therion, J. T., A. Kistner, and J. H. Kornelius. 1982. Effect of ph on growth rates of rumen amylolytic and lactolytic bacteria. . *Appl. Environ. Microbiol.* 44:428-434.
- Thomas, J. W., L. A. Moore, and J. F. Sykes. 1961. Further comparisons of alfalfa hay and alfalfa silage for growing dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 44:862-873.
- Thomas, P. C., and J. L. Clapperton. 1972. Significance to the host of changes in fermentation activity. *Proc Nutr Soc* 31:165-170.
- Thomas, P. C., and A. J. F. Rook. 1981. Manipulation of rumen fermentation. pages 157-183 in: Recent developments in ruminant nutrition. . W. Haresign and D. J. A. Cole, ed. Butterworths, London.
- Thorlacius, S. O., A. Dobson, and A. F. Sellers. 1971. Effect of carbon dioxide on urea diffusion through bovine ruminal epithelium. . *Am. J. Physiol.* 1220:162-170.
- Thorlacius, S. O., and G. A. Lodge. 1973. Absorption of steam-volatile fatty acids from the rumen of the cow as influenced by diet, buffers, and ph. *Can. J. Anim. Sci.* 53:279-288.
- Titus, E., and G. A. A. J. P. Ahearn, R547-R553. 1992. Vertebrate gastrointestinal fermentation: Transport mechanisms for volatile fatty acids. *Am. J. Physiol.* 262:547-553.

- Ulyatt, M. J., J.C. MacRae, R.T.J. Clarke, and P.D. Pearce. 1975. Quantitative digestion of fresh herbage by sheep. *J. agric. Sci., Camb.* 84:453.
- van den Bosch, H., R. B. Schutgens, R. J. Wanders, and J. M. Tager. 1992. Biochemistry of peroxisomes. *Annu. Rev. Biochem.* 61:157-197.
- van der Walt, J. G., G. D. Baird, and E. N. Bergman. 1983. Tissue glucose and lactate metabolism and interconversions in pregnant and lactating sheep. *The British journal of nutrition* 50:267-280.
- Van Houtert, M. F. J. 1993. The production and metabolism of volatile fatty acids by ruminants fed roughages: A review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 43:189-225.
- Van Vuuren, A. M., A. Klop, C. J. Van der Koelen, and H. De Visser. 1999. Starch and stage of maturity of grass silage: Site of digestion and intestinal nutrient supply in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82:143-152.
- Varnam, G. C., M. K. Jeacock, and D. A. Shepherd. 1978. Hepatic ketone-body metabolism in developing sheep and pregnant ewes. *The British journal of nutrition* 40:359-367.
- Veenhuizen, J. J., R. W. Russell, and J. W. Young. 1988. Kinetics of metabolism of glucose, propionate and co₂ in steers as affected by injecting phlorizin and feeding propionate. *J. Nutr.* 118:1366-1375.
- Velle, W., O.V. Sjaastad, A. Aulie, D. Grønset, K. Feigenwinter, and T. Framstad . 1997. Rumen escape and apparent degradation of amino acids after individual intraruminal administration to cows. *J. Dairy Sci.* 80: 3325-3332.
- Vérité, R., B. Michalet-Doreau, P. Chapoutot, J.L. Peyraud, and C. Poncet. 1987. *Bull. Tech. CRZV Theix, INRA.* 70:19-34
- Vermorel, M. 1978. Energie. pages 47-88. in : *Alimentation des ruminants.* Jarrige, R., Y. Ruckebush, C. Demarquilly, M.H. Farce, and M. Journet. ed.. INRA Editions. Paris, France.
- Vermorel, M., F. Bocquier, J. Vernet, and A. Brelurut. 1987. Mobilization and reconstitution of body reserves in dairy ewes studied by direct calorimetry and D₂O dilution technique. pages 314-317 in: 10th International Symposium on Energy Metabolism. Arlie, USA.
- Vernet, J., P. Nozière, D. Sauvant, S. Léger and I. Ortigues-Marty. 2005. Regulation of hepatic blood flow by feeding conditions in sheep : a meta-analysis. 11th Seminar of the Sub-Nutrition FAI-CIHEAM on sheep and goat nutrition (8-10 sept). Catalia, Italie.
- Vernet, J., and I. Ortigues-Marty. 2006. Conception and development of a bibliographic database of blood nutrient fluxes across organs and tissues in ruminants: Data gathering and management prior to meta-analysis. *Reprod. Nutr. Dev.* 46:527-546.
- Vernon, R. G., R. A. Clegg, and D. I. Flint. 1981. Metabolism of sheep adipose tissue during pregnancy and lactation. . *Biochem. J.* 200:307-314.
- Vernon, R. G., R. A. Clegg, and D. I. Flint. 1985. Adaptations of adipose tissue metabolism and number of insulin receptors in pregnant sheep. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 81:909-913.
- Vernon, R. G., and M. Peaker. 1984. The regulation of nutrient utilization: Basic principles and mechanisms. pages in: *Nutritional physiology of farm animals.* No. 2. A. J. F. Rook and P. C. Thomas, ed. longman, London.
- Vincent, N. 2009. Evaluation d'un modèle empirique de flux d'Acides Gras Volatils dans le Rumen, Rapport de stage de Master 2 professionnel, 110 pages. Université Blaise Pascal, Clermont Ferrand.
- Waghorn, G.C. 1982. Modelling analyses of bovine mammary and liver metabolism. Ph.D. Diss. University of California, Davis.

- Wallace R.J., Cotta M.A., 1988. Metabolism of nitrogen-containing compounds. In P.N. Hobson (ed), *The rumen Microbial Ecosystem*, 217- 249. Elsevier Applied Science, London and New York.
- Wallnofer, P., R. L. Baldwin, and E. Stagno. 1966. Conversion of c14-labelled substrates to volatile fatty acids by the rumen microbiota. *Applied Microbiology* 14:1004-1010.
- Wan, L., Q. Xia, X. Qiu, and G. Selvaraj. 2002. Early stages of seed development in *Brassica napus*: A seed coat-specific cysteine proteinase associated with programmed cell death of the inner integument. *Plant J.* 30:1–10.
- Ward, J. K., D. Richardson, and W. S. Tsien. 1961. Volatile fatty acid concentrations and proportions in the gastrointestinal tract of full-fed beef heifers *J. Anim. Sci.* 20:830-832.
- Watson, H. R., and D. B. Lindsay. 1972. 3-hydroxybutyrate dehydrogenase in tissues from normal and ketonaemic sheep. *Biochem. J.* 128:53-57.
- Webb, K. E., Jr., J. C. Matthews, and D. B. DiRienzo. 1992. Peptide absorption: A review of current concepts and future perspectives. *J. Anim. Sci.* 70:3248–3257.
- Weekes, T. E. C. 1974. The in vitro metabolism of propionate and glucose by the rumen epithelium. *comparative Biochemistry and Physiology* 49:393-406.
- Weekes, T. E. C., and A. J. F. Webster. 1975. Metabolism of propionate in the tissues of the sheep gut. *The British journal of nutrition* 33:425-438.
- Weigand, E., J. W. Young, and A. D. McGilliard. 1972. Extent of butyrate metabolism by bovine ruminoreticulum epithelium and the relationship to absorption rate. *J. Dairy Sci.* 55:589-597.
- Wester, T. J., G.E. Lobley, L.M. Birnie and M.A. Lomax. 2000. Insulin stimulates phenylalanine uptake across the hind limb in fed lambs. *J. Nutr.* 130:608-611.
- Weston, R. H., and J. P. Hogan. 1968. The digestion of pasture plants by sheep. 1. Ruminal production of volatile fatty acids by sheep offered diets of ryegrass and forage oats. *Aust. J. Agric. Res.* 19:419-432.
- Williams, A.P., and J.E. Cockburn. 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.
- Williams, A. G., and G. S. Coleman. 1997. The rumen protozoa. pages 73-138 in: *The rumen microbial ecosystem*, 2nd edn. P. N. Hobson and C. S. Stewart, ed. Blackie Academic and professional, London.
- Williams, V. J., and D. D. S. MacKenzie. 1965. The absorption of lactic acid from the reticulorumen of the sheep. *Aust J Biol Sci* 18:917-934.
- Williamson, D. H., and H. Whitelaw. 1978. Physiological aspects of the regulation of ketogenesis. *Biochemical Society Symposium* 43:137-161.
- Windmueller, H. G., and A. E. Spaeth. 1978. Identification of ketone bodies and glutamine as the major respiratory fuels in vivo for postabsorptive rat small intestine. *J. Biol. Chem.* 253:69-76.
- Wolff, J. E., and E. N. Bergman. 1972. Gluconeogenesis from plasma amino acids in fed sheep. *Am. J. Physiol.* 223:455-460.
- Young, J. W., S. L. Thorp, and H. Z. De Lumen. 1969. Activity of selected gluconeogenic and lipogenic enzymes in bovine rumen mucosa, liver and adipose tissue. *Biochem. J.* 114:83-88.
- Zhaokun, D. and X. Youqing. 2002. Lactic acid is absorbed from the small intestine of sheep. *J. Exp. Zool.* 295A:29-36.
- Zammit, V.A. 1999. Carnitine acyltransferases: functional significance of sub cellular distribution and membrane topology. *Progr. Lipid Res.* 38:199-224.

Annexes

Communication n°4 :

*Evaluation de l'amidon by-pass comme prédicteur de l'absorption du glucose
en veine porte chez les ruminants*

**Communication présentée lors du congrès international International Symposium on
Energy and Protein Metabolism, Vichy, 2007 (Oral).**

Assessment of duodenal starch as a predictor of portal absorption of glucose in ruminants

C. Loncke¹, I. Ortigues-Marty¹, J. Vernet¹, H. Lapierre², D. Sauvant³, P. Nozière^{1*}

¹INRA UR 1213 Herbivores, Site de Theix, 63122 St Genès Champanelle, France

²Dairy and Swine Research and Development Centre, Agri & Agri Food Canada, Lennoxville, Quebec J1M1Z3 Canada

³INRA UMR 791, Physiologie de la Nutrition et Alimentation, INAPG, 75231 Paris, France

*Correspondence: noziere@clermont.inra.fr

Introduction

To adapt the feeding strategies for ruminants to new demands of animal production, important and systematic advances have been made in the characterisation of feed chemical composition. A further advance will be to predict the amount and nature of absorbed nutrients. In 2006, Bermingham *et al.* studied by meta-analysis the responses to increasing digestible organic matter intake of the net portal appearance (NPA) of energetic nutrients. Significant response equations were obtained for the NPA of volatile fatty acids but not for glucose. Glucose appearance in the portal vein is highly dependent on dietary duodenal starch and of portal drained viscera metabolism (PDV). The objectives of this work were to establish the responses of the NPA of glucose to calculated duodenal starch escaping to rumen fermentation.

Material and method

The FLORA (Vernet *et al.*, 2006) database which is an exhaustive data base from the 150 international publications presenting results of net splanchnic nutrient fluxes in ruminants, was used. For the present work, six datasets were selected out of FLORA. For the first four dataset, experimental diet groups were coded according respectively to changes in dry matter intake (“DMI”), in percentage in concentrates (“conc”), in percentage of concentrates and dry matter intake (“concDMI”) and in the nature of concentrates (“nat”). Experiments which presented an abomasal or duodenal infusion of glucose (“glucose inf”) or starch (“starch inf”) were also coded. Quantity of duodenal starch (or glucose) was defined as the sum of the amount of starch (or glucose) infused plus the amount of dietary starch escaping rumen degradation, estimated according to INRA-AFZ Feed Tables (Sauvant *et al.*, 2004), as starch intake x (1- in sacco starch degradability), assuming a particulate passage rate of 0.06h⁻¹.

In each data set, changes in duodenal starch (or glucose) were defined as a variation between control and experimental treatments within an experiment greater than 0.5 g/j/kg BW. The data were submitted to meta analyses (Sauvant et al., 2005). In order to study relationships between net portal flux of glucose (Y) and duodenal starch (or glucose), a nested covariate model on species was used: $Y = \alpha + \beta X + \text{species} + \text{study}(\text{species}) + (\text{species} \times X) + e$ (where e =error). The interaction (species $\times$ X) was not significant and thus removed from the model. All statistical analyses were carried out using the GLM model (Minitab, Version 14).

Results

The number of experimental groups selected ranked from 4 to 8 for the different datasets (Table 1), except for dataset “nat”, where the 2 publications available were considered insufficient. Duodenal glucose (or starch) in control treatments averaged 1.35, 0.72, 0.60, 0.47 and 0.59 g/d/kg BW, and were increased by 0.75, 2.93, 1.74, 2.28, and 2.47 g/d/kg BW in experimental treatments, for “DMI”, “conc”, “concDMI”, “glucose inf” and “starch inf” data sets, respectively. An increment of duodenal starch due to changes in DMI decreased NPA of glucose (Table 1). The model obtained was not robust with a R^2 equal to 49.5% and despite a low residual error ($S=0.04$). In contrast, an increase in duodenal starch (or glucose) due to changes in percentage of concentrates, glucose or starch infused, significantly increased NPA of glucose. The models obtained were robust. Interestingly, the response slopes were similar when duodenal starch increased thanks to “conc”, “concDMI” “starch inf” and lower than with “glucose inf”.

Table 1. Linear (β) response equations for the relationships between the duodenal starch (or glucose)(g/d/kg BW) and the net portal appearance of glucose (mmol/h/kg BW)

Dataset	n gp	n tr	n bv	α	se	β	se	S	$R^2(\%)$
DMI	7	15	11	0.084*	0.036	-0.054*	0.021	0.04	49.5
conc	8	17	10	-0.081***	0.021	0.043***	0.007	0.05	82.8
concDMI	8	19	8	-0.142**	0.036	0.050*	0.019	0.08	44.7
glucose inf	6	15	12	-0.153**	0.045	0.137***	0.021	0.10	81.2
starch inf	4	10	10	-0.125**	0.021	0.057***	0.009	0.04	91.7

Probability of significance: * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; gp: experimental group; tr : treatments; bv : bovine

Discussion

The results show that the variation in glucose NPA averaged -23%, 19%, 22%, 59%, 25% of the variations in duodenal starch (or glucose) with “DMI”, “conc”, “concDMI”, “glucose inf”, and “starch inf”, respectively. The similarity of response between “conc”, “concDMI” and “starch inf” datasets indicates that INRA-AFZ feed tables allow to predict duodenal starch and NPA of glucose. The slope for “glucose inf” is higher than for “starch inf” dataset, probably because incomplete hydrolysis of starch may limit intestinal absorption of glucose. The negative slope for “DMI” may reflect the increase in glucose utilisation by PDV induced by the increase in digesta mass, and may explain the lower precision (lower R^2) for “concDMI” than for “conc”. The surprising positive intercept with “DMI” was related to the high level of duodenal starch with control treatments in this group. In conclusion, duodenal starch, as estimated from INRA Feed Tables, appears a reliable tool for prediction of glucose reaching liver.

References

- E.N. Bermingham, I. Ortigues-Marty, J. Vernet, H. Lapierre, S. Léger, D. Sauvant, P. Nozière, 2006. The relationships between intake and portal fluxes of energy metabolites in ruminants: a meta analysis, *Anim. Feed. Sci. Technol.* (in press)
- J. Vernet, I. Ortigues-Marty, 2006. Flux of nutrients through Organs and tissues in Ruminant Animals, *Reprod. Nutr. Dev.* 5, 257-546
- D. Sauvant, J.M Perez., G. Tran, coord., 2004, Tables de composition et de valeur nutritive des matières premières à destination des animaux d'élevage, 304 p, INRA Edition, Versailles
- D. Sauvant, P. Schmidely, J.J Daudin, 2005, Les méta-analyses des données expérimentales : applications en nutrition animale, *INRA Prod. Anim.* 18, 63-73.

Financial support from LIMAGRAIN and INZO is acknowledged.

Communication n°5:

*Prédiction de l'absorption nette portale du glucose et des acides gras volatils
chez les ruminants*

**Communication présentée lors du congrès annuel Rencontre autour des Recherches sur
les Ruminants, Paris, 2007.**



Prédiction de l'absorption nette portale des acides gras volatils et du glucose chez les ruminants

Annexes

C. Loncke¹, I. Ortigues-Marty¹, J. Vernet¹, H. Lapierre², D. Sauvant³, P. Nozière¹

¹ URH, INRA Theix; ² AAC, Québec; ³ UMR PNA, INRA AgroParisTech, Paris

L'évolution des systèmes d'alimentation des ruminants vers un système basé sur les nutriments nécessite de caractériser les aliments en terme de quantité et de nature des nutriments absorbés. Une approche empirique intégrant les connaissances sur les aliments, la digestion et l'absorption est développée.

Objectif

Prédire l'absorption nette en veine porte (ANP) des acides gras volatils (AGV) et du glucose à partir de la proportion de concentré, de la composition chimique du régime, et de critères de digestibilité ruminale et intestinale.

Matériel et Méthodes

♦ **Méta-analyse** (Sauvant *et al.*, 2005) et utilisation de **FLORA** (Vernet & Ortigues-Marty, 2006) : base de données publiées sur les flux splanchniques de nutriments chez les ruminants

♦ **Données disponibles et plages de variation**

	AGV	Glucose
N traitements expérimentaux*		
ovins	29	22
bovins	15	27
MS ingérée (g/j/kg PV)	0 à 31 (moy = 20)	6 à 38 (moy = 19)
Concentré (% MS)	0 à 93 (moy = 34)	0 à 99 (moy = 48)

*Stade physiologique : principalement croissance et adulte non productif

♦ Critères de prédiction

modèles AGV : MOF et nature de la MOF (Tables INRA 2007)

- matière organique fermentée dans le rumen (MOF)
- proportion de la MOF sous forme de NDF (NDFdR/MOF) ou d'amidon (AMdR/MOF) digéré dans le rumen

modèle glucose : amidon digéré dans l'intestin grêle (AMdIG) (Offner et Sauvant, 2003) qui intègre :

- la quantité d'amidon non dégradé *in sacco* dans le rumen
- la relation dégradation ruminale *in sacco* / *in vivo*
- la digestibilité de l'amidon dans l'intestin grêle

modèles AGV et glucose : proportion de concentré (%conc)

♦ **Modèles de variance-covariance** (GLM model, Minitab)

- Facteurs : Expérience, Espèce animale et leur interaction

Résultats

1) Absorption nette portale des AGV totaux (Fig. 1) :

- le modèle le plus précis est obtenu avec MOF ingérée
- bon ajustement : $R^2 = 0,95$; $S = 0,24$; $N_{exp} = 16$; $N_t = 3$
- ⇒ 6,5 moles d'AGV absorbées pour 1 kg de MOF ingérée
- ⇒ cohérent avec une production ruminale de 9 mol/kg MC et une récupération en veine porte de 70%

2) Profil d'AGV absorbés en veine porte (Fig. 2 et 3) :

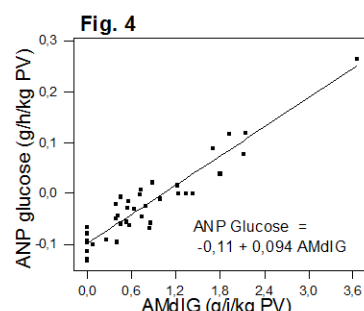
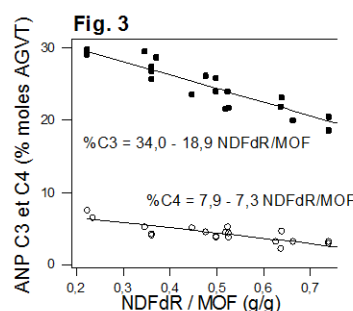
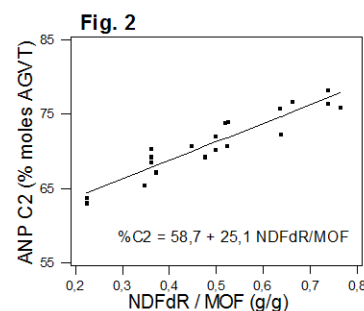
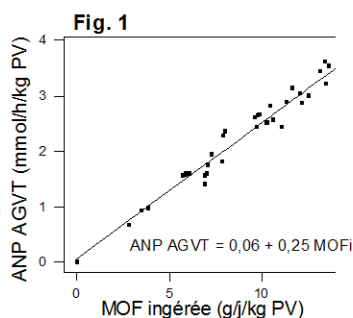
- le modèle le plus précis est obtenu avec NDFdR/MOF
- bon ajustement : $0,76 \leq R^2 \leq 0,85$; $1,1 \leq S \leq 2,2$;
- $10 \leq N_{exp} \leq 11$; $20 \leq N_t \leq 22$

⇒ cohérent avec les variations de profils d'AGV du rumen

3) Absorption nette portale du glucose (Fig. 4) :

- le modèle le plus précis est obtenu avec AMdIG
- bon ajustement $R^2 = 0,90$; $S = 0,03$; $N_{exp} = 18$; $N_t = 41$
- ⇒ ordonnée à l'origine négative
- ⇒ pente : récupération nette de glucose en veine porte 43% de l'amidon digéré dans l'intestin grêle
- ⇒ cohérent avec les connaissances sur l'utilisation du glucose par les tissus digestifs

Les modèles retenus sont indépendants de l'espèce



Conclusion

Des prédictions satisfaisantes de l'absorption nette en veine porte sont obtenues à partir de critères simples:

- la quantité d'AGV totaux par la quantité de matière organique fermentée dans le rumen (MOF ingérée)
- le profil d'AGV par un critère caractérisant la nature de la MOF (NDFdR/MOF)
- la quantité de glucose par la quantité d'amidon digéré dans l'intestin grêle (AMdIG)

La démarche de prédiction de l'absorption des nutriments en veine porte à partir des caractéristiques chimiques et digestives des régimes est prometteuse.



Références : INRA, Tables INRA 2007, Ed Quae; Offner, A., Sauvant, D., 2003, Anim. Feed Sci. Technol. 111: 41-56; Sauvant, D., et al., 2005, INRA Prod. Anim. 18: 63-73; Vernet, J., Ortigues-Marty, I., 2006, Reprod. Nutr. Dev. 5: 527-546.

Prédiction de l'absorption nette portale du glucose et des acides gras volatils chez les ruminants

Prediction of net portal absorption of glucose and volatile fatty acids in ruminants

LONCKE C. (1), ORTIGUES-MARTY I. (1), VERNET J. (1), LAPIERRE H. (2), SAUVANT D. (3), NOZIERE P. (1)

(1) INRA UR1213 Unité de Recherches sur les Herbivores, Theix, F63122 St Genès Champanelle

(2) Dairy and Swine Research and development Centre, Agri & Agri Food, Canada, Lennoxville, Québec J1M1Z3Canada

(3) INRA UMR 791, Physiologie de la nutrition et alimentation, INAPG, F75231, Paris

INTRODUCTION

Afin d'améliorer les systèmes d'alimentation des ruminants, des recherches ont tenté de mieux caractériser la composition des aliments et leur vitesse de digestion dans le rumen. Dans cette optique on cherche à prédire la nature et la quantité de nutriments absorbés. Bermingham *et al.* (2007) ont quantifié par méta-analyse les effets du niveau d'alimentation sur l'apparition nette portale (ANP) des principaux nutriments énergétiques hydrosolubles. Les réponses obtenues pour les acides gras volatils (AGV) différaient entre ovins et bovins, ce qui pourrait s'expliquer par les différences de régime entre espèces. Aucune réponse significative n'a été obtenue pour le glucose. Ces premiers résultats ont souligné la nécessité de développer des modèles génériques en regroupant des expériences adaptées pour intégrer au mieux les 3 aspects "aliment", "digestion", "absorption". Ainsi, les objectifs sont de déterminer : 1) la réponse de l'ANP du glucose à la quantité d'amidon digéré dans l'intestin grêle (AMdIG), 2) la quantité et la nature des AGV absorbés à partir de la quantité et de la nature de la matière organique fermentée dans le rumen (MOF), ou de la proportion de concentrés du régime (% conc).

MATERIEL ET METHODES

La base de données FLORA (Vernet *et al.*, 2006), regroupant les données publiées sur les flux splanchniques de nutriments chez les ruminants, a été utilisée. L'ANP des AGV totaux (acétate C2 + propionate C3 + butyrate C4) a été déterminée à partir des publications présentant des variations de composition du régime et de niveau alimentaire. Seules les publications présentant des variations de composition de régime ont été utilisées pour déterminer l'ANP du glucose et des profils d'AGV individuels. Les quantités d'AMdIG ont été calculées à partir des équations d'Offner *et al.* (2003) intégrant la quantité d'amidon non dégradé in sacco (Tables INRA-AFZ, Sauvant *et al.*, 2004), les différences entre les mesures de dégradation in sacco et in vivo et la digestibilité de l'amidon dans l'intestin grêle.

Les quantités de MOF ingérées et de parois digestibles (NDFd) ont été définies à partir des Tables INRA 2007. Un modèle de variance-covariance intégrant les effets expérience, espèce animale et leur interaction (GLM model, Minitab, Version 14), a été utilisé. Les équations ont été établies à partir des groupes de traitements présentant des variations supérieures à 0,25g/j/kg PV pour AMdIG, à 1g/j/kg PV pour MOF, à 10% pour % conc et 0.05 pour NDFd/MOF.

RESULTATS ET DISCUSSION

Le modèle « glucose » obtenu avec l'AMdIG présente un bon ajustement, et est indépendant de l'espèce (Tableau 1). Il indique que l'ANP de glucose correspond en moyenne à 43% de l'AMdIG. Ceci suggère qu'une augmentation d'AMdIG de 1 g/j/kg PV entraîne une élévation de l'utilisation nette de glucose par le tube digestif de l'ordre de 3,2 mmol/j/kg PV (soit 56,7%). L'ordonnée à l'origine négative reflète l'utilisation basale de glucose par les tissus digestifs. Ce modèle est cohérent avec celui que nous avons obtenu précédemment à partir des seules données d'amidon non dégradé *in sacco* (Loncke *et al.*, 2007), mais il est plus robuste (R^2 plus élevé). Le modèle « AGV » obtenu à partir de la MOF présente également un bon ajustement, et est indépendant de l'espèce. Il montre qu'en moyenne 6,5 moles d'AGV apparaissent en veine porte pour 1 kg de MOF ingérée.

Tableau 1 Equations de réponse linéaire de l'ANP du glucose (gluc) et des AGV (mmol/h/kg PV) aux variations d'AMdIG et de MOF (g/j/kg PV) respectivement

Y	X	n	nt	Ord. (se)	pente (se)	R ²	S	sp
gluc	AMdIG	16	34	-0,10 ^{***} (0,01)	0,09 [*] ** (0,01)	77	0,06	NS
AGV	MOF	19	42	-0,11 (0,30)	0,27 [*] ** (0,03)	91	0,35	NS

*P<0.05, ***P<0.001; n, nt : nombre de publications et de traitements ; Ord : ordonnée à l'origine ; sp : espèce

Cette première étape de prédiction du profil en AGV individuel a montré que %conc ne permettait pas de prédire significativement le %C3 et qu'un effet espèce était mis en évidence pour le %C4. Le critère choisi pour caractériser la nature de l'énergie fermentée (NDFd/MOF) semble être un critère plus précis pour caractériser la nature des AGV absorbés. Une augmentation de NDFd/MOF s'accompagne d'une augmentation du %C2, et d'une baisse du %C3 et %C4, indépendamment de l'espèce (Tableau 2).

Tableau 2 Equations de réponse linéaire de l'ANP des différents AGV (%AGVtotaux) aux variations de NDFd/MOF ou de % conc

Y	X	n	nt	Ord. (se)	Pente (se)	R ²	S	sp
C2	% conc	9	18	75 ^{***} (1,2)	-0,08 [*] (0,03)	87	3	NS
	NDFd/M OF	13	26	59 ^{***} (3,3)	22 ^{***} (5)	87	2	NS
C3	% conc	9	19	22 ^{***} (1,3)	0,04 (0,03)	75	3	NS
	NDFd/M OF	13	26	33 ^{***} (2,8)	-16,5 ^{***} (4,45)	85	2	NS
C4	% conc	9	19	3 (0,4)	0,03 ^{***} (0,4)	84	1	***
	NDFd/M OF	14	28	7 ^{***} (1,5)	-4,78 [*] (2,41)	73	1	NS

Ces résultats sont cohérents avec une production ruminale moyenne de 9 à 10 moles d'AGV / kg de MOF, et une récupération nette en veine porte de l'ordre de 70% pour les AGV totaux, ordre de grandeur communément admis.

CONCLUSION

L'AMdIG calculé avec les équations de Offner *et al.* (2003) semble être un bon prédicteur de l'ANP du glucose. La MOF apparaît comme un critère intégratif qui permet de prédire les flux d'AGV totaux. La prise en compte de la nature de la MOF pour prédire le profil des AGV absorbés semble prometteuse.

Remerciements à Limagrain et INZO pour le soutien financier

Bermingham, E.N, Ortigues-Marty, I., Vernet, J., Lapierre, H., Léger, S., Sauvant, D., Nozière, P., 2007, doi:[10.1016/j.anifeedsci.2007.05.003](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.05.003)

Loncke, C., Ortigues-Marty, I., Vernet, J., Lapierre, H., Sauvant, D., Nozière, P., 2007, ISEP, France

Offner, A., Sauvant, D., 2003, Anim. Feed Sci. Technol. 111, 41-56

INRA, Tables INRA 2007, Ed Quae

Sauvant, D., Perez, J.M., Tran, G., 2004, INRA Ed.

Vernet, J., Ortigues-Marty, I., 2006, Reprod. Nutr. Dev. 5, 257-546

Communication n°6 :

*Prédiction empirique de l'émission splanchnique du β -hydroxybutyrate
chez le ruminant*

**Communication présentée lors du congrès international International Symposium on
Ruminant Physiology, Clermont Ferrand, 2009 (Oral).**

Empirical prediction of net splanchnic release of β -hydroxybutyrate in ruminants

C. Loncke¹, P. Nozière¹, J. Vernet¹, H. Lapierre², D. Sauvant³ and I. Ortigues-Marty^{1*}

¹INRA, UR 1213, Theix, France; ²Agriculture and Agri-Food Canada, STN Lennoxville, Sherbrooke, QC, Canada; ³INRA-AgroParisTech, UMR 791, Paris, France

* Correspondence: ortigues@clermont.inra.fr

Introduction

To adapt feeding strategies for ruminants to the new demands of animal production, feed evaluation systems have to evolve toward nutrient-based systems where energy would no longer be considered as an aggregated unit. In a first step, prediction equations of net portal appearance (NPA) of energetic nutrients were developed based on dietary characteristics (Loncke et al., 2009). The second part of this work is to establish predictions of net splanchnic release (NSR) of energetic nutrients towards peripheral tissues, and this study specifically aims at NSR of β -hydroxybutyrate (BOH).

Materials and methods

The FLORA (Vernet and Ortigues-Marty, 2006) database, which gathers data extracted from all international publications reporting splanchnic fluxes in ruminants, was used. For the present work, all publications presenting results on NPA and NSR of BOH were selected except studies including infusions. All feed ingredients and diets were characterised according to the INRA feed evaluation system for ruminants and the ruminal fermentable organic matter intake (RfOMI) was calculated. Animal energy status was defined as the quantity of energy retained (ES<0) or mobilised (ES $\geq$ 0) and was estimated. The NSR of BOH was defined as the sum of its NPA and of its net hepatic release (NHR). Potential predictors of NHR of BOH were the NPA of butyrate (C4), acetate (C2) and BOH, the arterial concentration of non-esterified fatty acids (NEFA) and the calculated ES of the animals. Data were submitted to meta-analyses (Sauvant et al., 2008). In order to study relationships between NHR (Y) and predictors (X), a covariate GLM model nested within physiological status (non-productive adults, growth, lactation) was used: $Y = \alpha + \beta_i X_i + \text{physiological status} + \text{study (physiological status)} + (\text{physiological status} \times X_i) + \text{error}$. Post analyses were conducted in order to check the absence of interfering factors on slopes, LSMeans and residuals of the model. Species effect was also tested.

Results and discussion

Twenty-four studies corresponding to 58 treatments were selected out of FLORA. These included 24 treatments on non-productive adults, 22 on growing/finishing animals and 12 on lactating dairy cows. Animals ate, on average, 21 ± 7.6 g DM/d/kg BW and diets contained, on average, 37 ± 35 g concentrate/100 g DM, which indicates a large range of intake level and diet composition (fasting included). The RfOMI averaged 11 ± 4.2 , 10 ± 3.7 and 14 ± 1.8 g/d/kg BW whereas the ES averaged 4.9 ± 1.5 , 10.5 ± 2.1 and -0.5 ± 1.9 kCal/d/kg BW and ranged from -37.8 to 26.2, -41.4 to 21.8 and -17.0 to 14.1 kCal/d/kg BW, for non-productive adults, growing / finishing animals and lactating cows respectively. Descriptive statistical analyses indicated the NHR of BOH averaged 6.48 ± 4.7 mmol/d/kg independently of physiological status ($P=0.48$) or species ($P=0.99$). Successive steps of the meta-analyses showed that the amount of OM fermented in the rumen and the total inflow of NEFA to the liver were the major drivers of the NHR of BOH. Indeed, the NHR of BOH was positively correlated to RfOMI ($P<0.001$), NPA of C2 ($P=0.013$), C3 ($P<0.001$), C4 ($P=0.021$), but was not correlated to NPA of BOH ($P=0.18$). Moreover, the NPA of C2, C3 and C4 were positively correlated to RfOMI ($P<0.001$). These results are consistent with an increase of carbon chains supplied to the liver and particularly of BOH precursors (C2, C4) when RfOMI increases. Principal components analyses confirmed the influence of RfOMI on NHR of BOH and evidenced that NHR of BOH is also related to arterial concentrations of NEFA. This may reflect supply of BOH precursors originating from mobilisation of body reserves. Because in the selected publications, dataset was not complete for all pertinent nutrients (C2, C4, NEFA, BOH) it was not possible to elaborate a model which took into account all these parameters. A GLM analysis that included a study effect showed that the arterial concentrations of NEFA were strongly and negatively linked to ES ($R^2=0.90$, $RMSE=0.058$ mM). The ES was thus considered as an index of NEFA hepatic inflow, and RfOMI was considered as an index of NPA of C2 and C4. On these bases, a prediction equation of NHR of BOH was established in response to variations in RfOMI ($P=0.005$) and ES^2 ($P<0.001$). This model (Table 1) presented a physiological status effect on the quadratic variable (ES^2) reflecting a higher NHR of BOH in lactating dairy cows during mobilisation. No interfering factors were observed.

Table 1: Response of net hepatic release of β -hydroxybutyrate (mmol/h/kg BW) to variations in rumen fermentable OM intake and energy status, according to physiological status.

N	Intercept	RfOM (g/d/kg BW)	ES (kcal/d/kg BW)	ES ²	RMSE	R ²
58	-0.0078 ^{NS}	0.0188	NS	0.00081 + Δ°	0.041	0.91

^o Δ lactation = 0.00105; Δ non productive adults = -0.00043; Δ growing = -0.00062; NS = non significant

Finally, prediction of NSR of BOH was obtained by combining the prediction models of NPA (Loncke et al., 2009) and NHR of BOH. A GLM analysis against the observed NSR of BOH ($R^2=0.87$; $RMSE=0.081$) indicated an intercept non different from 0 ($P=0.58$) and a slope (0.90 ± 0.2) non different from 1 ($P=0.35$).

Conclusion

This study proposes a prediction model of NSR of BOH and suggests that NSR of BOH is not solely driven by nutrient supply but also by the metabolic demand of the animal. The subsequent challenge will be to establish predictive models of the NSR of the other nutrients.

Acknowledgements

Financial support from INZO and LIMAGRAIN is acknowledged.

References

- Loncke, C., I. Ortigues-Marty, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant and P. Nozière, 2009, Empirical prediction of net portal appearance of volatile fatty acids, glucose, and their secondary metabolites (β -hydroxybutyrate, lactate) from dietary characteristics in ruminants: A meta-analysis approach, *J. Anim. Sci.* 87: 253-268.
- Vernet, J. and I. Ortigues-Marty, 2006. Flux of nutrients through Organs and tissues in Ruminant Animals, *Reprod. Nutr. Dev.* 5: 257-546.
- Sauvant, D., P. Schmidely, J. J. Daudin and N. R. St-Pierre, 2008, Meta-analyses of experimental data in animal nutrition, *Animal* 2: 1203–1214.

Communication n°7 :

Adaptation du prélèvement hépatique et du métabolisme de glucose chez des agneaux en croissance nourris avec des régimes déséquilibrés en énergie ou en azote.

Communication présentée lors du congrès international International Symposium on Ruminant Physiology, Clermont Ferrand, 2009.

Adaptation of net hepatic glucose metabolism in growing lambs fed energy and nitrogen imbalanced diets



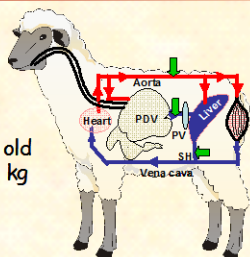
C. Loncke, G. Kraft, I. Savary-Auzeloux, I. Ortigues-Marty
INRA-Clermont Ferrand-Theix, URH-NEM, 63122 St Genès Champanelle

Objectives : Quantify if net hepatic glucose release is driven by availability of precursors only or by other factors

MATERIAL and METHODS

Animals

Lambs
n = 6
4 to 6 month old
41.5 kg $\pm$ 2.6 kg



Surgery

→ Catheters in aorta; portal and hepatic veins
○ Blood flow probe on the portal vein

Experimental diets :

Control (C), Nitrogen deficient (N-) and Energy deficient (E-)

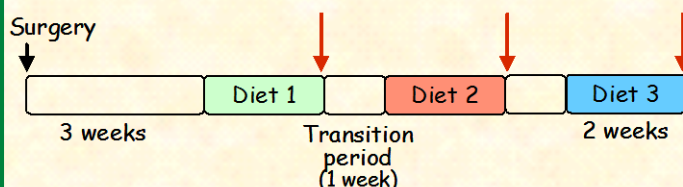
Ingredients g/kg of DM	C	E-	N-
Hay	300	300	300
Maize	0	392	84
Corn Starch	382	0	378
Corn Gluten Meal	70	70	28
Soya Bean Meal	70	70	28
DM intake (kg/d)	1.22	0.99**	1.21
ME intake (MJ/d)	14.1	11.2**	14.2
N intake (gN/d)	23.3	20.4*	18.7**

*: P < 0.05
**: P < 0.005

Experimental design

*Duplicated 3x3 Latin Square

Sampling day



Measurements: * Net glucose, propionate, lactate, amino acids fluxes across the PDV and the liver

RESULTS and DISCUSSION

1) Net portal appearance (NPA) and net hepatic fluxes (NHF) (mmol/h)

	Diet			
	C	E-	N-	SEM
C3-NPA	59.5	35.0	52.4	4.9
C3-NHF	-52.8	-34.33	-47.7	4.4
TAA-NPA	30.9	25.4	19.0	2.0
GlucAA-NHF	-9.4	-8.4	-6.1	2.0
Glucose-NPA	-11.8	-9.7	6.4	3.6
Glucose-NHF	33.1	22.1	19.6	3.6

E-

Lower hepatic supply of glucose precursors (-39%)
Decrease in C3-NPA and -NHF
Decrease in glucogenic AA-NPA
No change in glucose-NPA

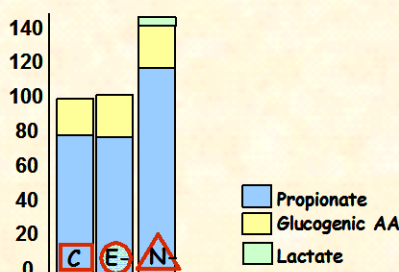
Lower net hepatic glucose release (-33%)

N-

Limited drop in glucose precursor supply (-15%)
No change in C3-NPA
Decrease in Total AA-NPA
But a positive NPA-glucose

High decrease in glucose hepatic release (-41%)

2) Potential contribution of precursors to gluconeogenesis (%)



E-

No change in C3 contribution
Increase in AA contribution

Slightly changes in precursors contribution

N-

Excess in C3
Theoretically sufficient to account for NHR glucose (120%)

In nitrogen deficient diet, C3 allows sparing of AA

CONCLUSION

Glucose Net Hepatic Release is strongly regulated in animals fed imbalanced diets. In an energy deficient diet, it is reduced proportionally to the reduction in precursors supply. It is coherent with the reduced N retention measured (Kraft et al, 2009).

With the nitrogen deficient diet, the net absorption of glucose limited the NHR of glucose. The Net Hepatic glucose Release was proportionally greater than precursor supply. This allows sparing of amino acids.



Institut National de Recherche Agronomique

Adaptation of hepatic glucose uptake and metabolism in growing lambs fed energy and nitrogen imbalanced diets.

*C. Loncke, G. Kraft, I. Savary-Auzeloux, I. Ortigues-Marty**

INRA, UR 1213, Theix, France

** Correspondence: ortigues@clermont.inra.fr*

Introduction

Nutritional allowances to ruminants are defined for both protein and energy supply in the diet, however animal metabolic responses to nitrogen/energy imbalanced diets are difficult to predict. Kraft et al. (2009 a,b) showed that in lambs fed nitrogen or energy imbalanced diets, adaptations of hepatic amino acid (AA) uptake and metabolism contribute to the nitrogen economy in the whole body. This work aims to quantify in the same lambs if glucose metabolism undergoes similar adaptive mechanisms by measuring the net hepatic fluxes of glucose and of its major precursors.

Materials and methods

Six growing lambs (41.5 ± 2.6 kg) were surgically fitted with aorta, portal and hepatic vein catheters and an ultrasonic probe on the portal vein for blood flow measurement. The lambs were fed 3 diets made of 30% hay and 70% of 1 of 3 experimental concentrates, according to a duplicated 3×3 Latin Square design. The control diet (C) was designed to offer a balanced and adequate supply of protein ($1.43 \text{ g N/d/kg BW}^{0.75}$) and metabolisable energy ($\text{ME}=853 \text{ kJ/d/kg BW}^{0.75}$) for growing lambs according to INRA allowances. Low nitrogen (LN) and energy (LE) diets presented a 23% and 20% deficit in PDI and ME supply respectively compared to the C diet. Blood/plasma samples were collected from the 3 vessels for analysis of blood glucose, propionate (C3) and lactate as well as plasma AA.

Results and discussion

With the C diet, the potential contribution of the major glucose precursors to net hepatic release (NHR) of glucose amounted to 80% for C3 and 15% for glucogenic AA (8% for alanine, 4% for glutamine and 2.5% for glycine), for an overall potential contribution of 94%. Considering the high concentrate diets used, lactate could not contribute on a net basis to the NHR of glucose. Similarly, a NHR was observed for glutamate.

As planned, the LE diet was responsible for a reduction in the net portal appearance (NPA) of C3 by 41% relatively to the C diet, with no change in the NPA of total AA or glucose (Table 1).

The net hepatic uptake of C3 was proportional to its NPA and also reduced by 35% (-55.4 mmol C/h; $P=0.04$), while its potential contribution to glucose hepatic release was not changed (78%). The NPA of glucogenic AA tended to be reduced (-20%; $P=0.08$) while their potential contribution was slightly increased (20% vs. 15% in C diet; $P=0.09$). Overall, the hepatic supply in precursors decreased by 39% (-77.9 mmol C/h) compared to C diet and induced a 33% (-66.2 mmol C/h; $P=0.048$) reduction in NHR of glucose.

With the LN diet, as expected, the NPA of total AA was reduced by 38%, while that of C3 was not significantly modified. Unexpectedly, a positive NPA of glucose was noted, presumably due (Loncke et al., 2009) to slight changes in the dietary undegradable starch content as compared to C diet (Kraft et al., 2009a). Despite the limited drop in carbon supply from glucose precursors to the liver (-15%), NHR of glucose decreased by 41% ($P=0.018$). On a molar basis, this drop (- 13.56 mmol/h) was close to the difference in NPA of glucose between the C and LN diets (+ 18.13 mmol/h). These data are consistent with Capelli et al. (1997) who observed that duodenal infusion of glucose induced a decrease in NHR of glucose. Net splanchnic release of glucose remained thus unchanged. Potential contribution of C3 to glucose NHR was high (115%), suggesting that theoretically C3 alone would have been sufficient to account for glucose NHR, thereby sparing AA in animals are fed a nitrogen deficient diet.

Table 1: Net splanchnic fluxes of glucose and gluconeogenic precursors in growing lambs fed control (C), low protein (LN) and low energy (LE) diets.

	Experimental diets			SEM	<i>P</i>
	C	LN	LE		
Net portal appearance (mmol/h)					
Total amino acids	30.89	18.99	25.38	2.04	0.01
Propionate	59.54 ^a	52.44 ^a	34.98 ^b	4.98	<0.001
Glucose	-11.77 ^a	6.36 ^b	-9.66 ^a	2.80	0.006
Net hepatic release (mmol/h)					
Propionate	-52.80 ^a	-47.74 ^a	-34.33 ^b	4.41	0.002
Glucose	33.11 ^a	19.55 ^b	22.07 ^b	3.55	0.041
Lactate	4.30	-1.43	3.10	1.54	0.29
Glutamate	2.16	3.35	1.30	0.30	<0.001
Glutamine	-1.62	-0.42	-1.84	0.43	0.10
Alanine	-5.32	-3.68	-3.92	0.22	0.001
Glycine	-2.49	-2.80	-2.70	0.33	0.81
Net splanchnic release (mmol/h)					
Glucose	21.34 ^a	25.91 ^a	12.41 ^b	3.59	0.067

Conclusion

This work shows the glucose NHR is strongly regulated in animals fed nitrogen or energy imbalanced diets. It is significantly reduced with the energy deficient diet in coherence with the assumed reduction whole body anabolism with this treatment (Kraft et al, 2009a). With the nitrogen deficient diet, the potential contribution of C3 for glucose NHR is increased, which spares AA.

References

- Capelli, F.P., C.J. Seal and S. Parker, 1997, Glucose and [¹³C] leucine metabolism by the portal drained viscera of sheep fed on dried grass with acute intravenous and intraduodenal infusions of glucose, *Br. J. Nutr.* 78:931-946.
- Kraft, G., D. Gruffat, D. Dardevet, D. Rémond, I. Ortigues-Marty and I. Savary-Auzeloux, 2009a, Nitrogen and energy imbalanced diets differentially affected hepatic protein synthesis and neoglucogenesis in growing lambs, *J. Anim. Sci.*, accepted.
- Kraft, G., I. Ortigues-Marty, D. Durand, D. Rémond, T. Jarde, B. Bequette and I. Savary-Auzeloux, 2009b, Adaptations of hepatic amino acid metabolism contribute to the nitrogen economy in lambs fed nitrogen or energy imbalanced diets, *Animal*, submitted.
- Loncke, C., I. Ortigues-Marty, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant and P. Nozière, 2009, Empirical prediction of net portal appearance of volatile fatty acids, glucose, and their secondary metabolites (β-hydroxybutyrate, lactate) from dietary characteristics in ruminants: A meta-analysis approach, *J. Anim. Sci.* 87: 253-268.

Communication n°8 :

Apparition nette portale et émission splanchnique des nutriments énergétiques chez les ruminants : Evaluation quantitative de modèles prédictifs.

Communication proposée au congrès International Symposium on Energy and Protein metabolism, Parme, Italie, 2010.

Net portal absorption and net splanchnic release of energetic nutrients in Ruminants: quantitative assessment of prediction models

C. Loncke¹, P. Nozière¹, I. Savary-Auzeloux¹, G. Kraft¹, J. Vernet¹, H. Lapierre², D. Sauvant³, I. Ortigues-Marty¹

¹*INRA UR 1213 Herbivores, Site de Theix, 63122 St Genès Champanelle, France*

²*Dairy and Swine Research and Development Centre, Agri & Agri Food Canada, Lennoxville, Quebec J1M1Z3 Canada*

³*INRA UMR 791, Physiologie de la Nutrition et Alimentation, INAPG, 75231 Paris, France*

Feed evaluation systems have to evolve towards nutrient based systems, while remaining compatible with the existing feeding systems which are widely applied in practice and which proved their efficacy. For this, nutrient based systems have to be developed using simple and generic predictors. Empirical prediction models of net portal appearance (NPA) of nutrients and of energy expenditure by the portal drained viscera (PDV-EE) have been established from dietary characteristics (Loncke et al., 2008, 2009 a,b). The quantitative coherence between the aggregated metabolisable energy (ME) unit defined according to INRA and the amount of absorbed energy, calculated as the sum of the predicted NPA and PDV-EE has recently been shown (Loncke et al., 2009c). Empirical models of the net splanchnic release of energetic nutrients are also presently being elaborated.

External validation of these models has been limited by the lack of newly available data.

An experimental study has been conducted using growing lambs fed nitrogen or energy imbalanced diets (Kraft et al., 2009; Loncke et al., 2009d), to measure net splanchnic fluxes of nutrients. Six growing lambs (41.5 ± 2.6 kg) were surgically fitted with aorta, portal and hepatic vein catheters and an ultrasonic probe on the portal vein for blood flow measurement. The lambs were fed 3 diets made of 30% hay and 70% of 1 of 3 experimental concentrates, according to a duplicated 3×3 Latin Square design. The control diet (C) was designed to offer a balanced and adequate supply of protein (1.43 g N/d/kg BW^{0.75}) and ME (853 kJ/d/kg BW^{0.75}) for growing lambs according to INRA allowances. Low nitrogen (LN) and energy (LE) diets presented a 23% and 20% deficit in PDI and ME supply respectively compared to the C diet. Blood/plasma samples were collected from the 3 vessels for analysis of blood VFA, glucose, L-lactate, β -hydroxybutyrate, O₂ and plasma amino acids.

The animal experiment has been completed and all results have been obtained. Statistical analysis is underway. Measured NPA and net splanchnic release of energetic nutrients will be compared to predicted values. Empirical prediction models will be presented. Their validity will be evaluated and discussed.

Key-words: energy nutrients, net portal absorption, net splanchnic release, ruminant

Topic session preferred: 3

Email address of the author: isabelle.ortigues@clermont.inra.fr

Communication n°9 :

Prédiction empirique de l'émission net splanchnic de glucose chez les ruminants

à partir des caractéristiques des rations et des animaux :

Approche par méta-analyses.

Communication proposée au congrès International Symposium on Energy and Protein metabolism, Parme, Italie, 2010.

Empirical prediction of net splanchnic release of glucose in Ruminants from dietary and animal characteristics: a meta-analysis approach

C. Loncke¹, P. Nozière¹, J. Vernet¹, H. Lapierre², D. Sauvant³, I. Ortigues-Marty¹

¹INRA UR 1213 Herbivores, Site de Theix, 63122 St Genès Champanelle, France

²Dairy and Swine Research and Development Centre, Agri & Agri Food Canada, Lennoxville, Quebec J1M1Z3 Canada

³INRA UMR 791, Physiologie de la Nutrition et Alimentation, INAPG, 75231 Paris, France

Feed evaluation systems have to evolve towards nutrient based systems, while remaining compatible with the existing feeding systems which are widely applied in practice and which proved their efficacy. For this, nutrient based systems have to be developed using simple and generic predictors. In Ruminant, glucose is an essential nutrient both for milk synthesis, muscle growth and meat quality. Whole body glucose availability depends on the net splanchnic release of glucose which itself varies with hepatic gluconeogenesis (from available precursors) as well as on the net portal absorption (NPA) of glucose. An empirical prediction model of NPA-glucose has been established (Loncke et al., 2007, 2009) from the dietary starch intake and its ruminal and intestinal digestibility evaluated according to INRA Feed Tables (2007) and Offner and Sauvant (2004). Mechanistic prediction models of net hepatic glucose release exist for dairy cows, but not for Ruminants at other physiological stages. These liver models are based on detailed metabolic pathways and are difficult to use in rationing practices. The aim of the present study was to predict the net splanchnic release (NSR) of glucose, in ruminants at different physiological statuses (lactation, growing/finishing and non productive adults), from simple predictors characterising diet composition and intake as well as animals.

The FLORA database (Vernet and Ortigues Marty, 2006), which gathers international publications reporting net splanchnic nutrient fluxes in ruminants, was used. A meta-analysis approach was applied (Sauvant et al., 2005, 2008).

Results showed that the NSR-glucose could be predicted from the NPA and the net hepatic uptake of glucogenic precursors (propionate, lactate, glucogenic amino acids, and glycerol), and dependant of the physiological status. Models obtained were well adjusted (RMSE < 0.60 mmol C/h/kg BW and R² adjusted > 0.88) and presented low interfering factors.

To our knowledge it is the first time that models propose to quantitatively predict the splanchnic glucose release in different physiological statuses. These empirical models are presently being combined to predict the NSR-glucose from dietary and animal characteristics.

They will contribute to the development of improved tools for dietary formulation.

Key-words: glucose, net splanchnic release, ruminant

Topic session preferred: 3

Email address of the author: isabelle.ortigues@clermont.inra.fr

TITRE : Modélisation des relations entre l'alimentation et les flux splanchniques de nutriments énergétiques chez le ruminant.

Le système INRA d'alimentation des Ruminants a été conçu pour ajuster les rations au potentiel génétique de production des animaux, essentiellement dans un souci d'amélioration de la productivité. Aujourd'hui, les enjeux des filières et de la nutrition animale se sont diversifiés. Ils incluent des objectifs de performance, mais aussi d'efficacité, de qualité des produits, et de réduction des rejets animaux, dans le respect du bien-être et de la santé des animaux. La prédiction de ces réponses multiples passe par une connaissance de la quantité et de la nature des nutriments mis à disposition de l'organisme.

Les objectifs étaient d'établir des modèles empiriques de prédiction de 1) l'apparition nette en veine porte (ANP) et 2) l'émission nette splanchnique (ENS) des nutriments énergétiques. Des méthodes de méta-analyses ont été appliquées sur les données de la base FLORA qui est une compilation exhaustive des publications traitant des flux splanchniques de nutriments chez les ruminants.

Pour des ingestions jusqu'à 30 g MS/j/kg PV et des rations comprenant en moyenne moins de 70% de concentrés, des modèles stables ont été obtenus. Les modèles ont permis de prédire l'ANP des acides gras volatils (AGV) totaux et du béta-hydroxybutyrate (BHBA) à partir des quantités de matière organique fermentescible dans le rumen (MOF), le profil en AGV à partir de la nature de la MOF, l'ANP des acides aminés (AA) totaux à partir des protéines digérées dans l'intestin et de prédire l'ANP du lactate et du glucose à partir des quantités d'amidon digéré dans le rumen et l'intestin grêle respectivement. L'ENS des différents AGV et des AA a été prédite à partir de leur ANP. L'ENS du lactate peut être prédite à partir de son ANP et de l'ANP du propionate ou du bilan énergétique des animaux, l'ENS du BHBA à partir de la MOF ingérée et du bilan énergétique des animaux. Enfin, l'ENS du glucose a été prédite à partir de la fourniture hépatique en ses différents précurseurs.

Mots clés : apparition en veine porte, émission splanchnique, modélisation, ruminant.

TITLE: Modelling relationships between diet and splanchnic fluxes of energy nutrients in ruminants.

The INRA feeding system for ruminants was established to adjust diets to the production genetic potential of animals, in order to enhance productivity. Presently, the stakes of the industry in animal production and of animal nutrition have diversified. They include performance objectives but also efficiency, quality of products and reduction of animal wastes, in the respect of animal well fare and health. Prediction of these multiple responses implies to know the amount and the nature of nutrients available to the organism.

The objectives were thus to establish empirical prediction models of 1) net portal appearance (NPA) and 2) net splanchnic release (NSR) of energy nutrients. Meta-analyses methods were applied on data from the FLORA data base, which is an exhaustive compilation of publications dealing with splanchnic fluxes in ruminants.

Stables models were obtained for intakes up to 30 g DM/d/kg BW and for diets which included less than 70% concentrates. The models allowed to predict the total volatile fatty acids (VFA) and beta-hydroxybutyrate (BHBA) NPA from the amount of ruminally fermentable organic matter (RfOM), the profile in VFA from the nature of RfOM, the amino acids (AA) NPA from the protein digestible in the small intestine and the lactate and glucose NPA from the amount of starch digested in the rumen and the small intestine respectively.

The NSR of each VFA and AA can be predicted from their NPA. The lactate NSR was predicted from its NPA and propionate NPA or from the energy balance of the animals, the BHBA NSR from the RfOM and the animal energy balance. Finally, the glucose NSR was predicted by its precursors' hepatic supply.

Key words: net portal appearance, net splanchnic release, modelling, ruminants